

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej
Polskie Towarzystwo Chemiczne

POSTĘPY W TECHNOLOGII I INŻYNIERII CHEMICZNEJ 2024

Praca zbiorowa pod redakcją
Zofii Lendzion-Bieluń i Dariusza Moszyńskiego



Szczecin 2024

Recenzenci

dr inż. Małgorzata Dzięcioł, prof. dr hab. inż. Marek Gryta, prof. dr hab. inż. Agata Markowska-Szczupak, dr hab. inż. Dariusz Moszyński, dr hab. inż. Michał Niemczak, dr hab. inż. Paula Ossowicz-Rupniewska, dr hab. inż. Rafał Pelka, dr inż. Aneta Wesołowska, dr hab. inż. Zbigniew Rozwadowski

Opracowanie redakcyjne

Wojciech Markowski

Skład komputerowy

Marek Rublewski

W monografii opublikowano oryginalne prace naukowo-badawcze niepublikowane wcześniej w innych czasopismach ani materiałach konferencyjnych, kongresach, sympozjach, ani nieprzekazane do publikacji. Nadesłanie pracy do Wydawcy uważa się za jednoznaczne z oświadczeniem Autora, że warunek jest spełniony.

Utwór został wydany na licencji niewyłącznej CC BY bez ograniczeń czasowych i terytorialnych. Utwór podlega ochronie prawa autorskiego lub innych stosownych przepisów prawa. Korzystanie z utworu w sposób inny niż dozwolony na podstawie licencji CC BY lub przepisów prawa jest zabronione.

WYDANO ZA ZGODĄ REKTORA ZACHODNIOPOMORSKIEGO UNIWERSYTETU
TECHNOLOGICZNEGO W SZCZECINIE

ISBN 978-83-7663-378-7

Wydawnictwo Uczelniane Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego
w Szczecinie, al. Piastów 48, 70-311 Szczecin, tel. 91 449 47 60,
e-mail: wydawnictwo@zut.edu.pl

Spis treści

Fazy tworzące się w układzie CeO_2 – MoO_3 w atmosferze powietrza oraz w atmosferze argonu Barbara AMBROZIAK, Monika BOSACKA	5
Nowe pochodne niesteroidowych leków przeciwzapalnych. Zwiększona rozpuszczalność, przenikalność przez skórę i potencjalne dodatkowe zastosowania Karolina BILSKA, Paula OSSOWICZ-RUPNIEWSKA	17
Wpływ struktury nanokrystalicznych metali na ich właściwości fizyczne i chemiczne Kamila KLIMZA	34
Aktywność antyoksydacyjna ekstraktów alkoholowych z liści i kory morwy białej (<i>Morus Alba</i>) Agata MADALIŃSKA, Aleksandra KOZYRA, Anna NOWAK	47
Synteza i charakterystyka cieczy jonowych z anionem farmaceutycznym Patrycja FRAŃCKOWIAK, Adriana OLEJNICZAK, Marcin WYSOKOWSKI, Damian Krystian KACZMAREK, Tomasz RZEMIENIECKI, Michał NIEMCZAK.....	56
Właściwości przeciwutleniające i fotoprotekcyjne alkoholowych ekstraktów z pączków <i>Pinus Sylvestris</i> L. Daria OSHETKOVA, Adam KLIMOWICZ	72
Zawartość wybranych makro- i mikroelementów odpadów pomidora zwyczajnego (<i>Solanum Lycopersicum</i>) w aspekcie ich zagospodarowania Maja OWCZAREK, Hanna SIWEK, Anna BUCHWAŁ, Kamila BOJKO	84
Aktywne biologicznie estrokwaty z kationem pochodzącym od L-karnityny Tomasz RZEMIENIECKI, Adriana OLEJNICZAK, Damian Krystian KACZMAREK, Michał NIEMCZAK	99
Narażenie na zakażenie bakteriami w ręcznej myjni samochodowej Piotr WOŹNIAK, Marek GRYTA.....	112

Fazy tworzące się w układzie $\text{CeO}_2\text{--MoO}_3$ w atmosferze powietrza oraz w atmosferze argonu

Barbara AMBROZIAK, Monika BOSACKA

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej,
Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej

WSTĘP

Synteza metodą ceramiczną odgrywa istotną rolę w dziedzinie nauk chemicznych i materiałowych. Metoda ceramiczna oferuje wiele zalet, w tym brak rozpuszczalników, możliwość kontroli składu chemicznego i struktury produktów oraz zdolność do wytwarzania materiałów o różnych właściwościach, takich jak twardość, przewodność cieplna czy elektryczna. Ponadto jest stosunkowo tania i łatwa do przeskalowania, co sprawia, że może być powszechnie stosowana w przemyśle [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7].

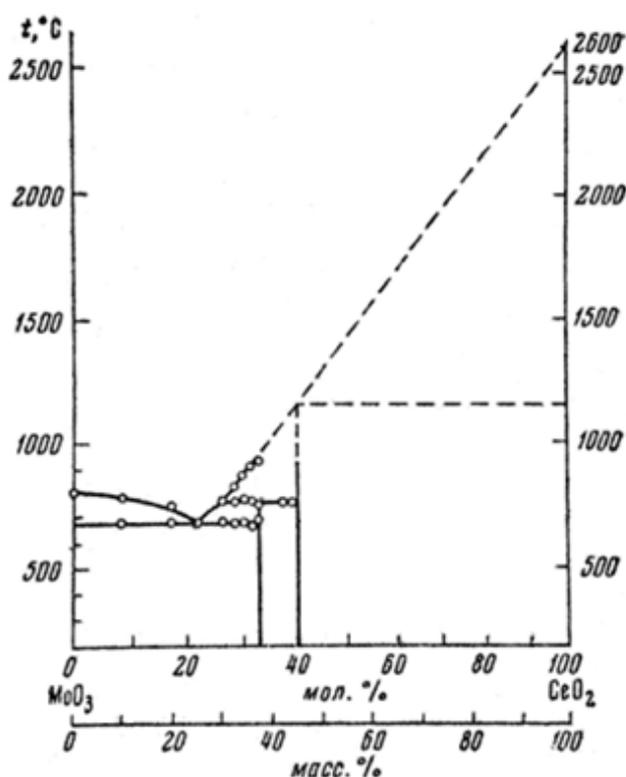
Synteza ceramiczna znajduje szerokie zastosowanie w produkcji materiałów ceramicznych o różnorodnych zastosowaniach, w tym w przemyśle budowlanym [1, 2], medycznym [3, 4], a także w produkcji izolatorów [5], katalizatorów [6] czy materiałów ogniotrwałych [7]. Jest także wykorzystywana do syntezy zaawansowanych materiałów kompozytowych, takich jak ceramika cienkowieściowa czy materiały ceramiczno-metalowe. W tej metodzie wykorzystuje się reakcje chemiczne do wytwarzania materiałów ceramicznych, takich jak tlenki, węgliki czy azotki. Jest to synteza przebiegająca w fazie stałej.

Tlenek ceru(IV) oraz tlenek molibdenu(VI) są związkami chemicznymi, które zostały bardzo dobrze poznane, zarówno pod względem ich właściwości chemicznych, jak i zastosowania [8, 9, 10, 11].

Tlenek ceru(IV) jest wykorzystywany w procesach oczyszczania spalin samochodowych. Jest dodawany do katalizatorów trójfunkcyjnych, które redukują emisję szkodliwych substancji, takich jak tlenki azotu (NO_x), tlenki węgla i węglowodory, poprzez reakcje utleniania i redukcji [12]. W elektronice tlenek ceru(IV) jest stosowany jako dielektryk w kondensatorach ceramicznych, wykorzystywanych w urządzeniach elektronicznych i elektrycznych [13]. Jest także powszechnym składnikiem past polerskich.

Tlenek molibdenu(VI) poza zastosowaniem w optoelektronice jest również katalizatorem o dużych możliwościach [14]. MoO_3 może być stosowany w procesach hydrometalurgicznej ekstrakcji metali [15]. Ma duży potencjał jako fotokatalizator [16].

Zarówno tlenkowi ceru(IV), jak i tlenkowi molibdenu(VI) poświęcona jest obszerna bibliografia [14, 15, 16]. Oba związki są przedmiotem wielu aktualnych badań, lecz do tej pory niewielu naukowców zajmowało się ich reaktywnością. Fazy tworzące się w układzie CeO_2 i MoO_3 nie cieszyły się dużym zainteresowaniem. Niewielka liczba dostępnych publikacji na temat molibdenianów(VI) ceru(IV) pochodzi głównie z lat 70. XX w. [17, 18, 19, 20, 21, 22]. Znany jest tylko 1 diagram fazowy układu $\text{CeO}_2\text{--MoO}_3$. Na rys. 1 zaznaczono położenie molibdenianów(VI) ceru(IV): CeMo_2O_8 i $\text{Ce}_2\text{Mo}_3\text{O}_{13}$.

Rys. 1. Diagram fazowy układu CeO_2 i MoO_3 [17]

W późniejszych badaniach nad reaktywnością CeO_2 z MoO_3 , przeprowadzonych w celu weryfikacji danych na temat układu, otrzymano molibdeniany(VI) ceru(III) takie jak: $\text{Ce}_2\text{Mo}_4\text{O}_{15}$ i $\text{Ce}_2\text{Mo}_3\text{O}_{12}$, a niektórzy badacze sugerowali, że tworzą się również molibdeniany(VI) ceru, które w swojej budowie zawierają atomy ceru na +3 i +4 stopniu utlenienia [17, 18, 19, 20, 21]. Wu i in. [22] badali fazy tworzące się w wyniku ogrzewania w powietrzu w temperaturze 600°C przez 4 h CeO_2 zaimpregnowanego wodnym roztworem $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ przy różnych stosunkach molowych jonów $\text{Ce}^{4+}/\text{Mo}^{6+}$. Badacze stwierdzili, że w próbkach o zawartości 40% mol. CeO_2 obok tlenku ceru(IV) tworzy się molibdenian(VI) ceru o mieszanej walencyjności jonów ceru, tj. $\text{Ce}_8\text{Mo}_{12}\text{O}_{49}$ ($\text{Ce}^{4+}_2\text{Ce}^{3+}_6\text{Mo}^{6+}_{12}\text{O}_{49}$).

Ze względu na właściwości CeO_2 oraz MoO_3 można przypuszczać, że związki tworzące się w reakcjach pomiędzy tymi tlenkami będą mieć podobne właściwości katalityczne. Ze względu na ograniczoną wiedzę na temat faz powstających w wyniku reakcji tlenku ceru(IV) z tlenkiem molibdenu(VI), a zwłaszcza brak informacji o wpływie atmosfery syntezy na te związki, interesujące było przeprowadzenie badania dotyczącego tego, jakie związki i fazy tworzą się w wyniku reakcji CeO_2 z MoO_3 w atmosferze powietrza i atmosferze argonu.

CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

Sposób syntezy

W trakcie badań użyto następujących odczynników: tlenku ceru(IV) (CeO_2 o czystości 99,95%, producent: Onyxment) oraz tlenku molibdenu(VI) (MoO_3 o czystości 99,9% (cz.), producent: Polskie Odczynniki Chemiczne).

Syntezę rozpoczęto od przygotowania 6-gramowych mieszanin tlenku ceru(IV) i tlenku molibdenu(VI) w różnych stosunkach molowych, które następnie poddano homogenizacji poprzez uciarcie w agatowym młynku laboratoryjnym (Pulverisette 2, Fritsch). Jednorodne mieszaniny były pastylkowane za pomocą prasy hydraulicznej działającej z naciskiem 1500 kg/cm². Przygotowane pastylki umieszczano w porcelanowych tyglach, które zostały wcześniej wyprażone do stałej masy. Wagę próbek kontrolowano przed umieszczeniem i po umieszczeniu w piecu. Ogrzewanie próbek prowadzono w 12-godzinnych etapach. W przypadku atmosfery powietrza wykorzystywano piec komorowy, a do syntezy w atmosferze argonu używano pieca rurowego. W celu uzyskania obojętnej atmosfery w piecu argon przepuszczano przez 2 h przed rozpoczęciem ogrzewania.

Po każdym etapie próbki chłodzono do temperatury pokojowej i rozcierano w młynku laboratoryjnym, by móc poddać je badaniu dyfrakcji rentgenowskiej (XRD) w celu określenia ich składu. Wybrane próbki badano za pomocą różnicowej analizy termicznej połączonej z analizą termogravimetryczną (DTA-TG), a na podstawie otrzymanych krzywych dobierano temperatury kolejnych etapów.

Techniki badawcze

Podstawowymi metodami badawczymi zastosowanymi w pracy były proszkowa dyfrakcja rentgenowska (XRD) oraz różnicowa analiza termiczna połączonej z analizą termogravimetryczną (DTA-TG).

Za pomocą dyfraktometru rentgenowskiego Epyrean II (PANanalytical, Holandia) przeprowadzono badania XRD. Aparat pomiarowy wykorzystywał promieniowanie CuK α = 1,5418 Å. Badania były prowadzone w temperaturze otoczenia oraz w atmosferze powietrza. Związki znajdujące się w próbkach identyfikowano na podstawie otrzymanych dyfraktogramów, a zarejestrowane linie opisywano na podstawie kart charakterystyk rentgenowskich PDF: 00-004-0593, 00-071-0260, 00-031-0331, 00-032-0194, 00-033-0330, 00-057-952, 00-030-0303, 04-011-2886, 00-31-0330, 04-018-4153.

Badania metodą DTA-TG prowadzono przy użyciu derywatografu F. Paulik-L. Paulik-L. Erdey (MOM, Budapeszt, Węgry). Przedział temperaturowy badania to 20–1000°C, pomiar odbywał się w atmosferze powietrza z czułością galwanometru 1/5. W tyglach kwarcowych umieszczono naważki o masie 300 mg i ogrzewano z szybkością 10°C/min. Dokładność odczytanych temperatur poszczególnych efektów termicznych rejestrowanych na krzywych DTA wynosiła \pm 5°C.

WYNIKI I DYSKUSJA

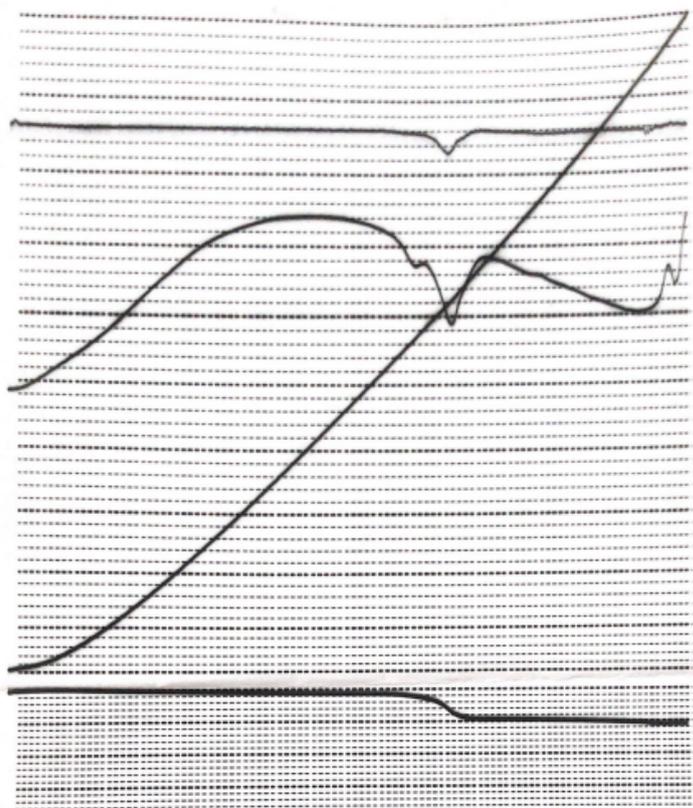
Reaktywność tlenku ceru(IV) wobec tlenku molibdenu(VI) w atmosferze powietrza

Do badań reaktywności CeO₂ z MoO₃ w atmosferze powietrza przygotowano 10 próbek, których składy mieszanin fizycznych podano w tabeli 1. Dwie z próbek odpowiadały swoim składem molowym molibdenianom(VI) ceru(IV): Ce₂Mo₃O₁₃ (próbka nr 5) i CeMo₂O₈ (próbka nr 7). W próbce nr 5 (tabela 1) stosunek molowy tlenków odpowiada również stechiometrii związku Ce₈Mo₁₂O₄₉. Mieszanina wyjściowa próbki nr 6 odpowiadała swoim składem Ce₅Mo₈O₃₂, czyli molibdenianowi(VI), który w swojej strukturze ma atomy ceru na +3 i +4 stopniu utlenienia (Ce³⁺₄Ce⁴⁺Mo⁶⁺₈O₃₂). Związek Ce₅Mo₈O₃₂ otrzymano w zamkniętej kapsule, w której umieszczono mieszaninę CeO₂ z CeBr₃ i MoO₃ oraz metalicznym cerem o stosunku molowym 3:2:6:1 [7]

Tabela 1. Skład mieszanin wyjściowych

Nr próbki	Zawartość CeO ₂ [% mol.]	Zawartość MoO ₃ [% mol.]
1	90,00	10,00
2	80,00	20,00
3	60,00	40,00
4	50,00	50,00
5	40,00	60,00
6	38,46	61,54
7	33,33	66,67
8	30,00	70,00
9	20,00	80,00
10	10,00	90,00

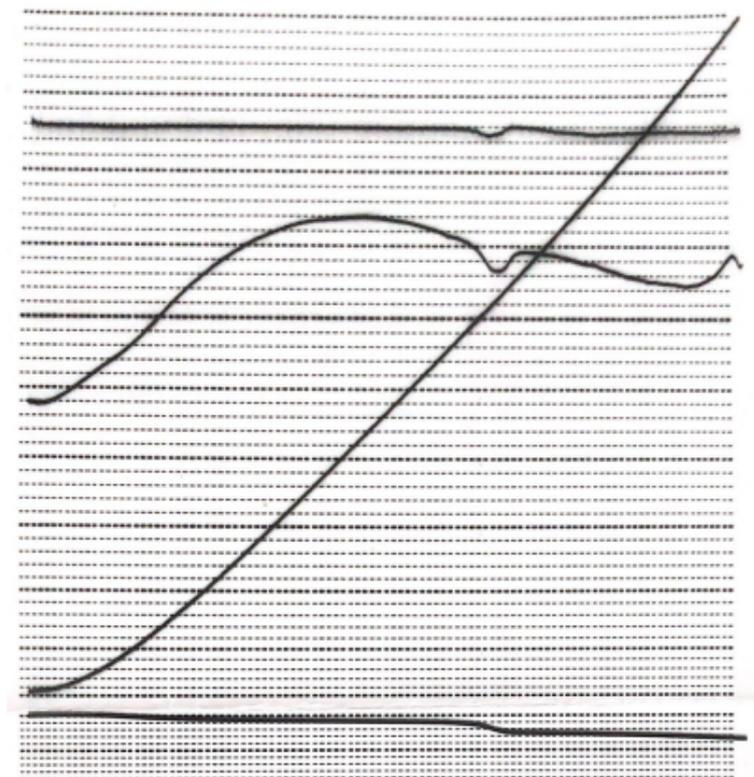
Wszystkie otrzymane krzywe DTA-TG mieszanin tlenków zarejestrowały pierwszy efekt o temperaturze ok. 540°C (rys. 2). Na tej podstawie podjęto decyzję o tym, żeby pierwsze dwa etapy ogrzewania przeprowadzić w temperaturze 500°C.



Rys. 2. Krzywa DTA-TG zarejestrowana dla mieszaniny fizycznej o składzie 40% mol. CeO₂ i 60% mol. MoO₃ (tabela 1, próbka nr 5)

Na dyfraktogramach próbek zawierających więcej niż 10% mol. MoO_3 po pierwszym etapie ogrzewania zarejestrowano, oprócz tlenków CeO_2 i MoO_3 stanowiących substraty, linie, które swoim położeniem odpowiadają liniom charakterystycznym dla molibdenianu(VI) ceru(III) o wzorze $\text{Ce}_2\text{Mo}_4\text{O}_{15}$ (karta PDF nr 04-011-2886). Taki skład fazowy próbek sugerował, że w mieszaninach reakcyjnych już w tej temperaturze tworzył się częściowo Ce_2O_3 , który *in situ* reagował z MoO_3 z utworzeniem związku $\text{Ce}_2\text{Mo}_4\text{O}_{15}$ [9]. Po drugim etapie syntezy związek ten został zidentyfikowany na dyfraktogramach wszystkich próbek. Także po drugim etapie ogrzewania w 500°C w niektórych próbkach zaczęły tworzyć się molibdeniany(VI), w którego budowie atomy ceru znajdują się na +3 i +4 stopniu utlenienia – $\text{Ce}_5\text{Mo}_8\text{O}_{32}$ (tabela 2). Na dyfraktogramach próbek o zawartości powyżej 40% mol. MoO_3 (tabela 2, próbki nr 4–9) obok linii charakterystycznych dla substratów i $\text{Ce}_2\text{Mo}_4\text{O}_{15}$ zarejestrowano linie, których nie można przyporządkować do żadnego ze znanych z literatury molibdenianów ceru. Ubytki masy rejestrowane po każdym etapie ogrzewania nie przekraczały 0,2% wag.

Temperatura kolejnego etapu ponownie została dobrana na podstawie krzywych DTA-TG wybranych próbek. Temperatura początku pierwszego zarejestrowanego efektu na krzywej (rys. 3) wynosiła 590°C , więc kolejny etap syntezy został przeprowadzony w temperaturze 550°C .

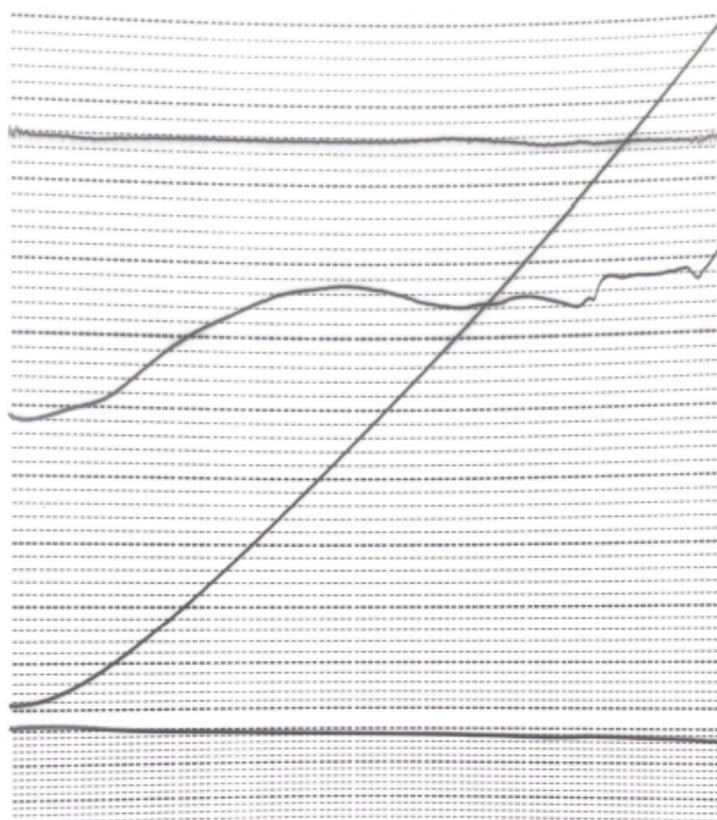


Rys. 3. Krzywa DTA-TG zarejestrowana dla próbki nr 5 (skład mieszaniny wyjściowej: 40% mol. CeO_2 i 60% mol. MoO_3) po drugim etapie syntezy

Po trzecim etapie na dyfraktogramach wszystkich próbek zaczęto rejestrować linie charakterystyczne dla $\text{Ce}_5\text{Mo}_8\text{O}_{32}$ (tabela 2). Dla próbek, które w mieszaninie wyjściowej zawierały więcej niż 30,00% mol. CeO_2 , na dyfraktogramach przestały być rejestrowane linie odpowiadające tlen-

kowi molibdenu(VI), co oznacza, że w tych próbkach przereagował już on w całości lub zostało go niewiele, poniżej granicy wykrywalności. W próbkach o zawartości powyżej 70,00% mol. MoO_3 w mieszaninie wyjściowej (tabela 2, próbki nr 8–10) dyfraktogramy nie zawierały linii charakterystycznych dla tlenku ceru(IV). W próbkach o zawartości powyżej 60,00% mol. MoO_3 w mieszaninie wyjściowej (tabela 2, próbki nr 5–10) intensywność niezidentyfikowanych linii (NL) zmniejszyła się w porównaniu z tymi zarejestrowanymi po poprzednim etapie ogrzewania.

Po ponownym wykonaniu badania DTA-TG na większości krzywych DTA (rys. 4) zarejestrowano efekt, którego temperatura początku wynosiła 700°C . Uwzględniając informację, że temperatura sublimacji tlenku molibdenu(VI) wynosi ok. 700°C [23], podjęto decyzję, że następny etap zostanie przeprowadzony w temperaturze 590°C .



Rys. 4. Krzywa DTA-TG zarejestrowana dla próbki nr 7 (skład mieszaniny wyjściowej: 33,33% mol. CeO_2 i 66,67% mol. MoO_3) po trzecim etapie syntezy

Po czwartym etapie syntezy skład fazowy próbek o zawartości do 40% mol. MoO_3 (tabela 2, próbki nr 1–3) pozostawał niezmienny. Intensywność niezidentyfikowanych linii na dyfraktogramach zmniejszała się, a w niektórych NL przestały być rejestrowane (tabela 2, próbki nr 5 i 6).

Ponieważ część próbek nadal w swoim składzie miała znaczącą ilość tlenku molibdenu(VI) (tabela 2, próbki nr 8–10), ustalono, że dalsze ogrzewanie próbek będzie prowadzone w tej samej temperaturze, tj. w 590°C . Wszystkie próbki zostały łącznie ogrzane sześć razy.

Po wszystkich etapach syntezy próbki, których mieszanina wyjściowa zawierała mniej niż 60,00% mol. MoO_3 , były dwufazowe i w ich skład wchodziły CeO_2 i $\text{Ce}_5\text{Mo}_8\text{O}_{32}$ (tabela 2, próbki

nr 1–4). Dyfraktogram próbki o zawartości 61,54% mol. tlenku molibdenu(VI) w mieszaninie wyjściowej po ostatnim etapie ogrzewania zawierał zbiór linii charakterystyczny dla jednej fazy, tj. Ce₅Mo₈O₃₂ (tabela 2, próbka nr 8). Próbki o zawartości tlenku molibdenu wyższym niż 61,54% mol. były wielofazowe, a na ich dyfraktogramach wciąż identyfikowano zbiór mało intensywnych NL.

Wszystkie próbki po szóstym etapie ogrzewania zostały poddane analizie DTA-TG. Na krzywych DTA próbek o zawartości większej niż 38,46% mol. CeO₂ w mieszaninach początkowych (tabela 2, próbki nr 1–6) zarejestrowano jeden efekt z temperaturą początku ok. 960°C. Na krzywej DTA-TG próbki o zawartości 33,33% mol. CeO₂ (tabela 2, próbka nr 7) zarejestrowano jeden efekt z temperaturą początku wynoszącą ok. 760°C. Temperatury początków pierwszych efektów zarejestrowanych na krzywych DTA pozostałych próbek (tabela 2, próbki nr 8–10) wynosiły ok. 680°C. Efekt ten był prawdopodobnie związany z sublimacją MoO₃ [11].

Tabela 2. Porównanie składów fazowych próbek po kolejnych etapach ogrzewania

Nr próbki	Skład mieszanin wyjściowych [% mol.]		Skład fazowy				
	CeO ₂	MoO ₃	I etap 500°C, 12 h	II etap 500°C, 12 h	III etap 550°C, 12 h	IV etap 590°C, 12 h	V–VI etap 2×600°C, 12 h
1	90,00	10,00	CeO ₂ , MoO ₃	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅	CeO ₂ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂	CeO ₂ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂	CeO ₂ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂
2	80,00	20,00	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ \Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂	CeO ₂ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂	CeO ₂ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂	CeO ₂ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂
3	60,00	40,00	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂	CeO ₂ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂	CeO ₂ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂	CeO ₂ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂
4	50,00	50,00	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ NL	CeO ₂ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂	CeO ₂ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂	CeO ₂ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂
5	40,00	60,00	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ NL	CeO ₂ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ NL	CeO ₂ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂	CeO ₂ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂
6	38,46	61,54	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ NL	CeO ₂ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ NL	CeO ₂ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂	Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂
7	33,33	66,67	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ NL	CeO ₂ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ NL	Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ NL	Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ NL
8	30	70	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ NL	MoO ₃ , Ce- Mo ₂ O ₄ O ₁₅ , Ce- Mo ₅ O ₈ O ₃₂ NL	MoO ₃ , Ce- Mo ₂ O ₄ O ₁₅ , Ce- Mo ₅ O ₈ O ₃₂ NL	MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ NL
9	20	80	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ NL	MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ NL	MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ NL	MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ NL
10	10	90	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅	MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ NL	MoO ₃ , Ce- Mo ₂ O ₄ O ₁₅ , Ce- Mo ₅ O ₈ O ₃₂ NL	MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ NL

NL – niezidentyfikowane linie.

Ze względu na obecność niezidentyfikowanej fazy podjęto decyzję o ponownym wyprażeniu próbek nr 7–10 w temperaturze 650°C. Fazy wchodzące w skład próbek po tym etapie ogrzewania

przedstawiono w tabeli 3. Na dyfraktogramach tych próbek nie zarejestrowano NL. Intensywność linii charakterystycznych dla $Ce_5Mo_8O_{32}$ była mniejsza w porównaniu z poprzednimi etapami, natomiast wzrosła intensywność $Ce_2Mo_4O_{15}$.

Tabela 3. Składy fazowe próbek nr 7–10 po dodatkowym ogrzewaniu ich w $650^\circ C$

Nr próbki	Skład mieszaniny wyjściowej [% mol.]		Zidentyfikowane fazy
	CeO ₂	MoO ₃	
			VII etap – $650^\circ C$, 12 h
7	33,33	66,67	$Ce_2Mo_4O_{15}$, $Ce_5Mo_8O_{32}$
8	30,00	70,00	MoO ₃ , $Ce_2Mo_4O_{15}$, $Ce_5Mo_8O_{32}$
9	20,00	80,00	MoO ₃ , $Ce_2Mo_4O_{15}$, $Ce_5Mo_8O_{32}$
10	10,00	90,00	MoO ₃ , $Ce_2Mo_4O_{15}$, $Ce_5Mo_8O_{32}$

Linie charakterystyczne dla związku $Ce_2Mo_4O_{15}$ były najbardziej intensywne na dyfraktogramie próbki o zawartości 33,33% mol. CeO₂ (tabela 3, próbka nr 7). W celu sprawdzenia, czy można otrzymać czysty molibdenian(VI) ceru(III), próbkę ogrzano dodatkowo w temperaturze $680^\circ C$. Po kolejnym etapie na dyfraktogramie próbki 7 wciąż widoczne były linie charakterystyczne dla związku $Ce_5Mo_8O_{32}$.

Ponieważ nie otrzymano znanych z literatury molibdenianów(VI) ceru(IV), postanowiono przeprowadzić dodatkową syntezę, która polegała na sporządzeniu dwóch próbek odpowiadających składem molowym tym molibdenianom – próbka nr 5.p odpowiadała składem związkowi o wzorze $Ce_2Mo_3O_{13}$, a próbka nr 7.p – $CeMo_2O_8$. Próbki umieszczono w piecu rozgrzanym do temperatury $590^\circ C$ na 4 h – w temperaturze, w której zaczyna się ubytek masy rejestrowany na krzywych TG mieszanin fizycznych (rys. 2). Następnie próbki wyjęto i gwałtownie schłodzono do temperatury otoczenia. W tabeli 4 przedstawiono składy fazowe próbek poddanych temu eksperymentowi.

