

Dr n. farm. Joanna Kolmas

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej

Warszawski Uniwersytet Medyczny

AUTOREFERAT

ZAŁĄCZNIK 2

Do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego

Warszawa 2015

SPIS TREŚCI

1. Wykształcenie.....	2
2. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu.....	2
3. Wskazanie osiągnięcia naukowego.....	2
3.1. Tytuł osiągnięcia naukowego.....	2
3.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego.....	2
4. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem i ewentualnego wykorzystania.....	7
4.1. Uzasadnienie podjęcia tematu. Cele prac zawartych w cyklu.....	7
4.2. Wprowadzenie.....	9
4.3. Omówienie wyników.....	11
4.4. Podsumowanie.....	25
5. Pozostałe osiągnięcia naukowe.....	27
5.1. Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych.....	27
5.2. Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych.....	29
6. Czynny udział w konferencjach, sympozjach krajowych i międzynarodowych...	33
7. Współpraca naukowa.....	36
8. Kierowanie międzynarodowymi i krajowymi projektami badawczymi oraz udział w takich projektach.....	37
9. Przebyte szkolenia i kursy.....	38
10. Recenzje w czasopismach.....	39
11. Wyjazdy naukowe.....	39
12. Nagrody i wyróżnienia.....	39
13. Działalność organizacyjna i przynależność do organizacji naukowych	39
14. Działalność dydaktyczna i popularyzująca naukę.....	40
15. Bibliometryczne wskaźniki dokonań naukowych	41

Imię i nazwisko habilitanta

JOANNA KOLMAS

1. Wykształcenie i stopnie naukowe

Doktor Nauk Farmaceutycznych (dyplom z wyróżnieniem), Warszawski Uniwersytet Medyczny - 2006

Promotor: Prof. dr hab. Wacław L. Kołodziejski

Tytuł pracy: „*Badanie apatytów syntetycznych oraz tkanek twardych zęba metodami spektroskopii NMR oraz IR w cieple stałym*”

Recenzenci: Prof. dr hab. Jacek Klinowski, University of Cambridge, Wielka Brytania
Prof. dr hab. Janusz Piekarczyk, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Magister Farmacji, Warszawski Uniwersytet Medyczny- 1999

Promotor: Prof. dr hab. Wacław L. Kołodziejski

Opiekun: dr Agnieszka Kaflak

Tytuł pracy: „*Badanie wpływu sterylizacji na strukturę kolagenu typu I metodami FT-IR oraz NMR*”

2. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu

2007-obecnie: Wydział Farmaceutyczny Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej WUM; stanowisko: adiunkt

2000-2006: Wydział Farmaceutyczny Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej WUM; stanowisko: asystent

08.1999-12.1999: Kosmepol/ L’Oreal Fabryka, Kanie Helenowskie, chemik w Dziale Kontroli Jakości surowców

3. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)

3.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Badanie struktury oraz właściwości fizykochemicznych apatytów biologicznych i syntetycznych w kontekście poszukiwań nowych materiałów apatytowych o potencjalnym znaczeniu biomedycznym.

3.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

Jako podstawę habilitacji wybrałam monotematyczny cykl 12 pełnotekstowych artykułów (11 oryginalnych oraz 1 pracy przeglądowej) opublikowanych w latach 2010-2015 w czasopismach recenzowanych o zasięgu międzynarodowym. Ze względu na to, że w wyniku przeprowadzonych badań opracowałam nowe metody otrzymywania materiałów apatytowych, a także nowe materiały apatytowe, metody te a także uzyskane materiały zgłosiłam do ochrony patentowej (1 patent oraz 2 zgłoszenia patentowe o zasięgu krajowym). Uzyskany patent włączyłam w cykl prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego. Wkład

wszystkich Autorów w poszczególne prace został określony w stosownych oświadczeniach (Załącznik 7).

Sumaryczny Impact Factor dla tych prac wg roku wydania: 24,993.

Suma punktów MNiSW: 332

We wszystkich pracach jestem autorem korespondującym.

H1. Joanna Kolmas, Emil Kalinowski, Andrzej Wojtowicz, Wacław Kolodziejski, *Mid-infrared reflectance microspectroscopy of the dentin-enamel junction in human molars*, Journal of Molecular Structure, 966 (2010) 113–121, IF=1.599; MNiSW/KBN = 20.

Mój wkład w powstanie pracy:

Koncepcja i sformułowanie celów badawczych pracy

Wykonanie eksperymentów

Analiza wyników badań i ich interpretacja

Napisanie manuskryptu

Korespondencja z edytorem czasopisma i korekta manuskryptu zgodnie z otrzymanymi recenzjami

Mój udział procentowy szacuję na 70 %.

H2. Joanna Kolmas, Dariusz Marek, Wacław Kolodziejski, *Near-infrared (NIR) spectroscopy of synthetic hydroxyapatites and human dental tissues*, Applied Spectroscopy, 69(8) (2015) 902-912, IF=1.875; MNiSW/KBN= 30.

Mój wkład w powstanie pracy:

Koncepcja i sformułowanie celów badawczych pracy

Wykonanie eksperymentów

Analiza wyników badań i ich interpretacja

Napisanie manuskryptu

Korespondencja z edytorem czasopisma i korekta manuskryptu zgodnie z otrzymanymi recenzjami

Mój udział procentowy szacuję na 85 %.

H3. Joanna Kolmas, Maciej Szwaja, Wacław Kolodziejski, *Solid-state NMR and IR characterization of commercial xenogeneic biomaterials used as bone substitutes*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 61 (2012) 136-141. IF= 2.947; MNiSW/KBN=30.

Mój wkład w powstanie pracy:

Koncepcja i sformułowanie celów badawczych pracy

Wykonanie eksperymentów NMR, TEM

Analiza wyników badań i ich interpretacja

Napisanie manuskryptu

Korespondencja z edytorem czasopisma i korekta manuskryptu zgodnie z otrzymanymi recenzjami

Mój udział procentowy szacuję na 75 %.

H4. Joanna Kolmas, Rafał Prządka, *Benign odontogenic tumors versus histochemically related tissues: preliminary results from mid-infrared (MIR) and solid-state nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy*, Applied Spectroscopy 68 (6) (2014) 663-671. IF=1.875; MNiSW/KBN=30.

Mój wkład w powstanie pracy:

Koncepcja i sformułowanie celów badawczych pracy

Wykonanie eksperymentów NMR

Analiza wyników badań i ich interpretacja

Napisanie manuskryptu

Korespondencja z edytorem czasopisma i korekta manuskryptu zgodnie z otrzymanymi recenzjami

Mój udział procentowy szacuję na 85 %.

H5. Joanna Kolmas, Wacław Kolodziejcki, *Inverse $^{31}\text{P} \rightarrow ^1\text{H}$ NMR cross-polarization in hydrated nanocrystalline calcium hydroxyapatite*, Chemical Physics Letters 554 (2012) 128-132. IF=2.145; MNiSW/KBN=30.

Mój wkład w powstanie pracy:

Koncepcja i sformułowanie celów badawczych pracy

Wykonanie eksperymentów

Analiza wyników badań

Napisanie manuskryptu

Korespondencja z edytorem czasopisma i korekta manuskryptu zgodnie z otrzymanymi recenzjami

Mój udział procentowy szacuję na 80 %.

H6. Joanna Kolmas, Mateusz Jabłoński, Anna Ślósarczyk, Wacław Kolodziejcki, *Solid-State NMR Study of Mn^{2+} for Ca^{2+} substitution in Thermally Processed Hydroxyapatites*, Journal of the American Ceramic Society, 98(4) (2015) 1265-1274, IF=2.610; MNiSW/KBN=45.

Mój wkład w powstanie pracy:

Koncepcja i sformułowanie celów badawczych pracy

Wykonanie eksperymentów

Analiza wyników badań NMR, TEM i ich interpretacja

Napisanie manuskryptu

Korespondencja z edytorem czasopisma i korekta manuskryptu zgodnie z otrzymanymi recenzjami

Mój udział procentowy szacuję na 65 %.

H7. Joanna Kolmas, Marzena Kuras, Ewa Olędzka, Marcin Sobczak, *A solid-state NMR study of selenium substitution into nanocrystalline hydroxyapatite*, International Journal of Molecular Sciences, 16(5) (2015) 11452-11464. IF=2.862; MNiSW/KBN= 30.

Mój wkład w powstanie pracy:

Koncepcja i sformułowanie celów badawczych pracy

Wykonanie eksperymentów NMR

Analiza wyników badań i ich interpretacja

Napisanie manuskryptu

Korespondencja z edytorem czasopisma i korekta manuskryptu zgodnie z otrzymanymi recenzjami

Mój udział procentowy szacuję na 80 %.

H8. Joanna Kolmas, Arkadiusz Przybylski, Łukasz Pajchel, Wacław Kołodziejcki, *Influence of SiO_4^{4-} ions on the chemical structure and physicochemical properties of synthetic nanocrystalline hydroxyapatite*, Engineering of Biomaterials 106-108 (2011) 54-60, IF=0.000; MNiSW/KBN=7.

Mój wkład w powstanie pracy:

Koncepcja i sformułowanie celów badawczych pracy

Wykonanie eksperymentów NMR i TEM

Analiza wyników badań i ich interpretacja

Napisanie manuskryptu

Korespondencja z edytorem czasopisma i korekta manuskryptu zgodnie z otrzymanymi recenzjami

Mój udział procentowy szacuję na 70 %.

H9. Joanna Kolmas, Andrzej Jaklewicz, Aneta Zima, Mirosław Bućko, Zofia Paszkiewicz, Jerzy Lis, Anna Ślósarczyk, Wacław Kołodziejcki, *Incorporation of carbonate and magnesium ions into synthetic hydroxyapatite: the effect on physicochemical properties*, Journal of Molecular Structure 987 (2011) 40-50. IF=1.634; MNiSW/KBN=20.

Mój wkład w powstanie pracy:

Koncepcja i sformułowanie celów badawczych pracy

Wykonanie eksperymentów NMR, FT-IR, TEM

Analiza wyników badań i ich interpretacja

Napisanie manuskryptu

Korespondencja z edytorem czasopisma i korekta manuskryptu zgodnie z otrzymanymi recenzjami

Mój udział procentowy szacuję na 55 %.

H10. Joanna Kolmas, Ewa Groszyk, Urszula Piotrowska, Nanocrystalline hydroxyapatite enriched in selenite and manganese ions: physicochemical and antibacterials properties. Nanoscale Research Letters, 10(278) (2015) 1-9. IF=2.779; MNiSW/KBN=30.

Mój wkład w powstanie pracy:

Koncepcja i sformułowanie celów badawczych pracy

Wykonanie eksperymentów NMR i ich interpretacja

Analiza wyników badań TGA, FT-IR, TEM

Napisanie manuskryptu

Korespondencja z edytorem czasopisma i korekta manuskryptu zgodnie z otrzymanymi recenzjami

Mój udział procentowy szacuję na 65 %.

H11. Joanna Kolmas, Ewa Groszyk, Dagmara Kwiatkowska-Różycka, Substituted Hydroxyapatites with Antibacterial Properties, Biomed Research International Volume 2014 (2014), Article ID 178123, IF=1.579; MNiSW/KBN=30.

Mój wkład w powstanie pracy:

Koncepcja pracy

Napisanie manuskryptu

Korespondencja z edytorem czasopisma i korekta manuskryptu zgodnie z otrzymanymi recenzjami

Mój udział procentowy szacuję na 70 %.

H12. Joanna Kolmas, Marcin Sobczak, Ewa Olędzka, Grzegorz Nałęcz-Jawecki, Nanocrystalline hydroxyapatite doped with selenium oxyanions: A new material for potential biomedical applications, Materials Science and Engineering C 39 (2014) 134-142. IF=3.088; MNiSW/KBN=30.

Mój wkład w powstanie pracy:

Koncepcja i sformułowanie celów badawczych pracy

Synteza materiału

Wykonanie eksperymentów fizykochemicznych

Analiza wyników badań i ich interpretacja

Napisanie manuskryptu

Korespondencja z edytorem czasopisma i korekta manuskryptu zgodnie z otrzymanymi recenzjami

Mój udział procentowy szacuję na 80 %.

W skład prezentowanego cyklu wchodzi jeden patent:

HP1. Joanna Kolmas, Marcin Sobczak, Wacław Kołodziejski, *Nanokrystaliczny modyfikowany hydroksyapatyt oraz sposób otrzymywania nanokrystalicznego modyfikowanego hydroksyapatytu*, zgłoszony nr P-398434, 13.03.2012, decyzja o udzieleniu 25.08.2015.

Mój wkład:

Koncepcja prac badawczych

Przeprowadzenie części eksperymentalnej

Sporządzenie wniosku

Mój udział szacuję na 87 %

Ponadto, wyniki badań wchodzące w skład ww. cyklu zaprezentowałam na międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych (lista w załączeniu – punkt 6.).

Badania naukowe, opisane w powyżej wymienionych publikacjach prowadziłam w oparciu o środki finansowe uzyskane z Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (działalność statutowa oraz grant FW23/WB1/08), grantu MNiSW (N N204 127037), grantu NCN (NCN-2011/03/D/ST5/05793) oraz grantu FNP (POMOST/2013-7/5).

4. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem i ewentualnego wykorzystania

4.1. Uzasadnienie podjęcia tematu. Cele prac zawartych w cyklu.

Hydroksyapatyt jest niezmiernie ważnym materiałem ceramicznym do zastosowań w szeroko pojętej biomedycynie przede wszystkim ze względu na dużą biozgodność, osteokonduktywność oraz podobieństwo do frakcji mineralnej tkanki kostnej i tkanek twardych zęba [1]. Znalazł on zastosowanie w medycynie regeneracyjnej, implantologii oraz stomatologii. Wraz z postępem wiedzy medycznej zaczęto zwracać coraz większą uwagę na właściwości apatytowych materiałów kościozastępczych i stomatologicznych oraz poszukiwać możliwości stosowania materiałów wielofunkcyjnych, które oprócz funkcji wypełniania oraz zapewnienia osteointegracji byłyby nośnikiem substancji leczniczej dostarczanej bezpośrednio w miejsce schorzenia [2]. Warto podkreślić, że próby udoskonalania materiałów na bazie hydroksyapatytu powinny iść w parze z poszerzaniem wiedzy o strukturze oraz dokładnym składzie chemicznym apatytów biologicznych budujących tkankę kostną i tkanki zmineralizowane zęba. Niezbędny jest także jednoczesny rozwój metod i technik badawczych umożliwiających badanie apatytu biologicznego bez separowania go od macierzy organicznej.

Głównymi założeniami badawczymi mojej pracy były:

- **Pogłębienie wiedzy podstawowej na temat apatytów biologicznych różnego pochodzenia**
- **Poszerzenie warsztatu badawczego o nowe metody i techniki analityczne do badań apatytów biologicznych oraz syntetycznych**
- **Opracowanie nowych materiałów apatytowych o korzystnych właściwościach oraz ocena ich właściwości fizykochemicznych.**

Pierwszym zagadnieniem, którym zajęłam się w pracy był zamiar pogłębienia wiedzy podstawowej na temat budowy apatytów biologicznych.

Warto podkreślić, że zdecydowana większość prac naukowych opublikowanych do tej pory dotyczyła ludzkiego apatyty kostnego w stanie prawidłowym [3-6]. Dość dużo miejsca poświęcono także tkance kostnej zmienionej osteoporotycznie [7,8].

Z kolei niewiele prac dotyczy zdrowych i patologicznie zmienionych tkanek zmineralizowanych zęba i budującego je minerału [9,10]. Dlatego też moim celem była kontynuacja badań nad apatytami biologicznymi szkliwa, zębiny i cementu prowadzonych w ramach pracy doktorskiej oraz poszerzenie ich o apatyty tkanek nieprawidłowych. Dodatkowo bardzo interesującym aspektem było dla mnie poznanie struktury chemicznej połączenia szkliwno-zębinowego, które odgrywa kluczową rolę w przenoszeniu naprężeń mechanicznych podczas żucia i gryzienia. W dostępnym piśmiennictwie nie znalazłam żadnych informacji dotyczących budowy granicy szkliwno-zębinowej [11].

Drugim zagadnieniem, które podjęłam w pracy było sprawdzenie możliwości zastosowań metod spektroskopowych do badań apatytów biologicznych oraz syntetycznych. W standardowej ocenie apatytów wiodącą rolę odgrywa dyfraktometria proszkowa, mikroskopia elektronowa oraz różne metody analizy elementarnej [12]. W moich pracach analizowałam możliwość zastosowania metod spektroskopii NMR oraz IR nie tylko w badaniach apatytów ale i tkanek zmineralizowanych niepozbawionych frakcji organicznej.

Oprócz aspektu poznawczego moje badania miały także wymiar praktyczny. W trzecim etapie zajęłam się bowiem opracowaniem metod syntezy apatytów modyfikowanych różnymi jonami w celu nadania im korzystnych właściwości fizykochemicznych, biologicznych oraz mechanicznych. Następnie szczegółowo zbadalam wpływ dodatku jonów na strukturę apatyty, stan powierzchni kryształów HA czy też na wielkość i kształt kryształitów.

4.2. Wprowadzenie

Apatyty są grupą związków nieorganicznych o wspólnej charakterystycznej budowie krystalograficznej. W przyrodzie występują jako minerały geologiczne w skałach wulkanicznych i osadowych (tzw. apatyty geologiczne) a także budują tkanki twarde, czyli kości i tkanki zmineralizowane zębów u zwierząt (tzw. apatyty biologiczne).

Ogólny wzór chemiczny apatytów może być przedstawiony w następujący sposób:



M – kation dwuwartościowy (np. Ca^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+}),

RO₄ – oksyanion trójwartościowy (np. PO_4^{3-} , VO_4^{3-} , AsO_4^{3-}),

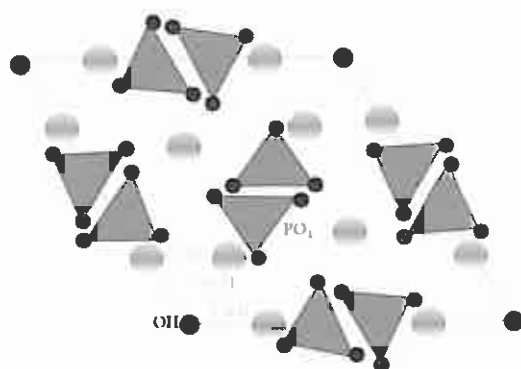
X – anion jednowartościowy (np. Cl^- , F^- , OH^-).

Z powyższego wzoru wynika, że apatyty pod względem składu chemicznego stanowią grupę bardzo różnorodnych związków. Jednak w apatytach biologicznych, czyli tych występujących w organizmach żywych **M** to przede wszystkim kationy wapnia (Ca^{2+}) a **RO₄** jony ortofosforanowe (PO_4^{3-}). Dlatego często można spotkać się z definiowaniem apatytów jako związków o wzorze ogólnym $Ca_{10}(PO_4)_6(X)_2$, gdzie $X \equiv OH^-$ (hydroksyapatyt), $X \equiv F^-$ (fluorapatyt), $X \equiv Cl^-$ (chlorapatyt) [1].

Warto podkreślić, że w przyrodzie występują przede wszystkim apatyty niestechiometryczne. Wynika to głównie z podatności apatytów na różnorodne podstawienia jonowe. Kationy wapnia mogą być częściowo zastąpione przez inne kationy dwuwartościowe (np. Mg^{2+} , Mn^{2+} , czy Zn^{2+}) oraz przez kationy o innej wartościowości (np. Na^+ , K^+ , Fe^{3+} , Ga^{3+} , Al^{3+}). Z kolei jony ortofosforanowe mogą być wymieniane na jony trójwartościowe (np. AsO_4^{3-} czy VO_4^{3-}), dwuwartościowe (np. HPO_4^{2-} , CO_3^{2-}) oraz czterowartościowe (np. SiO_4^{4-}). Oprócz jonów OH^- , F^- i Cl^- w miejsce **X** mogą wbudować się węglanowe CO_3^{2-} , BO_2^- czy też O^{2-} . Oczywiście przedstawione substytucje generują nieporządek i defekty w sieci krystalicznej, które mogą przejawiać się powstawaniem wakancji (pustych miejsc po jonach) oraz uwalnianiem niektórych jonów z sieci w celu zapewnienia elektroobojętności. Efektem podstawień jest zmiana parametrów sieciowych, wymiarów komórki elementarnej, wielkości kryształów, krystaliczności a co za tym idzie właściwości fizykochemicznych apatytów.

Dodatkowo na powierzchni kryształów apatytu niestechiometrycznego tworzy się uwodniona warstwa powierzchniowa (ang. hydrated surface layer). Ma ona wyjątkową budowę i właściwości [13]. Zawiera ona szereg jonów oddziałujących z powierzchnią rdzenia kryształu HA, determinuje morfologię powierzchni apatytów. W apatytach budujących tkanki zmineralizowane stanowi swoisty interfejs pomiędzy frakcją nieorganiczną a macierzą białkową (głównie kolagenem) [13,14].

Warto zauważyć, że jeszcze do niedawna (do lat dziewięćdziesiątych XX w.) uważano, że tkankę kostną oraz tkanki zmineralizowane zęba (szkliwo, zębina i cement) buduje stechiometryczny hydroksyapatyt (HA) o wzorze $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Rysunek 1 przedstawia schemat struktury stechiometrycznego HA.



Rys. 1. Schemat struktury hydroksyapatytu.

Jony OH^- są usytuowane na prostych sieciowych stanowiących krawędzie komórki elementarnej. Tworzą kolumny – $\text{OH} \cdots \text{OH} \cdots \text{OH}$ – tzw. strukturalnych grup hydroksylowych ułożonych równolegle do krystalograficznej osi c i otoczonych kationami wapnia. W stechiometrycznym HA odległość między sąsiadującymi atomami tlenu wynosi $3.44 \text{ \AA}$, a więc jest zbyt duża, by powstały wiązania wodorowe. W komórce elementarnej hydroksyapatytu istnieją dwie nierównocenne pozycje wapnia: Ca(I) oraz Ca(II) , gdzie Ca(I) to atomy wapnia zlokalizowane na krawędziach bocznych heksagonalnej komórki a Ca(II) to atomy tworzące trójkąty równoboczne wokół kolumn strukturalnych grup OH . Strukturę hydroksyapatytów determinuje położenie największych jonów ortofosforanowych wypełniających przestrzeń komórki HA [15].

Badania prowadzone przez kilka ośrodków naukowych na świecie (w tym grupę prof. W. Kołodziejskiego) pokazały, że apatyty biologiczne są drastycznie zubożone w strukturalne

grupy OH [16,17]. Apatyt kostny zawiera ok. 21 %, zębina i cement ok. 18 %, a szkliwo ok. 73 % strukturalnych grup OH względem stechiometrycznego HA. Jedną z przyczyn jest substytucja jonów ortofosforanowych jonami węglanowymi. Jon trójujemny (PO_4^{3-}) zastępowany jest jonem dwuujemnym (CO_3^{2-}), w celu zbilansowania ładunku dochodzi do jednoczesnego wydzielenia kationu wapnia (Ca^{2+}) i anionu hydroksylowego (OH^-). Zauważono także, że zawartość jonów hydroksylowych maleje wraz z wielkością kryształów i powiązano ten fakt z tworzeniem się uwodnionej warstwy powierzchniowej [18,19].

Badania nad strukturą i składem chemicznym apatytów biologicznych są niezmiernie istotne szczególnie w kontekście tworzenia materiałów kośćcozastępczych, materiałów stomatologicznych czy implantów kostnych. Przykładowo fakt, że apatyt kostny ma charakter nanokrystaliczny a budujące go nanocząstki składają się z krystalicznego rdzenia oraz uwodnionej warstwy powierzchniowej powinien być uwzględniany przy produkcji materiałów o wysokiej biogodności.

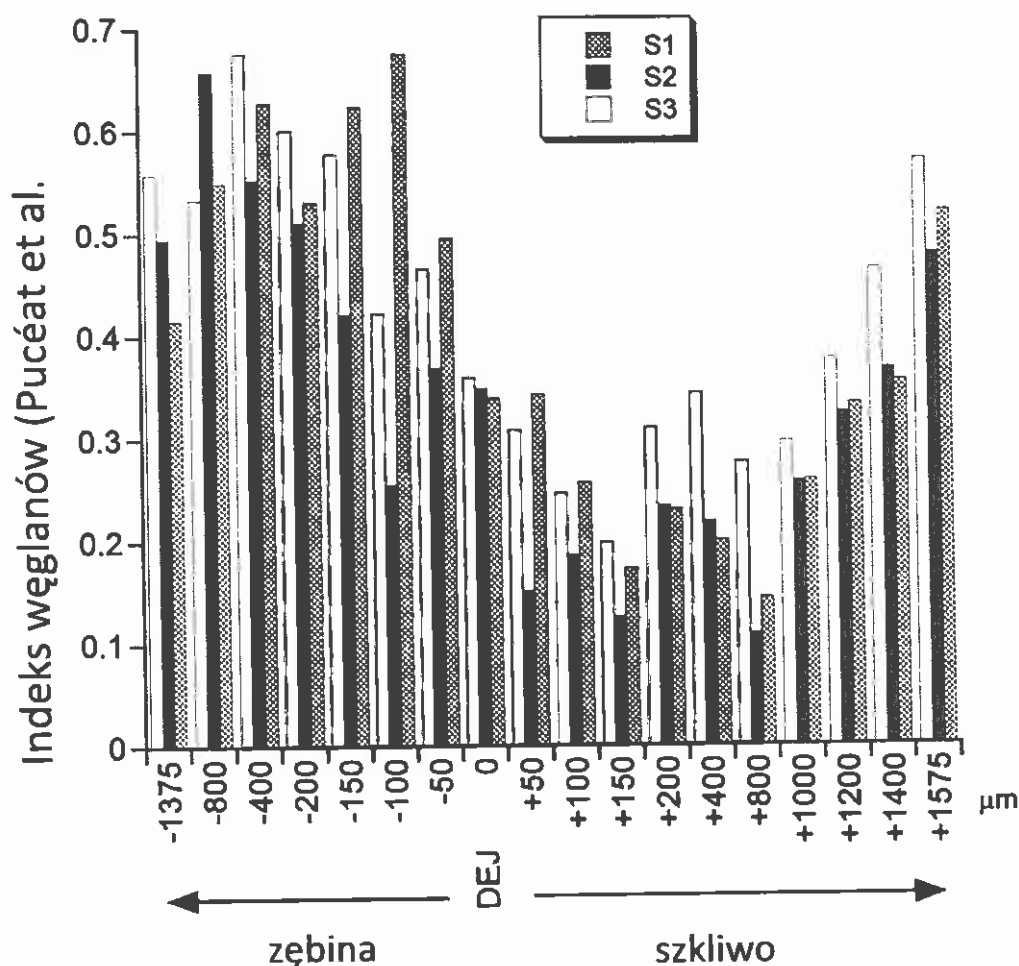
Obecnie w inżynierii biomateriałowej wykorzystywany jest przede wszystkim syntetyczny hydroksyapatyt. Ze względu na dużą zgodność z apatylem biologicznym oraz bioaktywność stosowany jest jako składnik biomateriałowych kompozytów dokostnych, powłoka metalicznych implantów ułatwiająca osteointegrację, nietoksyczny materiał stomatologiczny, czy też porowaty materiał kośćcozastępczy [20]. Obecnie dąży się do uzyskania większej biogodności materiału apatytowego a także do nadania mu dodatkowych korzystnych właściwości fizykochemicznych, biologicznych czy też mechanicznych. Wysoką biogodność można osiągnąć tworząc materiały podobne składem chemicznym oraz strukturą do tkanek zmineralizowanych. Z kolei dodatkowe korzystne cechy można zyskać wykorzystując podatność apatytów na podstawienia jonowe. Warto także wspomnieć, że ważnym nurtem współczesnych badań nad apatylami jest próba wykorzystania ich także jako nośników i systemów kontrolowanego uwalniania substancji leczniczych szczególnie w terapii schorzeń tkanki kostnej [21].