Tabela 4. Skład fazowy próbek po ogrzaniu ich do $590^\circ C$, a następnie gwałtownym schłodzeniu

Nr próbki	Skład mieszaniny wyjściowej [% mol.]		Zidentyfikowane fazy
	CeO ₂	MoO ₃	
			$590^\circ C$, 4 h + zamrożenie
5.p	40,00	60,00	CeO ₂ , $Ce_2Mo_4O_{15}$, $Ce_5Mo_8O_{32}$
7.p	33,33	66,67	CeO ₂ , MoO ₃ , $Ce_2Mo_4O_{15}$, $Ce_5Mo_8O_{32}$

Na dyfraktogramach obu próbek nie zarejestrowano linii charakterystycznych dla molibdenianów(VI) ceru(IV). Ponadto kontrola ubytku masy tych próbek po ich ogrzaniu wykazała, że w takich warunkach syntezy występuje znaczna sublimacja MoO₃.

Reaktywność tlenku ceru(IV) wobec tlenku molibdenu(VI) w atmosferze argonu

W celu sprawdzenia, jakie związki i fazy tworzą się w wyniku reakcji tlenku CeO₂ z MoO₃ w atmosferze argonu, sporządzono analogicznych 10 próbek o składach takich samych jak w przypadku syntez prowadzonych w atmosferze powietrza (tabela 1). Ponownie dwie z nich składem mieszaniny wyjściowej odpowiadały molibdenianom(VI) ceru(IV): próbka nr 5.I odpowiadała składem Ce₂Mo₃O₁₃, próbka nr 7.I – CeMo₂O₈ (próbka nr 7), a próbka nr 6.I – Ce₅Mo₈O₃₂.

Ogrzewanie próbek rozpoczęto od temperatury 500°C. Analiza jakościowa wykonana na podstawie dyfraktogramów nie wykazała po pierwszym etapie ogrzewania jakichkolwiek zmian w składzie próbek. We wszystkich próbkach nadal znajdowały się tlenek molibdenu(VI) oraz tlenek ceru(IV) (tabela 5), a wzajemne położenie linii charakterystycznych dla tlenków, jak i ich intensywność nie odbiegały znacznie od dyfraktogramów mieszanin. Rejestrowane ubytki masy nie przekraczały 0,09% wag.

Drugi etap ogrzewania przeprowadzono w temperaturze 550°C. Na dyfraktogramach próbek o zawartości od 20,00% mol. do 60,00% mol. CeO₂ (tabela 5, próbki 3.I–9.I) zarejestrowano linie pochodzące od niezidentyfikowanej fazy (NL), które mają takie samo położenie jak te, które występowały w trakcie syntezy w atmosferze powietrza. W składzie wszystkich próbek zawarty był molibdenian(VI) ceru(III) o wzorze Ce₂Mo₄O₁₅. Obecność fazy, w której cer jest na +3 stopniu utlenienia, może wynikać z faktu, że związek Ce₂Mo₄O₁₅ tworzy się wydzieleniem tlenu, zgodnie z równaniem:



Tworzenie się związku Ce₂Mo₄O₁₅ w temperaturze 550°C oznacza, że w atmosferze argonu tlenki CeO₂ i MoO₃ zaczynają reagować w temperaturze wyższej niż w atmosferze powietrza.

Po trzecim etapie ogrzewania w 590°C na dyfraktogramach próbek o zawartości od 30,00% mol. do 80,00% mol. CeO₂ identyfikowano molibdenian(VI) ceru o wzorze Ce₅Mo₈O₃₂ (tabela 5, próbki nr 2.I–8.I). NL zostały zarejestrowane na widmach XRD próbek o zawartości do 60,00% mol. tlenku ceru(IV) w mieszaninie wyjściowej, a ich intensywność na wszystkich dyfraktogramach była większa w porównaniu z poprzednimi wynikami. Całkowity ubytek masy w próbkach w zależności od składu wahał się od 0,12 do 0,2% wag.

Na dyfraktogramach próbek po czwartym etapie ogrzewania, tj. w temperaturze 600°C, linie pochodzące od niezidentyfikowanej fazy są fazą dominującą, a najintensywniejsze linie zarejestrowano dla próbki o zawartości 33,33% mol. CeO₂ (tabela 5, próbka nr 7.I).

Ze względu na fakt, że w większości próbek był wciąż obecny tlenek molibdenu(VI), zostały poddane ponownemu ogrzewaniu w temperaturze 630°C, tj. w temperaturze nieznacznie niższej niż temperatura sublimacji MoO₃. Po tym etapie ogrzewania linie niezidentyfikowanej fazy, które zostały zarejestrowane na widmach XRD, zmniejszyły swoją intensywność. Na dyfraktogramach próbek o zawartości powyżej 60,00% mol. CeO₂ (tabela 5, próbki nr 1.I–3.I) nie pojawia się już niezidentyfikowana faza. Na widmach XRD wszystkich próbek identyfikowano linie charakterystyczne dla molibdenianu(VI) ceru o wzorze Ce₅Mo₈O₃₂. Żadna z próbek nie była jednofazowa. W próbkach o zawartości do 40,00% mol. tlenku ceru(IV) identyfikowano tlenek molibdenu(VI). Z tego względu nie można podnosić temperatury ogrzewania, a jedynie wydłużyć czas. Badania reaktywności CeO₂ z MoO₃ w atmosferze argonu będą kontynuowane.

Tabela 5. Porównanie składów fazowych próbek po kolejnych etapach ogrzewania

Nr próbki	Skład mieszanin wyjściowych [% mol.]		Skład fazowy				
	CeO ₂	MoO ₃	I etap – 500°C, 12 h	II etap – 550°C, 12 h	III etap – 590°C, 12 h	IV etap – 600°C, 12 h	V etap – 630°C, 12h
1.I	90,00	10,00	CeO ₂ , MoO ₃	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅	CeO ₂ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂
2.I	80,00	20,00	CeO ₂ , MoO ₃	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅	CeO ₂ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂	CeO ₂ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂	CeO ₂ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂
3.I	60,00	40,00	CeO ₂ , MoO ₃	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ , NL	CeO ₂ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂
4.I	50,00	50,00	CeO ₂ , MoO ₃	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ , NL	CeO ₂ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ , NL
5.I	40,00	60,00	CeO ₂ , MoO ₃	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , NL	CeO ₂ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ , NL
6.I	38,46	61,54	CeO ₂ , MoO ₃	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ , NL
7.I	33,33	66,67	CeO ₂ , MoO ₃	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ , NL	MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ , NL
8.I	30	70	CeO ₂ , MoO ₃	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ , NL
9.I	20	80	CeO ₂ , MoO ₃	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ , NL
10.I	10	90	CeO ₂ , MoO ₃	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , NL	CeO ₂ , MoO ₃ , Ce ₂ Mo ₄ O ₁₅ , Ce ₅ Mo ₈ O ₃₂ , NL

Na żadnym dyfraktogramie nie zarejestrowano linii charakterystycznych dla molibdenianu(VI) ceru(IV).

PODSUMOWANIE

Przedstawione w pracy wyniki badań stanowią podstawę do sformułowania następujących wniosków:

1. W fazie stałej tlenek ceru(IV) i tlenek molibdenu(VI), zarówno w atmosferze powietrza, jak i argonu, nie są inertne wobec siebie, lecz reagują z utworzeniem różnych faz.
2. W reakcji w fazie stałej CeO_2 z MoO_3 w atmosferze powietrza oraz w atmosferze argonu nie udało się otrzymać znanych z literatury molibdenianów(VI) ceru(IV): $\text{Ce}_2\text{Mo}_3\text{O}_{13}$ oraz CeMo_2O_8 .
3. W wyniku reakcji w fazie stałej tlenku ceru(IV) z tlenkiem molibdenu(VI) w stosunku molarowym 5:8 w atmosferze powietrza otrzymano związek $\text{Ce}_5\text{Mo}_8\text{O}_{32}$ w stanie czystym. W atmosferze argonu związek ten był zawsze zanieczyszczony innymi molibdenianami(VI) ceru i/ lub tlenkiem CeO_2 .
4. W reakcji CeO_2 z MoO_3 , zarówno w atmosferze powietrza, jak i w atmosferze argonu, pojawia się niezidentyfikowana faza (NL), jednak w obecności gazu obojętnego ilość nowego związku jest dużo większa. Badania powinny być kontynuowane w celu sprawdzenia składu stechiometrycznego nowej fazy.

LITERATURA

- [1] Araújo M., Pereira A., Oliveira J., Brandão V., Filho F., Silva R., Lima A. industrial ceramic brick drying in oven by CFD. *Materials* 2019, 12, 1–22.
- [2] Jak powstają płytki ceramiczne?, <https://www.paradyz.com/pl/blog/a37426-jak-powstaja-plytki-ceramiczne-> (dostęp: 21.05.2024 r.).
- [3] Dyski Cyrkonowe. Cyrkon w Stomatologii, <https://e-meditrans.pl/323-dyski-cyrkonowe-> (dostęp: 21.05.2024 r.).
- [4] Cementy w medycynie, <http://laboratoria.net/artukul/17212.html> (dostęp: 21.05.2024 r.).
- [5] Tlenek glinu Al_2O_3 (alumina), <https://inn-therm.pl/produkty/ceramika-techniczna-ksztaltki-wysokotemperaturowe/tlenek-glinu-al2o3-alumina/> (dostęp: 21.05.2024 r.).
- [6] Heck R.M., Gulati S., Farrauto R.J. The application of monoliths for gas phase catalytic reactions. *Chem. Eng. J.* 2001, 82, 149–156.
- [7] Materiały ogniotrwałe, <http://betonyogniotrwale.pl/index.php?go=wyroby-szamoto> (dostęp: 21.05.2024 r.).
- [8] Fronzi M., Assadi M.H., Hanaor D.A. Theoretical insights into the hydrophobicity of low index CeO_2 surfaces. *Appl. Surf. Sci.* 2019, 478, 68–74.
- [9] Marakushin K.N., Kalinin V.B., Alikhanyan A.S. Mass spectrometric study of vapor composition over the Ce-O system. *Inorg. Mater.* 2000, 8, 793–798.
- [10] Sebenik R. Molybdenum and molybdenum compounds, w: *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Wiley, 2005, 24–25.
- [11] Zhou L., Yang L., Yuan P., Zou J., Wu Y., Chengzhong Y. $\alpha\text{-MoO}_3$ Nanobelts: a high performance cathode material for lithium ion batteries. *J. Phys. Chem.* 2010, 114, 21868–21872.
- [12] Liu S., Wu X., Weng D., Ran R. Ceria-based catalysts for soot oxidation: a review. *J. Rare Earths* 2015, 33, 567–590.

- [13] Lappalainen J., Tuller H., Lantto V. Electronic conductivity and dielectric properties of nanocrystalline CeO₂ films. *J. Electrocer.* 2004, 13, 129–133.
- [14] Julien C., Khelfa A., Hussain O., Nazri G. Synthesis and characterization of flash-evaporated MoO₃ thin films. *J. Cryst. Growth* 1995, 156, 235–244.
- [15] Wadood M., Ahmedzeki N., AbdulNabi M. Extraction of valuable metals from spent hydrodesulfurization catalyst by two stage leaching method. *Iraqi J. Chem. Pet. Eng.* 2011, 4, 21–35.
- [16] Bagheri M., Orcid M., Orcid A. MoO₃–metal–organic framework composite as a simultaneous photocatalyst and catalyst in the PODS process of light oil. *ACS Catal.* 2017, 7, 6949–6956.
- [17] Ustinov O.A., Novoselov G.P., Andrianov M.A., Chebotarev N.T. System MoO₃-CeO₂. *Russ. J. Inorg. Chem.* 1970, 1318, 2549–2551.
- [18] Castellan A., Bart J.C., Bossi A., Perissinoto P., Giordano N. On the formation of cerium molybdates under different atmospheric and thermal conditions. *Z anorg allg Chem.* 1976, 422, 155-72.
- [19] Schustereit T., Schleid T., Hartenbach I. Ce₂[MoO₅][MoO₄] and Ce₅[MoO₄]₈: Two new cerium oxomolybdates, each exhibiting a special structural feature. *J. Inorg. Gen. Chem.* 2011, 66, 763–770.
- [20] Brixner L.H., Whitney J.F., Licit Kay M.S. Lattice parameters and space group of Ce(MoO₄)₂. *J. Solid State Chem.* 1973, 6, 550–552.
- [21] Bart J.C., Giordano N. Phase relationships in the cerium-molybdenum oxide system. *J. Less-Common Met.* 1976, 46, 17–24.
- [22] Wu Y., Hu G., Xie Y., Guo M., Luo M. Solid state reaction of MoO₃-CeO₂ complex oxide studied by Raman spectroscopy. *Solid State Sci.* 2011, 13, 2096–2099.
- [23] Kosinov N., Coumans F., Li G., Uslamin E., Mezari B., Wijpkema A., Pidko E., Hensen E. Stable Mo/HZSM-5 methane dehydroaromatization catalysts optimized for high-temperature calcination-regeneration. *J. Catal.* 2017, 346, 125–133.

Nowe pochodne niesteroidowych leków przeciwzapalnych. Zwiększona rozpuszczalność, przenikalność przez skórę i potencjalne dodatkowe zastosowania

Karolina BILSKA, Paula OSSOWICZ-RUPNIEWSKA

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej,
Katedra Technologii Organicznej i Materiałów Polimerowych

WSTĘP

Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) są kluczową grupą leków stosowanych w terapii stanów zapalnych, bólu oraz gorączki. Ich działanie opiera się na hamowaniu enzymu cyklooksygenazy (COX), co prowadzi do zmniejszenia produkcji prostaglandyn, które są kluczowymi mediatorami procesów zapalnych. W ostatnich latach zauważalne jest rosnące zainteresowanie syntezą nowych pochodnych NLPZ, które mogą cechować się poprawioną skutecznością, lepszymi profilami bezpieczeństwa czy np. większą przenikalnością przez skórę.

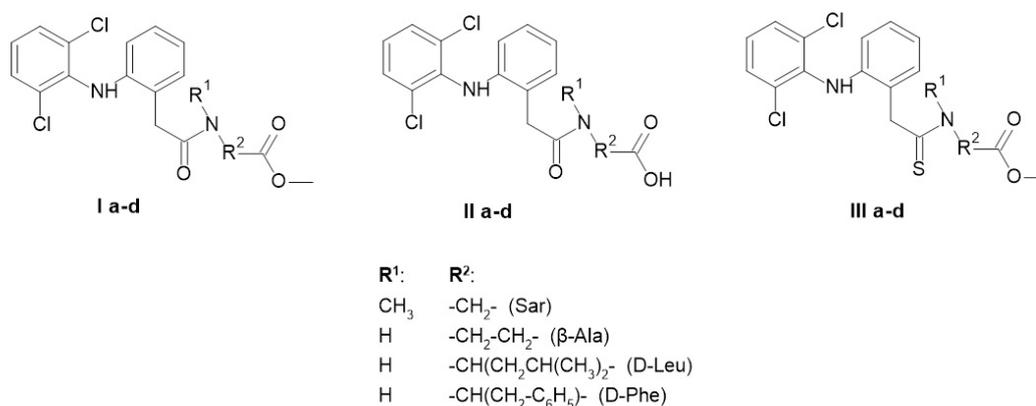
W pracy przedstawiono przegląd nowych pochodnych związków aktywnych z grupy NLPZ, skupiający się na popularnych lekach, takich jak: diklofenak, ibuprofen, ketoprofen, naproksen, kwas salicylowy, kwas acetylosalicylowy, indometacyna oraz flurbiprofen.

DIKLOFENAK

Diklofenak jest szeroko stosowany w medycynie jako lek przeciwbólowy, przeciwzapalny i przeciwgorączkowy. Znajduje zastosowanie w terapii wielu schorzeń, takich jak reumatoidalne zapalenie stawów, zapalenie stawów, bóle mięśni oraz stany zapalne układu moczowego.

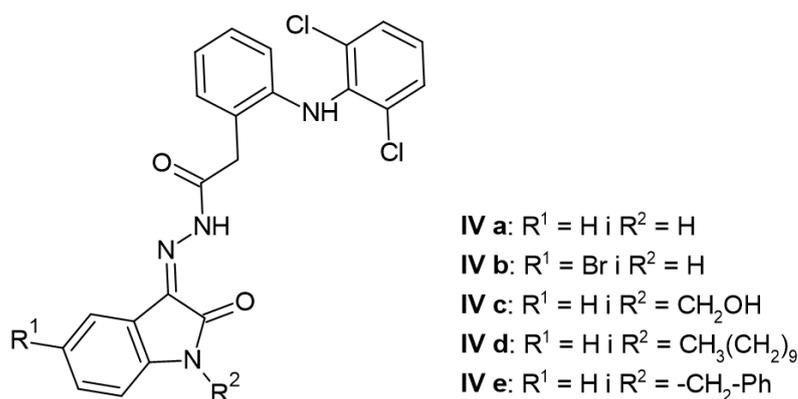
Wykazano, że skuteczny środek przeciwreumatyczny powinien mieć następujące cechy: stałą kwasową między 4 a 5, współczynnik podziału ok. 10 oraz dwa pierścienie aromatyczne skrócone względem siebie. Sól sodowa diklofenaku jako jedna z pierwszych modyfikacji strukturalnych tego związku doskonale wpisująca się we wspomniane wymagania, ponieważ jej stała kwasowa wynosi 4, a współczynnik podziału 13,4, a także posiada pierścień fenylowy, którego dwie pozycje *orto* są zajęte przez atomy chloru, które powodują maksymalne skrócenie pierścienia fenylowego. Unikatowa struktura diklofenaku może wpływać na jego aktywność biologiczną, co potwierdziły badania kliniczne. Ponadto szczegółowo przebadano właściwości farmakokinetyczne, wchłanianie, wiązanie z białkami osocza i receptorami oraz wydalanie zarówno diklofenaku, jak i jego soli sodowej [1]. Sól sodowa diklofenaku jest dobrze wchłaniana po podaniu doustnym, a maksymalne stężenie w surowicy krwi wynoszące ok. 1,5 µg/ml osiąga w ciągu 2 h od spożycia. Diklofenak jest eliminowany głównie przez metabolizm, a następnie wydalany z moczem i żółcią w postaci koniugatów glukuronidowych i jego siarczanowych metabolitów. Główny metabolit wykazuje ok. 1/30 aktywności niezmienionego leku w zwierzęcych modelach zapalenia. Ponad 99% związku wiąże się z białkami osocza, głównie z albuminami.

W poszukiwaniu silniejszych leków, które mogłyby zastąpić powszechnie stosowany diklofenak, zwłaszcza tych redukujących wrzodziejące zapalenie błony śluzowej żołądka, Abo-Ghalla i in. [2] zsyntetyzowali 12 nowych niebiałkowych koniugatów aminokwasowych diklofenaku, a mianowicie: sarkozyny, β -alaniny, D-leucyny i D-fenylalaniny (rys. 1). Zsyntetyzowane związki poddali badaniom przesiewowym w celu oceny ich aktywności przeciwzapalnej, przeciwbólowej i wrzodziejącej u szczurów. Estry aminokwasów diklofenaku (I a–d) zsyntetyzowali przy użyciu odpowiednich aktywnych estrów N-hydroksysukcynoimidu lub hydroksybenzotriazolu. Hydroliza alkaliczna przy użyciu wodorotlenku sodu, a następnie zakwaszenie poprzez dodatek wodorosiarczynu(VI) potasu lub tworzenie tioamidu (z wykorzystaniem odczynnika Lawesson) pozwoliły na uzyskanie odpowiednich wolnych kwasów (II a–d) lub tioamidów (III a–d). Warto zauważyć, że w przeciwieństwie do niemodyfikowanego diklofenaku zsyntetyzowane pochodne (z wyjątkiem związku I d) nie wywoływały wrzodów u szczurów. Co więcej, zachowały one znaczną aktywność przeciwzapalną, eliminując główny efekt uboczny diklofenaku – podrażnienie żołądka. Szczególnie obiecujące perspektywy terapeutyczne wykazały koniugat sarkozyny I a oraz jego tiomimetyk III a. Struktury wszystkich otrzymanych związków zamieszczono na rys. 1.



Rys. 1. Struktury nowych koniugatów aminokwasów z diklofenakiem

Ibrahim i in. [3] zaprojektowali i zsyntetyzowali nowe pochodne diklofenaku (IV a–e, rys. 2), a ich struktury chemiczne potwierdzili przy użyciu różnych metod spektroskopowych (FT-IR, ¹H NMR, ¹³C NMR i MS). Związki (zasady Schiffa) otrzymali w wyniku reakcji kondensacji pierwszorzędowych amin i związków karbonylowych, a ich aktywność przeciwzapalną zbadali z zastosowaniem modelu zapalenia indukowanego podaniem karageniny i z wykorzystaniem pletyzmometrycznej metody pomiaru objętości łąpy w porównaniu z diklofenakiem jako kontrolą pozytywną. Procentowe zahamowanie obrzęku wskazywało, że wszystkie związki cechowały się porównywalną aktywnością przeciwzapalną jak diklofenak. Dodatkowo aktywność przeciwzapalną potwierdzono wirtualnym badaniem przesiewowym wykorzystującym dokowanie molekularne. Związek IV b – N'-(5-bromo-2-oksoindolin-3-ylideno)-2-(2-(2,6-dichlorofenylamino)fenyl)acetohydrazyd wykazał najwyższą aktywność *in vivo* (61,32% hamowania) w porównaniu ze standardowym diklofenakiem (51,36% hamowania), a także najlepszy wynik energii wiązania (–10,765 kcal/mol) oraz wynik wirtualnego dokowania (–12,142 kcal/mol).



Rys. 2. Struktury pochodnych diklofenaku (IV a–e)

IBUPROFEN

Ibuprofen jest jednym z najczęściej stosowanych leków przeciwbólowych, przeciwzapalnych i przeciwgorączkowych z grupy NLPZ. Można go dostarczyć do organizmu na różne sposoby (np. droga doustna, ale także miejscowo na skórę). Ze względu na ograniczoną przenikalność ibuprofenu przez skórę istnieją różne strategie mające na celu osiągnięcie terapeutycznych stężeń, takie jak modyfikacja chemiczna cząsteczek leku np. przez utworzenie soli. Metoda par jonowych wykorzystuje połączenie naładowanych cząsteczek leku z cząsteczkami obdarzonymi przeciwnym ładunkiem, co tymczasowo neutralizuje ładunek. Obdarzone ładunkiem cząsteczki przenikają przez naskórek tylko w niewielkim stopniu, natomiast pary jonowe z łatwością przenikają przez lipidy warstwy rogowej i dysocjują w żywych warstwach naskórka [4]. Wiele doniesień potwierdza korzystne właściwości par jonowych, np. w postaci aminokwasowych cieczy jonowych (AAILs) w porównaniu z niemodyfikowanym ibuprofenem.

Pierwsze tego typu związki zostały opisane przez Furukawę i in., którzy syntezowali ibuprofenuan estru etylowego L-proliny – ibuprofen-ProOEt [5]. Natomiast w komercyjnych preparatach farmaceutycznych stosowane są różne sole ibuprofenu, takie jak lizynian ibuprofenu – substancja aktywna w preparacie Lizymax® (tabletki) czy połączenie argininy i ibuprofenu w stosunku molowym 0,92:1 – Caldolor® (roztwór do wstrzykiwań) [6]. Ibuprofenuan argininy został opisany jako umiarkowanie rozpuszczalny w wodzie (85 mg/ml) [7] i tworzący stabilne roztwory o pH zbliżonym do neutralnego. Badania sugerują, że obecność L-argininy może zmniejszyć ryzyko powstawania chorób sercowo-naczyniowych związanych z przyjmowaniem NLPZ [8].

Ibuprofen, podobnie jak wszystkie leki z grupy NLPZ, poprzez zahamowanie produkcji prostaglandyn uszkadza naturalną barierę ochronną oraz upośledza podśluzówkowy przepływ krwi, powodując powstanie nadżerek i owrzodzeń w błonie śluzowej żołądka i dwunastnicy. W celu uniknięcia działań niepożądanych, np. działania wrzodotwórczego, związanego z hamowaniem biosyntezy prostacykliny (PGI₂), wprowadzono wiele preparatów, w których grupa kwasowa jest zabezpieczona i uwolniona zostaje dopiero w organizmie w wyniku enzymatycznej hydrolizy. Po podaniu doustnym leki tego typu przechodzą przez żołądek w praktycznie niezmienionej postaci.

Są to proleki, np. estry (np. benorylat) lub inne pochodne, które umożliwiają w procesie biotransformacji uzyskanie ugrupowania kwasowego. Znane są nowe proleki o polepszonej aktywności farmakologicznej i niższym ryzyku działań niepożądanych ze strony przewodu pokarmowego, takie jak amidy ibuprofenu powstałe w reakcji grupy karboksylowej ibuprofenu z aminami heteroaromatycznymi [9], pochodne estrowe ibuprofenu otrzymane w reakcji grupy karboksylowej ibuprofenu z mentolem, tymolem i eugenolem [10], a także kwercetyną, alkoholem salicylowym i kwasem galusowym [11]. Ponadto istnieje wiele innych soli organicznych ibuprofenu, jak alkiloamoniowe [12, 13, 14], imidazoliowe [15, 16], fosfoniowe [13, 17], a także sól prokainy [13], lidokainy [17], ranitydyny [18] czy cholinyl [19].

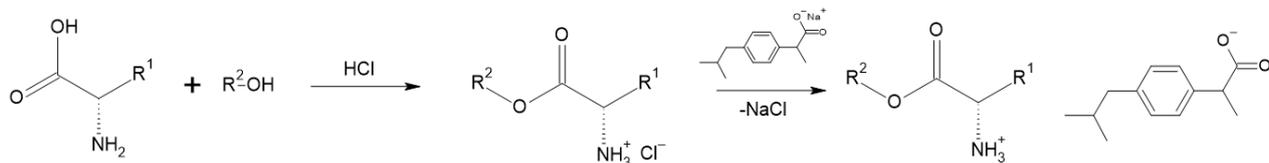
Znana jest trzyetapowa metoda otrzymywania pochodnych ibuprofenu w postaci ibuprofenianów estrów alkilowych L-aminokwasów, w której pierwszym etapem jest synteza chlorowodorków estrów alkilowych L-aminokwasów, którą przeprowadza się w obecności czynnika chlorującego (np. TMSCl czy SOCl_2) oraz wybranych alkoholi, stanowiących jednocześnie rozpuszczalnik reakcji. Następnie otrzymane chlorowodorki są neutralizowane za pomocą czynnika zobojętniającego (np. 25-procentowego roztworu amoniaku), a w ostatnim etapie tak otrzymany ester poddawany jest reakcji protonowania kwasem (*RS*)-2-[4-(2-metylopropylo)fenylo]propanowym. Zgodnie z tą metodyką otrzymano modyfikacje w postaci soli ibuprofenu w wyniku reakcji ibuprofenu z estrami alkilowymi L-waliny o różnej długości łańcucha alkilowego od C_1 do C_8 oraz o różnym rozgałęzieniu (łańcuch propylowy i izopropylowy) [20, 21, 22, 23], a także z estrami izopropylowymi różnych aminokwasów (glicyna, L-alanina, L-walina, L-izoleucyna, L-leucyna, L-seryna, L-treonina, L-cysteina, L-metionina, kwas L-asparaginowy, L-lizyna, L-fenylalanina i L-prolina) [24, 25, 26].

Zsyntezowano również pochodne ibuprofenu, w których jako kationy zastosowano estry propylowe L-histydyny, L-fenylalaniny, L-tyrozyny i L-tryptofanu z łańcuchem bocznym aromatycznym lub heterocyklicznym [27]. Ponadto otrzymano ibuprofeniany estrów alkilowych aminokwasów inne niż wymienione powyżej, takie jak: ibuprofenian estru metylowego L-fenylalaniny, ibuprofenian estru etylowego L-fenylalaniny, ibuprofenian estru propylowego L-fenylalaniny, ibuprofenian estru etylowego L-leucyny i ibuprofenian estru propylowego L-leucyny, ibuprofenian estru butylowego L-leucyny, ibuprofenian estru heksylowego L-leucyny [22, 23]. Wszystkie otrzymane modyfikacje strukturalne ibuprofenu charakteryzowały się zwiększoną rozpuszczalnością w wodzie i PBS (buforowana fosforanem sól fizjologiczna, $\text{pH} = 7,4$). Spośród wszystkich wymienionych związków ibuprofenian estru izopropylowego L-lizyny cechował się największą rozpuszczalnością w wodzie ($5,047 \text{ g IBU/dm}^3$) oraz ponad 16-krotnie lepszą przenikalnością przez skórę (w przeliczeniu na zawartość substancji aktywnej).

Ponadto oceniono aktywność przeciwdrobnoustrojową niektórych z otrzymanych pochodnych ibuprofenu wobec *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* i *M. Luteus*. Efekt hamujący wobec *Staphylococcus epidermidis* oraz *M. Luteus* wykazano we wszystkich badanych stężeniach. Efekt przeciwdrobnoustrojowy soli ibuprofenu jest podobny w porównaniu z niemodyfikowanym ibuprofenem [28]. Otrzymane koniugaty estrów L-aminokwasów mogą znaleźć zastosowanie w miejscowym i przezskórnym podawaniu zarówno aminokwasów, jak i substancji aktywnych w ilościach wystarczających do wywołania efektu terapeutycznego.

Druga powszechnie znana metoda otrzymywania soli estrów alkilowych aminokwasów polega na reakcji metatezy pomiędzy chlorowodorkiem estru alkilowego aminokwasu a odpowiednią solą

sodową ibuprofenu (rys. 3). Zgodnie z przedstawioną metodologią uzyskano następujące pochodne w postaci ibuprofenianów estrów izopropylowych glicyny, L-alaniny, L-leucyny, L-izoleucyny, L-metioniny, L-treoniny, kwasu L-asparaginowego, L-feniloalaniny, L-proliny oraz L-seryny [23].



Rys. 3. Schemat syntezy otrzymywania ibuprofenianów estrów alkilowych aminokwasów

Otrzymane pochodne ibuprofenu przebadano pod kątem cytotoksyczności. Ibuprofeniany estrów alkilowych aminokwasów nie wykazały znaczącego toksycznego wpływu na linie komórkową keratynocytów człowieka (HaCaT) i mysich fibroblastów 3T3. Oszacowane wartości IC_{50} dla obu linii komórkowych po 24 h były w zakresie milimolowym, analogicznie jak dla niemodyfikowanego ibuprofenu. Co ciekawe, modyfikacje strukturalne ibuprofenu wykazywały niższą cytotoksyczność wobec komórek HaCaT w porównaniu z niemodyfikowanym ibuprofenem. Z wyjątkiem ibuprofenianu estru etylowego L-leucyny [LeuOEt][IBU] wszystkie pochodne wykazywały nieznacznie zwiększoną toksyczność wobec komórek 3T3 niż niemodyfikowany ibuprofen [22].

Badacze skoncentrowali się również na opracowaniu półstałych formułacji farmaceutycznych wykorzystujących otrzymane i opisane powyżej koniugaty aminokwasów z ibuprofenem. Zbadano możliwość tworzenia formułacji z dwoma dostępnymi komercyjnie nowoczesnymi podłożami farmaceutycznymi – Pentravan® oraz Celugel®. W badaniach zastosowano ibuprofen i ibuprofeniany estrów alkilowych L-waliny (otrzymane zgodnie ze wspomnianą metodyką [20, 21, 23]). Ponadto otrzymane wyniki porównano z komercyjnie dostępną emulsją lub żelem zawierającym ibuprofen. Zbadano zdolność przenikania substancji aktywnej z podłoża. W badaniach zastosowano skórę ludzką oraz półprzepuszczalną sztuczną membranę typu Strat-M®. Wykazano, że badania przy użyciu modelu dyfuzji przezskórnej Strat-M® mogą być alternatywą dla ludzkiej skóry w badaniach przenikania leków przez skórę [29, 30]. W porównaniu z innymi preparatami dostępnymi na rynku Pentravan® dostarczał większą ilość substancji aktywnej niż komercyjny preparat w postaci kremu. Ponadto znacznie większą przenikalność uzyskano dzięki stosowaniu wybranych modyfikacji substancji czynnej, takich jak [L-ValOPr][IBU] – ibuprofenian estru propylowego L-waliny, [L-ValOiPr][IBU] – ibuprofenian estru izopropylowego L-waliny, [L-ValOBu][IBU] – ibuprofenian estru butylowego L-waliny i [L-ValOAm][IBU] – ibuprofenian estru amyloвого L-waliny. Związki te przenikały lepiej niż wyjściowy ibuprofen [29]. W porównaniu z preparatem handlowym hydrożele zawierające zarówno ibuprofen, jak i jego pochodne wykazywały większą przenikalność substancji czynnej. Ponadto wykazano, że przenikalność przez skórę niektórych soli estrów alkilowych L-waliny była znacznie wyższa niż niemodyfikowanego ibuprofenu. Najlepsze wyniki uzyskano w przypadku połączenia ibuprofenu z [L-ValOiPr], [L-ValOPr] i [L-ValOBu] [30].

Ossowicz-Rupniewska i in. w badań przeprowadzonych w 2023 r. opracowali półstałe formułacje w postaci żelu na bazie emulsji zawierające ibuprofen i jego pochodne, takie jak ibuprofenian sodu (IBU·Na) i ibuprofenian estru etylowego L-feniloalaniny ([PheOEt][IBU]). Uzyskane wyniki wskazywały na zwiększoną przenikalność ibuprofenu i jego pochodnych przez skórę. Pochodne

ibuprofenu zostały ocenione jako potencjalne promotory przenikania. Po 24 h badania przenikania skumulowana masa wynosiła 948,6 $\mu\text{g IBU}/\text{cm}^2$ dla [PheOEt][IBU]. Wykazano, że na przenikalność ibuprofenu przez skórę wpływa zarówno forma leku, jak i jego postać [31].

W innym badaniu skupiono się na kompleksowej ocenie emulsji farmaceutycznych zawierających ibuprofen i jego pochodne (ibuprofenu sodu oraz ibuprofenu estru propylowego L-lizyny – [LysOPr][IBU]). Określono uwalnianie substancji czynnych z formulacji oraz ich penetrację i akumulację w skórze. Najwyższe uwalnianie ibuprofenu zaobserwowano w formulacji opartej na żelach z dodatkiem [LysOPr][IBU] – ok. 7750 $\mu\text{g IBU}/\text{cm}^2$. Badanie sugeruje, że preparaty na bazie emulsji mają potencjał do zastosowań miejscowych, zwłaszcza w przypadku bardziej hydrofilowych substancji czynnych, oraz że dobór składników i właściwości otrzymanej formulacji mają ogromne znaczenie z punktu widzenia przenikalności substancji aktywnej [32].

Ossowicz-Rupniewska i in. [24] zbadali również potencjał celulozy bakteryjnej (BC) jako nośnika ibuprofenu. Opisali prostą i skuteczną metodę otrzymywania celulozy bakteryjnej (BC) oraz celulozy bakteryjnej ładowanej ibuprofenem (BC-IBU) albo ibuprofenu estrami izopropylowymi L-waliny (BC-[ValOiPr][IBU]) lub L-leucyny (BC-[LeuOiPr][IBU]). Szybkość przenikania związku przez skórę była najwyższa dla BC-[ValOiPr][IBU] i porównywalna dla BC-[LeuOiPr][IBU] i BC-IBU. Wyniki wskazują, że dzięki odpowiedniej modyfikacji substancji czynnej można kontrolować przepuszczalność skóry. Ossowicz-Rupniewska i in. wykazali, że otrzymane membrany na bazie celulozy bakteryjnej można wykorzystać do przezskórnego podawania leków, w tym ibuprofenu. Ich aplikacja będzie łatwa, a przygotowanie leku proste [24].

Otrzymane modyfikacje ibuprofenu Ossowicz-Rupniewska i in. zastosowali również w gotowej postaci leku – plastrze medycznym. Opracowali 12 plastrów transdermalnych zawierających ibuprofen, ibuprofenu sodu oraz ibuprofenu estrami izopropylowymi następujących aminokwasów: glicyny, L-alaniny, L-waliny, L-seryny, L-treoniny, kwasu L-asparaginowego, L-lizyny, L-feniloalaniny i L-proliny. W badaniach tych zastosowano komercyjny klej poliakrylanowy DURO-TAK 378-2054. Wykazano, że większość otrzymanych plastrów charakteryzuje się dobrymi właściwościami samoprzylepnymi, stabilnością podczas użytkowania i przechowywania oraz że nie dochodzi do interakcji pomiędzy substancją czynną a klejem. Ponadto zarówno NLPZ, jak i produkty modyfikacji estrami aminokwasów wykazują stabilność w tej postaci farmaceutycznej. Udowodniono, że przenikalność przez skórę ibuprofenu z wytworzonych plastrów jest porównywalna do wartości uzyskanych dla plastrów komercyjnych zawierających analogiczną substancję czynną. W przypadku zastosowania opracowanych modyfikacji jako substancji aktywnej uzyskano zwiększoną przenikalność ibuprofenu od 2,3 do nawet 6,4 razy [26].

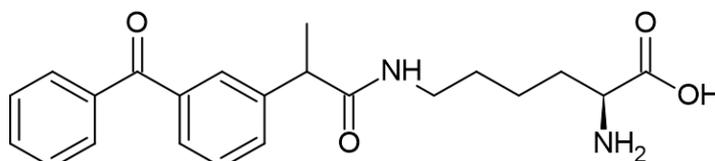
Ossowicz-Rupniewska i in. przedstawili również metodę zwiększania przepuszczalności ibuprofenu przez skórę za pomocą wirującego pola magnetycznego (RMF). W badaniach wykorzystali ibuprofen i jego modyfikacje strukturalne w postaci ibuprofenu estrami izopropylowymi L-aminokwasów, takich jak L-walina, L-feniloalanina, L-prolina i kwas L-asparaginowy. Po ekspozycji na RMF przeanalizowali ilość przenikniętego związku. Niezależnie od badanego związku zaobserwowali znaczny wzrost transportu leku przez skórę. Ponadto wykazali, że zastosowanie RMF zwiększa przepuszczalność ibuprofenu od 4 do 244 razy w porównaniu z próbą kontrolną bez RMF. Największe różnice zaobserwowali dla niemodyfikowanego ibuprofenu. Warto jednak zauważyć, że największe ilości substancji czynnej uzyskano przy wybranych modyfikacjach i ekspozycji na RMF [33].

KETOPROFEN

Ketoprofen także należy do rodziny niesteroidowych leków przeciwzapalnych i wykazuje właściwości przeciwbólowe, przeciwzapalne i przeciwgorączkowe oraz jest jednym z najczęściej stosowanych NLPZ ze względu na szybkość i skuteczność działania. Ketoprofen jest obecnie stosowany w leczeniu bólu pooperacyjnego czy pourazowego, a także w łagodzeniu objawów chorób reumatycznych [34].

Bariera krew–mózg (BBB) kontroluje przedostawanie się ksenobiotyków do mózgu. Często rozwój leków stosowanych w ośrodkowym układzie nerwowym musi zostać przerwany z powodu ich słabego wchłaniania przez mózg. Gynther i in. opracowali sposób na transport leków do mózgu szczura za pośrednictwem dużego transportera aminokwasów obojętnych (LAT1). W tym celu dokonali sprzężenia ketoprofenu z aminokwasem L-lizyną, aby prolek mógł uzyskać dostęp do LAT1.

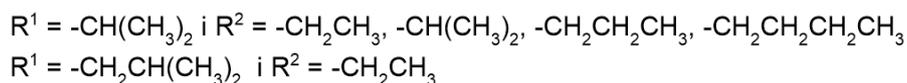
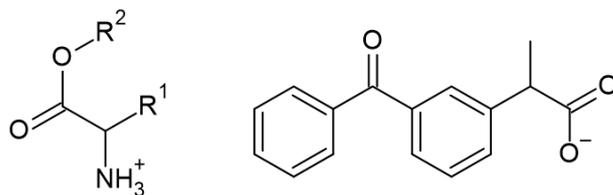
Pośredniczony przez LAT1 wychwyt mózgowy proleku wykazano za pomocą techniki perfuzji mózgu szczura *in situ*. Zdolność proleku do dostarczania ketoprofenu do miejsca działania – płynu wewnątrzkomórkowego mózgu – określono dzięki połączeniu eksperymentów *in vivo* i *in vitro*. Zarówno w jednych, jak i w drugich zaobserwowano szybki wychwyt z krwi i komórek mózgu. Ponadto dystrybucja proleku w mięszu mózgu i miejsce uwalniania leku macierzystego w mózgu zostały wykazane w badaniach *in vivo* i *in vitro*. Co więcej, wyniki te pokazują, że chociaż L-lizyna lub ketoprofen nie są same w sobie substratami LAT1, to poprzez połączenie tych cząsteczek utworzony prolek ma powinowactwo do LAT1 [35].



Rys. 4. Struktura ketoprofenu sprzężonego z L-lizyną

Rozwój cieczy jonowych opartych na aktywnych składnikach farmaceutycznych (API-ILs) jest możliwym rozwiązaniem niektórych problemów stałych i/lub hydrofobowych leków, takich jak niska rozpuszczalność i biodostępność, polimorfizm oraz potrzeba alternatywnych dróg podania w porównaniu z klasycznymi lekami. Ossowicz i in. po raz pierwszy opisali syntezę i szczegółową charakterystykę serii pięciu pochodnych zawierających estry aminokwasów jako kation i ketoprofen jako anion cieczy jonowej (KETO-ILs) [36]. Synteza opierała się na trzyetapowej reakcji chlorowodorowania, estryfikacji aminokwasu, następnie zobojętnianiu i protonowaniu (analogicznie jak w przypadku ibuprofenu). Otrzymano cztery estry L-waliny z różnymi alkoholami – etanolem, izopropanolem, propanolem i butanolem, a także ester etylowy L-leucyny (rys. 5). Głównym celem badań było zbadanie interakcji KETO-IL z BSA (albumina surowicy bydłowej) oraz HSA (albumina surowicy ludzkiej) [37]. Wykazano silną interakcję otrzymanych ketoprofenianów estrów alkilowych aminokwasów z BSA i HSA. Ustalono, że otrzymane sole mają podobny wpływ na stabilność termiczną białek jak macierzysta cząsteczka ketoprofenu. Tym samym potwierdzono podobny

profil farmakokinetyczny i farmakodynamiczny ketoprofenu i jego soli. Wszystkie badane związki były bezpieczne w zakresie badanych stężeń dla makrofagów (linia komórkowa RAW 264.7).



Rys. 5. Struktury czterech estrów alkilowych L-waliny oraz estru etylowego L-leucyny

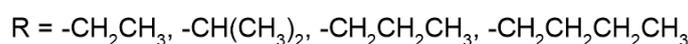
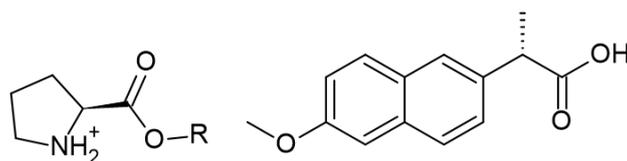
Ponadto sprawdzono aktywność przeciwdrobnoustrojową tak uzyskanych pochodnych ketoprofenu wobec *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* i *M. Luteus*. Wykazano, że obecność estru izopropylowego części aminokwasowej zwiększa aktywność przeciwbakteryjną w połączeniu z ketoprofenem. Nie zaobserwowano jednak strefy zahamowania dla [L-ThrOiPr][KETO] – ketoprofenianu estru izopropylowego L-treoniny [28]. Ze względu na działanie przeciwbakteryjne ketoprofeniany estrów izopropylowych aminokwasów mogą stanowić alternatywę w leczeniu ran trudno gojących i być stosowane w preparatach leków do stosowania miejscowego.

NAPROKSEN

Naprosken jest popularnym niesteroidowym lekiem przeciwzapalnym. Jednak słaba rozpuszczalność w wodzie (0,051 g/dm³ [38]) ogranicza jego biodostępność. Z tego powodu kilku badaczy skupiło się na uzyskaniu proleków naproksenu o potencjalnie lepszej biodostępności. Przykładowo Aboul-Fadl i in. otrzymali amidy naproksenu z estrami metylowymi i etylowymi aminokwasów [39]. Na podstawie wyników badań *in vitro* ich hydrolizy w różnym pH (pH 1,2, 5,5 i 7,4) oraz pod wpływem enzymów (inkubacja w homogenatach ludzkiego osocza i wątroby szczura) do badań biodostępności *in vivo* na szczurach wytypowano amidy naproksenu i glicynianu etylu oraz L-walinianu etylu. Wykazano, że związki te charakteryzują się wyższą biodostępnością (nawet do 200%) w porównaniu z naproksenem. Co więcej, modyfikacje naproksenu miały działanie hamujące wzrost komórek nowotworowych okrężnicy poprzez mechanizm niezależny od cyklooksygenazy (COX). Wyniki wykazały brak aktywności hamującej COX i wskazały na lepszy profil bezpieczeństwa w przewodzie pokarmowym dla zsyntetyzowanych związków w porównaniu z lekiem macierzystym – naproksenem [40]. Zwiększoną rozpuszczalność w porównaniu z rozpuszczalnością naproksenu, a tym samym zwiększoną biodostępność wykazano również w przypadku naproksenianu choline [41].

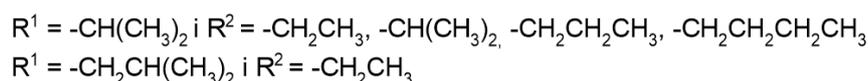
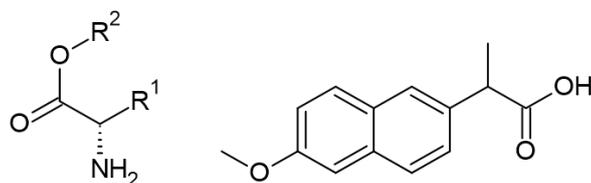
W 2021 r. zaproponowano syntezę nowych soli – naproksenianów estrów alkilowych L-proliny [ProOR][NAP] (rys. 6). Dla wszystkich związków przeprowadzono badania ich rozpuszczalności w wodzie oraz PBS. Ponadto określono ich lipofilowość, przenikalność, a także akumulację w skórze świńskiej. Dodatkowo sprawdzono ich toksyczność wobec mysich komórek fibroblastów L929. Otrzymane pochodne naproksenu wykazały lepszą rozpuszczalność i wyższą absorpcję cząsteczek

leku przez błony biologiczne. Ich lipofilowość była niższa i zwiększała się wraz ze wzrostem łańcucha alkilowego estru. Pochodna z estrem izopropylowym miała najlepszą przepuszczalność przez skórę świńską. Zastosowanie naproksenianu estru izopropylowego L-proliny zwiększyło przenikanie naproksenu przez skórę prawie czterokrotnie. Wykazano również, że wzrost przenikalności nie jest związany z dodatkowym ryzykiem: wszystkie związki miały podobny wpływ na żywotność komórek jak macierzysty naproksen [42].



Rys. 6. Struktury naproksenianów estrów alkilowych L-proliny

Ossowicz i in. przedstawili syntezę pięciu soli zawierających kationy estrów alkilowych aminokwasów i anion naproksenu (rys. 7), które potencjalnie mogą być stosowane jako nowe modyfikacje leków. Otrzymano je w trzech etapach: syntezie chlorowodorków estrów alkilowych L-aminokwasów, neutralizacji chlorowodorków do odpowiednich estrów alkilowych L-aminokwasów i utworzeniu docelowych soli naproksenu. Żadna pochodna nie wykazywała toksyczności wobec linii komórkowej mysich makrofagów (RAW 264.7). Potwierdzono również zdolność wiązania naproksenianów estrów alkilowych aminokwasów z BSA (albumina surowicy bydłowej). Parametry wiązania i stechiometria pochodnych naproksenu z albuminą surowicy bydłowej mieszczą się w zakresie szacowanym dla macierzystego naproksenu. Jedynie naproksenian estru izopropylowego L-waliny charakteryzuje się o mniej więcej rząd wielkości niższym powinowactwem do BSA, co sugeruje szybszą dyfuzję w układzie krążenia niż naproksenu i innych pochodnych, a co za tym idzie – szybsze dotarcie do miejsca działania [43].



Rys. 7. Struktury otrzymanych pochodnych naproksenu

Przeprowadzono badania aktywności przeciwbakteryjnej dla zsyntezowanych pochodnych naproksenu wobec kilku szczepów bakterii. Spośród niemodyfikowanego naproksenu oraz jego pochodnych jedynie pochodna [L-MetOiPr][NAP] – naproksenian estru izopropylowego L-metioniny – wykazywała efekt wrażliwości na *Escherichia coli*. Stwierdzono zwiększenie aktywności przeciw-

bakteryjnej wobec *Staphylococcus epidermidis* dla pochodnych naproksenu względem macierzystego leku. Jedynie dla pochodnej [L-ThrOipr][NAP] nie odnotowano strefy zahamowania [28].

W ostatnich latach poza działaniem przeciwzapalnym uwagę badaczy przyciągają inne działania farmakologiczne naproksenu, zwłaszcza przeciwnowotworowe i przeciwdrobnoustrojowe. Naproksen wykazuje swoje działanie poprzez hamowanie enzymu COX-2. Istnieje duże zainteresowanie możliwością, że inhibitory COX-2 mogą opóźniać lub zapobiegać rozwojowi różnych typów nowotworów, które często charakteryzują się ekspresją COX-2. Alves i in. zsyntetyzowali i scharakteryzowali nanopreparaty metaloleków naproksenu (RuNpx) i ibuprofenu (RuIbp) zamkniętych w biokompatybilnych nanocząstkach terpolimerowo-lipidowych (TPLN) w celu zwalczania glejaka (nowotworu mózgu). Kapsułkowanie poprawiło działanie antyproliferacyjne w komórkach U87MG w przypadku obu metaloleków. Autorzy odkryli, że wysoka żywotność komórek (>70%) w przypadku obu typów komórek sugeruje aktywność związaną z działaniem antyproliferacyjnym. Udoskonalenie tych nowych leków zawierających metale poszerza perspektywę dla leków zawierających diruten (II, III), działających na ten rodzaj nowotworu [44].

KWAS SALICYLOWY

Kwas salicylowy jest kwasem aromatycznym, którego nazwa chemiczna to kwas monohydroksybenzoowy. Ma on charakter lipofilowy. Po raz pierwszy został uzyskany z kory wierzby. Swoją nazwę zwyczajową zawdzięcza różnym źródłom o podobnej nazwie, np. powstaje jako produkt metabolizmu salicyny (alkoholowego β -glikozydu otrzymywanego z roślin), a także jest aktywnym metabolitem wytwarzanym z kwasu acetylosalicylowego (aspiryny). Samego kwasu salicylowego używa się w medycynie jako środka dezynfekującego (np. w postaci spirytusu salicylowego) i keratolizującego (np. w lekach na trądzik). Sól i pochodne estrowe tego związku są również szeroko stosowane w chemii organicznej i są znane jako salicylany [45].

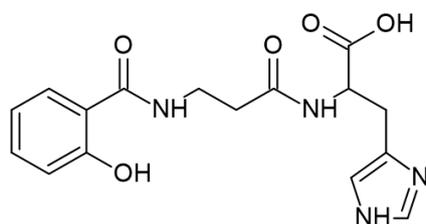
W 2021 r. opracowano syntezę ośmiu cieczy jonowych na bazie kwasu salicylowego (SA) zawierających kationowe niepolarne lub aromatyczne estry aminokwasów. Były to: salicylan estru metylowego L-feniloalaniny, salicylany estrów etylowych: L-waliny, L-leucyny i L-feniloalaniny, salicylany estrów propylowych: L-waliny i L-feniloalaniny, a także salicylan estru izopropylowego L-waliny oraz salicylan estru butylowego L-waliny. Przy wykorzystaniu testów *in vitro* wstępnie oceniono terapeutyczną siłę działania nowych pochodnych. Zaobserwowano, że przekształcenie SA w cieczy jonowe prowadziło do zmniejszenia jego cytotoksyczności wobec mysich fibroblastów zarodkowych NIH/3T3 i ludzkich keratynocytów HaCaT. Należy wspomnieć, że wszystkie salicylany estrów alkilowych aminokwasów [AAOR][SA] hamują produkcję cytokiny prozapalnej IL-6 w keratynocytach stymulowanych LPS (lipopolisacharyd). Co więcej, keratynocyty poddane działaniu [PheOMe][SA] – salicylan estru metylowego feniloalaniny i [PheOPr][SA] – salicylan estru propylowego feniloalaniny wydają się chronione przed stanem zapalnym wywołanym przez LPS. Ponadto nowe związki wykazują podobne powinowactwo wiązania do albuminy surowicy bydlęcej (BSA) jak macierzysty SA, co sugeruje podobny profil farmakokinetyczny. Te wstępne wyniki wskazują, że cieczy jonowe na bazie kwasu salicylowego, zwłaszcza te z kationami [PheOMe], [PheOPr] i [ValOipr], mają potencjał jako nowe środki do stosowania miejscowego w przewlekłych chorobach skóry, takich jak łuszczyca i trądzik pospolity [46].

Wykonano badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej dla kwasu salicylowego i jego pochodnych. Efekt hamujący wobec *Staphylococcus epidermidis* dla kwasu salicylowego i jego pochodnych określono dla stężeń od 400 mg/cm³. Strefa inhibicji obserwowana dla [L-ThrOiPr][SA] – salicylanu estru izopropylowego L-treoniny wynika z obecności w związku reszty kwasu salicylowego, który wykazuje aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec *E. coli*. Ponadto pochodne kwasu salicylowego charakteryzują się wysokimi wartościami logP (1,61–1,18). Optymalna lipofilowość może ułatwiać penetrację przez ścianę komórkową bakterii, która składa się z hydrofobowych warstw lipidowych. Salicylany charakteryzują się zatem najwyższym efektem hamującym, co skutkuje synergistyczną aktywnością przeciwbakteryjną. Co zaskakujące, efekt przeciwdrobnoustrojowy przeciwko *M. Luteus* zaobserwowano dla [L-ThrOiPr][SA] we wszystkich badanych zakresach stężeń, podczas gdy dla leku macierzystego tylko dla najwyższego badanego zakresu stężeń od 400 mg/cm³ [28].

KWAS ACETYLOSALICYLOWY

Kwas acetylosalicylowy jest jednym z pierwszych leków otrzymywanych na drodze syntezy, a jednocześnie najczęściej stosowanym. Odniósł najdłuższy sukces komercyjny i jest uważany za najpopularniejszy lek współczesnej ery. Pierwotnie był stosowany jako lek przeciwzapalny, obecnie jest również często stosowany jako środek przeciwplatek w profilaktyce u pacjentów kardiologicznych [47].

Kulikova i in. podjęli próbę syntezy pochodnej kwasu acetylosalicylowego w postaci kwasu 2-[3-(2-hydroksybenzoyloamino)-propionyloamino]-3-(1H-imidazol-4-yl)-propionowego – salicylo-karnozyny (SC) poprzez kondensację kwasu acetylosalicylowego i karnozyny. Biologiczna ocena pochodnej wykazała, że SC zachowała farmakologicznie istotne właściwości swoich prekursorów (działanie przeciwutleniające i przeciwplatekowe), ale nie wykazywała skutków ubocznych kwasu acetylosalicylowego (np. owrzodzenia żołądka) i była odporna na specyficzną hydrolizę przez karboksylazy surowicze i tkankowe. Uzyskane wyniki podkreślają znaczenie dalszych badań mechanizmów działania salicylo-karnozyny, jej możliwych właściwości neuroprotektoryjnych i przeciwzapalnych oraz tworzenia leku przeciwzakrzepowego opartego na jej strukturze [48].



Rys. 8. Struktura salicylo-karnozyny (SC)

Ponadto przeprowadzono badania dotyczące wpływu kwasu acetylosalicylowego oraz jego złożonych pochodnych opartych na metalach kobaltu (Co²⁺), cynku (Zn²⁺), niklu (Ni²⁺) i manganu (Mn²⁺) przy wielokrotnym podaniu w dawce 10 mg/kg na wskaźniki centralnej hemodynamiki szczurów (tętno, ciśnienie tętnicze). Jednokrotne podanie kwasu acetylosalicylowego i testowanych salicy-

lanów prowadziło do obniżenia akcji serca, czyli do wystąpienia bradykardii. Podanie następnego dnia obserwacji $ASNi^{2+}$, $ASMn^{2+}$ i zwłaszcza $ASZn^{2+}$ przyczyniło się do wzrostu tego wskaźnika, czyli do wystąpienia tachykardii. W 20. dniu obserwacji zaobserwowano zbliżenie się wartości tętna do poziomu wartości kontrolnych, z wyjątkiem $ASMn^{2+}$. Stwierdzono, że wielokrotne podawanie kwasu acetylosalicylowego oraz salicylanów kobaltu, cynku, niklu i manganu wpływa na wskaźniki centralnej hemodynamiki szczurów. Uzyskane dane potwierdzają skuteczność nasercową nowych związków koordynacyjnych i otwierają perspektywy dalszych badań ich efektów biologicznych w doświadczeniach przewlekłych [49].

INDOMETACyna

Indometacyna jest niesteroidowym lekiem przeciwzapalnym (NLPZ) o szerokim zastosowaniu. Jest wykorzystywana w leczeniu ostrego bólu, reumatoidalnego zapalenia stawów, zeszywniającego zapalenia stawów kręgosłupa, choroby zwyrodnieniowej stawów, zapalenia kaletki maziowej, dnawego zapalenia stawów i przetrwałego przewodu tętniczego [50]. Była stosowana w postaci kropli do oczu w celu zapobiegania zwężeniu źrenicy podczas operacji zaćmy i obrzękowi płamki żółtej. W okulistyce używano wodnych roztworów soli sodowej i trometaminy. Preparaty takie muszą mieć pH zbliżone do 6, aby uniknąć wytrącania się leku. Zawiesina okulistyczna indometacyny buforowana do pH 5,6 była stabilna, gdy zawierała alkohol poliwinylowy lub hydroksypropylometylocelulozę. Wykonano również wodne roztwory indometacyny z Poloxamerem-407 jako solubilizatorem, co pozwoliło otrzymać stabilne preparaty o wyższej aktywności przeciwzapalnej. Preparaty z solubilizatorem Pluronic F68 lub F127 dawały chemicznie stabilne żele, przedłużając dyfuzję leku. W celu zwiększenia penetracji indometacyny do cieczy wodnistej stosowano zawiesiny olejowe i emulsje olejowe. Preparaty koloidalne z indometacyną wykazały wyższą penetrację rogówki i dostępność oczną w porównaniu z komercyjnymi kroplami do oczu. Nanocząstki i nanoemulsje indometacyny zwiększały przenikanie przez rogówkę i dostępność oczną. Ponadto implanty twarde z indometacyną wykazywały znaczną poprawę kliniczną w modelu zapalenia oka.

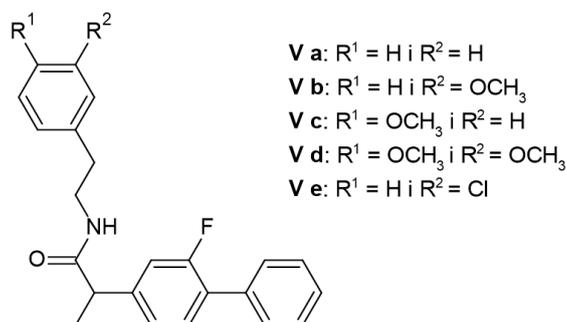
Ograniczeniem dla długotrwałego stosowania NLPZ, w tym indometacyny, w dalszym ciągu pozostaje ich toksyczność. Możliwość wyeliminowania tego ograniczenia została przedstawiona przez Dvira i in. w postaci proleku indometacyny – DP-155, którego synteza składa się z sześciu etapów. W pierwszym etapie grupa aminowa łącznika (kwas 6-aminoheksanowy) jest zabezpieczana, a następnie w drugim etapie wykorzystuje się zabezpieczony aminokwas do przygotowania bezwodnika. W trzecim wytwarzany jest lipid z zabezpieczonego łącznika i lizolecytyny. Kolejny, czwarty i piąty etap obejmują usunięcie zabezpieczonej grupy aminowej otrzymanego lipidu. W szóstym etapie do łącznika przyłączana jest indometacyna. DP-155 może być rozszczepiany do indometacyny przez PLA2 (fosfolipaza A2) w mózgu i przewodzie pokarmowym. Po podaniu doustnym rozszczepienie w przewodzie pokarmowym skutkuje stałym niskim poziomem w surowicy i niskim maksymalnym stężeniem. Co ważne, dostarczanie DP-155 w ten sposób nie powoduje miejscowej toksyczności dla żołądka, prawdopodobnie dlatego, że selektywnie hamuje COX-2, a nie COX-1. Chociaż stężenie indometacyny pochodzącej z DP-155 w surowicy pozostawało niskie po podaniu doustnym, stężenie indometacyny osiągnięte w mózgu było podobne do stężenia związku macierzystego. Tak więc ze względu na unikatowe właściwości farmakokinetyczne DP-

155 wykazuje ponad 5-krotne zmniejszenie toksyczności, ale utrzymuje działanie w ośrodkowym układzie nerwowym podobne do indometacyny. Efekty te obejmują działanie przeciwbólowe i przeciwgorączkowe. Badania te wykazały, że DP-155 ma duży potencjał do przyszłych badań klinicznych u pacjentów w podeszłym wieku z chorobą Alzheimera i przewlekłą analgezią, ponieważ jest bezpieczniejszą alternatywą dla indometacyny w leczeniu choroby Alzheimera i do stosowania jako środek przeciwgorączkowy i/lub przeciwbólowy [51].

FLURBIPROFEN

Flurbiprofen, czyli kwas (2*RS*)-2-(2-fluorobifen-4-ylo)propanowy, jest z powodzeniem wykorzystywany do leczenia chorób zwyrodnieniowych kręgosłupa, zapaleń okołostawowych czy zapalenia ścięgna. Ponadto przenika on przez skórę. Valentova i in. badali możliwą enancjoselektywność przenikania chiralnego leku – flurbiprofenu przez skórę bezwłosego szczura. Przenikalność przezskórną poszczególnych enancjomerów z roztworu zawierającego racemat flurbiprofenu (0,1%) i czyste enancjomery (0,05%) w roztworze mirystynianu izopropylu określano przy użyciu komór dyfuzyjnych. Profile przenikania enancjomerów (*R*)- i (*S*)-flurbiprofenu z roztworu zawierającego racemat (*RS*)-flurbiprofenu są porównywalne. Gdy roztwór donorowy zawierał czyste enancjomery, zaobserwowano wyraźne różnice w prędkościach przenikania (*R*)- i (*S*)-flurbiprofenu. Stała szybkość przepływu oraz współczynnik przenikalności były znacząco wyższe dla (*R*)-flurbiprofenu w porównaniu z (*S*)-flurbiprofenem (współczynnik szybkości $R/S = 2,04$; $p < 0,05$) [52].

Ivanov i in. zaproponowali syntezę pięciu nowych związków (V a–e – rys. 9.) poprzez połączenie flurbiprofenu z różnymi podstawionymi 2-fenetyloaminami. Aktywność biologiczną tych związków oceniono w eksperymentach *in vitro*, aby określić ich potencjał jako środków przeciwzapalnych i przeciwutleniających. Ponadto oznaczono lipofilowość tych pochodnych. Przeprowadzono także analizę *in silico* interakcji związków z albuminą surowicy ludzkiej (HSA) za pomocą badań dokonywania molekularnego. Wszystkie zsyntetyzowane związki wykazują znaczące działanie przeciwzapalne i przeciwutleniające. Wyniki są statystycznie porównywalne ze związkami referencyjnymi. Stosując metodę *in silico*, obliczono toksyczność i otrzymano wartości LD50. Badania wskazują, że związki te mogą mieć znaczny potencjał zastosowań farmakologicznych. W zależności od drogi podania nowe pochodne flurbiprofenu wykazują niższą toksyczność w porównaniu ze standardowym flurbiprofenem. Związki V a–e wykazują wysoką toksyczność dożylną, przy czym V e jest 4-krotnie bardziej toksyczny niż flurbiprofen. Grupy metoksyłowe, szczególnie w V b–d, są powi-



Rys. 9. Struktury pochodnych flurbiprofenu

zane z niższą toksycznością. Podanie dożylnie zapewnia mniejsze dawki śmiertelne ze względu na 100-procentową biodostępność. Związek V d jest najmniej toksyczny po podaniu dootrzewnowym (flurbiprofen > V b > V c > V a > V e > V d). Doustnie V b–d znacznie zmniejsza toksyczność w porównaniu z flurbiprofenem trzykrotnie lub więcej, co sugeruje, że podawanie doustne jest korzystniejsze i minimalizuje skutki toksyczne. Związki te są obiecujące jako nowe leki [53].