4.3. Omówienie wyników.

I Etap – Badanie struktury oraz właściwości fizykochemicznych apatytów biologicznych różnego pochodzenia

W pierwszym etapie prowadzonych prac zajęłam się określeniem struktury materiałów apatytowych pochodzenia naturalnego. Badania te objęły początkowo kontynuację zagadnień rozważanych przeze mnie w rozprawie doktorskiej, czyli ocenę budowy apatytów biologicznych szkliwa i zębiny zębów prawidłowych.

Zainteresował mnie przede wszystkim aspekt zawartości frakcji mineralnej, wody oraz węglanów w różnych częściach zęba. Warto zauważyć, że tkanki zmineralizowane mają niejednorodny skład chemiczny w obrębie zęba, dlatego zasadnym wydało mi się zbadanie struktury i składu chemicznego szkliwa i zębiny „po linii” odpowiednio od korony i miazgi do granicy szkliwno-zębinowej. Badania wykonałam na szlifach ludzkich zębów prawidłowych metodą mikrospektroskopii w średniej podczerwieni, z pikseli $50 \times 50 \mu\text{m}^2$. W pracy (H1) zaprezentowałam wyniki moich badań, które pokazały, że w szkliwie zawartość względna węglanów oraz fosforanów znacząco maleje w miarę oddalania się od powierzchni korony zęba. Względna zawartość wody maleje w tym samym kierunku, ale w mniejszym stopniu. W tkance zębiny zawartość fosforanów, wody oraz węglanów maleje w kierunku granicy szkliwno-zębinowej (rys.2). W ramach tej samej pracy zajęłam się także tematem struktury i składu tkanek w obrębie granicy szkliwno-zębinowej. Zagadnienie wydało mi się o tyle ciekawe, że obszar ten stanowi swoisty interfejs pomiędzy tkankami znacząco różniącymi się składem, funkcją biologiczną a także właściwościami mechanicznymi. Metodą mikrospektroskopii IR udało mi się uzyskać widmo granicy szkliwno-zębinowej i porównać je z uśrednionymi widmami szkliwa oraz zębiny. Badania pokazały, że średnia zawartość frakcji organicznej linii szkliwno-zębinowej jest mniejsza od zawartości tej frakcji w zębinie międzykanalikowej. Co ciekawe, średnia zawartość wody oraz fosforanów również była bardzo niska, co wynika najprawdopodobniej z mniejszego „upakowania” tkanki w obrębie granicy.



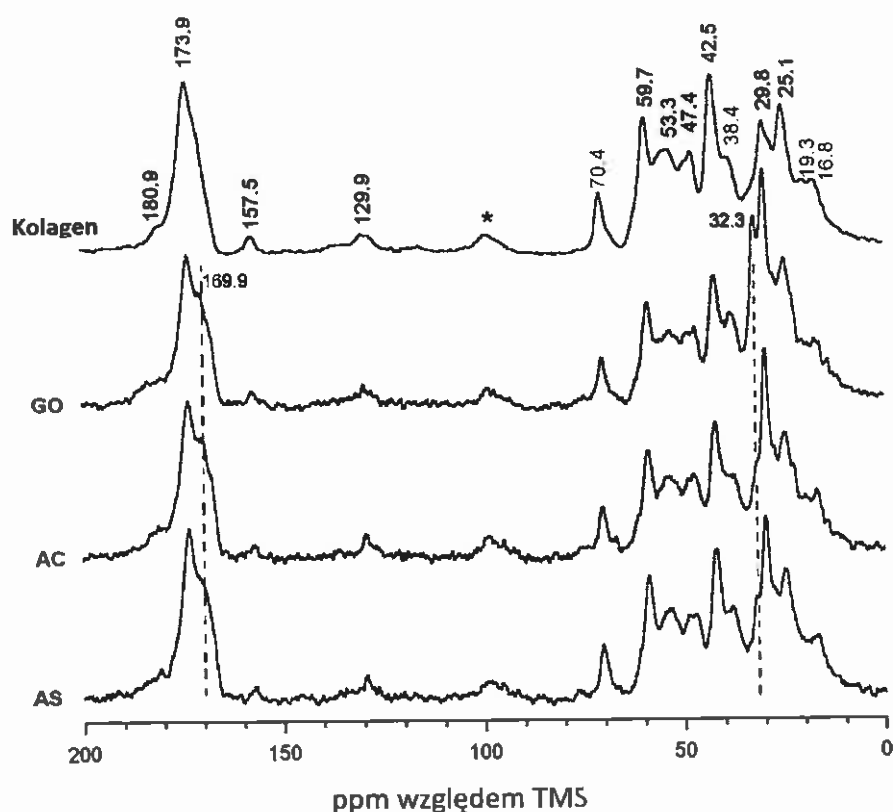
Rysunek 2. Dystrybucja jonów węglanowych w tkankach twardych zęba. DEJ – granica szkliwno-zębinowa, S1-S3 – próbki (szlify) zębów prawidłowych.

W odróżnieniu od szkliwa oraz zębiny, w obszarze granicy szkliwno-zębinowej nie wykryłam obecności kwaśnych grup fosforanowych.

Kolejnym moim celem była ocena obecności różnych rodzajów wody w szkliwie oraz zębinie. Wyniki uzyskane metodą spektroskopii w bliskiej podczerwieni (NIR) pokazują, że obydwie tkanki mają w swoim składzie wodę zaadsorbowaną na powierzchni kryształów apatytowych, natomiast tylko szkliwo zawiera wodę strukturalną, tzn. obecną w fazie krystalicznej (H2). Metodą spektroskopii NIR udało się potwierdzić obliczenia zawartości strukturalnych grup OH apatytów szkliwa i zębiny wykonane wcześniej metodą spektroskopii NMR (badania NMR przeprowadziłam w ramach pracy doktorskiej i opublikowałam [16]).

Bardzo ciekawym problemem wydała mi się ocena struktury i składu chemicznego zarejestrowanych ksenogenicznych preparatów kośćcozastępczych (H3). W dostępnym

piśmiennictwie nie znalazłam wielu prac poświęconych takiemu zagadnieniu. Do badań wybrałam preparaty pochodzące z kości świni (Tecnooss Dental, Italy), dostępne na polskim rynku. Preparaty Apatos spongiosa (AS) oraz Apatos cortical (AC) pochodziły odpowiednio z kości gąbczastej i zbitej i zgodnie ze specyfikacją różniły się czasem resorpcji. Według producenta, preparaty te pozbawione były kolagenu. Preparat Gen-Os (GO) stanowił mieszaninę kości zbitej i gąbczastej. Badania prowadziłam metodami dyfraktometrii proszkowej, termogravimetrii oraz metodami spektroskopowymi (FT-IR oraz NMR w cieple stałym). Przeprowadzone badania podważyły dane producenta o braku kolagenu w preparatach AS i AC. Wszystkie analizowane preparaty zawierały macierz organiczną, złożoną przede wszystkim z kolagenu (rys. 3.). Skład aminokwasowy różnił się jednak od tego w czystym kolagenie typu I (materiał użyty jako wzorzec). Najprawdopodobniej proces preparatyki materiałów wpływa na strukturę białek macierzy organicznej. Dodatkowo należy podkreślić, że materiały AC i AS różniły się składem aminokwasowym od preparatu GO. Udało się także ustalić, że apatyty budujące frakcję mineralną miały charakter nanokrystaliczny i podobnie jak w ludzkiej kości były zubożone w strukturalne grupy OH.



Rysunek 3. Widma ^{13}C CP MAS NMR badanych preparatów kościostępczych oraz kolagenu typu I. (AS – Apatos spongiosa, AC- Apatos cortical, GO – Gen-Os).

W ramach etapu I mojej pracy zajęłam się także analizą struktury i składu chemicznego łagodnych zmian nowotworowych pochodzenia zębowego (H4). Należy podkreślić, że tego typu tkanki nie były dotąd badane metodami fizykochemicznymi, dlatego nie była poznana ich budowa chemiczna. Zbadałam trzy rodzaje guzów pochodzenia zębowego: zębiniak (odontoma), włókniak kostniejący (fibrocementoma) oraz guz Pindborga. W badaniach wykorzystałam metody spektroskopowe wcześniej sprawdzone w badaniach tkanek zmineralizowanych prawidłowych, czyli spektroskopię IR oraz NMR. Badania wskazały, że wszystkie badane guzy zawierały oprócz macierzy organicznej, frakcję mineralną. Stosunek zawartości frakcji organicznej i mineralnej najwyższy był dla guza fibrocementoma. Najwyższy stopień krystaliczności frakcji apatytowej wykazał z kolei guz odontoma. Tkanki charakteryzowały się podobną względną zawartością węglanów. Porównanie składu chemicznego oraz struktury badanych guzów z tkankami prawidłowymi (kością szczęki oraz szkliwem) pokazało, że guz odontoma ma zbliżoną strukturę i skład do tkanki szkliva, natomiast fibrocementoma do tkanki kostnej. Guz Pindborga charakteryzował się przede wszystkim innym składem macierzy organicznej niż pozostałe badane tkanki. Dojrzałość minerału tkanek nieprawidłowych była znacznie niższa niż tkanki kostnej i szkliva. Otrzymane badania były zgodne z wynikami standardowej analizy histochemicznej.

II Etap - Poszerzenie warsztatu badawczego o nowe metody i techniki analityczne w badaniach apatytów biologicznych oraz syntetycznych

Do prawidłowej oceny budowy i składu apatytów biologicznych i syntetycznych potrzebne są różne metody analityczne. W badaniach jednorodności składu fazowego korzysta się przede wszystkim z dyfraktometrii proszkowej (PXRD), do oceny jakościowej apatytu służy najczęściej spektroskopia w średniej podczerwieni (FT-IR) lub spektroskopia Ramana, a do oceny morfologii wykorzystuje się metody mikroskopii elektronowej (SEM i TEM).

Do szczegółowych badań nad strukturą apatytów (np. oceny uwodnionej warstwy powierzchniowej, miejsca substytucji jonowej, obecności i lokalizacji „zanieczyszczeń”) próbuje się obecnie implementować inne metody, takie jak spektroskopię NMR w ciele stałym czy spektroskopię EPR. Przykładowo w ramach pracy doktorskiej opracowałam metodę oceny zawartości grup hydroksylowych w apatytach syntetycznych i biologicznych techniką tzw.

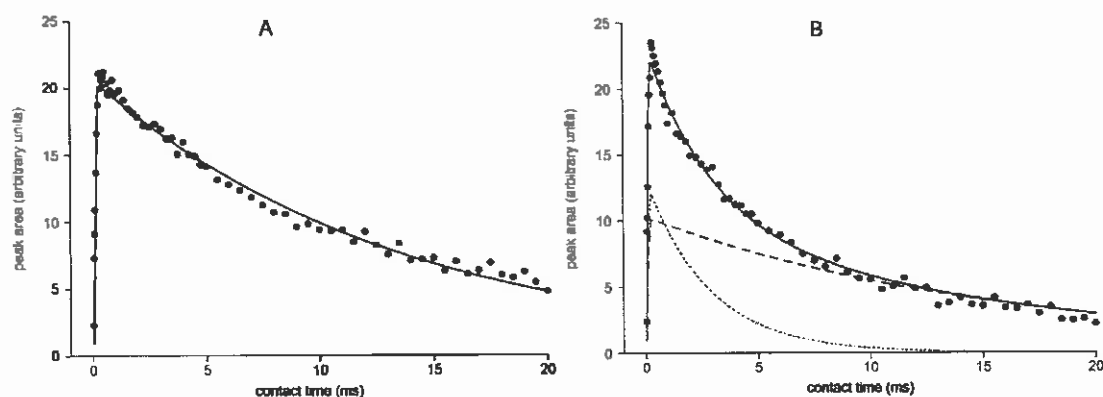
odwrotnej polaryzacji skrośnej (ang. inverse cross-polarization, inverse CP) a także szacowania powierzchni właściwej apatytów metodą NMR [16,22].

Moim celem naukowym jest poszerzanie warsztatu badawczego o nowe techniki i metody analityczne służące do oceny fizykochemicznych właściwości materiałów apatytowych.

W pracy **H5** rozwinęłam temat zastosowania techniki odwrotnej polaryzacji skrośnej. Warto wspomnieć, że technika CP służy głównie do wzmocnienia sygnału jąder rzadkich kosztem polaryzacji jąder licznych, np. wzmocnienie sygnału jąder węgla-13 kosztem polaryzacji protonów). Jednak eksperyment CP można wykonać także od jąder licznych (np. protonów) do innych jąder licznych (np. fosforu-31). W takiej sytuacji nie dochodzi do wzmocnienia sygnału, a eksperyment wykonywany jest w celu oceny struktury materiałów w ciele stałym. Standardowo wykonywany eksperyment jednoimpulsowy (tzw. Bloch-decay (BD) daje informacje o całej puli jąder badanych (^{31}P), natomiast eksperyment CP tylko o tych, które leżą w bliskiej odległości od protonów. Do oceny struktury materiału i dynamiki molekularnej wykorzystuje się kinetykę CP, a więc szereg eksperymentów CP uzyskiwanych dla różnych czasów kontaktu. W pracy (**H5**) zajęłam się zagadnieniem kinetyki odwrotnej CP hydratowanego hydroksyapatytu syntetycznego, a więc szeregiem 32 pojedynczych eksperymentów od jąder fosforu-31 do protonów dla czasów kontaktu w zakresie $25\ \mu\text{s}$ – 20 ms. Pojedynczy eksperyment jest widmem protonowym, a sygnały pochodzą od protonów znajdujących się w bliskim sąsiedztwie jąder fosforu-31. Na pojedynczym widmie obecne były dwa sygnały: przy ok. 0.0 ppm i 5.4 ppm, które można przypisać odpowiednio protonom strukturalnych grup hydroksylowych oraz protonom wody obecnej w HA. Analiza kinetyki $^{31}\text{P} \rightarrow ^1\text{H}$ CP NMR umożliwiła detekcję dwóch rodzajów wody na powierzchni kryształów badanego HA: silnie zaadsorbowanej oraz słabiej o większej mobilności. W badanym HA ok. 6 % wszystkich protonów tworzyło wodę silnie zaadsorbowaną, 18 % wodę bardziej mobilną, pozostałe protony wchodziły w skład strukturalnych grup OH. Badania przeprowadzone w ramach tej pracy pokazały, że kinetyka odwrotnej polaryzacji skrośnej dostarcza cennych informacji dotyczących składu apatytu, w szczególności jego uwodnionej warstwy powierzchniowej.

Kinetykę $^1\text{H} \rightarrow ^{31}\text{P}$ zastosowałam do badania HA wzbogaconego jonami Mn^{2+} (**H6**). Należy podkreślić, że obecność jonów paramagnetycznych utrudnia wykonanie tego typu eksperymentu. W pracy (**H6**) pokazałam, że w obecności niewielkich ilości jonów manganu (II)

eksperymenty CP były możliwe do wykonania, a kinetyka CP dostarczyła ważnych informacji o strukturze badanych materiałów (rys.4.).

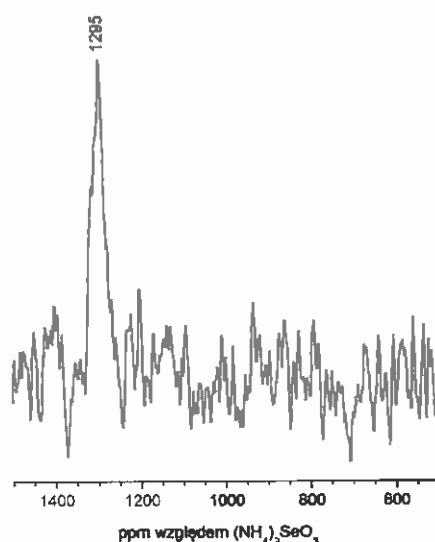


Rysunek 4. Kinetyka $^1\text{H} \rightarrow ^{31}\text{P}$ CP MAS NMR dla próbek apatytów zawierających jony Mn^{2+} i wygrzewanych w temperaturze 800°C (A) oraz 1250°C (B). Krzywa (B) dopasowana jest sumą dwóch funkcji z różnymi wartościami $T_{1\rho}^{\text{H}}$.

Z analizy wynika, że w próbce materiału wzbogaconego manganem i wygrzewanego w temperaturze 800°C jon Mn^{2+} zajmuje przede wszystkim pozycję Ca(I). Natomiast w wyższej temperaturze dochodzi do substytucji zarówno w miejsce Ca(I) jak i Ca(II). Rezultat tych badań pokazuje, że spektroskopia rezonansu jądrowego w ciele stałym może stanowić metodę komplementarną do dyfraktometrii rentgenowskiej w sytuacji, gdy nie dysponuje się monokryształem.

Metodę spektroskopii NMR w ciele stałym stosowałam również do badań innych modyfikowanych hydroksyapatytów, np. zawierających jony selenu, krzemu czy jony węglanowe (H7-H9). Warto wspomnieć, że metoda NMR w ciele stałym nie jest metodą rutynową i każdy z przeprowadzonych eksperymentów wymagał ustawień odpowiednich parametrów. Eksperymenty ^{77}Se CP NMR wykonane dla materiałów apatytowych wzbogaconych w selen zostały po raz pierwszy zaprezentowane w pracy (H7). Trzeba podkreślić, że badania ^{77}Se NMR stanowią wyzwanie dla badacza. Mimo spinu jądrowego $\frac{1}{2}$ oraz abundancji 7.58 %, jądra selenu charakteryzują się bardzo długimi czasami relaksacji spinowo-sieciowej. Dlatego wykonanie standardowego eksperymentu BD czasem okazuje się niemożliwe. W pracy (H7) zastosowałam technikę CP od protonów do jąder selenu-77. W ten sposób wykorzystałam krótki czas relaksacji protonowej a także uzyskałam wzmocnienie jąder rzadkich (^{77}Se) kosztem polaryzacji licznych protonów. Dzięki technice CP udało się uzyskać

sygnały jąder selenu-77 zarówno w materiale wzbogaconym w jony selenianowe IV jak i VI (rys.5).



Rysunek 5. Widmo ^{77}Se CP MAS NMR apatyty zawierającego jony selenianowe IV.

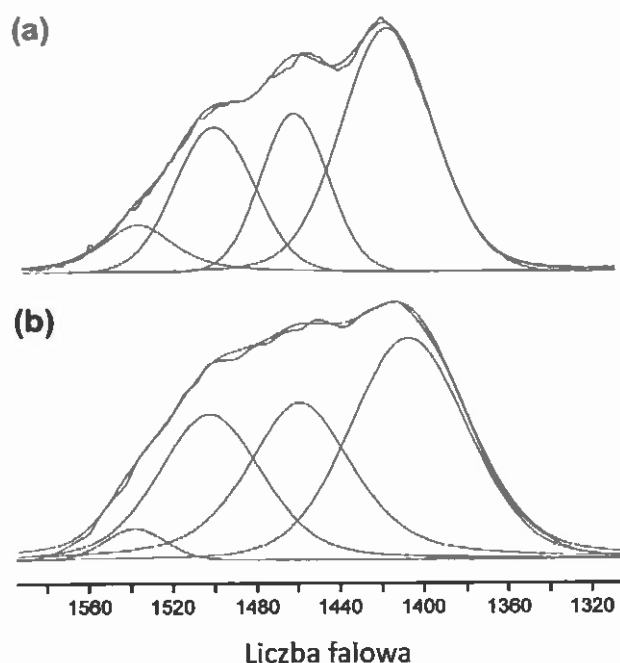
Zastosowanie obydwu technik BD i CP w eksperymentach ^{29}Si NMR wykonanych dla apatyty wzbogaconego w krzem pozwoliło z kolei na stwierdzenie obecności jonów krzemianowych zarówno we wnętrzu kryształów HA jak i w uwodnionej warstwie powierzchniowej (**H8**).

W moich pracach nad apatytami obserwowałam zmiany szerokości połówkowej (FWHM) otrzymywanych sygnałów ^{31}P pod wpływem inkorporacji jonów-modyfikatorów do kryształów HA a także różnice w intensywności sygnałów eksperymentów CP i BD (**H7-H10**). Wyniki tych obserwacji dostarczyły danych na temat krystaliczności materiałów oraz efektywności polaryzacji skrośnej.

W pracy (**H2**) przedstawiłam możliwości zastosowania metody spektroskopii w bliskiej podczerwieni (NIR) w badaniach apatytów syntetycznych oraz biologicznych. Warto podkreślić, że w standardowo wykonywanych widmach w średniej podczerwieni pasma strukturalnych grup hydroksylowych występujące przy ok. 3572 (pasmo drgań rozciągających) oraz 631 cm^{-1} (pasmo drgań libracyjnych) nakładają się odpowiednio z szerokim i intensywnym pasmem wody oraz ν_4 fosforanów. Szczegółowa analiza tych pasm jest więc utrudniona. Zastosowanie NIR umożliwiło obserwację pasm pochodzących od drgań strukturalnych grup OH, ponieważ w obszarze 10000-10500 cm^{-1} występuje wyłącznie pasmo nadtonów tych grup. Ilościowa analiza tych pasm pozwoliła na potwierdzenie zawartości grup OH w apatycie szkliva

i zębiny obliczonych wcześniej na podstawie danych NMR. Dodatkowo przeprowadziłam dyskusję pasm pochodzących od różnych rodzajów wody oraz grup P-OH.

Aby uzyskać jak najwięcej informacji strukturalnych z widm NMR oraz FT-IR korzystałam techniki rozdzielania linii eksperymentalnych (ang. curve fitting) za pomocą odpowiednich programów do obróbki widm. Wyniki tak przeprowadzonej analizy widm ^{31}P CP i BD oraz ^1H NMR w pracy (H6) pozwoliły na detekcję nawet niewielkich ilości innych faz (TTCP, α -TCP, oksyapatytu) w materiałach apatytowych. Z kolei na widmach wykonanych techniką odwrotnej CP udało się zaobserwować sygnał grup P-OH (H11). Technikę rozkładu linii eksperymentalnych stosowałam również dla widm spektroskopii w średniej podczerwieni. Pozwoliło to na uzyskanie znacznie więcej informacji dotyczących przede wszystkim obecności kwaśnych grup fosforanowych, węglanów typu A, B oraz węglanów labilnych na powierzchni kryształów apatytów (rys.6.). Dodatkowo było możliwe wyznaczenie indeksu krystaliczności oraz dojrzałości minerału.



Rysunek 6. Dekonwolucja pasm węglanów w widmie FT-IR dla próbki apatytu zawierającego jony Mg^{2+} oraz CO_3^{2-} . Widmo wykonane techniką transmisyjną (a) oraz fotoakustyczną (b).

III Etap – Synteza oraz badanie apatytów syntetycznych modyfikowanych różnymi jonami o potencjalnym znaczeniu biomedycznym

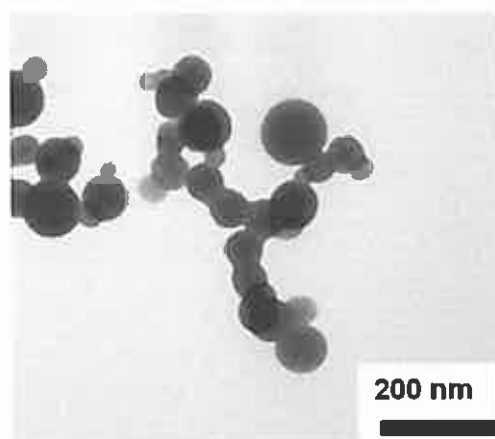
Kolejnym zagadnieniem, którym zajęłam się w ramach pracy było opracowanie metod otrzymywania i synteza modyfikowanych materiałów hydroksyapatytowych o konkretnych właściwościach fizykochemicznych i/lub biologicznych. Etap ten obejmował także szczegółowe zbadanie struktury oraz składu chemicznego metodami opracowanymi w etapie II.