PODSUMOWANIE

Ostatnie badania nad nowymi pochodnymi niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) wykazały postęp w poszukiwaniu bardziej skutecznych i bezpiecznych terapii przeciwbólowych oraz przeciwzapalnych. NLPZ są kluczową grupą leków w leczeniu stanów zapalnych, bólu i gorączki, działając przez hamowanie enzymu cyklooksygenazy (COX) i zmniejszając produkcję prostaglandyn, kluczowych mediatorów procesów zapalnych. Dotychczasowe badania skupiają się na syntezie nowych pochodnych NLPZ, które cechują się zwiększoną rozpuszczalnością, lepszą przenikalnością przez skórę oraz potencjalnymi dodatkowymi zastosowaniami terapeutycznymi. Diklofenak, ibuprofen, ketoprofen, naproksen i inne popularne NLPZ zostały poddane modyfikacjom chemicznym w celu poprawy ich skuteczności i profilu bezpieczeństwa. Modyfikacje chemiczne, takie jak utworzenie soli, par jonowych czy proleków, mają na celu zwiększenie biodostępności leków, co może prowadzić do poprawy ich efektywności terapeutycznej. Dodatkowo badania nad połączeniem leków z nośnikami takimi jak biokompatybilne nanocząstki mogą umożliwić lepsze dostarczenie leków do miejsc działania, np. do mózgu w przypadku leków stosowanych w leczeniu chorób ośrodkowego układu nerwowego. Ponadto nowe pochodne NLPZ mogą wykazywać działania przeciwnowotworowe i przeciwdrobnoustrojowe, co otwiera nowe perspektywy terapeutyczne w leczeniu chorób nowotworowych oraz infekcyjnych.

Innowacyjne podejście do modyfikacji NLPZ ma potencjał poprawy skuteczności i bezpieczeństwa terapii przeciwbólowej, przeciwzapalnej oraz leczenia chorób nowotworowych i infekcyjnych. Dalsze badania nad nowymi związkami są kluczowe dla lepszego zrozumienia ich mechanizmów działania i potencjalnego zastosowania klinicznego.

LITERATURA

- [1] Sallmann A.R. The history of diclofenac. *Am. J. Med.* 1986, 80, 29–33.
- [2] Abo-Ghaliya M.H., Shalaby A.M., el-Eraqi W.I., Awad H.M. Synthesis and anti-phlogistic potency of some new non-proteinogenic amino acid conjugates of "Diclofenac". *Amino Acids* 1999, 16, 425–440.
- [3] Ibrahim M.M., Elsaman T., Al-Nour M.Y. Synthesis, anti-inflammatory activity, and in silico study of novel diclofenac and isatin conjugates. *Int. J. Med. Chem.* 2018, 1–11.
- [4] Cal K., Stefanowska J. Metody zwiększania przenikania substancji leczniczych przez skórę. *Farm. Pol.* 2010, 7, 514–520.
- [5] Furukawa S., Hattori G., Sakai S., Kamiya N. Highly efficient and low toxic skin penetrants composed of amino acid ionic liquids. *RSC Adv.* 2016, 6, 87753–87755.
- [6] Irvine J., Afrose A., Islam N. Formulation and delivery strategies of ibuprofen: challenges and opportunities. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2018, 44, 173–183.

- [7] Alghurabi H.S. Solubility enhancement of ibuprofen in oral liquid preparations using basic amino acids as counter ions. *Kerbala J. Pharm. Sci.* 2017, 13, 337–348.
- [8] Kirkby N.S., Tesfai A., Ahmetaj-Shala B., Gashaw H.H., Sampaio W., Etelvino G., Leão N.M., Santos R.A., Mitchell J.A. Ibuprofen arginate retains eNOS substrate activity and reverses endothelial dysfunction: implications for the COX-2/ADMA axis. *FASEB J.* 2016, 30, 4172–4179.
- [9] Mehta N., Aggarwal S., Thareja S., Malla P., Bhardwaj T.R., Kumar M. Synthesis, pharmacological and toxicological evaluation of amide derivatives of ibuprofen. *Int. J. Chem. Tech. Res.* 2010, 1, 233–238.
- [10] Redasani V.K., Bari S.B. Synthesis and evaluation of mutual prodrugs of ibuprofen with menthol, thymol and eugenol. *Eur. J. Med. Chem.* 2012, 56, 134–138.
- [11] Theodosis-Nobelos P., Tziona P., Poptsis A., Athanasekou C., Kourounakis P.N., Rekka E.A. Novel poly-functional esters of ibuprofen and ketoprofen with hypolipidemic, lipoxygenase inhibitory and enhanced anti-inflammatory activity. *Med. Chem. Res.* 2017, 26, 461–472.
- [12] Sarveiya V., Templeton J.F., Benson H.A. Ion-pairs of ibuprofen: increased membrane diffusion. *J. Pharm. Pharmacol.* 2010, 56, 717–724.
- [13] Wu H., Deng Z., Zhou B., Qi M., Hong M., Ren G. Improved transdermal permeability of ibuprofen by ionic liquid technology: Correlation between counterion structure and the physicochemical and biological properties. *J. Mol. Liq.* 2019, 283, 399–409.
- [14] Hough W.L., Smiglak M., Rodríguez H., Swatloski R.P., Spear S.K., Daly D.T., Pernak J., Grisel J.E., Carliss R.D., Soutullo M.D., Davis J.H., Rogers R.D. The third evolution of ionic liquids: active pharmaceutical ingredients. *New J. Chem.* 2007, 31, 1429.
- [15] Viau L., Tourné-Péteilh C., Devoisselle J.M., Vioux A. Ionogels as drug delivery system: one-step sol–gel synthesis using imidazolium ibuprofenate ionic liquid. *Chem. Commun.* 2010, 46, 228–230.
- [16] Viciosa M.T., Santos G., Costa A., Danède F., Branco L.C., Jordão N., Correia N.T., Dionísio M. Dipolar motions and ionic conduction in an ibuprofen derived ionic liquid. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2015, 17, 24108–24120.
- [17] Bica K., Rodríguez H., Gurau G., Cojocar A., Riisager A., Fehrmann R., Rogers R.D. Pharmaceutically active ionic liquids with solids handling, enhanced thermal stability, and fast release. *Chem. Commun.* 2012, 48, 5422–5424.
- [18] Frizzo C.P., Wust K., Tier A.Z., Beck T.S., Rodrigues V.R., Vaucher R.A., Bolzan L.P., Terra S., Soares F., Martins M.A. Novel ibuprofenate and docusate-based ionic liquids: emergence of antimicrobial activity. *RSC Adv.* 2016, 6, 100476–100486.
- [19] Chantreau G., Sharma M., Abednejad A., Neves B.M., Sèbe G., Coma V., Freire M.G., Freire C.S., Silvestre A.J.. Design of nonsteroidal anti-inflammatory drug-based ionic liquids with improved water solubility and drug delivery. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2019, 7, 14126–14134.
- [20] Janus E., Ossowicz P., Klebko J., Nowak A., Duchnik W., Kucharski Ł., Klimowicz A. Enhancement of ibuprofen solubility and skin permeation by conjugation with L-valine alkyl esters. *RSC Adv.* 2020, 10, 7570–7584.
- [21] Ossowicz P., Klebko J., Janus E., Nowak A., Duchnik W., Kucharski Ł., Klimowicz A. The effect of alcohols as vehicles on the percutaneous absorption and skin retention of ibuprofen modified with L-valine alkyl esters. *RSC Adv.* 2020, 10, 41727–41740.
- [22] Ossowicz-Rupniewska P., Klebko J., Świątek E., Szachnowska J., Janus E., Rangelov M., Todorova N., Taneva S. G., Krachmarova E., Guncheva M.. Binding behavior of ibuprofen-based ionic liquids with bovine serum albumin: Thermodynamic and molecular modeling studies. *J. Mol. Liq.* 2022, 360, 119367.

- [23] Ossowicz P., Janus E., Świątek E. Aminokwasowa pochodna niesteroidowego leku przeciwzapalnego i sposób wytwarzania aminokwasowej pochodnej niesteroidowego leku przeciwzapalnego, numer patentu: PL 241669, data udzielenia patentu: 24.08.2022.
- [24] Ossowicz-Rupniewska P., Rakoczy R., Nowak A., Konopacki M., Klebeko J., Świątek E., Janus E., Duchnik W., Wenelska K., Kucharski Ł., Klimowicz A. Transdermal delivery systems for ibuprofen and ibuprofen modified with amino acids alkyl esters based on bacterial cellulose. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 6252.
- [25] Ossowicz-Rupniewska P., Klebeko J., Świątek E., Bliska K., Nowak A., Duchnik W., Kucharski Ł., Struk Ł., Wenelska K., Klimowicz A., Janus E. Influence of the type of amino acid on the permeability and properties of ibuprofenates of isopropyl amino acid esters. *Int. J. Mol. Med.* 2022, 23, 4158.
- [26] Ossowicz-Rupniewska P., Bednarczyk P., Nowak M., Nowak A., Duchnik W., Kucharski Ł., Klebeko J., Świątek E., Bilka K., Rokicka J., Janus E., Klimowicz A., Czech Z.. Evaluation of the structural modification of ibuprofen on the penetration release of ibuprofen from a drug-in-adhesive matrix type transdermal patch. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23, 7752.
- [27] Ossowicz-Rupniewska P., Szczepkowska K., Bednarczyk P., Nowak M., Nowak A., Duchnik W., Kucharski Ł., Struk Ł., Klimowicz A., Czech Z.. New amino acid propyl ester ibuprofenates from synthesis to use in drug delivery systems. *RSC Adv.* 2022, 12, 35779–35792.
- [28] Klebeko J., Krüger O., Dubicki M., Ossowicz-Rupniewska P., Janus E. Isopropyl amino acid esters ionic liquids as vehicles for non-steroidal anti-inflammatory drugs in potential topical drug delivery systems with antimicrobial activity. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23, 13863.
- [29] Ossowicz-Rupniewska P., Nowak A., Klebeko J., Janus E., Duchnik W., Adamiak-Giera U., Kucharski Ł., Prowans P., Petriczko J., Czaplą N., Bargiel P., Markowska M., Klimowicz A. Assessment of the effect of structural modification of ibuprofen on the penetration of ibuprofen from Pentravan® (Semisolid) formulation using human skin and a transdermal diffusion test model. *Materials* 2021, 14, 6808.
- [30] Klebeko J., Ossowicz-Rupniewska P., Nowak A., Janus E., Duchnik W., Adamiak-Giera U., Kucharski Ł., Prowans P., Petriczko J., Czaplą N., Bargiel P., Markowska M., Klimowicz A.. Permeability of Ibuprofen in the form of free acid and salts of l-valine alkyl esters from a hydrogel formulation through strat-MTM membrane and human skin. *Materials* 2021, 14, 6678.
- [31] Agboola A., Nowak A., Duchnik W., Kucharski Ł., Story A., Story G., Struk Ł., Antosik A.K., Ossowicz-Rupniewska P. Emulsion-based gel loaded with ibuprofen and its derivatives. *Gels* 2023, 9, 391.
- [32] Bilka K., Nowak A., Story A., Story G., Duchnik W., Kucharski Ł., Ossowicz-Rupniewska P. A comprehensive approach to transdermal drug delivery through the skin: Ibuprofen derivatives in semi-solid formulations. *Farm. Pol.* 2023, 79, 537–548.
- [33] Ossowicz-Rupniewska P., Nowak A., Konopacki M., Kordas M., Kucharski Ł., Klebeko J., Świątek R., Rakoczy T.. Increase of ibuprofen penetration through the skin by forming ion pairs with amino acid alkyl esters and exposure to the electromagnetic field. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2023, 188, 15–25.
- [34] Kuczyńska J., Nieradko-Iwanicka B. New uses of ketoprofen – a review of studies from 2015 to 2021. *Curr. Issues Pharm. Med Sci.* 2022, 35, 16–20.
- [35] Gynther M., Jalkanen A., Lehtonen M., Kordas M., Kucharski Ł., Klebeko J., Świątek R., Rakoczy T. Brain uptake of ketoprofen–lysine prodrug in rats. *Int. J. Pharm.* 2010, 399, 121–128.
- [36] Ossowicz P., Kardaleva P., Guncheva M., Klebeko J., Świątek E., Janus E., Yancheva D., Angelov I. Ketoprofen-based ionic liquids: synthesis and interactions with bovine serum albumin. *Molecules.* 2019, 25, 90.

- [37] Kardaleva P., Guncheva M., Todinova S., Angelov I., Ossowicz P., Janus E. Effect of ketoprofen-based ionic liquids on secondary structure and thermal stability of human serum albumin. *J. Therm. Anal. Calorim.* 2020, 142, 1911–1917.
- [38] Kumar L., Suhas B., Pai K., Verma R. Determination of saturated solubility of naproxen using UV visible spectrophotometer. *Res. J. Pharm. Technol.* 2015, 8, 825.
- [39] Aboul-Fadl T., Al-Hamad S.S., Lee K., Li N., Gary B.D., Keeton A.B., Piazza G.A., Abdel-Hamod M.K. Novel non-cyclooxygenase inhibitory derivatives of naproxen for colorectal cancer chemoprevention. *Med. Chem. Res.* 2014, 23, 4177–4188.
- [40] Aboul-Fadl T., Al-Hamad S.S., Fouad E.A. Pharmacokinetic studies of naproxen amides of some amino acid esters with promising colorectal cancer chemopreventive activity. *Bioorg. Chem.* 2018, 76, 370–379.
- [41] Angres I.A. Salts of non-steroidal anti-inflammatory carboxylic acids and anti-lipidemic carboxylic acids. *US5179097A*, 12.01.1993.
- [42] Świątek E., Ossowicz-Rupniewska P., Janus E., Nowak A., Sobolewski P., Duchnik W., Kucharski Ł., Klimowicz A. Novel naproxen salts with increased skin permeability. *Pharmaceutics* 2021, 13, 2110.
- [43] Ossowicz P., Janus E., Klebeko J., Świątek E., Kardaleva P., Taneva S., Krachmarova E., Rangelov M., Todorova N., Guncheva M. Modulation of the binding affinity of naproxen to bovine serum albumin by conversion of the drug into amino acid ester salts. *J. Mol. Liq.* 2020, 319, 114283.
- [44] Alves S.R., Colquhoun A., Wu X.Y., De Oliveira Silva D. Synthesis of terpolymer-lipid encapsulated diruthenium(II,III)-anti-inflammatory metallodrug nanoparticles to enhance activity against glioblastoma cancer cells. *J. Inorg. Biochem.* 2020, 205, 110984.
- [45] Jaen J.C., Powers J.P., Sullivan T. Type-2 Diabetes and associated comorbidities as an inflammatory syndrome. *Annu. Rep. Med. Chem.* 2012, 47, 159–175.
- [46] Klebeko J., Ossowicz-Rupniewska P., Świątek E., Szachnowska J., Janus E., Taneva S.G., Krachmarova E., Guncheva M. Salicylic acid as ionic liquid formulation may have enhanced potency to treat some chronic skin diseases. *Molecules* 2021, 27, 216.
- [47] Fijałkowski Ł., Skubiszewska M., Grześk G., Koech F.K., Nowaczyk A. Acetylsalicylic acid – primus inter pares in pharmacology. *Molecules* 2022, 27, 8412.
- [48] Kulikova O.I., Stvolinsky S.L., Migulin V.A., Andreeva L.A., Nagaev I.Y., Lopacheva O.M., Kulichenkova K.N., Lopachev A.V., Trubitsina I.E., Fedorova T.N. A new derivative of acetylsalicylic acid and carnosine: synthesis, physical and chemical properties, biological activity. *Daru* 2020, 28, 119–130.
- [49] Chuyan E.N., Mironyuk I.S., Ravaeva M.Y. Acetylsalicylic acid and its derivatives: the dynamics of the circulatory dimensions. *J. Phys. Conf. Ser.* 2021, 1967, 012032.
- [50] Munjal A., Allam A.E. Indomethacin. *StatPearls*, 2023.
- [51] Dvir E., Elman A., Simmons D., Shapiro I., Duvdevani R., Dahan A., Hoffman A., Friedman J.E. DP-155, a lecithin derivative of indomethacin, is a novel nonsteroidal antiinflammatory drug for analgesia and Alzheimer's disease therapy. *CNS Drug Reviews* 2007, 13, 260–277.
- [52] Valentová J., Bauerová K., Farah L., Devínský F. Does stereochemistry influence transdermal permeation of flurbiprofen through the rat skin? *Arch. Dermatol. Res.* 2010, 302, 635–638.
- [53] Ivanov I., Manolov S., Bojilov D., Marc G., Dimitrova D., Oniga S., Onika O., Nedialkov P., Stoyanova M. Novel flurbiprofen derivatives as antioxidant and anti-inflammatory agents: synthesis, in silico, and in vitro biological evaluation. *Molecules* 2024, 29, 385.

Wpływ struktury nanokrystalicznych metali na ich właściwości fizyczne i chemiczne

Kamila KLIMZA

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Katedra Technologii Chemicznej Nieorganicznej i Inżynierii Środowiska

WSTĘP

Inżynieria materiałowa to dziedzina nauki skupiająca się na badaniu struktury, właściwości oraz zastosowań materiałów i technologii z nimi związanych. Jednym z istotnych przedmiotów badań, które się z nią wiążą, są nanomateriały. Ich charakterystyczną cechą jest kształtowanie właściwości chemicznych i fizycznych w znacznym stopniu przez efekty kwantowe [1]. Efekty te są zaniebdywane w konwencjonalnych materiałach, co skutkuje występowaniem różnic we właściwościach materiałów o tym samym składzie chemicznym, ale o innej wielkości cząstek.

Jednym z rodzajów nanomateriałów są materiały nanokrystaliczne, których struktura cechuje się uporządkowaną siecią krystaliczną na poziomie nanometrycznym. Mogą to być nanokrystaliczne metale i ich stopy, tlenki lub polimery. Obecnie znajdują one zastosowanie w licznych gałęziach nauki i przemysłu. Mogą być wykorzystywane m.in. do magazynowania energii [2, 3], w zasilaczach impulsowych i w rdzeniach transformatorów [4], jako nośniki leków [5] oraz składniki kompozytów [6, 7].

Innym istotnym zastosowaniem materiałów nanokrystalicznych jest kataliza. Są one skutecznymi katalizatorami ze względu na wysoką aktywność powierzchniową, wynikającą z występowania większej powierzchni właściwej w porównaniu z materiałami o większych ziarnach. Ponadto rozmiar nanokrystalicznych cząstek katalizatora może być dostosowany do wymagań danej reakcji chemicznej, co pozwala na lepszą kontrolę selektywności, aktywności i stabilności katalizatora [8].

Przedmiotem badań był katalizator żelazowy poddawany azotowaniu w różnych temperaturach. Proces ten jest powszechnie znany i został dobrze opisany w literaturze naukowej. Liczne badania w tym zakresie przeprowadzono w Katedrze Technologii Chemicznej Nieorganicznej i Inżynierii Środowiska Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie [9, 10, 11] oraz w wielu ośrodkach badawczych na świecie [12]. Proces azotowania w atmosferze amoniaku jest układem dwóch reakcji równoległych: azotowania oraz katalitycznego rozkładu amoniaku [13]. Jednym z parametrów charakteryzujących atmosferę azotującą jest potencjał azotujący, informujący o prawdopodobieństwie powstania warstw azotu o określonej strukturze. Jest on zależny od ciśnienia cząstkowych amoniaku i wodoru. W wyniku procesu azotowania możliwe jest otrzymanie różnych faz azotków żelaza identyfikowanych na podstawie ich struktury krystalograficznej oraz diagramu fazowego Fe-N. W zależności od warunków procesu, w tym od potencjału azotującego, występują kolejno następujące fazy: α -Fe, γ' -Fe₄N oraz ϵ -Fe_{3,2}N, opisywane w dalszej części pracy jako fazy α , γ' i ϵ [10].

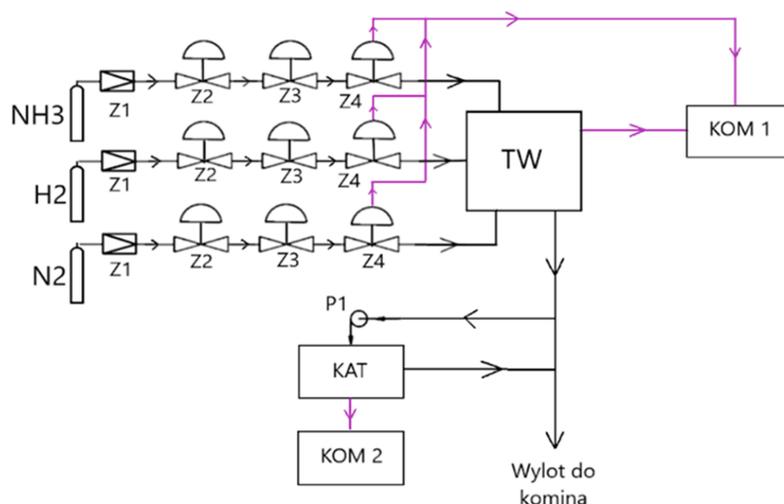
Znajomość mechanizmów reakcji oraz zjawisk zachodzących w ich trakcie pozwala przewidzieć, jak dany materiał będzie się zachowywał w określonych warunkach, i projektować nowe nanomateriały o pożądanych właściwościach.

Jednym z narzędzi, które może do tego posłużyć, jest modelowanie molekularne. Umożliwia ono zobrazowanie zachowania materiału w danych warunkach, oddziaływania z innymi substancjami czy poznania jego struktury, a to daje możliwość przewidywania jego właściwości chemicznych i fizycznych, symulowania przebiegu reakcji, w tym także stanów przejściowych, modelowania leków, nowych materiałów czy skomplikowanych układów. Popularne techniki modelowania molekularnego to m.in. mechanika i dynamika molekularna oraz metoda Monte Carlo [14, 15, 16].

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Badanie wpływu wielkości kryształitów na proces azotowania

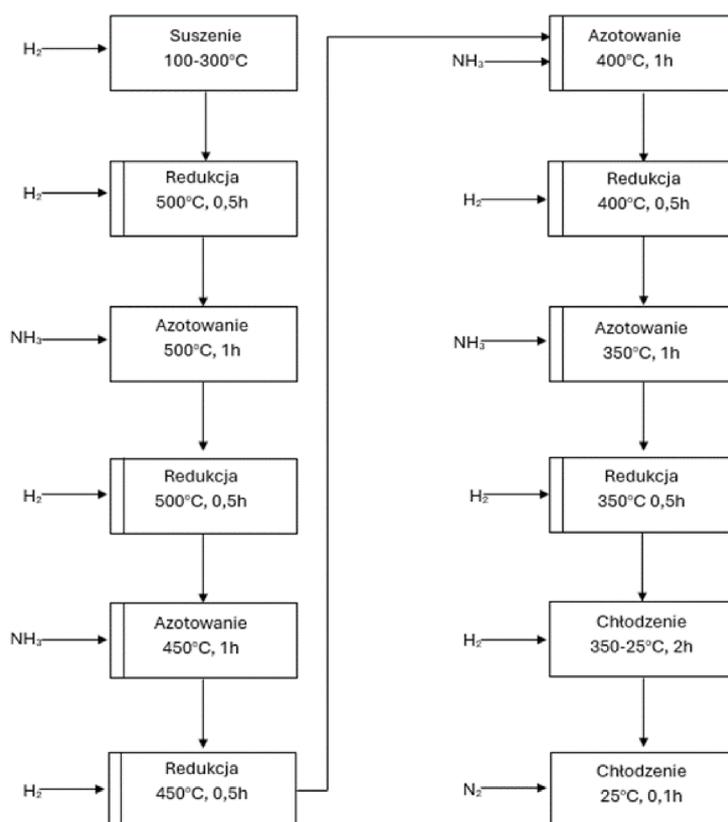
W badaniach wykorzystano metodę analizy termogravimetrycznej, podczas której rejestrowano zmianę masy próbki oraz zmianę składu fazy gazowej w funkcji czasu. Wykorzystano do tego termowagę STA PT 1600 Linseis. Badaniu poddano preredukowany katalizator żelazowy KM1R firmy Haldor Topsoe o wielkości ziaren 1,0–1,2 mm, z którego przygotowano 3 próbki (P1, P2 oraz P3). Próbka P1 nie była dodatkowo modyfikowana, próbkę P2 umieszczono w termowadze i wygrzewano w atmosferze wodoru w temperaturze 600°C przez 5 h. Analogicznie postąpiono z próbką P3, jednak tym razem temperatura wygrzewania wynosiła 700°C. Każdą z próbek o masie ok. 1 g umieszczono w platynowym koszyku, a następnie przeniesiono do reaktora termowagi znajdującej się pod dygestorium. Stały przepływ gazu z termowagi do katarometru, za pomocą którego rejestrowano skład fazy gazowej, zapewniono przy użyciu pompy perystaltycznej. Schemat technologiczno-pomiarowy procesu przedstawiono na rys. 1.



Z1 – zawór redukcyjny, Z2 – zawór kulowy, Z3 – zawór kulowy, Z4 – zawór automatyczny regulujący przepływ,
 TW – termowaga, P1 – pompa perystaltyczna, KAT – katarometr, KOM1 – komputer rejestrujący wyniki z termowagi, KOM2 –
 komputer rejestrujący wyniki z katarometru.

Rys. 1. Schemat technologiczno-pomiarowy badanego procesu

Reaktor przepłukano azotem o przepływie 100 ml/min do momentu stabilizacji wskazań katarometru. Czynność płukania powtórzono dla amoniaku i wodoru. Umożliwiło to pozyskanie informacji niezbędnych do kalibracji wskazań katarometru. Próbkę ogrzewano w temperaturze 500°C w atmosferze wodoru o przepływie 100 ml/min przez 1,5 h, następnie przez 1 h poddawano azotowaniu w atmosferze amoniaku o przepływie 100 ml/min. Po zakończeniu azotowania badany materiał ponownie poddano redukcji wodorem przez 0,5 h. Obniżono temperaturę do 450°C, a następnie ponownie przeprowadzono azotowanie amoniakiem przez 1 h. Po tym czasie zmieniło atmosferę na wodór i rozpoczęto redukcję trwającą 0,5 h. Obniżono temperaturę do 400°C. Powtórzono procesy azotowania i redukcji, trwające kolejno 2 oraz 0,5 h. Obniżono temperaturę do 350°C i powtórzono procesy azotowania i redukcji analogicznie względem pomiaru w temperaturze 400°C. Schemat pomiaru przedstawiono na rys. 2.



Rys. 2. Schemat blokowy proces

Określenie średniej wielkości kryształitów oraz powierzchni właściwej próbek

Próbki po wyjęciu z termowagi rozdrobiono w moździerzu. Następnie umieszczono je w dyfrakto-metrze rentgenowskim X'Pert PRO MPD. Badanie przeprowadzono przy użyciu lampy rentgenowskiej o anodzie kobaltowej. Średnią wielkość kryształitów obliczono z zastosowaniem równania Scherrera oraz wykonano poprawkę aparaturową metodą Rietvelda w celu usunięcia czynnika aparaturowego, a tym samym zwiększenia dokładności wyniku [17]. Polega ona na udokładnianiu dyfraktogramu w pełnym zakresie kątowym w celu dopasowania go do dyfraktogramu teoretycznego, uwzględniając m.in. atomowe czynniki rozpraszania, parametr sieci oraz czynniki aparaturowe. Po udokładnieniu dyfraktogramu odczytano parametry równania opisujące szerokość półwłokową

z równania Cagliotiego [18], a następnie wykorzystano funkcję pseudo-Voigta do wyznaczenia średniej wielkości krystalitów. Powierzchnię właściwą próbek wyznaczono przy użyciu analizy BET w analizatorze adsorpcji gazów Quadrasorb SI.

Stworzenie modelu struktury sieci krystalicznej żelaza

Do stworzenia modeli wykorzystano oprogramowanie do chemii molekularnej Avogadro [19]. W celu stworzenia struktury sieci krystalicznej żelaza budowano ją atom po atomie i optymalizowano za pomocą uniwersalnego pola siłowego (UFF). Wybrano atomy służące za punkty odniesienia i po każdym powiększeniu modelu odnotowywano, jak zmieniały się odległości między nimi w zależności od liczby atomów tworzących strukturę. Sprawdzone także energię potencjalną powstałych struktur dla każdej analizowanej wielkości i określono zależność między nią a liczbą atomów. Modele stworzono jedynie dla struktur o kształcie bryły o regularnej geometrii.

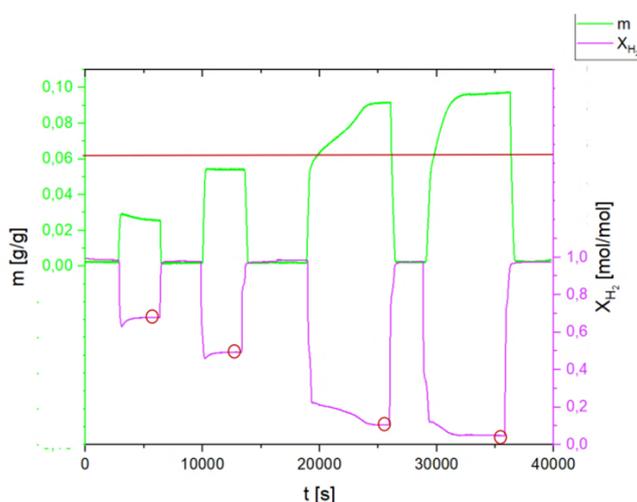
WYNIKI

W tabeli 1 zestawiono wartości średniego rozmiaru krystalitów oraz powierzchni właściwej dla poszczególnych próbek.

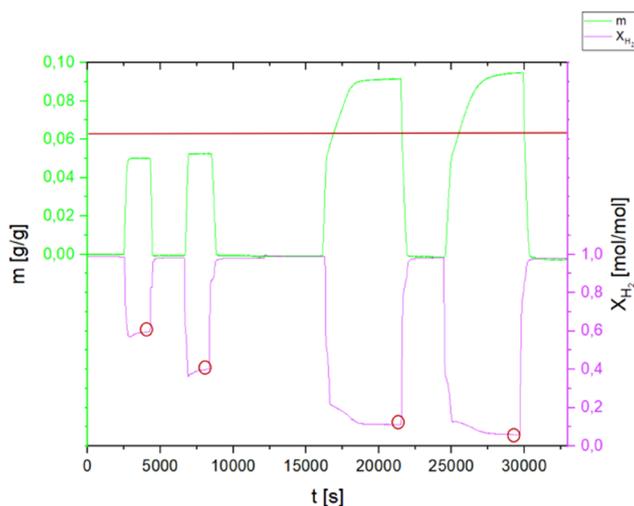
Tabela 1. Średnie wielkości krystalitów oraz pola powierzchni właściwych badanych próbek

Próbka	Metoda Scherrera [nm]	Metoda Rietvelda [nm]	Analiza BET [m ² /g]
P1	24	24	12,4
P2	26	27	9,1
P3	32	32	6,7

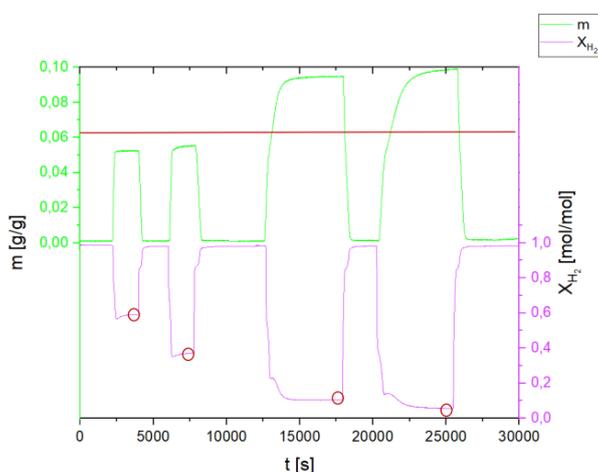
Badano przebieg procesu azotowania dla każdej próbki z uwzględnieniem zmiany stężenia wodoru. Uzyskane wyniki pomiarów zmiany masy i składu fazy gazowej przedstawiono na rys. 3–5. Czerwoną linią zaznaczono wartość przyrostu masy odpowiadającą stechiometrycznej fazie γ' .



Rys. 3. Przebieg procesu azotowania dla próbki P1



Rys. 4. Przebieg procesu azotowania dla próbki P2



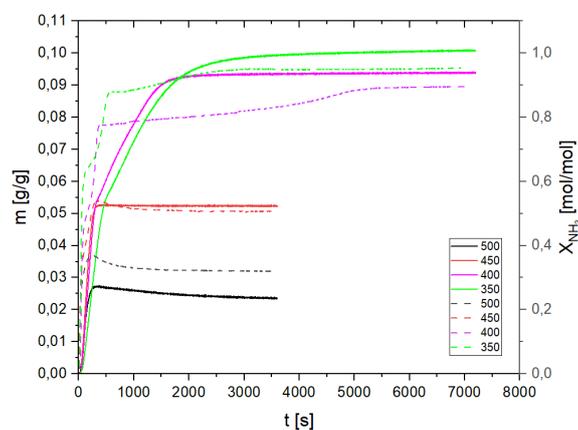
Rys. 5. Przebieg procesu azotowania dla próbki P3

W przypadku każdej z próbek ustalił się stan stacjonarny, w którym reakcja katalitycznego rozkładu amoniaku zachodziła ze stałą szybkością, a masa próbki nie zmieniała się, czyli szybkość reakcji azotowania była równa 0. Punkty, dla których wykonano obliczenia związane z określeniem energii aktywacji reakcji katalitycznego rozkładu amoniaku, zaznaczono na wykresach.

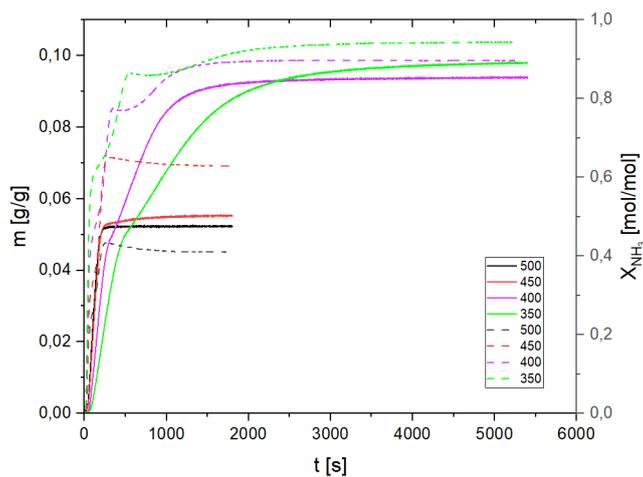
W zależności od temperatury i potencjału azotującego fazy gazowej ustalały się różne maksymalne wartości stopnia zaazotowania, który jest zdefiniowany przez stosunek masy azotu do masy żelaza (rys. 6; linią ciągłą opisano zmianę masy próbki, a linią przerywaną – zmianę składu fazy gazowej). W zależności od temperatury w stanach stacjonarnych ustalają się różne wartości stężenia amoniaku. Zaobserwowano natomiast, że ze wzrostem potencjału azotującego uzyskuje się wyższy stopień zaazotowania. W temperaturach 400°C i 350°C osiągnięto stopień zaazotowania równy 0,9 g/g, co świadczy o przekroczeniu wartości przyrostu masy odpowiadającej stechiometrycznej fazie γ' . W wysokich temperaturach (500°C i 450°C) wartość ta nie została przekroczona, co świadczy o dużej aktywności próbki P1 w przypadku reakcji rozkładu amoniaku.

W przypadku próbki P2 poziom zaazotowania w temperaturach 500°C i 450°C jest porównywalny, bliski stechiometrycznemu poziomowi fazy γ' , lecz przy tym wyższy niż w przypadku próbki

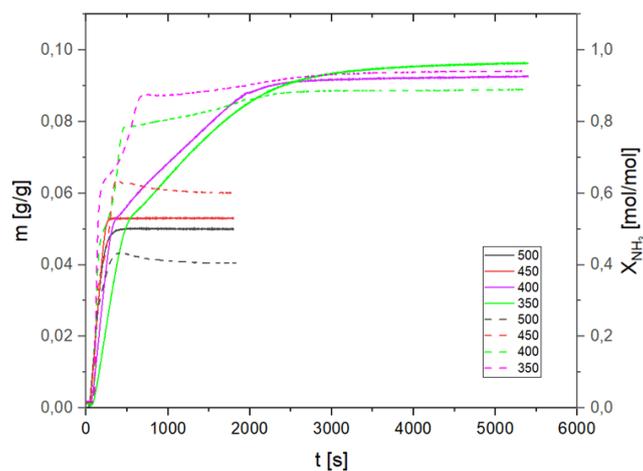
P1 (rys. 7). Potencjał azotujący dla próbki P2 jest jednak w obu tych temperaturach widocznie różny. Wynika to z tego, że wartości potencjału azotującego w obu tych temperaturach znajdują się w zakresie potencjałów azotujących, w którym stabilna jest faza γ' . W przypadku próbki P3 wyniki są porównywalne do wyników otrzymanych w badaniu próbki P2 (rys. 8).



Rys. 6. Porównanie przebiegu azotowania oraz zmiany stężenia amoniaku dla próbki P1



Rys. 7. Porównanie przebiegu azotowania oraz zmiany stężenia amoniaku dla próbki P2

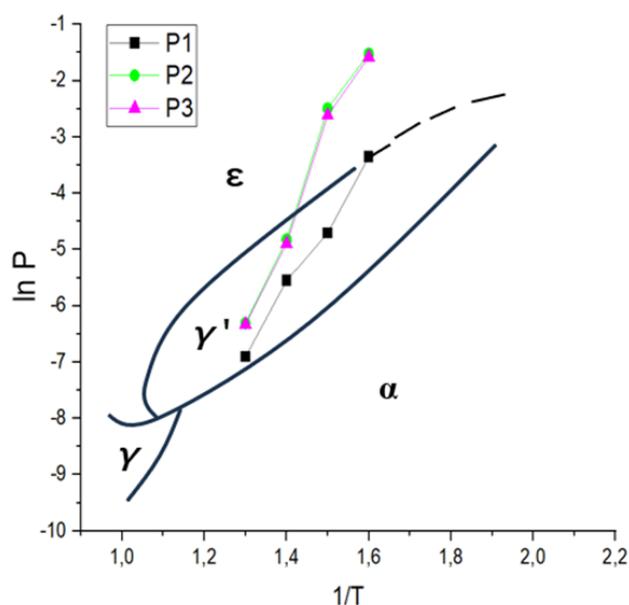


Rys. 8. Porównanie przebiegu azotowania oraz zmiany stężenia amoniaku dla próbki P3

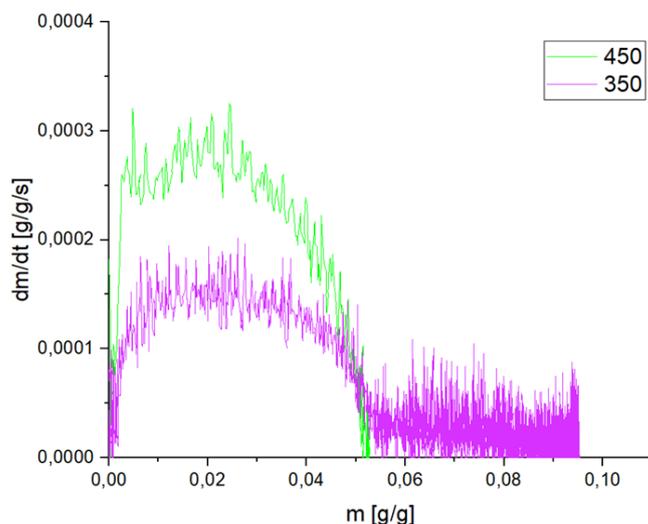
Badane próbki różnią się średnim rozmiarem krystalitów, co wpływa na wynik procesu azotowania. Można zauważyć, że udział molowy amoniaku w stanie stacjonarnym zwiększa się wraz z wielkością krystalitów, szczególnie dla wyższych temperatur procesu. Warto także zwrócić uwagę na to, że zmiana masy zachodząca w trakcie badania nie jest proporcjonalna dla całego procesu.

Występowanie poszczególnych faz w danych temperaturach przedstawiono na wykresie Lehrera (rys. 9) [20]. Przemiana z fazy γ' do ϵ zachodzi jedynie w temperaturze 400–350°C dla próbek P2 i P3 oraz 350°C w przypadku próbki P1. W przypadku każdej próbki w pełnym zakresie badanych temperatur azotowanie przebiegło co najmniej do fazy γ' , jednak nie w każdym przypadku był to poziom stechiometryczny.

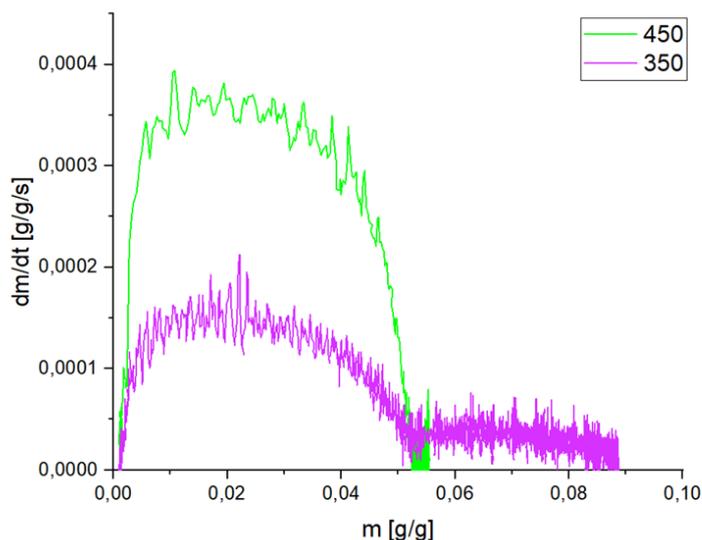
Na podstawie zmiany masy próbek określono szybkość reakcji azotowania (rys. 10–12).



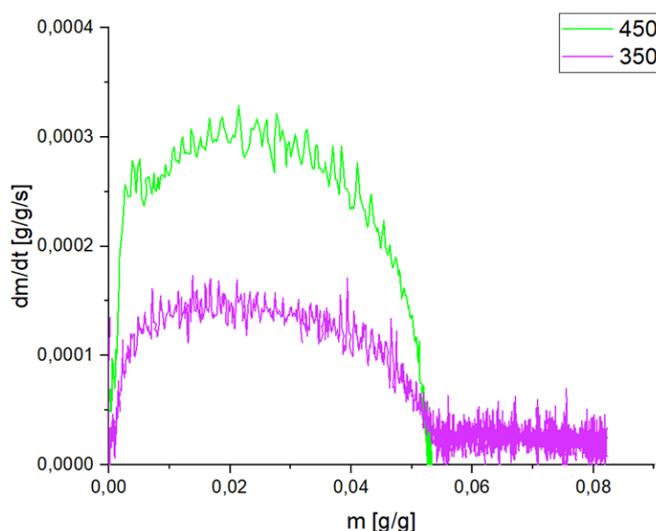
Rys. 9. Wykres Lehrera przedstawiający zależność potencjału azotowania od temperatury



Rys. 10. Szybkość reakcji azotowania próbki P1 w temperaturach 350°C i 450°C



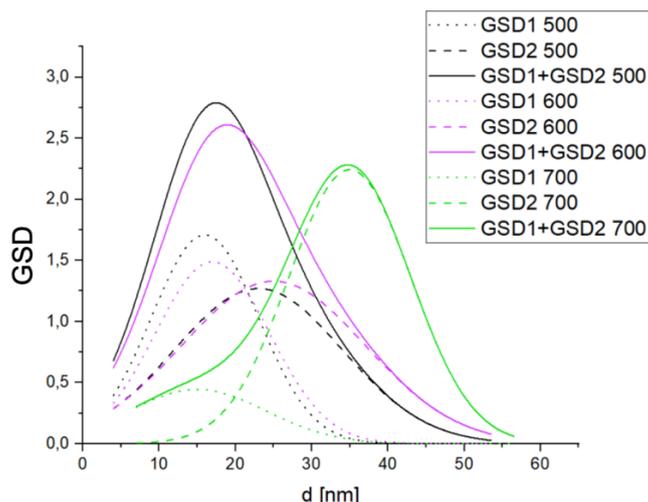
Rys. 11. Szybkość reakcji azotowania próbki P2 w temperaturach 350°C i 450°C



Rys. 12. Szybkość reakcji azotowania próbki P3 w temperaturach 350°C i 450°C

Jak można zauważyć, szybkość zmiany masy zwiększa się w przypadku wyższych temperatur. Ze względu na to, że w wyższych temperaturach azotowanie przebiega co najwyżej do fazy γ' , porównanie szybkości powstawania dwóch faz azotkowych γ' i ϵ można przeprowadzić jedynie w niższych temperaturach. W temperaturach 350°C i 450°C szybkość powstawania fazy γ' jest większa niż fazy ϵ .

Na podstawie szybkości reakcji azotowania określono rozkład wielkości krystalitów badanych próbek [21]. Na rys. 13 można zauważyć, że zakres dla próbki P3 znacząco różni się od zakresów dla próbek P1 oraz P2, które są do siebie zbliżone, co pokrywa się ze średnimi wielkościami krystalitów. Rozkład składa się z dwóch części, które na siebie zachodzą, co skutkuje występowaniem superpozycji faz ze względu na zależność między szybkością reakcji a wielkością nanokrystalitów.



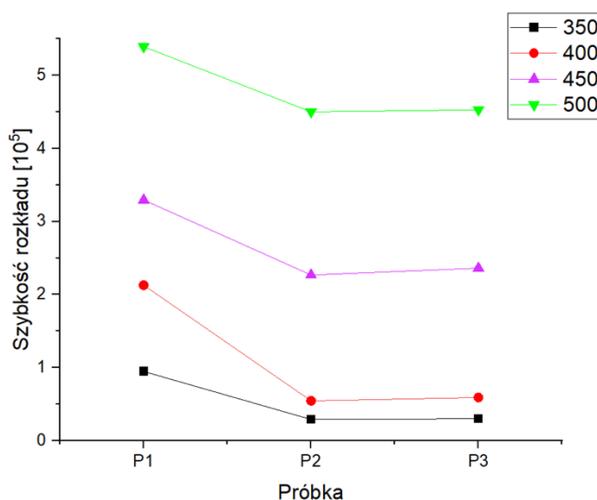
Rys. 13. Rozkład wielkości krystalitów dla próbek P1, P2 oraz P3

Wartości energii aktywacji zarówno dla reakcji azotowania (E_a^n), jak i rozkładu amoniaku (E_a^d) były znacząco niższe w przypadku próbki P1, która cechowała się najmniejszą średnią wielkością nanokrystalitów (tabela 2). Próbki P2 oraz P3 charakteryzowały się podobną wartością E_a w reakcji rozkładu amoniaku, jednak dla reakcji azotowania, mimo niewielkich różnic, pozorna energia aktywacji przemiany fazowej α do γ' wykazuje tendencję wzrostową w miarę wzrostu wielkości nanokrystalitów.

Tabela 2. Wartości energii aktywacji dla rozkładu amoniaku oraz pozorną energię aktywacji przemiany α -Fe do γ' -Fe₄N

Próbka	E_a^d (rozkład amoniaku) [kJ/mol]	E_a^n (azotowanie) [kJ/mol]
P1	137	18
P2	210	22
P3	208	26

Porównano także szybkości rozkładu amoniaku dla wszystkich próbek w danej temperaturze (rys. 14).



Rys. 14. Szybkość reakcji rozkładu amoniaku dla każdej próbki w zależności od temperatury

Szybkość rozkładu amoniaku znacząco spada wraz z obniżeniem temperatury azotowania. W przypadku próbki P1 szybkość tego procesu jest zauważalnie większa od szybkości procesu azotowania pozostałych dwóch próbek.

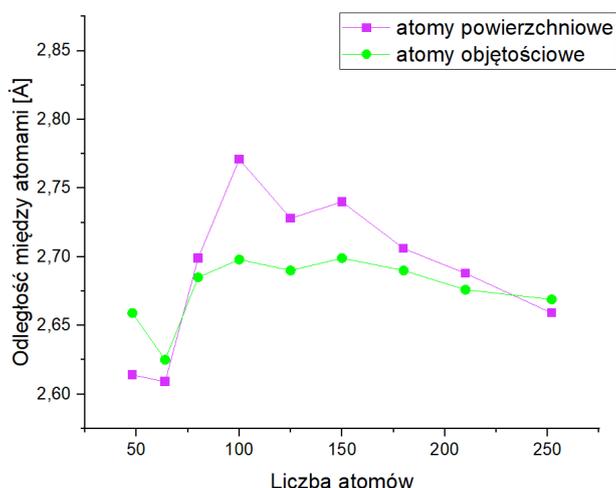
W ramach stworzenia modelu struktury krystalicznego żelaza zbadano wpływ wielkości krystalitu na odległości między atomami oraz energię układu, zgodnie z opisem przedstawionym w części doświadczalnej. Zebrane dane przedstawiono na rys. 15.

Z przeprowadzonych obliczeń modelowych wynika, że odległości między atomami objętościowymi cechują się większą regularnością niż między atomami powierzchniowymi. Może to wpływać na geometrię powierzchni próbki.

W zbadanym zakresie wielkości kryształów można wyróżnić trzy obszary charakteryzujące się różną gęstością atomów na powierzchni:

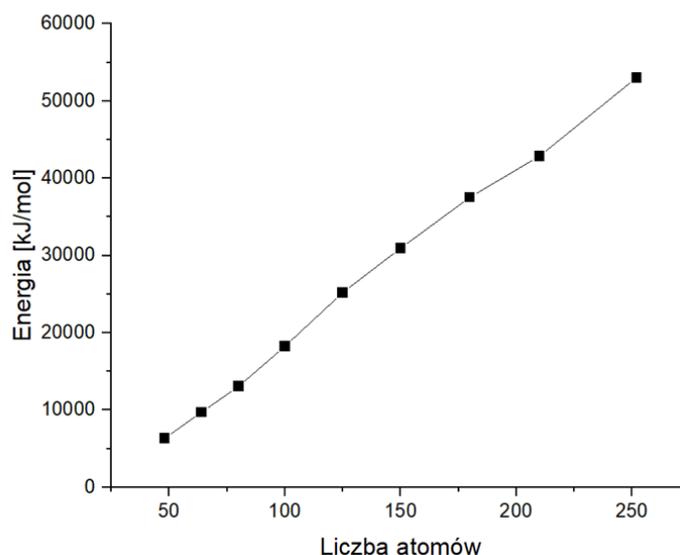
- obszar I obejmujący kryształy zbudowane z 50–75 atomów żelaza,
- obszar II – przejściowy – obejmujący kryształy zbudowane z 75–100 atomów żelaza,
- obszar III obejmujący kryształy zbudowane z więcej niż 100 atomów żelaza.

Można spodziewać się, że w podanym zakresie występować będą dwie grupy nanokryształów różniące się między sobą strukturą powierzchniową, a przez to właściwościami chemicznymi i fizycznymi. Podobny podział można zaobserwować na rozkładzie wielkości kryształów (rys. 13) określonym drogą chemiczną, w którym również można wyodrębnić dwie części składowe, zawierające kryształy o różnych wielkościach.



Rys. 15. Zależność długości wiązań między atomami powierzchniowymi oraz objętościowymi od liczby atomów sieci krystalicznej żelaza

Wiedząc, że aktywność nanokrysztalitów zmienia się wraz z ich wielkością, a nanokryształy o różnej wielkości mają różne struktury atomów powierzchniowych, można przyjąć, że zmiany w szybkościach reakcji chemicznych i składach fazowych obserwowane podczas procesu azotowania nanokrystalicznego katalizatora żelazowego mogą wynikać przede wszystkim z różnych geometrii powierzchni nanokrysztalitów w badanych próbkach. Geometrie te, jak wynika z modelowania, są zdefiniowane w sposób naturalny przez wielkość nanokryształu. Kolejnym wynikiem modelowania było określenie energii potencjalnej krysztalitów o różnych wielkościach (rys. 16).



Rys. 16. Zależność energii potencjalnej układu od liczby tworzących go atomów

Energia układu rośnie wprost proporcjonalnie do liczby atomów, co świadczy o zmniejszaniu się stabilności struktury w miarę jej wzrostu. Podobne zjawisko zaobserwowano w układzie nanokrystaliczne żelazo–amoniak opisanym przez Moszyńskiego i in. [22].

WNIOSKI

W układzie nanokrystaliczne żelazo–amoniak–wodór badano proces azotowania składający się z dwóch reakcji równoległych (katalityczny rozkład amoniaku i reakcja azotowania) w zakresie temperatur 350–500°C. Wielkość nanokrystalitów żelaza w badanych próbkach jest wynikiem ustalenia się w określonej temperaturze stanu równowagi między powierzchniowymi atomami nanokrystalitów żelaza a promotorami katalizatora, których obecność skutkuje zmniejszeniem się energii powierzchniowej. Półka Po o średniej wielkości nanokrystalitów żelaza równej 24 nm stosowana w trakcie badań procesu azotowania była wygrzewana w wodorze w temperaturze 500°C, czyli w maksymalnej temperaturze procesu azotowania. W celu zmiany średniej wielkości nanokrystalitów żelaza próbki wygrzewano w temperaturach odpowiednio 600°C i 700°C, w których ustalały się nowe stany równowagowe określone większymi średnimi wielkościami nanokrystalitów w porównaniu z próbką Po.

Podczas prowadzonych badań procesu azotowania zaobserwowano, że osiągnęte są stany stacjonarne, w których w zależności od warunków procesu uzyskiwane produkty reakcji miały różny skład fazowy azotków. W warunkach kinetycznych prowadzonych pomiarów nanokrystality żelaza ulegają przemianie fazowej do azotków w kolejności ich wielkości od najmniejszych do największych, co wykorzystano przy określaniu rozkładów wielkości nanokrystalitów żelaza w badanych próbkach. Z uwagi na względnie szeroki rozkład wielkości nanokrystalitów (5–55 nm) występuje zjawisko superpozycji faz, ponieważ równocześnie może przebiegać przemiana fazowa nanokrystalitów α -Fe do γ' -Fe₄N oraz γ' -Fe₄N do ϵ -Fe_{3,2}N z przeciwległych końców rozkładów ich wielkości.

Stwierdzono, że aktywność obu reakcji równoległych zmienia się wraz ze wzrostem wielkości nanokryształów. W przypadku reakcji powierzchniowej katalitycznego rozkładu amoniaku szybkość zmniejsza się ze wzrostem średniej wielkości nanokrystalitów. W przypadku reakcji azotowania w miarę wzrostu średniej wielkości nanokryształów zwiększa się stopień zaazotowania w stanie stacjonarnym. Jednak ze względu na zmniejszenie się aktywności reakcja azotowania przebiega wolniej w przypadku próbek przegrzanych.

Stwierdzono, że w określonych warunkach procesu zależność zmian masy od wartości potencjału azotującego jest nieliniowa.

Za pomocą modelowania molekularnego wykazano, że wraz ze zmianą liczby atomów w kryształce zmieniają się odległości między atomami powierzchniowymi nanokrystalitów żelaza. Może to oznaczać, że liczba atomów w kryształce (wielkość kryształów) determinuje geometrię powierzchni. Zmiany w szybkościach reakcji chemicznych i składach fazowych obserwowane podczas procesu azotowania nanokrystalicznego katalizatora żelazowego mogą zatem wynikać przede wszystkim z różnych geometrii powierzchni nanokrystalitów w badanych próbkach. Geometrie te, jak wynika z modelowania, w sposób naturalny zdefiniowane są przez wielkość nanokryształu. Zatem obserwowane zmiany we właściwościach katalizatora wtórnie zależą także od wielkości nanokrystalitów. Stąd w przypadku reakcji czułych strukturalnie aktywność katalityczna nanomateriału może się zmieniać wraz z wielkością kryształów.

LITERATURA

- [1] Fröhlich H. Die spezifische wärme der elektronen kleiner metallteilchen bei tiefen temperaturen. *Physica* 1937, 4(5), 406–412.
- [2] Wang P., Wang X., Li G., Hu R., Zhu K., Li Y., Yao X., Pan Z. Nanocrystalline engineering induced high energy storage performances of fatigue-free $\text{Ba}_2\text{Bi}_{3.9}\text{Pr}_{0.1}\text{Ti}_5\text{O}_{18}$ ferroelectric thin films. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2022, 14(15), 17642–17651.
- [3] Jurczyk M., Smardz L., Szajek A. Nanocrystalline materials for Ni–MH batteries. *Mater. Sci. Eng. B* 2004, 108(1-2), 67–75.
- [4] Petzold J. Applications of nanocrystalline softmagnetic materials for modern electronic devices. *Scr. Mater.* 2003, 48(7), 895–901.
- [5] Ramesh M., Vigneshwari N., Rajeshkumar L. Cellulose nanocrystals for drug delivery applications, w: Inamuddin, J.N. Cruz, T. Altalhi (eds.), *Green sustainable process for chemical and environmental engineering and science*. Elsevier, 2023.
- [6] Pan Q., Yang D., Dong G., Qiu J., Yang Z. Nanocrystal-in-glass composite (NGC): A powerful pathway from nanocrystals to advanced optical materials. *Prog. Mater. Sci.* 2022, 130, 100998.
- [7] Wang D., *Semiconductor nanocrystal-polymer composites: using polymers for nanocrystal processing*, w: *Semiconductor Nanocrystal Quantum Dots*, A.L. Rogach A.L. (ed.). Springer, 2008.
- [8] Trudeau M.L., Ying J.Y. Nanocrystalline materials in catalysis and electrocatalysis: Structure tailoring and surface reactivity. *Nanostr. Mat.* 1996, 7(1-2), 245–258.
- [9] Wilk B., Błachowski A., Lendzion-Bieluń Z., Arabczyk W. Thermodynamics of chemical processes in the system of nanocrystalline iron–ammonia–hydrogen at 350°C. *Catalysts* 2020, 10(11), 1242.

- [10] Arabczyk W., Zamłyński J., Moszyński D., Kinetics of nanocrystalline iron nitriding. *Pol. J. Chem. Technol.* 2010, 12(1), 38-43.
- [11] Arabczyk W., Pelka R., Kocemba I., Brzoza-Kos A., Wyszowski A., Lenzion-Bieluń Z. Study of phase transformation processes occurring in the nanocrystalline iron/ammonia/hydrogen system by the magnetic permeability measurement method. *J. Phys. Chem. C.* 2022, 126(17), 7704–7710.
- [12] Dahl S., Törnqvist E., Jacobsen C.J. Dissociative adsorption of dinitrogen on a multipromoted iron-based ammonia synthesis catalyst: linking properties of catalysts and single-crystal surfaces. *J. Catal.* 2001, 198(1), 97–102.
- [13] Arabczyk W., Pelka R. Studies of the Kinetics of two parallel reactions: Ammonia decomposition and nitriding of iron catalyst. *Phys. Chem. A* 2009, 113(2), 411–416.
- [14] Piela L. *Idee chemii kwantowej*. PWN, 2006.
- [15] *Dynamika molekularna: Charakterystyka podstawowa, metody i zastosowanie w projektowaniu leków*. <http://e-biotechnologia.pl/artykuly/dynamika-molekularna-charakterystyka-podstawowa-metody-i-zastosowanie-w-projektowaniu-lekow/> (dostęp: 10.04.2024).
- [16] Metropolis N. The beginning of the Monte Carlo method. *Los Alamos Sci.* 1987, 15, 125–130.
- [17] Rietveld H.M. Line profiles of neutron powder-diffraction peaks for structure refinement. *Acta Cryst.* 1967, 22, 151–152.
- [18] Caglioti G., Paoletti A., Ricci F.P. Choice of collimators for a crystal spectrometer for neutron diffraction. *Nucl. Instr.* 1958, 3(4), 223–228.
- [19] Hanwell M.D., Curtis D.E., Lonie D.C., Vandermeersch T., Zurek E., Hutchison G.R., Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *J. Cheminform.* 2012, 4(17), 1–17
- [20] Lehrer E. Über das Eisen-Wasserstoff-Ammoniak-Gleichgewicht. *Z. Elektrochem.* 1930, 36(6), 383–392.
- [21] Pelka R., Arabczyk W. A new method for determining the nanocrystallite size distribution in systems where chemical reaction between solid and a gas phase occurs. *J. Nanomater.* 2013, 20.
- [22] Moszyński D., Moszyńska I., Arabczyk W. The transformation of α -Fe into γ' -Fe₄N in nanocrystalline Fe–N system: Influence of Gibbs–Thomson effect. *Appl. Phys. Lett.* 2013, 103(25).

Aktywność antyoksydacyjna ekstraktów alkoholowych z liści i kory morwy białej (*Morus Alba*)

Agata MADALIŃSKA¹, Aleksandra KOZYRA¹, Anna NOWAK²

¹ Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Nauk o Zdrowiu, Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Chemii Kosmetycznej i Farmaceutycznej

² Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Katedra i Zakład Chemii Kosmetycznej i Farmaceutycznej

WSTĘP

Substancje naturalne cieszą się coraz większą popularnością wśród konsumentów, dlatego wzrasta zainteresowanie stosowaniem nowych, mniej znanych surowców roślinnych w preparatach kosmetycznych. Kosmetyki naturalne są znacznie częściej wybierane w porównaniu z syntetycznymi. Konsumenty przy wyborze preparatu kosmetycznego kierują się przede wszystkim składem, co w dużej mierze przekłada się na jego skuteczność [1]. Ekstrakty roślinne zawarte w kosmetykach mają ogromny zakres działania, są źródłem cennych witamin i minerałów, przez co mają m.in. właściwości przeciwzapalne, przeciwbakteryjne, jak również przeciwrzybicze. Rośliny są przede wszystkim źródłem przeciwutleniaczy, niwelujących niekorzystne działanie stresu oksydacyjnego. Stres oksydacyjny to brak równowagi pomiędzy komórkową produkcją reaktywnych form tlenu (ROS) a zdolnością komórek do ich usuwania. Reaktywne formy tlenu są produktem ubocznym oddychania komórkowego. Powodują uszkodzenie wielu składników komórkowych, w tym lipidów, białek i kwasów nukleinowych, takich jak DNA, prowadząc do późniejszej śmierci komórkowej na drodze martwicy lub apoptozy. Ich wzmożona produkcja spowodowana jest ekspozycją na promieniowanie UV, długotrwałym stresem, intensywnym wysiłkiem fizycznym, niewłaściwą dietą i stosowaniem używek [2]. Właściwości zdrowotne surowców roślinnych, w tym przeciwutleniające, są ściśle związane z zawartością konkretnych związków chemicznych, m.in. polifenoli, w tym cennych kwasów fenolowych i flawonoidów. Składniki te stabilizują i delokalizują wolne elektrony, chelatują jony metali i dezaktywują w ten sposób enzymy odpowiedzialne za reakcje utleniania, co przerywa reakcje rodnikowe [3, 4, 5].

Jedną z roślin, która wykazuje takie właściwości, jest morwa biała (*Morus alba*). Nazwa tej rośliny wywodzi się od koloru kory drzewa. Roślina pochodzi z Chin, a obecnie uprawiana jest w Azji, Afryce, Ameryce i Europie. Morwa biała jest średniej wielkości drzewem liściastym. Gatunek ten dorasta do wysokości 3–20 m. Charakteryzuje się szarobrązową korą, lekko spękaną i wydzielającą białawy lateks. Liście są błyszczące, zielone, naprzemienne, szeroko jajowate i sercowate u nasady, zakończone wierzchołkiem z drobnymi owocami [3]. Kwiaty są koloru zielonego, zwisające z gałęzi drzewa, a owoce to jadalne, drobne niełupki, obrośnięte soczystymi osnówkami, najczęściej barwy białej. Liście bogate są w flawonoidy, przede wszystkim kuwanony, moracyNFLawany, moragrole i morkotyny. W ekstrakcie z liścia znajdują się kwasy fenolowe, alkaloidy, kumaryny, chalkony i stylbeny. Zawartość związków chemicznych w morwie różni się w zależności od części morfologicznej ro-

śliny. Ponadto liście zawierają aminokwasy (waliny, glutaminy, leucyny, glicyny) i witaminy B1, C, a nawet D [6]. W składzie liści znajdziemy również mikroelementy, m.in. magnez, wapń, fosfor, żelazo, potas i cynk.