W pierwszym kroku we współpracy z grupą prof. Ślósarczyk (AGH) podjęliśmy się opracowania materiału apatytowego zbliżonego strukturą i składem chemicznym do apatytu biologicznego. Jak wspomniałam we wprowadzeniu apatyt biologiczny jest nanokrystalicznym hydroksyapatytem węglanowym zawierającym szereg różnorodnych jonów. Jednym z głównych „zanieczyszczeń” jest magnez (do ok. 0.55 % wag.). Dlatego celem pracy (H9) była synteza hydroksyapatytu zawierającego jony węglanowe oraz jony magnezu w ilościach podobnych do tych w apatycie biologicznym. Grupa prof. Ślósarczyk przeprowadziła syntezę takiego apatytu standardową metodą mokrą (próbka Mg-CHA). Dla porównania tą samą metodą otrzymano także hydroksyapatyt węglanowy (CHA) oraz czysty hydroksyapatyt (HA). Do oceny otrzymanych materiałów wykorzystałam szeroki wachlarz metod analitycznych, tj. spektroskopię w średniej podczerwieni z wykorzystaniem techniki transmisyjnej oraz fotoakustycznej, spektroskopię NMR (rezonans jądrowy ^{31}P , ^1H , ^{13}C), dyfraktometrię proszkową, mikroskopię elektronową SEM oraz TEM, termogravimetrię, mikroanalizę (EDS) oraz spektrometrię atomową (ASA). Materiał Mg-CHA był nanokrystaliczny, o średniej wielkości kryształów ok. 22 nm. Płatkowate kryształy Mg-CHA wykazywały wysoką tendencję do aglomeracji, dlatego też ich powierzchnia właściwa była niższa ($74.3 \text{ m}^2/\text{g}$) od powierzchni apatytu kostnego ($> 100 \text{ m}^2/\text{g}$). Węglany stanowiły ok. 5.2 % wag., a magnez ok. 0.33 % wag. w próbce Mg-CHA, co było zgodne z ich zawartością w apatycie kostnym. Węglany zostały wbudowane przede wszystkim w miejsce jonów ortofosforanowych (substytucja typu B). Zastosowane metody analityczne pozwoliły także na analizę obecności jonów HPO_4^{2-} oraz różnych rodzajów wody w badanych materiałach. W pracy otrzymano hydroksyapatyt modyfikowany jonami magnezu oraz jonami węglanowymi o strukturze, składzie chemicznym i morfologii kryształów zbliżony do apatytu kostnego.

Efektem długofalowej współpracy z zespołem prof. Ślósarczyk jest również praca nad hydroksyapatytem syntetycznym wzbogaconym w jony manganu (II) (H6). Mangan jako istotny pierwiastek śladowy dla funkcjonowania ludzkiego organizmu odgrywa również kluczową rolę w metabolizmie tkanki kostnej. Bierze udział w syntezie mukopolisacharydów,

wpływa na rozwój macierzy organicznej kości. Ważną jego funkcją z punktu widzenia biomateriałów jest także indukcja integryn (białek biorących udział w adhezji komórkowej). Stwierdzono, że dodatek manganu do materiałów apatytowych korzystnie wpływa na zespolenie materiału z tkanką kostną. W dostępnym piśmiennictwie pojawiły się doniesienia o korzystnym wpływie manganu na właściwości mechaniczne ceramiki apatytowej. W ramach współpracy podjęłam się zbadania zmian w strukturze HA wzbogaconego w małe ilości jonów manganu (II) pod wpływem wygrzewania materiału w wysokich temperaturach. Okazało się, że materiał wygrzewany w temperaturze 800 °C charakteryzuje się budową nanokrystaliczną, podczas gdy proces wypalania w wyższej temperaturze (1250 °C) powoduje powstanie cząstek znacznie większych (o rozmiarach ponad 1 µm). Obecność jonów Mn^{2+} w HA znacząco ułatwia proces dehydroksylacji hydroksyapatytu i jego termiczny rozkład do oksyhydroksyapatytu, oksyapatytu, TTCP oraz α -TCP.

Bardzo interesujące i szeroko omawiane w światowym piśmiennictwie jest wprowadzanie jonów krzemianowych (SiO_4^{4-}) do struktury HA. Krzem jest pierwiastkiem odgrywającym ważną rolę w procesach metabolicznych związanych z rozwojem tkanki kostnej (biomineralizacji i tworzenia tkanki kostnej). Dodatkowo badania wykazały, że wprowadzenie jonów krzemianowych do HA poprawia znacząco jego bioaktywność, co związane jest przede wszystkim ze zwiększoną rozpuszczalnością modyfikowanego HA. Hydroksyapatyty wzbogacone w krzem można uzyskać różnymi metodami syntezy (mokra, hydrotermalna, mechanochemiczna, sucha) i korzystając z różnych źródeł krzemu (np. octan krzemu, TEOS). Oczywiście, metoda syntezy a także wykorzystywane odczynniki będą wpływać na właściwości fizykochemiczne otrzymywanych materiałów, a tym samym na ich właściwości biologiczne. W pracy (H8) zajęłam się zbadaniem właściwości apatytu wzbogaconego w krzem otrzymanego metodą mokrą i poddanego procesowi kondensacji w fazie gazowej (techniką NanoSpray Combustion™). Badany materiał był nanokrystaliczny, charakteryzował się kulistymi, regularnymi cząstkami (patrz rys.7.). Krzem w postaci jonów krzemianowych znajdował się zarówno we wnętrzu nanokryształów jak i na ich powierzchni. Zaobserwowałam znaczące obniżenie zawartości strukturalnych grup hydroksylowych (do 10 %) względem stechiometrycznego HA. Wynika to zapewne z mechanizmu substytucji: wprowadzenie anionu krzemianowego SiO_4^{4-} w miejsce anionu PO_4^{3-} wymaga usunięcia dodatkowo jonu OH^- .



Rysunek 7. Obraz TEM cząstek apatytu zawierającego jony krzemianowe Si-HA (Sigma-Aldrich). Materiał otrzymano techniką NanoSpray Combustion™.

Temat wbudowania jonów krzemianowych do struktury HA kontynuowałam w ramach projektu POMOST. Jednym z problemów, jakie chciałam rozwiązać było wprowadzanie odpowiednich ilości jonów krzemianowych i ich odpowiednia lokalizacja. Doświadczenie uzyskane w projekcie N N204 127037 pokazało, że w stosowanych metodach mokrych podczas przemywania osadów dochodzi do wymywania części jonów krzemianowych, tych zaadsorbowanych na powierzchni kryształów HA. Zaproponowałam nową metodę efektywnego otrzymywania materiału zawierającego krzem (zgłoszenie patentowe P2). Tą metodą otrzymuje się materiał mikrokryształiczny, który może być zastosowany do materiałów ceramicznych powoli resorbowalnych w organizmie (w odróżnieniu od materiału nanokryształicznego uzyskiwanego metodą mokrą, który znacznie łatwiej ulega bioresorpcji). Tak otrzymany materiał może być zastosowany do tworzenia powłok na implantach metalicznych, które zwiększają biogodność i ułatwiają wrastanie nowotworzonej kości w implant. Dodatkową zaletą jest możliwość syntezy apatytu zawierającego jony krzemianowe oraz inny dodatek, np. kationy magnezu czy manganu.

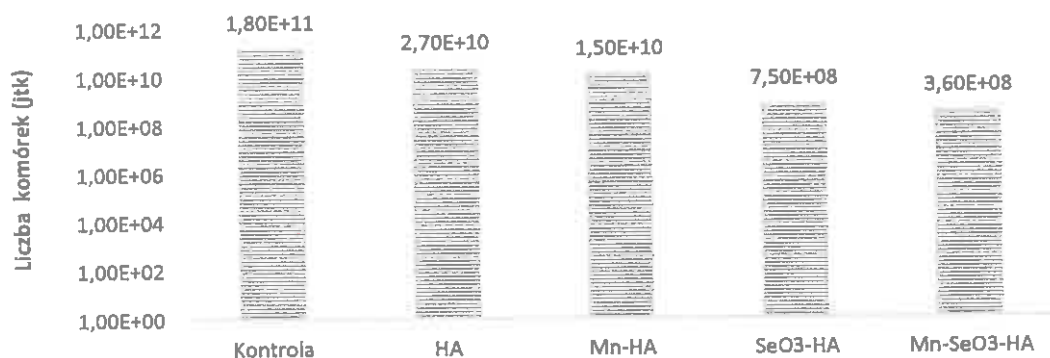
Oprócz wzbogacania syntetycznego HA w jony, które fizjologicznie występują w apatytach biologicznych (Mg^{2+} , Mn^{2+} , CO_3^{2-} , SiO_4^{4-}), zainteresował mnie także aspekt dodatku jonów „obcych” o udowodnionym korzystnym działaniu w stanach chorobowych tkanki kostnej. W dostępnym piśmiennictwie można znaleźć wiele prac poświęconych substytucji jonów o aktywności antybakteryjnej (przede wszystkim Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+}). Podsumowanie piśmiennictwa dotyczącego powyższego zagadnienia zawarłam w pracy przeglądowej (H11).

W ramach projektu studenckiego (FW23/NM1/13) opracowano metodę otrzymywania apatyty węglanowego zawierającego jony srebra. Nasze badania pokazały, że taki materiał wykazuje silniejszą aktywność antybakteryjną od przygotowanego tą samą metodą hydroksyapatytu zawierającego wyłącznie jony srebra (publikacja w przygotowaniu).

W mojej pracy podjęłam się opracowania metody syntezy apatyty zawierającego selen. Selen należy do pierwiastków śladowych niezbędnych w naszej diecie. Jeszcze do niedawna selen uważany był za pierwiastek silnie toksyczny. Jednak badania dowiodły, że odgrywa on znaczącą rolę w procesach metabolicznych jako składnik enzymu (peroksydazy glutationowej) i selenoprotein. Selen bierze udział w hamowaniu wzrostu komórek nowotworowych. Dowiedziono także, że niedobór selenu może wpływać hamująco na wzrost kości u szczurów i znacząco obniżać ich wytrzymałość. Okazuje się także, że selen indukuje apoptozę komórek nowotworowych kości i przerzutów nowotworowych do kości. Dlatego wydawało mi się zasadne opracowanie hydroksyapatytu zawierającego jony selenu, który mógłby potencjalnie znaleźć zastosowanie w wypełnianiu ubytków kostnych spowodowanych przerzutami nowotworowymi. Materiał zawierający jony selenianowe IV lub selenianowe VI oraz metoda jego otrzymywania została objęta ochroną patentową (HP1). Badania nad HA wzbogaconym selenem prowadziłam i nadal kontynuuję w ramach projektu Sonata NCN. Prace (H7,H12) są podsumowaniem moich badań dotyczących otrzymywania i struktury oraz właściwości fizykochemicznych nanokrystalicznych materiałów apatytowych wzbogaconych w selen. Otrzymane materiały charakteryzują się bardzo drobnymi kryształami, ich wielkość była zbliżona do wielkości kryształów apatyty kostnego. Udało się wprowadzić ok. 9.8 % wag. selenu zarówno w postaci jonów selenianowych IV jak i VI. Wprowadzenie jonów selenianowych znacząco wpływa na rozmiar kryształów, krystaliczność materiału apatytowego a także na zawartość strukturalnych grup hydroksylowych. Na podstawie przeprowadzonych badań metodami spektroskopii IR oraz NMR potwierdziłam obecność jonów selenianowych we wnętrzu kryształów HA. Zaproponowałam schemat mechanizmu substytucji tych jonów w miejsce jonów ortofosforanowych. Przeprowadzone badania cytotoksyczności pokazały, że tylko apatyt zawierający jony SeO_3^{2-} jest toksyczny, co zgodne jest z danymi literaturowymi dotyczącymi toksyczności selenu na różnym stopniu utlenienia.

Z kolei w ramach projektu POMOST przeprowadziłam także kosubstytucję jonów manganu oraz jonów selenianowych IV w HA (H10). Moim celem było nadanie apatytowi wzbogaconemu w selen korzystnych właściwości związanych z obecnością jonów Mn^{2+} , czyli

polepszenie jego właściwości osteointegracyjnych. Udało się otrzymać jednorodny fazowo nanokrystaliczny apatyt zawierający ok. 3.6 % wag. selenu i ok. 0.29 % wag. manganu. Stwierdziłam obecność rozbudowanej uwodnionej warstwy powierzchniowej, w której częściowo zlokalizowane były jony selenu. Tak przygotowany materiał wykazał aktywność antybakteryjną przeciwko szczepom *S. aureus* oraz *E. coli* (rys. 8). Etap badań biologicznych jest prowadzony przez zespół dr Rodriguez-Lorenzo (ICPT, Hiszpania).



Rysunek 8. Aktywność antybakteryjna przeciwko *S. aureus* materiałów apatytowych: HA – czysty hydroksyapatyt, Mn-HA – apatyt zawierający jony Mn^{2+} , SeO_3 -HA – apatyt zawierający jony selenianowe IV oraz Mn- SeO_3 -HA – apatyt wzbogacony w jony Mn^{2+} i SeO_3^{2-} .

Zagadnienie kosubstytucji jonów podjęłam także opracowując metodę otrzymywania hydroksyapatytu zawierającego jony boranowe oraz jony strontu.

Stront wykazuje potwierdzone badaniami klinicznymi korzystne działanie na tkankę kostną dotkniętą osteoporozą. Z jednej strony ma zdolność hamowania różnicowania oraz aktywności osteoklastów, z drugiej zaś strony pobudza aktywność osteoblastów i stymuluje replikację preosteoblastów. Efektem działania strontu jest produkcja kolagenu przez dojrzałe osteoblasty oraz mineralizacja osteoidu. Dzięki temu stront obecnie wykorzystywany jest w

leczeniu osteopenii oraz w profilaktyce i leczeniu osteoporozy u kobiet w okresie pomenopauzalnym. W dostępnym piśmiennictwie istnieje wiele prac poświęconych materiałom apatytowym domieszkowanym jonami strontu o potencjalnym zastosowaniu w leczeniu ubytków kostnych spowodowanych osteoporozą.