Ekstrakty z morwy białej lub izolowane związki z liści tej rośliny wykazywały cytotoksyczność w stosunku do ludzkich linii komórek nowotworowych [3]. Z kolei stosowane na skórę mogą wykazywać m.in. działanie przeciwzapalne. W liściach zidentyfikowano ponad 18 alkaloidów, spośród których 1-deoksynojirimycyna ma ogromne znaczenie dla diabetyków, ponieważ wpływa na poposiłkowy spadek poziomu glukozy we krwi [7]. Owoc morwy białej składa się również z cukrów, białek, kwasów organicznych, głównie kwasu cytrynowego oraz szczawiovowego, lipidów, witamin B2, B3 i C oraz antocyjanów i alkaloidów [8]. Swoje zastosowanie znalazł w przeciwdziałaniu miażdżycy, przy czym spożyty w postaci wodnych ekstraktów obniża poziom cholesterolu całkowitego oraz cholesterolu LDL, a także triglicerydów we krwi, co ogranicza rozwój blaszki miażdżycowej [8]. Bogatym źródłem kwasów omega-3 są nasiona morwy białej, składające się w ok. 30% z oleju zawierającego głównie kwas linolowy i oleinowy [6]. Kora morwy białej zawiera aż w 35% garbniki [6]. Wykazuje ona działanie ochronne na trzustkę. Wcześniejsze badania histologiczne udowodniły, że znacząco redukuje zmiany zapalne i zwłóknieniowe, co daje obiecujące wyniki w przypadku leczenia zapalenia tego narządu [9, 10]. Stwierdzono również cenne właściwości kory korzenia tej rośliny, która jest bardzo popularna w Azji, gdzie stosowane jest w leczeniu stanów zapalnych, zapalenia nerek i astmy [11]. Roślina ta może również zapobiegać podrażnieniom i wysypce na skórze przez działanie przeciwzapalne [6]. Znalazła zastosowanie w dermatologii i kosmetologii dzięki zawartości mulberrozydu F, który rozjaśnia przebarwienia [12]. Do innych ciekawych właściwości tej rośliny można zaliczyć korzystny wpływ m.in. na wątrobę. Wykazuje również właściwości antymutagenne, zmniejsza istniejące już uszkodzenia genów wywołane przez promieniowanie X lub gamma [13]. Wyciągi z korzenia morwy dzięki zawartości polisacharydów znalazły zastosowanie w leczeniu alergii, gdyż za ich pośrednictwem dochodzi do namnażania się limfocytów i przeciwciał [14].

Kora i liście z morwy białej są stosowane od bardzo dawna, jednak mało jest doniesień o ich potencjalnym działaniu kosmetycznym/dermatologicznym. Celem pracy było zbadanie i porównanie potencjału antyoksydacyjnego różnych ekstraktów alkoholowych z morwy białej przygotowanych z kory drzewa i liści.

MATERIAŁY I METODY

Odczynniki

ABTS – kwas 2,2'-azyno-bis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowy), sól diamonową zakupiono w firmie Sigma Aldrich, natomiast etanol, metanol i izopropanol pochodziły z firmy Chempur Piekary Śląskie, Polska.

Materiał roślinny

Materiałem roślinnym była kora i liście morwy białej. Roślina pochodziła ze stanowiska naturalnego. Poszczególne części rośliny zostały wybrane losowo, zebrane w listopadzie 2023 r. na terenie Polski we wsi Gralewo, niedaleko Gorzowa Wielkopolskiego. Wszystkie części pochodziły z jednego

drzewa i zostały zebrane w tym samym czasie. Materiał roślinny suszono w temperaturze pokojowej w dobrze wentylowanym pomieszczeniu. Próbkę rośliny zdeponowano w pomieszczeniu do przechowywania materiału roślinnego (MOR-AM2024-01) w Katedrze Chemii Kosmetycznej i Farmaceutycznej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie.

Przygotowanie ekstraktów

Przed analizą materiał roślinny, tj. wysuszone liście oraz kora morwy białej, zmielono w młynku. Przygotowano dziewięć rodzajów ekstraktów z liści i dziewięć z kory rośliny: w metanolu o stężeniu 40% (v/v), 70% (v/v) i 99% (v/v); etanolu o stężeniu 40% (v/v), 70% (v/v) i 96% (v/v); oraz w izopropanolu o stężeniu 40% (v/v), 70% (v/v) i 99% (v/v). Z każdej próbki 0,5 g wysuszonego surowca ekstrahowano 10 ml odpowiedniego alkoholu przez 60 min w łaźni ultradźwiękowej o częstotliwości 40 kHz. Otrzymane ekstrakty następnie przesączono przez bibułę filtracyjną nr 10 (EEA03) firmy Merck, Darmstadt, Niemcy. Po filtracji z ekstraktów przygotowano próbki, które do dalszej analizy przechowywano w ciemności w temperaturze 4°C. Wykaz ekstraktów przygotowanych w badaniu przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Wykaz zastosowanych w badaniu ekstraktów alkoholowych

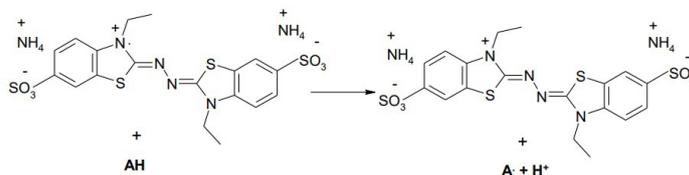
Część rośliny	Rozpuszczalnik	Stężenie rozpuszczalnika
Liść	metanol	40%
		70%
		99%
	etanol	40%
		70%
		96%
	izopropanol	40%
		70%
		99%
Kora	metanol	40%
		70%
		99%
	etanol	40%
		70%
		96%
	izopropanol	40%
		70%
		99%

Oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej metodą ABTS

Metoda ABTS polega na zmierzeniu zdolności do dezaktywacji wolnych rodników z użyciem odczynnika ABTS [2,2'-azyno-bis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonianu) diamonowego]. Rodniki te wykazują maksimum absorpcji w zakresie fal $\lambda = 710-760$ nm. W konsekwencji reakcji zachodzącej między tym odczynnikiem a antyoksydantami zawartymi w badanej próbce dochodzi do odbarwienia błękit-

nej barwy. Zawartość przeciwutleniaczy w oddawanej testowi próbce jest wprost proporcjonalna do zaniku koloru, jaki obserwowany jest po czasie inkubacji, który wynosić może od 6 do 30 min [15, 16].

Schemat przebiegu reakcji z wykorzystaniem kationorodnika ABTS⁺ przedstawiono na rys. 1 [16].



Rys. 1. Schemat przebiegu reakcji antyutleniacza z rodnikiem ABTS⁺ [17]

Przygotowano 7-milimolowy roztwór ABTS (kwas 2,2'-azyno-bis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowy) sól diamonowa) w 2,45-milimolowym roztworze wodnym. Jako roztwór zasadowy zastosowano nadsiarczan potasu. Mieszaninę reakcyjną inkubowano przez 24 h w ciemności w temperaturze pokojowej. Mieszaninę rozcieńczono metanolem o stężeniu 50% (v/v), aby otrzymać roztwór roboczy o absorbancji $1,00 \pm 0,02$ przy 734 nm. Aktywność przeciwutleniającą mierzono w następujący sposób: do kuwety spektrofotometrycznej dodano 2,5 ml roboczego roztworu ABTS i 0,25 ml badanej próbki w stężeniach od 10 do 1000 $\mu\text{g/ml}$.

Rejestrowano kinetykę zmian absorbancji. Pomiarów wykonywano w odstępach pięciominutowych. Każdą próbkę inkubowano przez 6 minut w temperaturze pokojowej. Dla każdego stężenia badanego ekstraktu przeprowadzono trzy pomiary.

Aktywność wyrażono jako procent zmiatania wolnych rodników (%RSA), stosując równanie:

$$\%Inhibition = \left(1 - \frac{As}{Ac}\right) \times 100$$

gdzie:

As – absorbancja badanej próbki,

Ac – absorbancja próbki kontrolnej.

Uzyskane wyniki przeliczono również na równoważnik troloksu (RT) i wyrażono w $\mu\text{M RT/g s.m.}$ Troloks jest syntetycznym, hydrofilowym odpowiednikiem tokoferolu – jednego z najpopularniejszych antyoksydantów [18].

Analiza statystyczna

W celu oceny istotności różnic pomiędzy poszczególnymi ekstraktami zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Istotność różnic pomiędzy poszczególnymi grupami oceniano za pomocą testu Tuckeya ($\alpha < 0,05$). Obliczenia statystyczne wykonano przy użyciu programu Statistica 13 PL (StatSoft, Kraków, Polska).

WYNIKI I DYKUSJA

Liście, owoce, nasiona i kora morwy białej stanowią cenne źródło związków bioaktywnych. Suche liście składają się głównie z białka i błonnika, ale znajduje się tam także szereg innych substancji

aktywnych jak witamina C, szczawiany, fityniany oraz żelazo, fosfor, wapń i magnez [9]. Liście zawierają 14 polifenoli i 18 polihydroksyalkaloidów, jednym z nich jest 1-dezoksyno-jirimycyna, która wpływa u diabetyków na poposiłkowy spadek poziomu glukozy we krwi [19]. Młode liście stanowią zatem najlepsze źródło przeciwutleniaczy, w przeciwieństwie do owoców, w których zawartość tych związków wzrasta wraz z dojrzewaniem. Dopiero w pełni dojrzałe czarne owoce odznaczają się największą ilością polifenoli [20].

Kora korzenia morwy białej jest od lat wykorzystywana w tradycyjnej medycynie chińskiej ze względu na właściwości obniżające gorączkę oraz w celu poprawy widzenia i obniżenia ciśnienia krwi [6]. Ze względu na bogaty skład morwa biała jest bardzo dobrym przeciwutleniaczem. Owoce morwy stanowią substrat bogaty w antocyjany. Z badań na myszach, które karmiono sokiem z owoców z morwy, wynikało, że ma ona działanie tonizujące. W testach lepiej wypadł sok nieoczyszczony w porównaniu z oczyszczonym [21]. Za dominujące antyoksydanty w liściach uważane są również kwercetyna oraz rutyna. Co ciekawe, zawartość kwercetyny jest znacznie większą niż w cebuli [22]. Wcześniejsze badania wykazały również inne zastosowania tego surowca. Był on wykorzystywany m.in. w leczeniu zapalenia trzustki, dając bardzo obiecujące efekty. Przeprowadzone analizy histologiczne wykazały, że alkoholowy roztwór z dodatkiem kory korzenia znacząco redukuje zmiany zapalne i zwłóknieniowe tego narządu [9]. Dodatkowo występujące w tej roślinie substancje znalazły zastosowanie w profilaktyce oraz wspomaganiu leczenia chorób cywilizacyjnych, m.in. cukrzycy, otyłości czy nadciśnienia tętniczego, jak również wykazywały działanie przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze oraz przeciwwirusowe [15]. Niektórzy autorzy donoszą, że wodne ekstrakty z morwy białej wydają się dobrym źródłem przeciwutleniaczy, m.in. związków fenolowych, flawonoidów i antocyjanów, co określono za pomocą testów DPPH, ABTS i FRAP. W przeprowadzonych wcześniej badaniach analizowano ekstrakty wodne i etanolowe, z czego wodne wypadły zdecydowanie lepiej [23]. Inne badania dowodzą wpływu temperatury i czasu parzenia na zawartość związków fenolowych w naparach z liści morwy białej. Wykazano, że zawartość tych związków zwiększała się wraz z wydłużaniem czasu parzenia oraz wzrostem temperatury [24].

W naszym badaniu ekstrakty przygotowane z użyciem etanolu również wykazywały niższą aktywność antyoksydacyjną w porównaniu z ekstraktami metanolowymi i w dużej części izopropanolowymi. Odmienne wyniki uzyskano w innych badaniach, w których aktywność antyoksydacyjna ekstraktów acetonowych i etanolowych z morwy białej była zdecydowanie wyższa w porównaniu z ekstraktami wodnymi. Analizy przeprowadzono również przy użyciu metody ABTS. Ponadto wszystkie przebadane próby charakteryzowały się bogatym składem polifenolowym. Stwierdzono również istotne różnice pomiędzy ekstraktami w składzie kwasów fenolowych i flawonoidów, przy czym najwyższe wartości zaobserwowano dla ekstraktu acetonowego [25]. W badaniach Jeszki i in. [26] najwyższą aktywność wobec rodnika DPPH wykazały ekstrakty acetonowo-wodne (3:2), a najniższą ekstrakty wodne. Dobór rozpuszczalnika do ekstrakcji ma zatem istotny wpływ na aktywność preparatów otrzymanych z morwy białej [20].

W przeprowadzonych badaniach zaobserwowaliśmy, że na aktywność antyoksydacyjną wpływ ma również stężenie zastosowanego rozpuszczalnika. Najwyższą istotną statystycznie aktywnością przeciwutleniającą charakteryzowały się ekstrakty przygotowane w metanolu o stężeniu 40% w przypadku liści oraz 70% w przypadku kory. Wyniki dla ekstraktów z liści w przeliczeniu na współczynnik %RSA wskazują, że największą aktywność przeciwutleniającą miały ekstrakty

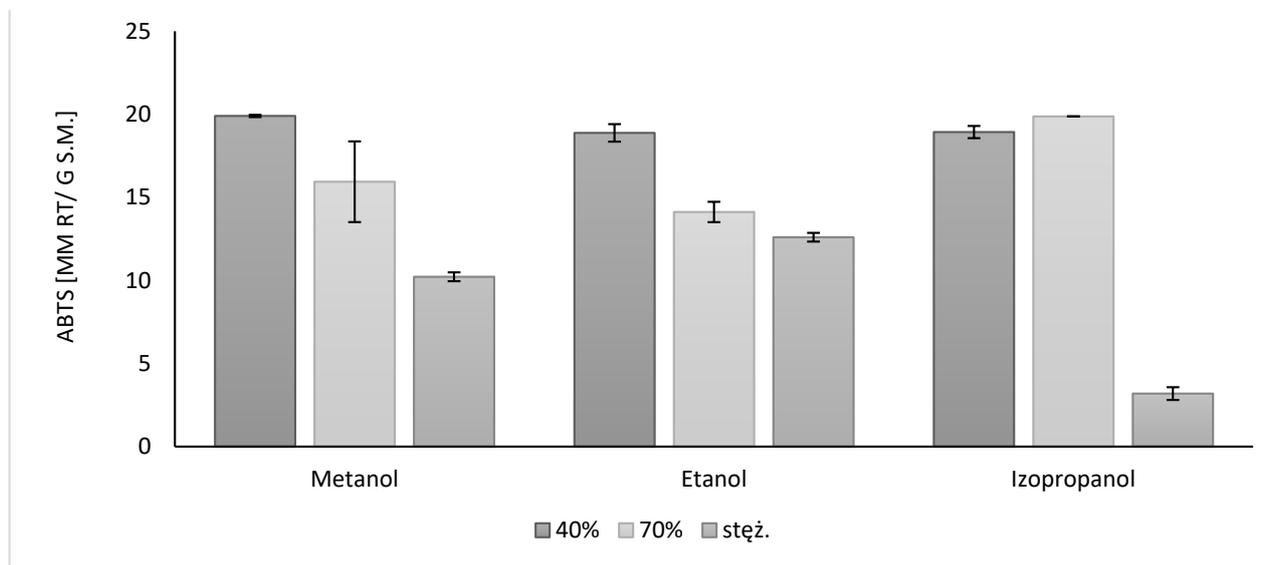
przygotowane w metanolu o stężeniu 40% – $90,41 \pm 0,3$ %RSA oraz w izopropanolu o stężeniu 70% – $90,28 \pm 0,02$ %RSA, natomiast najniższą aktywność wykazywał ekstrakt w izopropanolu stężonym $16,78 \pm 1,69$ %RSA. W przypadku ekstraktów z kory drzewa najwyższą aktywność antyoksydacyjną wykazał ekstrakt metanolowy o stężeniu 70% – $72,07 \pm 0,26$ %RSA, a naj słabszą, podobnie jak w przypadku liści, ekstrakt otrzymany w stężonym izopropanolu – $18,13 \pm 4,76$ %RSA (tabele 2 i 3). Uzyskane wyniki przedstawiono również w przeliczeniu na równoważnik troloksu (RT), którego użyto jako wzorcowy antyoksydant. Dla ekstraktów z liści otrzymano następujące wyniki: metanol o stężeniu 40% – $19,90 \pm 0,07$, izopropanol o stężeniu 70% – $19,87 \pm 0,01$, izopropanol stężony – $3,19 \pm 0,38$, zaś dla ekstraktów z kory: metanol o stężeniu 70% – $15,74 \pm 0,06$, izopropanol stężony – $3,49 \pm 1,08$ (rys. 1 i 2).

Tabela 2. Aktywność antyoksydacyjna ekstraktów alkoholowych z liści morwy białej wyrażona jako procent zmiatania wolnych rodników (%RSA). Średnia \pm SD, n = 3; różne litery oznaczają różnice istotne pomiędzy poszczególnymi ekstraktami. Istotność różnic pomiędzy poszczególnymi grupami oceniano za pomocą testu Tuckeya ($\alpha < 0,05$)

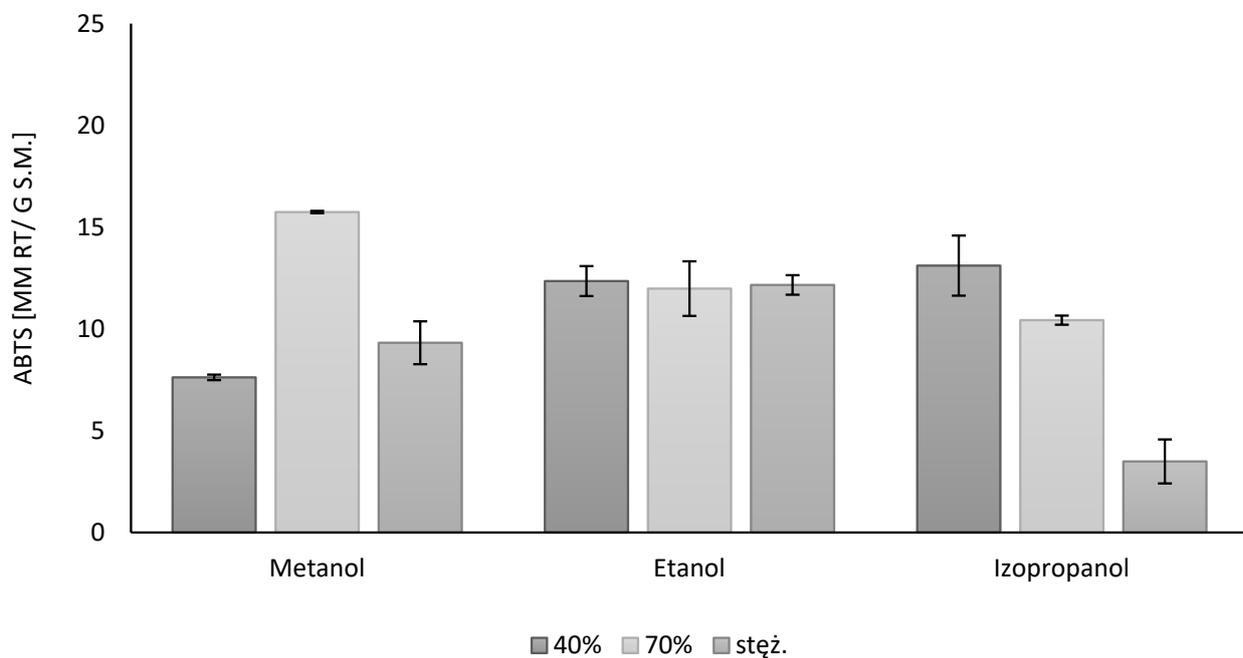
Rozpuszczalnik	Stężenie rozpuszczalnika	%RSA
Metanol	40%	$90,41 \pm 0,30^d$
	70%	$72,94 \pm 9,51^{dc}$
	stężony	$47,77 \pm 1,17^b$
Etanol	40%	$85,9 \pm 2,32^d$
	70%	$64,92 \pm 2,70^c$
	stężony	$58,22 \pm 1,16^c$
Izopropanol	40%	$86,13 \pm 1,62^d$
	70%	$90,28 \pm 0,02^d$
	stężony	$16,78 \pm 1,69^a$

Tabela 3. Aktywność antyoksydacyjna ekstraktów alkoholowych z liści morwy białej wyrażona jako procent zmiatania wolnych rodników (%RSA). Średnia \pm SD, n = 3; różne litery oznaczają różnice istotne pomiędzy poszczególnymi ekstraktami. Istotność różnic pomiędzy poszczególnymi grupami oceniano za pomocą testu Tuckeya ($\alpha < 0,05$)

Rozpuszczalnik	Stężenie rozpuszczalnika	%RSA
Metanol	40%	$36,28 \pm 0,60^b$
	70%	$72,07 \pm 0,26^f$
	stężony	$43,82 \pm 2,64^{bc}$
Etanol	40%	$57,13 \pm 3,24^{de}$
	70%	$55,49 \pm 5,91^{de}$
	stężony	$56,31 \pm 0,99^{de}$
Izopropanol	40%	$60,47 \pm 6,50^e$
	70%	$48,67 \pm 2,12^{cd}$
	stężony	$18,13 \pm 4,76^a$



Rys. 2. Aktywność antyoksydacyjna ekstraktów alkoholowych z liści morwy białej wyrażona w równoważniku troloksu (RT). Średnia \pm SD, n = 3



Rys. 3. Aktywność antyoksydacyjna ekstraktów alkoholowych z kory morwy białej wyrażona w równoważniku troloksu (RT). Średnia \pm SD, n = 3

WNIOSKI

1. Wszystkie ekstrakty, zarówno z kory, jak i z liści morwy białej, niezależnie od użytego rozpuszczalnika i jego stężenia, wykazują właściwości antyoksydacyjne.
2. Stężenie użytego do ekstrakcji alkoholu oraz jego rodzaj wpływały na zawartość antyoksydantów w ekstraktach z liści i kory morwy białej.
3. Wykazano istotne różnice w zdolności antyoksydacyjnej metodą testu z rodnikiem ABTS w zależności od użytego do ekstrakcji alkoholu oraz jego stężenia.
4. Najwyższą aktywnością antyoksydacyjną charakteryzowały się ekstrakty z liści i kory przygotowane odpowiednio w 40- i 70-procentowym metanolu.
5. Ze względu na zawartość związków o właściwościach przeciwutleniających ekstrakty alkoholowe z liści i kory morwy białej stanowią potencjalny, innowacyjny składnik preparatów kosmetycznych.

LITERATURA

- [1] Firek A., Dziadkowiec J.M. Preferencje i zachowania konsumentów na rynku kosmetyków naturalnych. *Nauki Inż. Technol.* 2020, 1(36), 57–69.
- [2] Jakubczyk K., Dec K., Kałduńska J., Kawczuga D., Kochman J., Janda K. Reactive oxygen species – sources, functions, oxidative damage. *Pol. Merkur. Lekarski* 2020, 48(284), 124–127.
- [3] Wei Chiang Chan E., Wong S.K., Tangah J., Inoue T., Tuck Chan H. Phenolic constituents and anticancer properties of *Morus alba* (white mulberry) leaves. *J. Int. Med.* 18(3), 2020, 189–195.
- [4] Hussain S.A., Ahmed Z.A., Mahwi T.O., Aziz T.A. Quercetin dampens postprandial hyperglycemia in type 2 diabetic patients challenged with carbohydrates load. *Diabetes* 2012, 1, 32–35.
- [5] Zielonka-Brzezicka, J., Nowak, A., Zielińska, M., Klimowicz, A. Porównanie właściwości przeciwutleniających wybranych części maliny właściwej (*Rubus idaeus*) i jeżyny europejskiej (*Rubus fruticosus*). *Pomeranian J. Life Sci.* 2016, 62(4), 52–59.
- [6] Połumackanycz M., Viapiana A., Wesołowski M. Skład chemiczny i właściwości biologiczne morwy białej (*Morus alba* L.). *Farm Pol.* 2018, 74(10), 581–586.
- [7] Flaczyk E., Kobus-Cisowska J., Przeor M., Korczak J., Remiszewski M., Korbas E., Buchowski M. Chemical characterization and antioxidative properties of Polish variety of *Morus alba* L. leaf aqueous extracts from the laboratory and pilot-scale processes. *Agric. Sci.* 2013, 4, 141–147.
- [8] Jeszka M., Kobus-Cisowska J., Flaczyk E. Liście morwy jako źródło naturalnych substancji biologicznie aktywnych – Mulberry leaves as a source of biologically active compounds. *Post. Fitoter.* 2009, 3, 175–179.
- [9] Kavitha Y., Geetha A. Anti-inflammatory and preventive activity of white mulberry root bark extract in an experimental model of pancreatitis. *J. Tradit. Complement. Med.* 2018, 8(4), 497–505.
- [10] Yuvaraj K., Geetha A. Effect of *Morus alba* root bark extract on gene-level expression of inflammatory markers in rats subjected to ethanol and cerulein induced pancreatitis – influence of heat shock protein 70. *J. Complement. Integr. Med.* 2018, 16(2).
- [11] Wu Y.X., Kim Y.J., Kwon T.H., Tan C.P., Son K.H., Kim T. Anti-inflammatory effects of mulberry (*Morus alba* L.) root bark and its active compounds. *Nat. Prod. Res.* 2020, 34(12), 1786–1790.

- [12] Lee S.H., Choi S.Y., Kim H., Hwang J.S., Lee B.G., Gao J.J., Kim S.Y. Mulberroside F isolated from the leaves of *Morus alba* inhibits melanin biosynthesis. *Biol. Pharm. Bull.* 2002, 25, 1045–1048.
- [13] Agabeyli R.A. Antimutagenic activities extracts from leaves of the *Morus alba*, *Morus nigra* and their mixtures. *Int. J. Biol.* 2012, 4, 166–172.
- [14] Kim S.Y., Gao J.J., Lee W.C., Ryu K.S., Lee K.R., Kim Y.C. Antioxidative flavonoids from the leaves of *Morus alba*. *Arch. Pharm. Res.* 1999, 22, 81–85.
- [15] Pyrżyńska K., Pękał A. Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples. *Anal. Methods* 2013, 5(17), 4288–4295.
- [16] Cybul M., Nowak R. Przegląd metod stosowanych w analizie właściwości antyoksydacyjnych wyciągów roślinnych. *Herba Pol.* 2008, 54, 68–78.
- [17] Hidalgo G.I., Almajano M.P. Red fruits: extraction of antioxidants, phenolic content, and radical scavenging determination: A review. *Antioxidants* 2017, 6(1), 7.
- [18] Zielińska A., Nowak I. Tokoferole i tokotrienole jako witamina E. *Chemik* 2014, 68(7), 585–591.
- [19] Grześkowiak J., Łochyńska M. Związki biologicznie aktywne morwy białej (*Morus alba* L.) i ich działanie lecznicze. *Post. Fitoter.* 2017, 18, 31–35.
- [20] Chen C., Mokhtar R.A. Sani M.S., Noor N.Q. The effect of maturity and extraction solvents on bioactive compounds and antioxidant activity of mulberry (*Morus alba*) fruits and leaves. *Molecules* 2022, 27, 2406.
- [21] Jiang D.Q., Guo Y., Xu D.H., Huang Y.S., Yuan K., Lv Z.Q. Antioxidant and anti-fatigue effects of anthocyanins of mulberry juice purification (MJP) and mulberry marc purification (MMP) from different varieties mulberry fruit in China. *Food Chem. Toxicol.* 2013, 59, 1–7.
- [22] Chen C.C., Liu L.K., Hsu J.D., Huang H.P., Yang M.Y., Wang C.J. Mulberry extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol – fed rabbits. *Food Chem.* 2005, 91, 601–607.
- [23] Suriyaprom S., Kaewkod T., Promputtha I., Desvaux M., Tragoolpua Y. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of white mulberry (*Morus alba* L.) fruit. *Extracts. Plants.* 2021, 10(12), 2736.
- [24] Kawa K., Wilczyński K. Właściwości przeciwutleniające naparów z liści morwy białej (*Morus alba* L.). *Acta Sci. Pol. Technica Agraria* 2016, 15(3-4), 15–24.
- [25] Kobus-Cisowska J., Szczepaniak O., Szymanowska-Powałowska D., Piechocka J., Szulc P., Dziędziński M. Antioxidant potential of various solvent extract from *Morus alba* fruits and its major polyphenols composition. *Ciência Rural* 2020, 50(1).
- [26] Jeszka M., Kobus J., Flaczyk E. Określenie potencjału antyoksydacyjnego ekstraktów z liści morwy białej. *Bromat. Chem. Toksol.* 2009, 42(3), 885–889.

Synteza i charakterystyka cieczy jonowych z anionem farmaceutycznym

*Patrycja FRĄCKOWIAK, Adriana OLEJNICZAK, Marcin WYSOKOWSKI,
Damian Krystian KACZMAREK, Tomasz RZEMIENIECKI, Michał NIEMCZAK*

Politechnika Poznańska, Wydział Technologii Chemicznej, Zakład Technologii Chemicznej

WSTĘP

Ciecze jonowe to związki organiczne o budowie jonowej, których temperatura topnienia jest niższa niż 100°C. Znane są z właściwości takich jak niska prężność par, stabilność termiczna oraz dobre przewodnictwo [1]. Ich właściwości uwarunkowane są oddziaływaniami van der Waalsa i siłami kulombowskimi występującymi pomiędzy jonami [2, 3]. Do ich zalet zalicza się zdolność do rozpuszczania różnych związków chemicznych, możliwość tworzenia struktur ciekłokrystalicznych czy niepalność. Niemniej jednak kluczową wadą ich potencjalnego stosowania jest stosunkowo wysoka cena w porównaniu z konwencjonalnymi rozpuszczalnikami organicznymi. Zastosowanie cieczy jonowych jest niezwykle szerokie i obejmuje takie dziedziny jak elektrochemia (m.in. jako elektrolity w bateriach) [4], agronomia [5] czy medycyna [6].

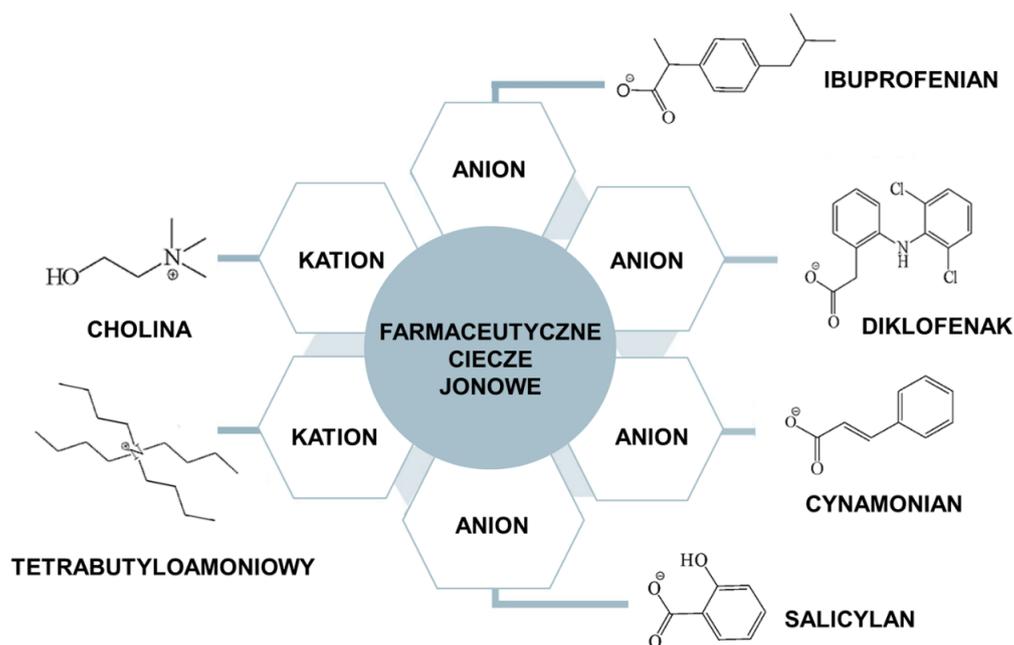
Na szczególne zainteresowanie zasługują farmaceutyczne ciecze jonowe (rys. 1). Związki farmaceutyczne przekształca się w postaci cieczy jonowych, aby poprawić ich rozpuszczalność i biodostępność, co z kolei zwiększa ich skuteczność terapeutyczną. Jest to często spowodowane upłynnieniem substancji aktywnej, co oznacza, że nowo otrzymana substancja w temperaturze pokojowej występuje w ciekłym stanie skupienia. Dodatkowo ciecze jonowe mogą być stabilniejsze i bezpieczniejsze w użyciu niż tradycyjne formy leków, co może być korzystne dla pacjentów. Zastosowanie związków farmaceutycznych w postaci cieczy jonowych umożliwia również innowacyjne sposoby dostarczania leków, jak np. dostosowywanie profilu uwalniania substancji czynnej.