Jak dowodzą liczne badania bor jest mikroelementem, który na poziomie molekularnym odgrywa ważną rolę w metabolizmie kości i jest niezbędny dla prawidłowej regulacji gospodarki wapniowej organizmu. Zapobiega on utracie kośćca i chroni przed rozwojem osteoporozy. W związku z powyższym uznałam za interesujące opracowanie materiału apatytowego, który w swoim składzie zawierałby jednocześnie stront oraz bor. Sposoby otrzymania takiego materiału oraz sam materiał zostały zgłoszone do Urzędu Patentowego (zgłoszenie patentowe P3). Jednocześnie we współpracy z zespołem prof. Gangloff z Uniwersytetu w Reims trwają prace nad sprawdzeniem właściwości biologicznych otrzymanych materiałów w warunkach in vitro.

4.4. Podsumowanie

Do najważniejszych osiągnięć wynikających z badań nad strukturą i składem apatytów biologicznych i syntetycznych mogę zaliczyć:

- Zbadanie składu chemicznego oraz struktury granicy szklino-zębinowej
- Zbadanie składu chemicznego minerału tkanek nowotworowych pochodzenia zębowego i jego ocena histochemiczna metodami spektroskopowymi
- Poszerzenie warsztatu badawczego do analizy uwodnionej warstwy powierzchniowej apatytów o technikę kinetyki odwrotnej CP oraz spektroskopię NIR
- Opracowanie otrzymywania nanokrystalicznego apatyty wzbogaconego w selen
- Opracowanie metod otrzymywania hydroksyapatytu wzbogaconego jonami strontu oraz jonami boranowymi
- Opracowanie nowej metody otrzymywania mikrokrystalicznego hydroksyapatytu zawierającego jony krzemianowe
- Zbadanie wpływu temperatury na lokalizację jonów manganu II w apatycie wzbogaconym w mangan
- Opracowanie badań spektroskopowych materiałów apatytowych modyfikowanych jonami.

Piśmiennictwo:

1. Dorozhkin S.V., Calcium Orthophosphates in Nature, Biology and Medicine. *Materials* 2009; 2; 399-498.
2. Loca D., Locs J., Dubnika A., Zalite V., Berzina-Cimdina L., Porous hydroxyapatite for drug delivery, in: Mucalo M. (Ed.). *Hydroxyapatite (HAp) for Biomedical Applications*. Elsevier, Amsterdam, 2015, pp.189-209.
3. Paschalis E.P., Betts F., DiCarlo E., Mendelsohn R., Boskey A.L., FTIR Microspectroscopic Analysis of Normal Human Cortical and Trabecular Bone, *Calcif. Tissue Int.* 1997; 61; 480-486.
4. Boskey A.L., Pleshko Camacho N., FT-IR Imaging of Native and Tissue-Engineered Bone and Cartilage. *Biomaterials* 2007; 28(15); 2465-2478.
5. Nikel O., Laurencin D., Bonhomme C., Sroga G.E., Besdo S., Lorenz A., Vashishth D., Solid state NMR investigation of intact human bone quality: balancing issues and insight the structure at the organic-mineral interface. *J. Phys. Chem. C* 2012; 116(10); 6320-6331.
6. Kolodziejski W., Solid-state NMR of bone. *Top. Curr. Chem.* 2004; 246; 235-270.
7. Faibish D., Ott S.M., Boskey A.L., Mineral changes in osteoporosis. A review. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2006; 443; 28-38.
8. Boskey A.L. Bone composition: relationship to bone fragility and antiosteoporotic drug effects, *BoneKey Reports* 2013; 2; 447.
9. Akgun O.M., Bayari S.H., Ide S., Polat G.G., Kalkhoran I.O., Micro- and nanoscale structures of mesiodens dentin: combined study of FTIR and SAXS/WAXS techniques. *Microsc. Res. Tech.* 2015; 78(1); 52-58.
10. Yi H., Balan E., Gervais C., Segalen L., Roche D., Person A., Fayon F., Morin G., Babonneau F., Probing atomic scale transformation of fossil dental enamel using Fourier transform infrared and nuclear magnetic resonance spectroscopy: a case study from the Tugen Hills (Rift Gregory, Kenya). *Acta Biomater.* 2014; 10(9); 3952-3955.
11. Tesch W., Eidelman N., Roschger P., Goldenberg F., Klaushofer K., Fratzl P., Graded microstructure and mechanical properties of human crown dentin, *Calcif. Tissue Int.* 2001; 69(3); 147-157.
12. Sampath Kumar T.S. Physical and Chemical Characterization of Biomaterials, in: Bandyopadhyay A., Bose S. (Eds.), *Characterization of biomaterials*. Elsevier, Waltham, 2013; pp. 11-47.
13. Cazalbou S., Combes C., Eichert D., Rey C., Glimcher M.J., Poorly crystalline apatites: evolution and maturation in vitro and in vivo, *J. Bone Miner. Metab.* 2004; 22(4); 310-317.
14. Rey C., Combes C., Drouet C., Sfihi H., Barroug A., Physico-chemical properties of nanocrystalline apatites: implications for biominerals and biomaterials. *Mater. Sci. Eng. C* 2007; 27; 198-205.
15. Elliott C., *Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates*, Elsevier, Amsterdam, 1994.
16. Kolmas J., Kolodziejski W., Concentration of hydroxyl groups in dental apatite: A solid-state ^1H MAS NMR study using inverse $^{31}\text{P} \rightarrow ^1\text{H}$ cross-polarization, *Chem. Comm.* 2007; 4390-4392.

17. Cho G., Wu Y., Ackerman J.L., Detection of hydroxyl ions in bone mineral by solid-state NMR spectroscopy, *Science* 2003; 300(5622); 1123-1127.
18. Wopenka B., Pasteris J.D., A mineralogical perspective on the apatite in bone, *Mater. Sci. Eng. C* 2005; 25; 131-143.
19. Pajchel L., Kolodziejski W., Solid-state NMR, TEM and TGA studies of structural hydroxyl groups and water in nanocrystalline apatite prepared by dry milling, *J. Nanopart. Res.* 2013; 15(8); 1868.
20. Sopyan I., Mel M., Ramesh S., Khalid K.A., Porous hydroxyapatite for artificial bone applications, *Sci. Tech. Adv. Mater.* 2007; 8 (1-2); 116-123.
21. Iafisco M., Sprio S., D'Alessandro T., Tampieri A. Applications of biomimetic nanocrystalline apatites in drug delivery and tissue engineering. In: Gshalaev V.S., Demirchan A.C. (Eds.) *Hydroxyapatite: synthesis, properties and applications*. Nova Science Publishing, New York, 2013; pp. 215-242.
22. Kolmas J., Ślósarczyk A., Wojtowicz A., Kolodziejski W. Estimation of the specific surface area of apatites in human mineralized tissues using ^{31}P MAS NMR, *Solid State Nucl. Magn. Reson.* 2007; 32(2); 53-58.

5. POZOSTAŁE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWE

5.1. Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych

Moja droga naukowa ściśle związana jest z Wydziałem Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Po ukończeniu studiów na tym Wydziale w 1999 roku pracą dyplomową dotyczącą badań spektroskopowych kolagenu oraz wpływu sterylizacji radiacyjnej na jego strukturę, rozpoczęłam pracę w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej jako asystent. Początkowo zostałam włączona w prace badawcze we współpracy z Katedrą i Zakładem Farmacji Stosowanej dotyczące badań twardości tabletek metodą spektroskopii w średniej podczerwieni. Jednocześnie wraz z prof. Wacławem Kołodziejskim podjęłam współpracę z prof. Anną Ślósarczyk z Akademii Górniczo-Hutniczej oraz z prof. Jadwigą Tritt-Goc dotyczącą badań kształtek hydroksyapatytowych otrzymywanych z materiałów o różnej porowatości. Efektem wspólnych badań była publikacja w *Molecular Physics Reports* (1). W 2001 roku rozpoczęłam współpracę z prof. Andrzejem Wojtowiczem z Zakładu Chirurgii Stomatologicznej WUM oraz kontynuowałam współpracę z prof. Anną Ślósarczyk z AGH. Pojawił się wówczas pomysł na interdyscyplinarną pracę badawczą dotyczącą analizy porównawczej apatytów biologicznych tkanek zmineralizowanych zęba oraz hydroksyapatytu syntetycznego. Otrzymane do badań próbki tkanek twardych zęba (szlify oraz próbki sproszkowane) zębów prawidłowych oraz zębów zatrzymanych oraz nadliczbowych zbadałam metodą spektroskopii w średniej podczerwieni, co zaowocowało dwiema pracami w *Dental and Medical Problems*

(2,3). Po 5 latach badań, w 2006 roku otrzymałam dyplom z wyróżnieniem doktora nauk farmaceutycznych za badania NMR i IR apatytów tkanek zmineralizowanych zęba oraz hydroksyapatytu syntetycznego. Wyniki uzyskane w pracy doktorskiej opublikowałam w prestiżowym czasopiśmie Chemical Communications (4) a także w Solid State Nuclear Magnetic Resonance (5).

Wykaz prac opublikowanych przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych (oraz związanych z pracą doktorską).

1. Joanna Boguszyńska, Jadwiga Tritt-Goc, Anna Ślósarczyk, **Joanna Kolmas**, *Magnetic resonance microimaging of pore freezing in hydroxyapatite*, Molecular Physics Reports, 34(2) (2001) 79-83. IF=0.000, MNiSW/KBN=0
Mój wkład: wykonanie eksperymentów FT-IR i ich interpretacja.
Mój udział procentowy szacuję na 20 %.
2. Piotr Wychowański, Emil Kalinowski, Kornel Kosieradzki, **Joanna Kolmas**, Wacław Kołodziejski, Andrzej Wojtowicz, *Analiza porównawcza szkliwa, zębiny i cementu metodą mikrospektroskopii w średniej podczerwieni*, Dental and Medical Problems, 41 (2004) 413-416. IF=0.000, MNiSW/KBN=2
Mój wkład: koncepcja pracy, wykonanie części eksperymentalnej (badania FT-IR), napisanie pracy
Mój udział procentowy szacuję na 40 %.
3. Piotr Wychowański, **Joanna Kolmas**, Emil Kalinowski, Dariusz Krzywicki, Paweł Chomicki, Marta Gąsiorowska, Andrzej Wojtowicz, Wacław Kołodziejski, *Analiza porównawcza szkliwa i zębiny ludzkich zębów prawidłowych oraz nadliczbowych metodą mikrospektroskopii w zakresie średniej podczerwieni*, Dental and Medical Problems, 43 (2006) 53-57. IF=0.000, MNiSW/KBN=3
Mój wkład: koncepcja pracy, wykonanie części eksperymentalnej, napisanie części pracy
Mój udział procentowy szacuję na 40 %.
4. **Joanna Kolmas**, Wacław Kołodziejski, *Concentration of hydroxyl groups in dental apatites: a solid-state ^1H MAS NMR study using inverse $^{31}\text{P} \rightarrow ^1\text{H}$ cross-polarization*, Chemical Communications, (2007) 4390-4392, IF=5.141, MNiSW/KBN=32

Mój wkład: wykonanie części eksperymentalnej, opracowanie i interpretacja wyników, napisanie pierwszej wersji manuskryptu

Mój udział procentowy szacuję na 40 %.

5. **Joanna Kolmas**, Anna Ślósarczyk, Andrzej Wojtowicz, Wacław Kołodziejski, *Estimation of the specific surface area of apatites in human mineralized tissues using ^{31}P MAS NMR*, Solid State NMR 32 (2007) 53-58, IF=1.508, MNiSW/KBN=27

Mój wkład: wykonanie części eksperymentalnej, opracowanie i interpretacja wyników, napisanie pierwszej wersji manuskryptu

Mój udział procentowy szacuję na 30 %.

5.2. Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych kontynuowałam współpracę z zespołem prof. Ślósarczyk zarówno w zakresie badań nad apatytami, jak i innymi fosforanami wapnia o znaczeniu biomedycznym. Współpracuję także nadal z prof. Wojtowiczem w zakresie problematyki wszczepiania implantów zębowych. Szczególnie interesujące wydaje się być zagadnienie odrzucania wszczepu przez ludzki organizm i tworzenie tkanki kostnej w obrębie wszczepianego implantu.

Kontynuuję prace nad nowymi materiałami apatytowymi zawierającymi jony o korzystnych właściwościach. Samodzielnie otrzymuję takie materiały na drodze syntezy chemicznej. Badam zależność morfologii kryształów, stopnia inkorporacji jonów i właściwości otrzymywanych apatytów od rodzaju syntezy.

Otrzymane apatyty służą mi do tworzenia kształtek i granulek, a także stanowią element kompozytów polimerowo-ceramicznych. Temat kompozytów prowadzę w ramach współpracy z grupą polimerowców z mojego Zakładu. Na ten cel w 2012 roku otrzymałam finansowanie z Narodowego Centrum Nauki (program Sonata-2 na lata 2012-2017). Zagadnienie kompozytów ceramiczno-polimerowych zamierzam zgłębiać w kolejnych etapach mojej pracy naukowej.