Ciecze jonowe o aktywności farmaceutycznej są obiektem zainteresowania farmacji i chemii, a badania nad nimi skupiają się na potencjalnych zastosowaniach terapeutycznych oraz właściwościach fizykochemicznych. Wiadomo, że substancje te mogą być wykorzystywane do dostarczania leków przez różne drogi podawania, takie jak doustna, wziewna czy przezskórna. Istnieją także badania nad ich stabilnością, biodostępnością i toksycznością w celu oceny ich bezpieczeństwa i skuteczności. W syntezie API-IL (cieczy jonowych zawierających aktywne składniki farmaceutyczne) z powodzeniem wykorzystano szereg związków aktywnych biologicznie, które w produktach znajdowały pod postacią zarówno kationów (np. lidokaina czy efedryna), jak i anionów (np. ibuprofen, ketoprofen, naproxen czy penicylina). Zgromadzony zasób wiedzy w tej tematyce zestawiono w licznych artykułach przeglądowych [7, 8]. Jednakże potrzebne są dalsze badania, aby w pełni zrozumieć potencjał cieczy jonowych w farmakoterapii oraz aby opracować nowe preparaty lecznicze oparte na tych związkach.

Wybranie odpowiedniego kationu i anionu mających działanie farmakologiczne może sprawić, że dana ciecz jonowa wykaże potencjał jako substancja dwufunkcyjna. Możliwe jest zastosowanie

kationów syntetycznych (np. tetrabutylamoniowych) lub naturalnych, do których można zaliczyć cholinę. Łatwa dostępność komercyjna kationu tetrabutylamoniowego jest kluczowa z punktu widzenia jego potencjalnego zastosowania. W literaturze opisano także czwartorzędowe sole amoniowe z kationem tetrabutylamoniowym, które są skuteczne zarówno przeciwko bakteriom Gram-dodatnim, jak i Gram-ujemnym [9]. Z kolei cholina to substancja uznawana za witaminopodobną. Jej bogatym źródłem jest mięso, ale występuje również w roślinach. Wchodzi w skład fosfolipidów i pełni wiele kluczowych funkcji, jak wpływ na proliferację czy apoptozę komórek [10, 11].

Do mających potencjał anionów można zaliczyć m.in. ibuprofienian, diklofenak, cynamonian czy salicylan. Ibuprofienian i diklofenak to bardzo dobrze znane leki przeciwzapalne, przeciwgorączkowe i przeciwbólowe [12, 13, 14]. Z kolei cynamoniany charakteryzują się właściwościami antyutleniającymi i antybakteryjnymi. Według badań przedklinicznych mogą mieć dobry wpływ na leczenie cukrzycy czy otyłości [11]. Kwas salicylowy jest fitohormonem, który u roślin pełni kluczową funkcję w rozwoju oraz procesach takich jak fotosynteza czy transpiracja [15]. Najczęściej stosuje się go do produkcji kwasu acetylosalicylowego, który jest lekiem znanym jako aspiryna. Przejawia działanie przeciwbólowe, przeciwzapalne, a nawet przeciwzakrzepowe. Poza farmacją kwas salicylowy stosowany jest również w kosmetologii do pielęgnacji skóry [16].



Rys. 1. Przykłady kationów i anionów stosowanych w farmaceutycznych cieczach jonowych i zsyntezowanych w niniejszych badaniach

METODYKA PROWADZENIA BADAŃ

Wykorzystane odczynniki

Aceton (czysty, POCh), acetonitryl (czysty, POCh), alkohol izopropylowy (czysty, POCh), alkohol metylowy (czysty, POCh), chlorek choliny (98+%, Alfa Aesar), chlorek tetrabutylamoniowy ($\geq 97\%$,

Sigma Aldrich), chloroform (czysty, POCh), cynamonian sodu (99+%, Alfa Aesar), diklofenak sodu ($\geq 98\%$, Alfa Aesar), dimetylosulfotlenek (czysty, POCh), heksan (czysty, POCh), ibuprofenian sodu ($\geq 98\%$, Sigma Aldrich), kwas salicylowy (99+%, Sigma Aldrich), kwas cynamonowy (99+%, Alfa Aesar), octan etylu (czysty, POCh), roztwór wodorotlenku choliny w alkoholu metylowym (45%, Sigma Aldrich), toluen (czysty, POCh), tran norweski (–, Mollers), wodorotlenek potasu (87%, P.O.Ch.). Woda demineralizowana ($<1 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) została wytworzona w Zakładzie Technologii Chemicznej (Politechnika Poznańska).

Synteza

Synteza cieczy jonowych z anionem farmaceutycznym różniła się w zależności od wykorzystywanych substratów:

Sposób A

I. Synteza soli potasowej kwasu salicylowego

W pierwszym etapie odpowiednią ilość wodorotlenku potasu (0,10 mol) rozpuszczono w 100 cm³ wody. W następnym etapie przeprowadzono reakcję zobojętniania z wykorzystaniem kwasu salicylowego. Proces zakończono w momencie, gdy pH było równe 7. Badania prowadzono w reaktorze MettlerToledo EasyMax. Temperaturę zawartości reaktora kontrolowano z dokładnością do 0,01°C za pomocą czujnika Pt100. Podłączenie przyrządu SevenMulti Mettler Toledo, wyposażonego w odpowiednią elektrodę, pozwoliło na precyzyjny pomiar pH przygotowanego roztworu. Następnie wykorzystano wyparkę próżniową, aby usunąć wodę, a otrzymaną sól poddano suszeniu.

II. Reakcja wymiany anionu

Reakcji wymiany anionu poddano chlorek tetrabutylamoniowy lub chlorek choliny oraz jedną z czterech soli (sodowych lub potasowych) ibuprofenu, kwasu cynamonowego, salicylowego lub diklofenaku (zastosowane z 2% nadmiarem). Reagenty w ilości 0,05 mola rozpuszczono w 25 cm³ metanolu, a następnie mieszano w temperaturze 60°C przez ok. 0,5 h, po czym zawartość kolby ochłodzono do temperatury 5°C. W wyniku reakcji powstał produkt uboczny w postaci osadu nieorganicznego (KCl lub NaCl), który usunięto, stosując technikę sączenia próżniowego. Do usunięcia metanolu wykorzystano wyparkę próżniową. W kolejnym etapie w celu usunięcia pozostałości soli z nadmiaru użytego reagenta do powstałego produktu dodano aceton i całość ochłodzono do temperatury 5°C. nierozpuszczoną pozostałość odsączono, a rozpuszczalnik ponownie usunięto za pomocą wyparki próżniowej. Uzyskany w ten sposób produkty (cynamonian tetrabutylamoniowy, diklofenak tetrabutylamoniowy, ibuprofenian tetrabutylamoniowy, salicylan tetrabutylamoniowy, diklofenak choliny, ibuprofenian choliny) umieszczono w suszarce próżniowej w temperaturze 25°C na 2 h.

Sposób B

Odpowiednią ilość wodorotlenku choliny (0,05 mola) zobojętniono z wykorzystaniem rozpuszczonego w wodzie kwasu cynamonowego lub kwasu salicylowego w temperaturze 60°C w reaktorze EasyMax wyposażonym w odpowiednią elektrodę, co pozwoliło na precyzyjny pomiar pH przygotowanego roztworu. W celu usunięcia rozpuszczalnika wykorzystano wyparkę próżniową. Powsta-

łe produkty (cynamonian choliny oraz salicylan choliny) suszono w suszarce próżniowej w temperaturze 25°C przez 2 h.

Badanie rozpuszczalności

Do badania rozpuszczalności wybrano wodę oraz dziewięć popularnych rozpuszczalników organicznych, które uszeregowano w kolejności malejącego wskaźnika polarności Snydera: wodę (9,0), metanol (6,6), DMSO (6,5), acetonitryl (6,2), aceton (5,1), izopropanol (4,3), octan etylu (4,3), chloroform (4,1), toluen (2,3) i heksan (0,0). Rozpuszczalność otrzymanych związków w rozpuszczalnikach organicznych określono zgodnie z metodologią opisaną w *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry* [17]. Przebadano także rozpuszczalność cieczy jonowych w rozpuszczonych tłuszczach: maśle klarowanym (11), oleju kokosowym (12), smalcu (13) i tranie (14). Następnie według wyników pogrupowano związki w trzy grupy: dobrze rozpuszczalne (+), trudno rozpuszczalne (+/-) i nierozpuszczalne (-). Próbkę substancji ($0,1 \pm 0,0001$ g) wprowadzono do określonej objętości rozpuszczalnika. Pomiar przeprowadzono w temperaturze 25°C. W zależności od objętości użytego rozpuszczalnika odnotowano trzy wyniki: „dobra rozpuszczalność” dotyczy substancji, które rozpuściły się w 1 cm³ rozpuszczalnika (>10,0% m/v), „średnia rozpuszczalność” – związków, które rozpuściły się w 3 cm³ rozpuszczalnika (między 3,33-10,0% m/v), a „niska rozpuszczalność” – związków, które nie rozpuściły się w 3 cm³ rozpuszczalnika (<3,33% m/v).

Analiza współczynnika załamania światła

Badanie współczynnika załamania światła wykonano refraktometrem Rudolph Research Analytical J357 w zakresie temperatur 20–80°C. Aparat ten pozwala na uzyskanie wyników z dokładnością do 0,00001. Kroplę analizowanej soli naniesiono na powierzchnię pryzmatu i zamknięto pokrywę w celu utrzymania stabilnej temperatury. Analizę wykonano dla trzech uzyskanych związków: cynamonianu choliny, salicylanu choliny oraz cynamonianu tetrabutylamonowego, ponieważ tylko one występowały w stanie ciekłym w temperaturze 20°C.

Analiza gęstości

Pomiar gęstości cieczy jonowych przeprowadzono za pomocą gęstościomierza DDM2911 (Rudolph Research Analytical) z regulowaną temperaturą. Dokładność pomiaru temperatury wynosiła 0,02°C, a dokładność urządzenia 0,00002 g·cm⁻³. Gęstości zostały zbadane w zakresie temperatur 20–80°C.

Analiza techniką spektroskopii UV

Otrzymane cieczy jonowe poddano badaniu absorpcji światła UV przy użyciu aparatu firmy Rayleigh (model UV-1601). Analizy przeprowadzono w kuwetach wykonanych z poli(metakrylanu metylu) w zakresie fal $\lambda = 200\text{--}400$ nm. W celu wykonania analizy przygotowano wodne roztwory o stężeniu 0,05 mg·cm⁻³, a pomiar wykonano w 25°C. Na podstawie otrzymanych wyników obliczono współczynnik molowy absorpcji na podstawie wzoru Lamberta–Beera.

$$A = \epsilon \cdot c \cdot l$$

gdzie:

ϵ – molowy współczynnik absorpcji [dm³·mol⁻¹·cm⁻¹],

l – długość drogi pokonywanej przez wiązkę promieniowania [cm],

c – stężenie molowe [$\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$].

Analiza techniką spektroskopii FT-IR

Badanie spektroskopii w podczerwieni wykonano za pomocą spektrometru ReactIR 15 (Mettler Toledo) w zakresie $650\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$. Każda analiza została przeprowadzona przez naniesienie związku na sondę z diamentową końcówką, a wyniki opracowano za pomocą oprogramowania iCIR.

Analiza techniką magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR)

Widma ^1H NMR struktur nowo otrzymanej cieczy jonowej zarejestrowano na spektrometrze VNMR-S 400 MHz (Varian Inc.) pracującym przy 400 MHz z użyciem TMS jako wzorca wewnętrznego. Widmo ^{13}C NMR uzyskano przy użyciu tego samego instrumentu pracującego przy 100 MHz. Badania wykonano dla ibuprofenu tetrabutylamoniumowego. Rozpuszczalnik stanowił deuterowany dimetylosulfotlenek ($\text{DMSO-}d_6$).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Zestawienie otrzymanych cieczy jonowych

Celem zmniejszenia toksyczności leku różne substancje aktywne obecnie łączy się z kationami pochodzenia naturalnego, jak cholina czy aminokwasy i ich pochodne. Toksyczność wykazywana przez cieczy jonowe może być z powodzeniem wykorzystywana do eliminacji patogenów lub szkodliwych mikroorganizmów i mieć zastosowanie w leczeniu zakażeń bakteryjnych, grzybiczych czy wirusowych. Dzięki temu nierzadko otrzymywane są związki wielofunkcyjne [18]. W efekcie badania nad tworzeniem różnych par jonowych „kation organiczny – anion jako źródło leku” stanowią atrakcyjną tematykę badawczą dla licznych ośrodków naukowe na całym świecie. Wśród otrzymanych cieczy jonowych w literaturze znane są: ibuprofenu cholinowy [19], diklofenak cholinowy [20], cynamonian cholinowy [21], salicylan cholinowy [21], diklofenak tetrabutylamoniumowy [22], cynamonian tetrabutylamoniumowy [9] oraz salicylan tetrabutylamoniumowy [9]. Jednak w przytoczonych pracach brakuje spójnych opisów dotyczących ich syntezy, analizy spektralnej czy charakterystyki fizykochemicznej, co zaprezentowano poniżej. Z kolei w niniejszej pracy po raz pierwszy przedstawiono ibuprofenu tetrabutylamoniumowy.

Po przeprowadzeniu reakcji oddzielono wytrąconą sól nieorganiczną i wyizolowano gotowy produkt, będący czwartorzędową solą amoniową. Alternatywna metoda, polegająca na zobojętnianiu wodorotlenku tetraalkylamoniumowego za pomocą odpowiedniego kwasu, okazała się również bardzo efektywna, pozwalając na osiągnięcie wysokich wydajności. W efekcie niezależnie od metody syntezy wydajności były wysokie i w połowie przypadków przekraczały wartość 90%. W tabeli 1 zestawiono informacje dotyczące stanu skupienia w temperaturze pokojowej, wydajności syntezy, rodzaju metody syntezy oraz temperatury topnienia otrzymanych związków. Wartości temperatur topnienia wybranych substancji (diklofenak cholinowy, ibuprofenu tetrabutylamoniumowy, diklofenak tetrabutylamoniumowy, salicylan tetrabutylamoniumowy) pozwalają zakwalifikować je do grupy cieczy jonowych.

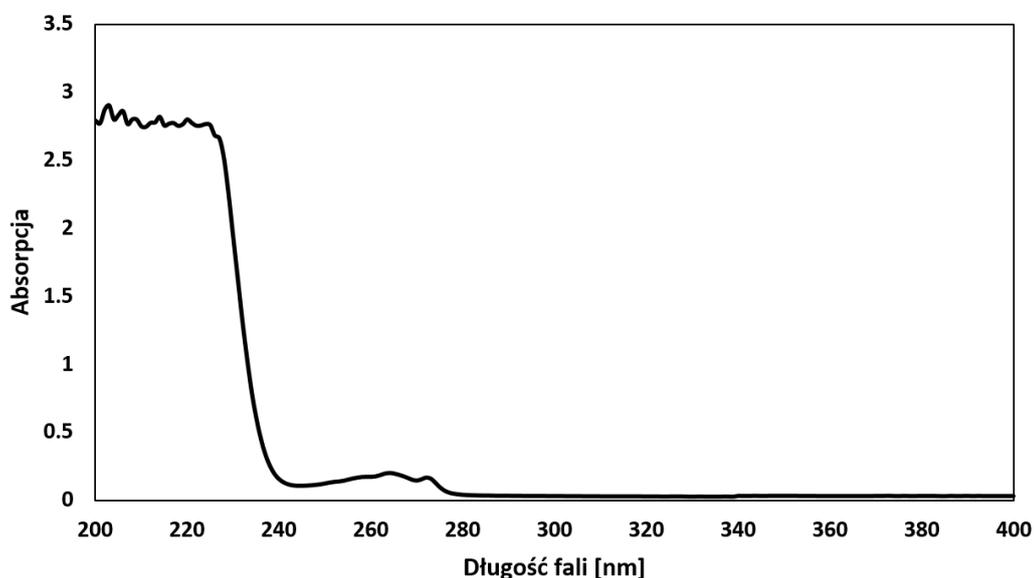
Tabela 1. Otrzymane produkty

Nazwa związku	Postać w temperaturze pokojowej	Wartość wydajności syntezy [%]	Metoda syntezy	Temperatura topnienia [°C]
Ibuprofenian choliny	maź	93,8	A	–*
Diklofenak choliny	ciało stałe	89,5	A	93,2
Cynamonian choliny	ciecz	89,8	B	–*
Salicylan choliny	ciecz	95,8	B	–*
Ibuprofenian tetrabutylamoniowy	ciało stałe	86,4	A	56,7
Diklofenak tetrabutylamoniowy	ciało stałe	95,3	A	76,3
Cynamonian tetrabutylamoniowy	ciecz	98,6	A	–*
Salicylan tetrabutylamoniowy	ciało stałe	88,0	A	87,3

* Ciecz w temperaturze pokojowej.

Analiza techniką spektroskopii UV

Dla każdej próbki związku obliczono stężenie molowe oraz molowy współczynnik absorpcji (tabela 2). Uzyskane wartości współczynników absorpcji są wysokie, co potwierdza obecność pasma K charakteryzującego przejście elektronowe $\pi \rightarrow \pi^*$. Jest to typowe dla przedstawionych pierścieni aromatycznych.



Rys. 2. Widmo UV ibuprofenianu choliny w wodzie

Dla ibuprofenianu choliny (rys. 2), diklofenaku choliny, salicylanu choliny, diklofenaku tetrabutylamoniowego oraz salicylanu tetrabutylamoniowego uzyskane maksima absorpcji są w większości przypadków zbliżone do danych literaturowych opisujących substraty, z których zostały otrzymane.

W przypadku cynamonianu choliny maksima absorpcji uzyskano przy 202 nm, 230 nm oraz 295 nm. Według danych literaturowych [23] dla kwasu cynamonowego maksima absorpcji wynoszą 205 nm i 273 nm. Uzyskane w tej pracy wyniki dla cynamonianu choliny odbiegają od danych literaturowych i wskazują na przesunięcie batochromowe, które najprawdopodobniej wynika z interakcji pomiędzy wodorotlenkiem 2-hydroksyetylo-trimetyloamoniowym oraz kwasem cynamonowym, które zostały zastosowane do syntezy i umożliwiły otrzymanie tej cieczy jonowej. Ta sama sytuacja miała miejsce dla ibuprofenu tetrabutylamoniowego, ponieważ uzyskano maksima przy 202 nm, 224 nm oraz 286 nm, natomiast dane źródłowe wskazują na występowanie maksimów absorpcji dla ibuprofenu przy wartościach około 224 nm i 286 nm [24].

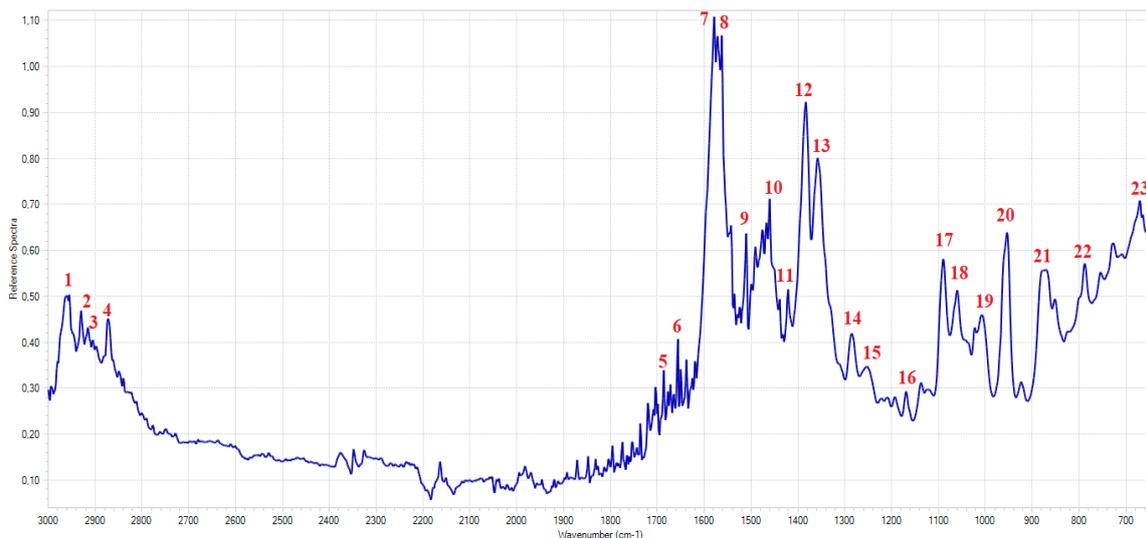
Tabela 2. Wyniki analizy związków techniką spektroskopii UV

Nazwa związku	Maksimum absorpcji	Długość fali [nm]	Stężenie [g·cm ⁻³]	Molowy współczynnik absorpcji ε [g·mol ⁻¹ ·cm ⁻¹]
Ibuprofenu choliny	0,20	263	6,4610 ⁻⁵	3 078
Diklofenak choliny	0,48	275	5,1110 ⁻⁵	9 396
Cynamonian choliny	2,39	202	3,9810 ⁻⁵	60 065
	0,53	230	3,9810 ⁻⁵	13 318
	0,29	295	3,9810 ⁻⁵	7 262
Salicylan choliny	2,71	203	8,3010 ⁻⁵	32 694
	0,64	230	8,3010 ⁻⁵	7 721
	0,33	295	8,3010 ⁻⁵	3 981
Ibuprofenu tetrabutylamoniowy	1,61	202	3,4210 ⁻⁵	47 117
	0,29	224	3,4210 ⁻⁵	8 485
	0,15	286	3,4210 ⁻⁵	4 391
Diklofenak tetrabutylamoniowy	0,34	275	3,8010 ⁻⁵	8 960
Cynamonian tetrabutylamoniowy	0,48	222	2,5710 ⁻⁵	18 701
Salicylan tetrabutylamoniowy	0,41	231	5,2710 ⁻⁵	7 781
	0,22	296	5,2710 ⁻⁵	4 485

Z kolei dla cynamonianu tetrabutylamoniowego maksimum absorpcji wystąpiło przy długości fali równej 222 nm, a według danych literaturowych maksimum kwasu cynamonowego występuje przy 205 nm i 273 nm [23], co oznacza, że dla tego związku nastąpiło przesunięcie hipsochromowe. Przesunięcie to również można przypisać interakcjom występującym między chlorkiem tetrabutylamoniowym oraz cynamonianem sodu zastosowanymi do syntezy. Interakcje te były konieczne do powstania tej cieczy jonowej, która ma inną strukturę chemiczną niż czysty kwas cynamonowy, dlatego też otrzymany związek wykazuje inne maksimum absorpcji niż sam kwas cynamonowy.

Analiza techniką spektroskopii FT-IR

Analizy spektroskopii FT-IR pozwoliły na potwierdzenie struktur zsyntezowanych produktów. Dla poszczególnych związków w tabelach 3–10 zestawiono zidentyfikowane charakterystyczne sygnały absorpcyjne pochodzące od występujących w nich grup funkcyjnych. Na rys. 3 oraz 4 przedstawiono także widma FT-IR wybranych soli z anionem diklofenaku oraz ibuprofenu. Symbolem γ oznaczono drgania rozciągające, a δ – drgania zginające.

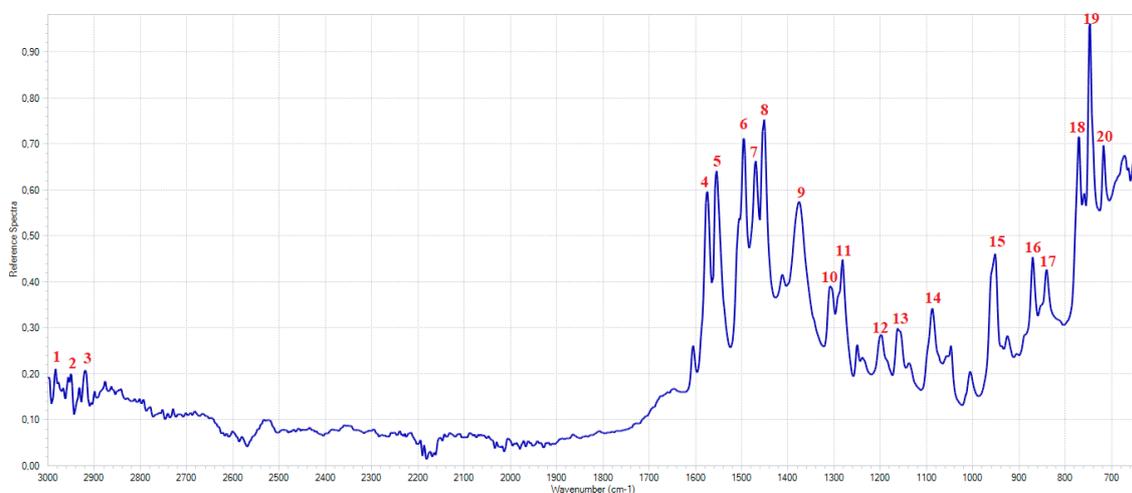


Rys. 3. Widmo FT-IR ibuprofenu cholinu

Tabela 3. Zestawienie charakterystycznych maksimów absorpcji dla ibuprofenu cholinu

Numer	Liczba falowa [cm ⁻¹]	Drgania*	Numer	Liczba falowa [cm ⁻¹]	Drgania*
1	2961	$\gamma\text{C-H}_{\text{alif}}$	9	1253	$\gamma\text{C-O-C}_{\text{asym}}$
2	1686	$\gamma\text{C=O}_{\text{arom}}$	10	1169	$\gamma\text{C-O}_{\text{est}}$
3	1656	$\gamma\text{C=O}_{\text{amid}}$	11	1089	$\delta\text{O-H}_{\text{alk}}$
4	1579	$\gamma\text{C=C}_{\text{arom}}$	12	1061	$\gamma\text{C-N}_{\text{alif}}$
5	1510	$\gamma\text{C=C}_{\text{arom}}$	13	1009	$\gamma\text{C-O-C}_{\text{sym}}$
6	1460	$\delta\text{C-H}_{\text{alif}}$	14	954	$\gamma\text{C-N}_{\text{alif}}$
7	1421	$\gamma\text{C-N}_{\text{alif}}$	15	786	$\gamma\text{C-H}_{\text{arom}}$
8	1389	$\delta\text{C-H}_{\text{alif}}$	16	670	$\gamma\text{C-H}_{\text{arom}}$

*arom – aromatyczne, asym – asymetryczne, est – estrowe, alk – alkiłowe, sym – symetryczne, alif – alifatyczne.



Rys. 4. Widmo FT-IR diklofenaku cholinu

Tabela 4. Zestawienie charakterystycznych maksimów absorpcji dla diklofenaku choliny

Numer	Liczba falowa [cm ⁻¹]	Drgania*	Numer	Liczba falowa [cm ⁻¹]	Drgania*
1	2984	δC-H _{alif}	10	1282	γC-N _{arom}
2	2951	δC-H _{alif}	11	1199	γC-O _{est}
3	2919	δC-H _{alif}	12	1163	γC-O _{est}
4	1574	γC=C _{arom}	13	1087	δO-H _{alk}
5	1554	γC=C _{arom}	14	952	γC-N _{alif}
6	1495	γC-H _{alif}	15	871	γC-H _{arom}
7	1451	δC-H _{alif}	16	770	γC-H _{arom}
8	1376	δO-C-O _{asym}	17	746	γC-H _{arom}
9	1307	γC-N _{arom}	18	718	γC-H _{arom}

*arom – aromatyczne, asym – asymetryczne, est – estrowe, alk – alkilowe, sym – symetryczne, alif – alifatyczne.

Tabela 5. Zestawienie charakterystycznych maksimów absorpcji dla cynamonianu choliny

Numer	Liczba falowa [cm ⁻¹]	Drgania*	Numer	Liczba falowa [cm ⁻¹]	Drgania*
1	2959	δC-H _{alif}	12	1142	γC-O _{est}
2	2918	δC-H _{alif}	13	1086	δO-H _{alk}
3	2878	δC-H _{alif}	14	1058	δO-H _{alk}
4	1630	γC=C _{arom}	15	1029	γC-N _{alif}
5	1579	γC=C _{arom}	16	1005	γC-O-C _{sym}
6	1486	γC-H _{alif}	17	954	γC-N _{alif}
7	1460	γC-H _{alif}	18	921	δO-H _{alk}
8	1420	δO-C-O _{asym}	19	859	γC-H _{arom}
9	1382	γC-N _{arom}	20	810	γC-H _{arom}
10	1327	γC-N _{arom}	21	762	γC-H _{arom}
11	1254	γC-O-C _{asym}	22	706	γC-H _{arom}

*arom – aromatyczne, asym – asymetryczne, est – estrowe, alk – alkilowe, sym – symetryczne, alif – alifatyczne.

Tabela 6. Zestawienie charakterystycznych maksimów absorpcji dla salicylanu choliny

Numer	Liczba falowa [cm ⁻¹]	Drgania*	Numer	Liczba falowa [cm ⁻¹]	Drgania*
1	2978	δC-H _{alif}	11	1138	γC-O _{est}
2	1746	γC=C _{arom}	12	1029	γC-N _{alif}
3	1627	γC=O _{arom}	13	1006	γC-O-C _{sym}
4	1579	γC=C _{arom}	14	952	γC-N _{alif}
5	1486	γC-H _{alif}	15	923	δO-H _{alk}
6	1455	γC-H _{alif}	16	857	γC-H _{arom}
7	1384	δO-C-O _{asym}	17	808	γC-H _{arom}
8	1328	γC-N _{arom}	18	764	γC-H _{arom}
9	1294	γC-N _{arom}	19	706	γC-H _{arom}
10	1255	γC-O-C _{asym}	20	665	γC-H _{arom}

*arom – aromatyczne, asym – asymetryczne, est – estrowe, alk – alkilowe, sym – symetryczne, alif – alifatyczne.

Tabela 7. Zestawienie charakterystycznych maksimów absorpcji dla ibuprofenu tetrabutylamoniowego

Numer	Liczba falowa [cm ⁻¹]	Drgania*	Numer	Liczba falowa [cm ⁻¹]	Drgania*
1	2966	$\gamma\text{C-H}_{\text{alif}}$	11	1323	$\gamma\text{C-N}_{\text{arom}}$
2	2874	$\gamma\text{C-H}_{\text{alif}}$	12	1298	$\gamma\text{C-N}_{\text{arom}}$
3	1639	$\gamma\text{C=C}_{\text{arom}}$	13	1259	$\gamma\text{C-O-C}_{\text{asym}}$
4	1591	$\gamma\text{C=C}_{\text{arom}}$	14	1084	$\delta\text{O-H}_{\text{alk}}$
5	1563	$\delta\text{O-C-O}_{\text{sym}}$	15	1013	$\gamma\text{C-O-C}_{\text{sym}}$
6	1543	$\gamma\text{C-H}_{\text{alif}}$	16	860	$\gamma\text{C-H}_{\text{arom}}$
7	1509	$\gamma\text{C-H}_{\text{alif}}$	17	791	$\gamma\text{C-H}_{\text{arom}}$
8	1490	$\gamma\text{C-H}_{\text{alif}}$	18	704	$\gamma\text{C-H}_{\text{arom}}$
9	1480	$\gamma\text{C=C}_{\text{arom}}$	19	668	$\gamma\text{C-H}_{\text{arom}}$
10	1380	$\delta\text{O-C-O}_{\text{asym}}$			

*arom – aromatyczne, asym – asymetryczne, est – estrowe, alk – alkilowe, sym – symetryczne, alif – alifatyczne.