W tym roku złożyłam wniosek o kolejny grant na finansowanie badań dotyczących opracowania nowego multifunkcyjnego materiału kompozytowego do zastosowań w osteoporozie.

Wykaz prac opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych (wykaz nie obejmuje prac przedstawionych w punkcie 3.2.).

1. Joanna Mystkowska, Paweł Deptuła, **Joanna Kolmas**, Jan Ryszard Dąbrowski, *Surface activity of titanium alloys contacted with the simulated body fluid*, Journal of Vibroengineering, 11(4) (2009) 725-729, **IF=0.357, MNiSW/KBN=0**
Mój wkład: wykonanie eksperymentów FT-IR, interpretacja wyników FT-IR, napisanie fragmentu manuskryptu dotyczącego FT-IR.
Mój udział procentowy szacuję na 10 %.
2. Marcin Sobczak, Tadeusz Chreptowicz, **Joanna Kolmas**, Wacław Kolodziejcki, *Kinetics of Solid-State NMR Cross Polarization from Protons to Carbon-13 in Surgical Sutures*, Solid State NMR 35 (2009) 230-234, **IF=1.368, MNiSW/KBN=27**
Mój wkład: wykonanie badań NMR, częściowa interpretacja wyników
Mój udział procentowy szacuję na 10 %.
3. Joanna Mystkowska, **Joanna Kolmas**, Jan Ryszard Dąbrowski, The application of FT-IRM technique in research of mucin adsorption on selected biomaterials surface, Engineering of Biomaterials 106-108 (2011) 85-88, **IF=0.000, MNiSW/KBN=7**
Mój wkład: wykonanie części eksperymentalnej dotyczącej FT-IR, interpretacja wyników FT-IR, napisanie fragmentu manuskryptu.
Mój udział procentowy szacuję na 10 %.
4. Edyta Andrysewicz, Joanna Mystkowska, **Joanna Kolmas**, Mateusz Jałbrzykowski, Rafał Olchowik, Jan Ryszard Dąbrowski, *Influence of artificial saliva compositions on tribological characteristics of Ti-6Al-4V implant alloy*, Acta of Bioengineering and Biomechanics 14 (2012) 71-79, **IF=0.333, MNiSW/KBN=15**
Mój wkład: wykonanie eksperymentów FT-IR i ich interpretacja
Mój udział procentowy szacuję na 5 %.
5. **Joanna Kolmas**, Marcin Sobczak, Ewa Olędzka, Grzegorz Nałęcz-Jawecki, Cezary Dębek, Synthesis, *Characterization and in Vitro Evaluation of New Composite Bisphosphonate Delivery Systems*, International Journal of Molecular Sciences 15(9) (2014) 16831-16847, **IF=2.862, MNiSW/KBN=30**
Mój wkład: synteza materiałów apatytowych, napisanie części manuskryptu, interpretacja części wyników, udział w przygotowaniu odpowiedzi dla recenzentów

Mój udział procentowy szacuję na 20 %.

6. **Joanna Kolmas**, Agnieszka Kaflak, Aneta Zima, Anna Ślósarczyk, Alpha-tricalcium phosphate synthesized by two different routes: Structural and spectroscopic characterization, *Ceramics International*, 41(4) (2015) 5727-5733, **IF=2.605, MNiSW/KBN=40**

Mój wkład: koncepcja pracy, częściowe wykonanie części eksperymentalnej, interpretacja wyników, napisanie większej części manuskryptu

Mój udział procentowy szacuję na 40 %.

7. Marcin Sobczak, Ewa Olędzka, Andrzej Plichta, **Joanna Kolmas**, Urszula Piotrowska, Preliminary study under synthesis and characterization of macromolecular conjugates of camptothecin. *Engineering of Biomaterials* 128-129 (2014), 36-39, **IF=0.000, MNiSW/KBN=7**

Mój wkład: interpretacja wyników NMR

Mój udział procentowy szacuję na 5 %.

8. Marcin Sobczak, **Joanna Kolmas**, Ewa Olędzka, Cezary Dębek, Development of new biodegradable composite delivery systems of bisphosphonates. *Engineering of Biomaterials* 128-129 (2014) 43-45, **IF=0.000, MNiSW/KBN=7**

Mój wkład: wykonanie syntezy materiałów apatytowych oraz ich ocena właściwości fizykochemicznych, interpretacja części wyników

Mój udział procentowy szacuję na 10 %.

9. Łukasz Pajchel, Alicja Zawiałow, **Joanna Kolmas**, Wacław Kołodziejski, Synthesis and elemental analysis of silicon-substituted hydroxyapatites, *Engineering of Biomaterials* 128-129 (2014) 23-25, **IF=0.000, MNiSW/KBN=7**

Mój wkład: wykonanie części syntez materiałów apatytowych

Mój udział procentowy szacuję na 10 %.

10. Ewa Olędzka, Marcin Sobczak, **Joanna Kolmas**, Grzegorz Nałęcz-Jawecki, *Selenium-substituted hydroxyapatite/biodegradable polymer/pamidronate combined scaffold for the therapy of bone tumour*, *International Journal of Molecular Sciences*, 16(9) 2015 22205-22222, **IF=2.862, MNiSW/KBN=30**

Mój wkład: synteza materiału apatytowego, udział w przygotowaniu odpowiedzi dla recenzentów

Mój udział procentowy szacuję na 10 %.

11. **Joanna Kolmas**, Sylwester Krukowski, Aleksandra Laskus, Maria Jurkitewicz,
Hydroxyapatite in pharmaceutical applications, Ceramics International,
doi:10.1016/j.ceramint.2015.10.048, IF=2.605, MNiSW/KBN=40

Mój wkład: koncepcja pracy, napisanie części manuskryptu, korespondencja z
edytorem czasopisma i przygotowanie odpowiedzi recenzentom.

Mój udział procentowy szacuję na 40 %.

Uzyskany jeden patent:

P1. Marcin Sobczak, Tomasz Ciach, Marta Andrzejczyk, Ewa Olędzka, **Joanna Kolmas**,
Wacław Kołodziejski W. *Biodegradowalny implant oraz sposób otrzymywania
biodegradowalnego implantu*, zgłoszony nr P-400719, 10.09.2012., decyzja o
udzieleniu 18.02.2015.

Mój wkład: udział w syntezach i opracowaniu implantu. Mój udział szacuję na 10 %.

Dwa zgłoszenia patentowe:

P2. **Joanna Kolmas**, Katarzyna Szurkowska, Łukasz Pajchel, *Sposób otrzymywania
mikrokryształicznego modyfikowanego hydroksyapatytu*, zgłoszony dn. 18.03.2015, nr
P.411636.

Mój wkład:

Koncepcja prac badawczych

Przeprowadzenie niektórych eksperymentów

Sporządzenie wniosku

Mój udział szacuję na 75 %

P3. **Joanna Kolmas**, Aneta Jaguszevska, Wacław Kołodziejski, *Ceramiczny
domieszkowany hydroksyapatyt oraz sposób otrzymywania ceramicznego
domieszkowanego hydroksyapatytu* zgłoszony dn. 24.09.2013, numer P-405435.

Mój wkład:

Koncepcja prac badawczych

Przeprowadzenie części badawczej

Sporządzenie wniosku

Mój udział szacuję na 85 %

6. **Czynny udział w konferencjach, sympozjach krajowych i międzynarodowych**
(dane podkreślone dotyczą prezentacji zagadnień związanych z przedstawionym osiągnięciem naukowym)

Konferencje krajowe:

1. **Joanna Kolmas**, Janusz Zagrodzki, Edward Sieradzki, Wacław Kołodziejski, *Ocena twardości tabletek metodą spektroskopii w podczerwieni*, Farmacja Polska, 2001; Tom LVII; 186-187.
2. **Joanna Kolmas**, Monika Uniczko, Emil Kalinowski, Andrzej Wojtowicz, Zygmunt Trzaska Durski, Wacław Kołodziejski, *High-resolution solid-state NMR studies of hard dental tissues and renal Stones*, XXXVI Polish Seminar on Nuclear Magnetic Resonance and Its Applications, Kraków, 1-2 Grudnia 2003
3. **Joanna Kolmas**, Zofia Paszkiewicz, Anna Ślósarczyk, Wacław Kołodziejski, *Proton NMR studies of hard dental tissues under fast MAS*, XXXVII Polish Seminar on Nuclear Magnetic Resonance and Its Applications, Kraków, 1-2 Grudnia 2004
4. **Joanna Kolmas**, Anna Ślósarczyk, Wacław Kołodziejski, *Solid-state ^{31}P NMR studies of synthetic apatites*. XXXIX Polish Seminar on Nuclear Magnetic Resonance and Its Applications, Kraków, 30.11-1.12 2006
5. **Joanna Kolmas**, Wacław Kołodziejski, *Determination of structural hydroxyl groups in synthetic and biological apatites: ^1H BD MAS NMR and inverse $^{31}\text{P} \rightarrow ^1\text{H}$ CP/MAS NMR studies*. XL Ogólnopolskie Seminarium na temat Magnetycznego Rezonansu Jądrowego I Jego Zastosowań, Kraków, 3-4 grudnia 2007.
6. **Joanna Kolmas**, Anna Ślósarczyk, Wacław Kołodziejski, *Hydroxyapatite doped with magnesium and carbonate ions – structural studies*, XLIII Ogólnopolskie Seminarium na temat Magnetycznego Rezonansu Jądrowego I Jego Zastosowań, Kraków, 1-2 grudnia 2010.
7. Wacław Kołodziejski, **Joanna Kolmas**, Agnieszka Kaflak, *Inverse MAS NMR cross-polarization from phosphorus-31 to protons in synthetic and biological apatites*, XLIV Polish seminar on Nuclear Magnetic Resonance and Its Applications, Kraków, 3-4 grudnia 2012.
8. Karolina Paciorek, Łukasz Pajchel, **Joanna Kolmas**, Wacław Kołodziejski, *Hydroksyapatyt domieszkowany krzemem jako potencjalny składnik dokostnych materiałów implantacyjnych – synteza oraz analiza fizykochemiczna*, II Sympozjum Młodych Naukowców na Wydziale Farmaceutycznym, Warszawa 13.02.2012.
9. Aneta Jaguszewska, **Joanna Kolmas**, Wacław Kołodziejski, *Syntetyczny hydroksyapatyt modyfikowany jonami strontu oraz jonami boranowymi – opracowanie sposobu otrzymywania oraz analiza właściwości fizykochemicznych*, III Sympozjum Młodych Naukowców na Wydziale Farmaceutycznym, Warszawa 14.02.2012.

10. Ewa Groszyk, Dagmara Kwiatkowska-Różycka, Joanna Kolmas, Wacław Kołodziejski, *Synteza i właściwości fizykochemicznych hydroksyapatytu węglanowego domieszkowanego jonami srebra*, III Sympozjum Młodych Naukowców na Wydziale Farmaceutycznym, Warszawa 14.02.2012.
11. Marcin Sobczak, Joanna Kolmas, Ewa Olędzka, *Biomedyczne kompozyty poliuretanowo-hydroksyapatytowe jako nośniki bisfosfonianów*, XXII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Białystok 18-21.09.2013.
12. Joanna Kolmas, Synteza oraz właściwości fizykochemiczne różnorodnie modyfikowanych nanokrystalicznych apatytów przeznaczonych do zastosowań biomedycznych, VII Konferencja Naukowa Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej WUM, Warszawa, 19 grudnia 2014.
13. Agnieszka Kaflak, Joanna Kolmas, *Analiza biomateriałów zawierających α -TCP w badaniach spektroskopowych*, XLV Ogólnopolskie Seminarium na temat Magnetycznego Rezonansu Jądrowego I Jego Zastosowań, Kraków, 1-2 grudnia 2014,
14. Joanna Kolmas, Ewa Groszyk, Ewa Olędzka, Marcin Sobczak, Magnetyczny rezonans jądrowy w ciele stałym hydroksyapatytu wzbogaconego w selen, XLV Ogólnopolskie Seminarium na temat Magnetycznego Rezonansu Jądrowego I Jego Zastosowań, Kraków, 1-2 grudnia 2014
15. Katarzyna Szurkowska, Aleksandra Laskus, Joanna Kolmas, Wacław Kołodziejski, Kosubstytucja jonów manganu (II) oraz jonów krzemianowych lub selenianowych (IV) w hydroksyapatycie – synteza i badania fizykochemiczne, V Minisymposium Młodych Naukowców na Wydziale Farmaceutycznym, Warszawa 26.02.2015
16. Maria Jurkitewicz, Joanna Kolmas, Wacław Kołodziejski, Hydroksyapatyt węglanowy wzbogacony jonami manganu, V Minisymposium Młodych Naukowców na Wydziale Farmaceutycznym, Warszawa 26.02.2015

Konferencje międzynarodowe:

17. Joanna Kolmas, Wacław Kołodziejski, *Inverse $^{31}\text{P} \rightarrow ^1\text{H}$ CP MAS NMR studies of synthetic and biological apatites*, EUROMAR Magnetic Resonance for the future. St Petersburg, Russia, 6-11.07.2008.
18. Joanna Kolmas, Maciej Szwaja, Wacław Kołodziejski W, Solid-state NMR and IR spectroscopic studies of natural and synthetic calcium phosphates used as biomaterials, PBA 2008 19th International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Analysis. Gdańsk, 8-12.04.2008.
19. Joanna Kolmas, Mateusz Jabłoński, Anna Ślósarczyk, Wacław Kołodziejski, Structural characterization of thermally processed hydroxyapatite enriched in Mn^{2+} ions, Conference on Biomaterials in Medicine and Veterinary Medicine. Rytyro, 9-12.10.2014.

7. WSPÓŁPRACA

- Z zagranicznymi jednostkami naukowymi

Université de Reims, UFR Pharmacie, Biomatériaux et inflammation en site osseux (BIOS) (grupa prof. Sophie Gangloff) – od 2013 roku

Współpraca dotyczy badań biologicznych (*in vitro*) hydroksyapatytów modyfikowanych różnorodnymi jonami o potencjalnym znaczeniu biomedycznym.

University of Aberdeen, Department of Chemistry (prof. Iain Gibson) – od 2013 roku

Współpraca w ramach projektu POMOST (POMOST/2013-7/5, Fundacja na rzecz Nauki Polskiej). Dotyczy badań syntetycznych hydroksyapatytów modyfikowanych metodą spektroskopii Ramana oraz dyfraktometrii proszkowej.

Instituto de Ciencia y Tecnologia de Polimeros, ICPT, Grupo de Biomateriales (dr Luis Rodriguez-Lorenzo) – od 2013 roku

Współpraca w ramach projektu POMOST (POMOST/2013-7/5, Fundacja na rzecz Nauki Polskiej). Dotyczy badań biologicznych syntetycznych hydroksyapatytów modyfikowanych jonami manganu, selenu oraz krzemu.

- Z krajowymi jednostkami naukowymi

Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Ceramiki i Materiałów Ogniotrwałych (prof. Anna Ślósarczyk oraz dr inż. Aneta Zima) – od 2001 roku

Współpraca obejmuje badania fizykochemiczne fosforanów wapnia o potencjalnych znaczeniu biomedycznym.

Politechnika Białostocka, Wydział Mechaniczny, Katedra Inżynierii Materiałowej i Biomedycznej (dr inż. Joanna Mystkowska) – od 2008 roku

Współpraca obejmuje badania biofilmów na różnorodnych biomateriałach metodą mikrospektroskopii w średniej podczerwieni

Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Pracownia Chemometrii Środowiska (mgr Katarzyna Odziomek) – od 2015 roku

Współpraca dotyczy hydroksyapatytów modyfikowanych jonami i wpływie tych jonów na cytotoksyczność. Badania przeprowadzane są na drodze tradycyjnych eksperymentów oraz metodą modelowania.

- Z Katedrami i Zakładami Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

WUM, Wydział Lekarsko-Dentystyczny, Zakład Chirurgii Stomatologicznej (grupa prof. Andrzeja Wojtowicza) – od 2001 roku

Współpraca dotyczy badań apatytów biologicznych pochodzenia zębowego (szkliwa, zębiny oraz cementu) a także implantów stomatologicznych metodami spektroskopowymi i mikroskopowymi.

WUM, Wydział Farmaceutyczny, Zakład Badań Środowiska (prof. Grzegorz Nałęcz-Jawecki)
– od 2012 roku

Współpraca dotyczy badań cytotoksyczności oraz genotoksyczności kompozytów oraz materiałów apatytowych modyfikowanych różnorodnymi jonami.

- **W obrębie macierzystej jednostki**

Dr inż. Marcin Sobczak oraz dr inż. Ewa Olędzka

Współpraca dotyczy opracowania kompozytów polimerowo-apatytowych o charakterze implantów wielofunkcyjnych. Współpraca w ramach grantu NCN-2011/03/D/ST5/05793

Dr Marzena Kuras

Współpraca dotyczy analizy elementarnej apatytów syntetycznych oraz biologicznych.

Dr Agnieszka Kaflak

Współpraca dotyczy badań fosforanów wapnia metodami spektroskopowymi a także opracowania kompozytów chitozanowo-apatytowych.

Mgr Urszula Piotrowska

Współpraca dotyczy badań aktywności antybakteryjnej apatytów modyfikowanych jonami selenu, srebra, ceru i in.

8. KIEROWANIE MIĘDZYNARODOWYMI I KRAJOWYMI PROJEKTAMI BADAWCZYMI ORAZ UDZIAŁ W TAKICH PROJEKTACH

Dotychczas kierowałam trzema projektami krajowymi, które finansowane były przez Fundację na rzecz Nauki Polskiej (Pomost), Narodowe Centrum Nauki (Sonata) oraz Warszawski Uniwersytet Medyczny (Projekt Młodego Badacza). Poza tym byłam głównym wykonawcą w 1 projekcie finansowanym przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz opiekunem 2 grantów studenckich. Poniżej przedstawiam szczegółowe dane dotyczące projektów:

Projekt: POMOST/2013-7/5

Finansowanie: Fundacja na rzecz Nauki Polskiej

Miejsce: Warszawski Uniwersytet Medyczny

Udział: Kierownik Projektu

Tytuł: Influence of manganese on the structure, physicochemical and biological properties of hydroxyapatites containing carbonates, silicates or selenites ions

Czas: 2013-2015

Projekt: NCN-2011/03/D/ST5/05793

Finansowanie: MNiSW

Miejsce: Warszawski Uniwersytet Medyczny

Udział: Kierownik projektu

Tytuł: „Synthesis and characterization of polymer-apatite composite containing selenium and bisphosphonates”,

Czas: 2012-2017

Projekt: FW23/WB1/08

Finansowanie: Warszawski Uniwersytet Medyczny

Miejsce: Warszawski Uniwersytet Medyczny

Udział: Project Manager

Tytuł: Projekt Młodego Badacza: "Spectroscopic analysis of bone substitutes"

Czas: 2008-2010

Projekt: N N204 127037

Finansowanie: MNiSW

Miejsce: Warszawski Uniwersytet Medyczny

Udział: główny wykonawca

Tytuł: „An influence of the crystal size and CO_3^{2-} and SiO_4^{4-} substitution of PO_4^{3-} ions, on the structural hydroxyl group concentration and the surface condition of the synthetic apatites: a solid-state NMR analysis”,

Czas: 2009-2012

Projekt: FW23/NM4/11

Finansowanie: Warszawski Uniwersytet Medyczny

Miejsce: Warszawski Uniwersytet Medyczny

Udział: Opiekun

Tytuł: Mini Grant Studencki: "Concentration of structural hydroxyl groups and different types of water in synthetic hydroxyapatites - solid-state NMR and IR analysis",

czas: 2011

Projekt FW23/NM1/13

Finansowanie: Warszawski Uniwersytet Medyczny

Miejsce: Warszawski Uniwersytet Medyczny

Udział: Opiekun

Tytuł: Mini Grant Studencki: „Synteza i analiza właściwości fizykochemicznych nanokrystalicznego hydroksyapatytu węglanowego domieszkowanego jonami srebra”,

Czas: 2013

9. PRZEBYTE SZKOLENIA I KURSY

Udział w projekcie Skills-Coaching (Fundacja na rzecz Nauki Polskiej) – 05.2015 – 10.2015

Udział w projekcie Skills-Szkolenia (fundacja na rzecz Nauki Polskiej) – projekt w toku:

Szkolenia „Komercjalizacja wyników prac badawczych dla naukowców” 9-11.04.2014

„Negocjacje dla naukowców” 21-22.05.2014

„Gra symulacyjna – zarządzanie innowacyjnym przedsiębiorstwem” 6.05.2014

„Mentoring jako narzędzie wsparcia indywidualnego rozwoju naukowca”
23.10.2015

Projekt TOP500 – zakwalifikowanie się do projektu, projekt niezrealizowany (urlop macierzyński)

10. RECENZJE W CZASOPISMACH

W latach 2012-2015 recenzowałam 24 prace pełnotekstowe w następujących czasopismach:

Materials Science and Engineering C (IF=3.088) - 11 recenzji

Ceramics International (IF=2.605)- 2 recenzje

Journal of the American Ceramics Society (IF=2.428) – 1 recenzja

American Mineralogist (IF=1.964) – 1 recenzja

BMC Microbiology (IF=2.730) – 1 recenzja

Journal of Alloys and Compounds (IF=2.999) – 1 recenzja

International Journal of Nanomedicine (IF=4.383) – 2 recenzje

Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly (IF=0.911)– 1 recenzja

Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials (IF=1.160)– 1 recenzja

Korean Journal of Chemical Engineering (IF=1.166) – 2 recenzje

Inżynieria Biomateriałów (IF=0.000) – 2 recenzje

11. WYJAZDY NAUKOWE

VI. 2013 – tygodniowy pobyt na Uniwersytecie w Reims, Francja (w ramach programu Erasmus)

IV. 2015 – tygodniowy pobyt na Uniwersytecie w Aberdeen (w ramach projektu Pomost i współpracy z partnerem zagranicznym).

12. NAGRODY I WYRÓŻNIENIA

2008 and 2012 – nagrody zespołowe Rektora WUM

13. DZIAŁALNOŚĆ ORGANIZACYJNA I PRZYNALEŻNOŚĆ DO ORGANIZACJI NAUKOWYCH

W latach 2008-2012 – członek Rady Wydziału Farmaceutycznego WUM (przedstawiciel adiunktów)

W latach 2012-2015 – członek Wydziałowej Komisji do spraw Jakości Kształcenia

Członek:

Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne od 2009 r.

Polskie Towarzystwo Chemiczne od 2013 r.

Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów od 2014 r.

14. DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA I POPULARYZUJĄCA NAUKĘ

W trakcie mojej pracy na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej WUM prowadziłam/prowadzę następujące zajęcia dla studentów:

- ćwiczenia laboratoryjne z Chemii Analitycznej Ilościowej (metody klasyczne) dla studentów II roku kierunku Farmacja (semestr III)
- seminaria (ćwiczenia rachunkowe) z Chemii Analitycznej Ilościowej dla studentów II roku kierunku Farmacja (semestr III)
- ćwiczenia laboratoryjne z Chemii Analitycznej Ilościowej (metody instrumentalne) dla studentów II roku kierunku Farmacja (semestr IV) – metody potencjometryczne, polarograficzne, spektroskopia w średniej podczerwieni
- wykład z Chemii Analitycznej Ilościowej (metody instrumentalne) dla studentów II roku kierunku Farmacja (semestr IV) - metody potencjometryczne
- wykład ze spektroskopii oscylacyjnej w zastosowaniach farmaceutycznych dla studentów IV kierunku Farmacja (blok fakultatywny Farmacja analityczna)
- ćwiczenia laboratoryjne dla studentów IV roku kierunku Farmacja z Metod Instrumentalnych, takich jak spektroskopia w średniej podczerwieni, spektroskopia magnetycznego rezonansu w ciele stałym
- ćwiczenia laboratoryjne dla studentów studiów podyplomowych „Nowoczesne instrumentalne metody analityczne w badaniach bezpieczeństwa zdrowotnego żywności i pasz” w ramach wspólnego projektu Wydziału Farmaceutycznego WUM ze Szkołą Główną Gospodarstwa Wiejskiego – ćwiczenia z zastosowań spektroskopii w średniej podczerwieni do oceny produktów spożywczych.

Byłam opiekunem naukowym 19 prac magisterskich. Niektórzy moi dyplomanci brali udział w badaniach naukowych i są współautorami publikacji naukowych z listy filadelfijskiej, zgłoszeń patentowych oraz kilku wystąpień na konferencjach o zasięgu krajowym i międzynarodowym. Byli też autorami mini-grantów studenckich WUM. Sześć moich magistrantek zostało stypendystkami Fundacji na rzecz Nauki Polskiej. Praca dyplomowa mgr Anety Jaguszewskiej (2013 r.), pt. „Syntetyczny hydroksypatyt modyfikowany jonami strontu oraz jonami boranowymi - synteza, badania strukturalne i testy cytotoksyczności” została nagrodzona I miejscem na 50 Wydziałowym Finale Prac Magisterskich oraz III miejscem na Ogólnopolskim

Finale Prac Magisterskich Wydziałów Farmaceutycznych. Praca dyplomowa mgr Ewy Groszyk pt. „Synteza, badania fizykochemiczne i testy cytotoksyczności hydroksyapatytu modyfikowanego jonami manganu (II) oraz jonami selenianowymi (IV)” zajęła II miejsce na 51 Wydziałowym Finale Prac Magisterskich w 2014 r.

W latach 2012-2015 byłam recenzentką 8 prac magisterskich na Wydziale Farmaceutycznym WUM.

Byłam bezpośrednim opiekunem studentów w kole naukowym Spektrum przy Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej. Studenci byli włączeni w badania naukowe dotyczące badań fizykochemicznych apatytów syntetycznych i biologicznych, brali udział w sympozjach studenckich, są współautorami publikacji naukowych.

W roku 2014 byłam współorganizatorem IV Mini Sympozjum Młodych Naukowców na Wydziale Farmaceutycznym WUM.

15. BIBLIOMETRYCZNE WSKAŹNIKI DOKONAŃ NAUKOWYCH

Sumaryczna liczba publikacji : 29

Łączny Impact Factor: 44.634

Łączna liczba punktów MNiSW: 585

Liczba cytowani (bez autocytowań): 88

Indeks Hirsha: 6

Liczba uzyskanych patentów: 2

Liczba zgłoszeń patentowych w trakcie oceny UP: 2

M. G.