Tabela 8. Zestawienie charakterystycznych maksimów absorpcji dla diklofenaku tetrabutylamoniowego

Numer	Liczba falowa [cm ⁻¹]	Drgania*	Numer	Liczba falowa [cm ⁻¹]	Drgania*
1	2967	$\gamma\text{C-H}_{\text{alif}}$	10	1453	$\gamma\text{C-H}_{\text{alif}}$
2	2878	$\gamma\text{C-H}_{\text{alif}}$	11	1372	$\delta\text{O-C-O}_{\text{asym}}$
3	1691	$\gamma\text{C=O}_{\text{arom}}$	12	1315	$\gamma\text{C-N}_{\text{arom}}$
4	1646	$\gamma\text{C=O}_{\text{arom}}$	13	1283	$\gamma\text{C-O-C}_{\text{asym}}$
5	1606	$\gamma\text{C=C}_{\text{arom}}$	14	1190	$\gamma\text{C-O}_{\text{est}}$
6	1582	$\gamma\text{C=C}_{\text{arom}}$	15	865	$\gamma\text{C-H}_{\text{arom}}$
7	1557	$\gamma\text{C=C}_{\text{arom}}$	16	782	$\gamma\text{C-H}_{\text{arom}}$
8	1511	$\gamma\text{C=C}_{\text{arom}}$	17	747	$\gamma\text{C-H}_{\text{arom}}$
9	1488	$\gamma\text{C-H}_{\text{alif}}$	18	720	$\gamma\text{C-H}_{\text{arom}}$

*arom – aromatyczne, asym – asymetryczne, est – estrowe, alk – alkilowe, sym – symetryczne, alif – alifatyczne.

Tabela 9. Zestawienie charakterystycznych maksimów absorpcji dla cynamoniu tetrabutylamoniowego

Numer	Liczba falowa [cm ⁻¹]	Drgania*	Numer	Liczba falowa [cm ⁻¹]	Drgania*
1	2964	$\gamma\text{C-H}_{\text{alif}}$	12	1283	$\gamma\text{C-N}_{\text{arom}}$
2	2931	$\gamma\text{C-H}_{\text{alif}}$	13	1253	$\gamma\text{C-O-C}_{\text{asym}}$
3	2874	$\gamma\text{C-H}_{\text{alif}}$	14	1221	$\gamma\text{C-O-C}_{\text{alif}}$
4	1703	$\gamma\text{C=O}_{\text{arom}}$	15	1193	$\gamma\text{C-O}_{\text{est}}$
5	1584	$\gamma\text{C=C}_{\text{arom}}$	16	1170	$\gamma\text{C-O}_{\text{est}}$
6	1511	$\gamma\text{C=C}_{\text{arom}}$	17	1043	$\delta\text{O-H}_{\text{alk}}$
7	1489	$\gamma\text{C-H}_{\text{alif}}$	18	953	$\gamma\text{C-N}_{\text{alif}}$
8	1459	$\delta\text{C-H}_{\text{alif}}$	19	880	$\gamma\text{C-H}_{\text{arom}}$
9	1420	$\gamma\text{C-N}_{\text{alif}}$	20	851	$\gamma\text{C-H}_{\text{arom}}$
10	1379	$\delta\text{O-C-O}_{\text{asym}}$	21	796	$\gamma\text{C-H}_{\text{arom}}$
11	1353	$\gamma\text{C-N}_{\text{arom}}$	22	740	$\gamma\text{C-H}_{\text{arom}}$

*arom – aromatyczne, asym – asymetryczne, est – estrowe, alk – alkilowe, sym – symetryczne, alif – alifatyczne.

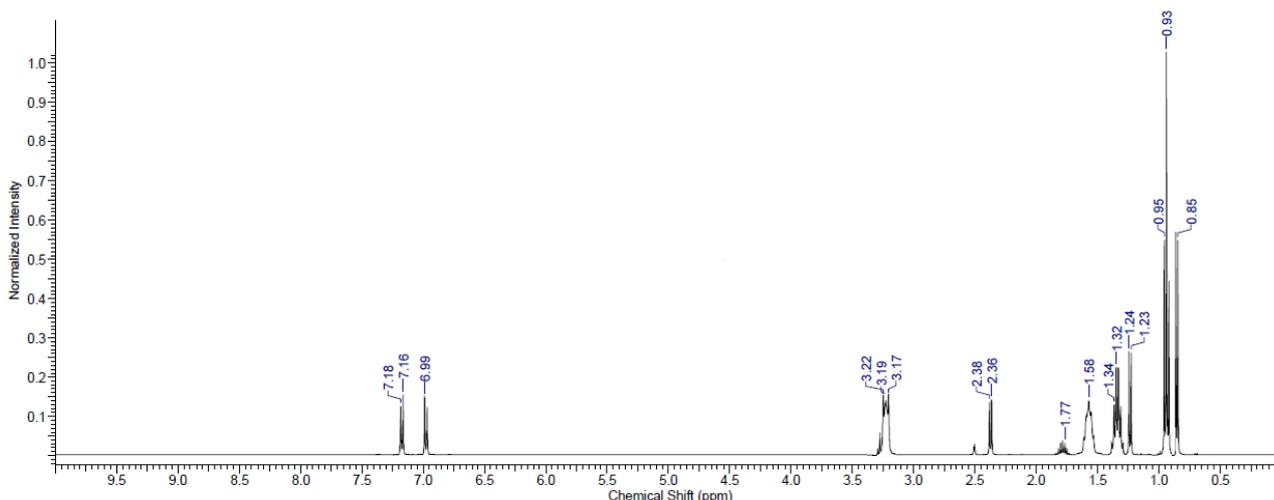
Tabela 10. Zestawienie charakterystycznych maksimów absorpcji dla salicylanu tetrabutylamoniowego

Numer	Liczba falowa [cm ⁻¹]	Drgania*	Numer	Liczba falowa [cm ⁻¹]	Drgania*
1	2945	γC-H _{alif}	13	1284	γC-O-C _{asym}
2	2875	γC-H _{alif}	14	1154	γC-O _{est}
3	1654	γC=O _{arom}	15	1137	γC-O _{est}
4	1638	γC=O _{arom}	16	1109	γC-O _{est}
5	1579	γC=O _{arom}	17	1026	γC-O-C _{sym}
6	1561	γC=C _{arom}	18	882	γC-N _{alif}
7	1544	γC=C _{arom}	19	858	γC-H _{arom}
8	1510	γC=C _{arom}	20	808	γC-H _{arom}
9	1490	γC-H _{alif}	21	755	δC-N _{alif}
10	1459	δC-H _{alif}	22	740	γC-H _{arom}
11	1388	δO-C-O _{asym}	23	704	γC-H _{arom}
12	1340	γC-N _{arom}	24	669	γC-H _{arom}

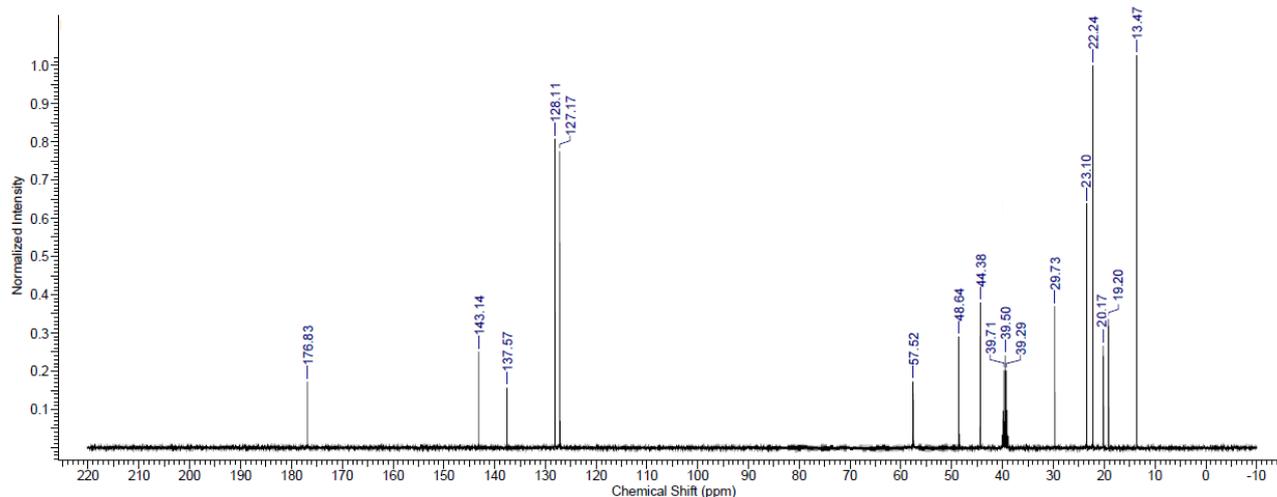
*arom – aromatyczne, asym – asymetryczne, est – estrowe, alk – alkiłowe, sym – symetryczne, alif – alifatyczne.

Analiza techniką magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR)

Struktura nowo otrzymanej cieczy jonowej – ibuprofenu tetrabutylamoniowego została potwierdzona za pomocą protonowego i węglowego rezonansu jądrowego. Wyniki zestawiono na rys. 5 i 6, a także w tabeli 11.



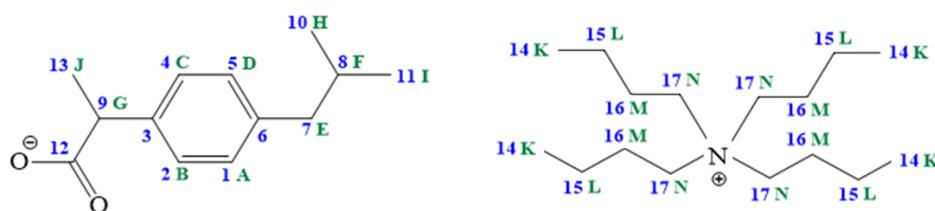
Rys. 5. Widmo ¹H NMR ibuprofenu tetrabutylamoniowego



Rys. 6. Widmo ^{13}C NMR ibuprofenu tetrabutylamoniowego

Tabela 11. Zestawienie przesunięć chemicznych dla ibuprofenu tetrabutylamoniowego

Węgiel	Przesunięcie chemiczne [ppm]	Proton	Przesunięcie chemiczne [ppm]	Integracja	Krotność
1	128,1	A	6,98	1H	dublet
2	127,2	B	7,17	1H	dublet
3	137,6	C	7,17	1H	dublet
4	127,2	D	6,98	1H	dublet
5	128,1	E	2,37	2H	dublet
6	143,1	F	1,77	1H	multiplet
7	44,4	G	3,27	1H	multiplet
8	29,7	H	0,86	3H	dublet
9	48,6	I	0,85	3H	dublet
10	22,2	J	1,23	3H	dublet
11	22,2	K	0,93	12H	tryplet
12	176,8	L	1,32	8H	kwartet
13	20,2	M	1,58	8H	multiplet
14	13,5	N	3,19	8H	multiplet
15	19,2				
16	23,1				
17	57,5				



Rys. 7. Schemat struktury ibuprofenu tetrabutylamoniowego

Badanie rozpuszczalności

Wyniki rozpuszczalności mogą wskazywać na polarność otrzymanych związków, o czym świadczy ich zachowanie w różnych rozpuszczalnikach. Związki o większej polarności zazwyczaj rozpuszczają się lepiej w rozpuszczalnikach polarnych, takich jak woda, podczas gdy związki mniej polarne – w rozpuszczalnikach niepolarnych, takich jak np. heksan. W efekcie analiza wyników rozpuszczalności związków chemicznych w różnych rozpuszczalnikach może dostarczyć informacji o stopniu ich polarności.

Tabela 12. Tabela rozpuszczalności otrzymanych związków w temperaturze 20°C

Nazwa związku	Rozpuszczalnik									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ibuprofenian choliny	+	+	+/-	+	+	+	+	+	+/-	+/-
Diklofenak choliny	+	+	+/-	+	+	+/-	+	+	+	+
Cynamonian choliny	+	+/-	+	+	-	+	-	-	-	-
Salicylan choliny	+	+/-	+	+/-	-	+/-	-	-	-	-
Ibuprofenian tetrabutylamoniowy	+	+	+/-	-	-	-	-	-	-	-
Diklofenak tetrabutylamoniowy	+	+	+/-	+	+	-	-	+	-	-
Cynamonian tetrabutylamoniowy	+	+/-	+	+	+	+	+	+	+	-
Salicylan tetrabutylamoniowy	+	+	+	+	+	+	+/-	+	-	-

Rozpuszczalniki: woda destylowana (1), metanol (2), dimetylofulfotlenek (3), acetonitryl (4), aceton (5), izopropanol (6), octan etylu (7), chloroform (8), toluen (9), heksan (10); „+” dobra rozpuszczalność, „+/-” dobra rozpuszczalność, „-” słaba rozpuszczalność.

Przeprowadzona analiza rozpuszczalności wykazała, że uniwersalnym rozpuszczalnikiem dla wszystkich otrzymanych cieczy jonowych była woda (tabela 12). Na podstawie uzyskanych danych można także zauważyć, że rozpuszczalność była silnie zależna od wykorzystanego kationu. Gdy kationem była cholina, lepszą rozpuszczalność wykazywały ibuprofenian oraz diklofenak, a w przypadku kationu tetrabutylamoniowego lepszą rozpuszczalność zaobserwowano dla cynamonianów i salicylanów.

Żaden z otrzymanych produktów nie rozpuszcza się w smalcu. Lepszą rozpuszczalność w tłuszczach uzyskano, gdy wykorzystanym kationem był bardziej hydrofobowy kation tetrabutylamoniowy (tabela 13).

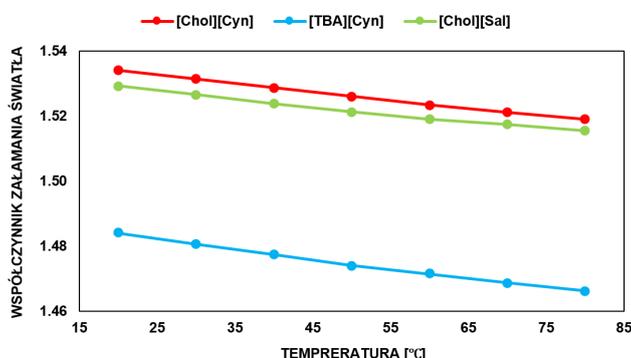
Tabela 13. Tabela rozpuszczalności otrzymanych związków w tłuszczach

Nazwa związku	Tłuszcz			
	11	12	13	14
Ibuprofenian choliny	-	+	-	-
Diklofenak choliny	-	-	-	-
Cynamonian choliny	-	-	-	-
Salicylan choliny	-	-	-	-
Ibuprofenian tetrabutylamoniowy	-	-	-	-
Diklofenak tetrabutylamoniowy	-	-	-	-
Cynamonian tetrabutylamoniowy	+/-	+/-	-	+/-
Salicylan tetrabutylamoniowy	+/-	-	-	-

Rozpuszczalniki: masło klarowane (11), olej kokosowy (12), smalec (13) i tran (14), „+” dobra rozpuszczalność, „+/-” dobra rozpuszczalność, „-” słaba rozpuszczalność.

Analiza współczynnika załamania światła

Dla każdego otrzymanego związku zaobserwowano liniową zależność spadku współczynnika refrakcji w miarę wzrostu temperatury, co jest typowym zjawiskiem dla większości cieczy jonowych (rys. 8).

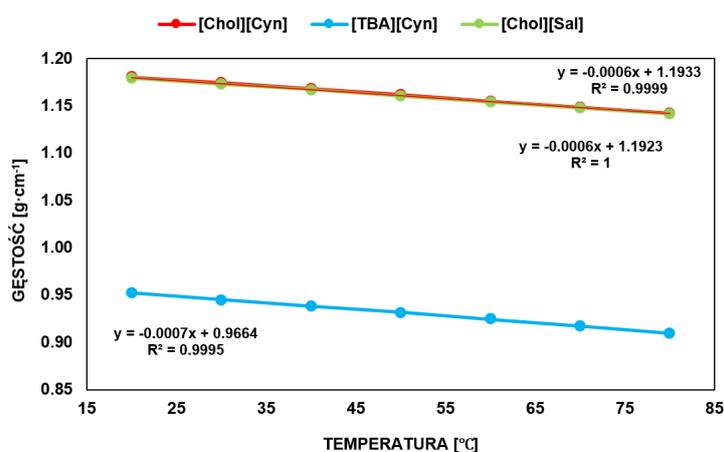


Rys. 8. Zależność współczynnika refrakcji od temperatury ([Chol][Cyn] – cynamonian choliny, [TBA][Cyn] – cynamonian tetrabutylamoniowy, [Chol][Sal] – salicylan choliny)

Ponadto zauważyć można, że struktura kationu w większym stopniu wpływa na wartość współczynnika refrakcji niż struktura anionu, ponieważ cynamonian choliny charakteryzował się największym współczynnikiem załamania światła, a cynamonian tetrabutylamoniowy – najmniejszym. Natomiast wartość współczynników dla cynamonianu i salicylanu choliny różniła się nieznacznie.

Analiza gęstości

Wartości gęstości dla cieczy, w których kationem była cholina, były bardzo zbliżone (rys. 9). W temperaturze 20°C największą gęstość uzyskano dla cynamonianu choliny, a najmniejszą dla cynamonianu tetrabutylamoniowego. W temperaturze pokojowej większą gęstością od wody charakteryzowały się ciecze z kationem choliny. Zgodnie z literaturą wzrost temperatury powodował liniowy spadek wartości gęstości dla wszystkich analizowanych związków. Jest to związane ze wzrostem objętości molowej jonów budujących ciecz jonową.



Rys. 9. Wykres zmiany gęstości w zależności od temperatury ([Chol][Cyn] – cynamonian choliny, [TBA][Cyn] – cynamonian tetrabutylamoniowy, [Chol][Sal] – salicylan choliny)

WNIOSKI

Przedstawiono syntezę ośmiu cieczy jonowych zawierających anion pochodzenia farmaceutycznego. Cztery posiadały kation choliny, a pozostałe cztery kation tetrabutylamoniowy. Wybrane metody syntezy pozwoliły na uzyskanie bardzo wysokich wydajności reakcji, w przedziale 86–99%, co wskazuje na ich potencjał do skutecznej i ekonomicznej produkcji. Dla niskotemperaturowych cieczy jonowych, czyli tych będących cieczami w temperaturze pokojowej, zbadano podstawowe właściwości fizykochemiczne, takie jak gęstość oraz współczynnik refrakcji. Analiza rozpuszczalności otrzymanych produktów wykazała ich wysokie powinowactwo do wody, metanolu oraz DMSO, co sugeruje, że związki te mogą być potencjalnie użyteczne w wielu procesach farmaceutycznych. Zaobserwowano także niską rozpuszczalność związków w tłuszczach, co wskazuje na ich lipofobowy charakter. Cecha ta może ograniczać ich zastosowanie w niektórych formach farmaceutycznych, np. emulsjach czy kremach. Uzyskane wartości współczynnika załamania światła mieściły się w zakresie 1,465–1,535 i zależały od struktury chemicznej kationu. Wraz ze wzrostem temperatury można zauważyć liniową zależność spadku gęstości oraz wartości współczynnika refrakcji zarówno dla związków z kationem choliny, jak i tetrabutylamoniowym. Analiza widm UV i FT-IR wykonanych dla wszystkich związków pozwoliła na potwierdzenie ich struktur. Widma ^1H NMR oraz ^{13}C NMR zostały wykonane dla ibuprofenu tetrabutylamoniowego, a ich analiza również potwierdziła obecność zarówno kationu, jak i anionu w otrzymanym związku.

Wykazano obiecujące właściwości fizykochemiczne otrzymanych farmaceutycznych cieczy jonowych. Uzyskane wyniki sugerują potencjał do zastosowań tych związków w projektowaniu i produkcji nowych leków. Wymaga to jednak przeprowadzenia szerszych badań nad ich właściwościami biologicznymi, potencjalnymi praktycznymi zastosowaniami czy toksycznością, która jest istotna z punktu widzenia ich zastosowania. Z tego względu należy rozważyć niepożądaną toksyczność wobec człowieka oraz selektywną toksyczność, która może być korzystna z punktu widzenia wymaganej terapii (selektywnego zniszczenia komórek nowotworowych jako potencjalna terapia przeciwnowotworowa).

Badania zostały sfinansowane ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (0912/SBAD/2408).

LITERATURA

- [1] Pernak J., Rzemieniecki T., Materna K. O cieczach jonowych „w pigułce” (historia, właściwości i rozwój). *Chemik* 2016, 70(9), 471–480.
- [2] Werner S., Haumann M., Wasserscheid P. Ionic liquids in chemical engineering. *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.* 2010, 1, 203–220.
- [3] Skrzypczak A., Chwałka P., Sobaszek-Nawrocka K., Syguda A., Stasiewicz M. *Technologia chemiczna organiczna*. Wydawnictwo Politechniki Poznańskiej, 2013.
- [4] Brennan L.J., Barwich S.T., Satti A., Faure A., Gun'ko Y. K. Graphene-ionic liquid electrolytes for dye sensitized solar cells. *J. Mater. Chem. A* 2013, 1, 8379–8384.
- [5] Pernak J., Praczyk T. Herbicidal ionic liquids. *Przem. Chem.* 2013, 92, 1660.

- [6] Proszowska A., Siódmiak T., Marszał M.P. Ionic liquids – new possibilities in synthesis of pharmaceutical compounds. *Ann. Acad. Med. Siles.* 2012, 66, 59–65.
- [7] Shamshina J.L., Rogers R.D. Ionic liquids: new forms of active pharmaceutical ingredients with unique, tunable properties. *Chem. Rev.* 2023, 123, 20, 11894–11953.
- [8] Moshikur R.M., Carrier R.L., Moniruzzaman M., Goto M. Recent advances in biocompatible ionic liquids in drug formulation and delivery. *Pharmaceutics* 2023, 15(4), 1179.
- [9] Saadeh S.M., Yasseen Z., Sharif F.A., Shawish H.M. New room temperature ionic liquids with interesting ecotoxicological and antimicrobial properties. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2009, 72(6), 1805–1809.
- [10] Zeisel S.H. Choline: critical role during fetal development and dietary requirements in adults. *Ann. Rev. Nutr.* 2006, 26, 229–250.
- [11] Zeisel S.H., Costa K.A. Choline: as essential nutrient for public health. *Nutr. Rev.* 2009, 67(11), 615–623.
- [12] Wegrzynowicz-Lesiak E., Kawa-Miszczak L., Gabryszewska E., Goraj J., Saniewski M. Wpływ inhibitorów biosyntezy jasmonianów na zawartość chlorofilu i antocyjanów w pędach *Clematis* rosnących in vitro. *Zesz. Probl. Postęp. Nauk Rol.* 2010, 545.
- [13] Marsik P., Sisa M., Lacina O., Motkova K., Langhansova L., Rezek J., Vanek T. Metabolism of ibuprofen in higher plants: A model *Arabidopsis thaliana* cell suspension culture system. *Environ. Pollut.* 2017, 220, 383–392.
- [14] Budavari S. *The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals.* Merck, 1996.
- [15] Van Huijsduijnen R.A., Alblas S.W., De Rijk R.H., Bol J.F. Induction by salicylic acid of pathogenesis-related proteins and resistance to alfalfa mosaic virus infection in various plant species. *J. Gen. Virol.* 1986, 67, 2135–2143.
- [16] Arif T. Salicylic acid as a peeling agent: a comprehensive review. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* 2015, 8, 455–461.
- [17] Vogel A.I. *Preparatyka organiczna.* Wydawnictwo Nauk Technicznych, 2006.
- [18] Moshikur R.M., Chowdhury M.R., Wahabayashi R., Tahara Y., Kamiya N., Moniruzzaman M., Goto M. Ionic liquids with N-methyl-2-pyrrolidonium cation as an enhancer for topical drug delivery: synthesis, characterization, and skin-penetration evaluation. *J. Mol. Liq.* 2020, 299, 112166.
- [19] Shamshina J.L., Rogers R.D. Ionic liquids: new forms of active pharmaceutical ingredients with unique, tunable properties. *Chem. Rev.* 2023, 123, 20, 11894–11953.
- [20] Braga P.C., Lattuada N., Greco V., Sibilina V., Falchi M., Bianchi T., Dal Sasso M. Diclofenac-choline antioxidant activity investigated by means of luminol amplified chemiluminescence of human neutrophil bursts and electron paramagnetic resonance spectroscopy. *Drug Res.* 2015, 65(5), 244–251.
- [21] Mehta M.J., Kumar A. Ionic liquids Assisted Gelatin Films: Green, UV Shielding, Antioxidant, and Antibacterial Food Packaging Materials. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2019, 7, 9, 8631-8636.
- [22] Moshikur R.M., Chowdhury M.R., Moniruzzaman M., Goto M. Biocompatible ionic liquids and their application in pharmaceutics. *Green Chem.* 2020, 22, 8116–8139.
- [23] Cinnamic Acid, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cinnamic-Acid#section=UV-Spectra> (dostęp: 25.03.2024).
- [24] Nyola N., Govinda S., Kumawat M., Kalra N., Singh G. Simultaneous estimation of famotidine and ibuprofen in pure and pharmaceutical dosage form by UV-Vis spectroscopy *IRJP.* 2021, 3, 277–280.

Właściwości przeciwutleniające i fotoprotekcyjne alkoholowych ekstraktów z pączków *Pinus sylvestris* L.

Daria OSHETKOVA¹, Adam KLIMOWICZ²

¹ Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Nauk o Zdrowiu, Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Chemii Kosmetycznej i Farmaceutycznej

² Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Nauk o Zdrowiu, Katedra i Zakład Chemii Kosmetycznej i Farmaceutycznej

WSTĘP

W lasach występuje wiele roślin leczniczych, stosowanych od wieków w ziołolecznictwie, medycynie ludowej, jak również w medycynie współczesnej. Wykorzystywane surowce roślinne obejmują nie tylko rosnące wokół zioła, ale również drzewa. Często stosowanymi surowcami leczniczymi pozyskiwanymi z drzew są m.in. liście brzozy, kora wierzby, kora dębu, kwiatostany lipy, pączki i młode pędy sosny [1].

Sosna zwyczajna (łac. *Pinus sylvestris*) to gatunek wiecznie zielonego drzewa z rodziny sosnowatych, które naturalnie występują na niemal całym obszarze Polski, z wyjątkiem południowo-wschodniej części województwa podkarpackiego. Gatunek sosny zwyczajnej należy również do najbardziej rozpowszechnionych w innych częściach, świata np. na terenach Europy Północnej, Europy Środkowej oraz Syberii Wschodniej. Należy ponadto podkreślić, że drewno sosnowe jest bardzo cennym surowcem z uwagi na doskonałe właściwości techniczne oraz lecznicze. Stwierdzono, że bory sosnowe działają uspokajająco, obniżają ciśnienie i wspomagają układ oddechowy [2]. Liczne badania dowodzą, że sosna zwyczajna bogata jest w substancje biologicznie czynne, które mają właściwości lecznicze i stymulujące, a także silne działanie przeciwutleniające.

Sosna zawiera znaczną ilość związków fenolowych, flawonoidów, a także proantocyjanidyny [3, 4]. Ze względu na wchodzące w skład związki jest obiecującym źródłem składników biologicznie aktywnych, możliwych do stosowania w składzie produktów kosmetycznych.

Obecnie poszukiwane są surowce pochodzenia naturalnego, które mogłyby znaleźć zastosowanie w kosmetologii jako środki o działaniu antyoksydacyjnym, czyli opóźniające procesy starzenia się organizmu. Równie istotne wydaje się znalezienie surowca, który ponadto wykazywałby właściwości fotoprotekcyjne, wspomagające działanie antyoksydacyjne [5]. Jednym z takich surowców może być sosna zwyczajna (*Pinus sylvestris* L.), a zwłaszcza jej pączki. Dlatego też postanowiono zbadać właściwości przeciwutleniające i fotoprotekcyjne ekstraktów z pączków sosny sporządzonych w niskocząsteczkowych alkoholach.

CEL BADAŃ

Duże znaczenie dla konsumentów mają kosmetyki oparte na surowcach naturalnych, najczęściej pozyskiwanych z roślin. Szczególnie istotna wydaje się aktywność antyoksydacyjna otrzymanych

preparatów, gdyż parametr ten może być istotny przy opóźnianiu procesu starzenia się organizmu. Innym niekorzystnym czynnikiem wpływającym na zdrowie człowieka jest szkodliwe działanie promieniowania UV. Zatem oba te parametry należałoby rozważyć przy projektowaniu kosmetyków przeciwstarzeniowych. Celem badań była ocena aktywności antyoksydacyjnej i fotoprotekcyjnej *in vitro* ekstraktów alkoholowych z pączków sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris*), drzewa powszechnie występującego na terenie Polski.

METODYKA BADAŃ

DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl) oraz ABTS (sól amonowa kwasu 2,2-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowego) pochodziły z firmy Sigma-Aldrich (USA). Metanol, etanol, n-propanol i izopropanol były produkcji Chempur (Piekary Śląskie).

Do badania wykorzystano dostępne na rynku pączki sosny zwyczajnej produkcji Farm-Vit z Piotrkowa Trybunalskiego. W celu sporządzenia ekstraktów zmielony surowiec w ilości 0,5 g umieszczono w probówkach, do których dodano następnie po 10 mL rozpuszczalnika. Jako rozpuszczalniki wykorzystano wodę oraz cztery niskocząsteczkowe alkohole: metanol, etanol, n-propanol, izopropanol w stężeniach 40% (v/v) i 70% (v/v) oraz nierozcieńczone. Tak przygotowane surowce poddano ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami w czasie 15, 30 lub 60 min. Technika ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami zaliczana jest do tzw. zielonych technik ekstrakcji. Po zakończeniu procesu ekstrakty zostały oddzielone od surowca roślinnego za pomocą filtracji z wykorzystaniem sączka filtracyjnego. Ekstrakty alkoholowe przechowywano w szczelnie zamkniętych probówkach plastikowych w temperaturze pokojowej w zaciemnionym miejscu do czasu przeprowadzenia badania aktywności antyoksydacyjnej za pomocą często stosowanych metod spektrofotometrycznych DPPH i ABTS [6, 7], natomiast ekstrakty wodne przebadano bezpośrednio po zakończeniu procesu ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami.

W celu oznaczenia aktywności przeciwutleniającej za pomocą DPPH przygotowano roztwór DPPH w etanolu o stężeniu 96% w następujący sposób: odważono 0,012 g rodnika DPPH i przesypano do butelki z ciemnego szkła. Następnie dodano 100 mL etanolu o stężeniu 96% (v/v). Przygotowany roztwór poddano mieszaniu na mieszadle magnetycznym przez 60 min w celu całkowitego rozpuszczenia rodnika DPPH. Z otrzymanego roztworu DPPH sporządzono roboczy roztwór DPPH poprzez rozcieńczenie 70-procentowym (v/v) etanolem tak, aby absorbancja roztworu po rozcieńczeniu przy długości fali 517 nm mieściła się w zakresie 0,980–1,020. W celu wykonania oznaczeń w 1-centymetrowych kuwetach zmieszano 2500 μ L roboczego roztworu DPPH oraz 132 μ L badanego ekstraktu. Pomiaru dokonano po 10 min inkubacji w temperaturze pokojowej za pomocą spektrofotometru U5100 firmy Hitachi przy długości fali 517 nm. Na podstawie otrzymanych absorbancji wyliczono aktywność antyoksydacyjną jako %RSA (ang. *radical scavenging activity*), korzystając ze wzoru:

$$\%RSA = 1 - \left(\frac{Ap}{Ao} \right) \times 100\%$$

gdzie: Ap – absorbancja próbki badanej, Ao – absorbancja próbki kontrolnej.

Drugą metodą spektrofotometryczną zastosowaną do zbadania właściwości antyoksydacyjnych była ABTS. W celu przygotowania roztworu ABTS odważono 0,132 g nadsiarczanu potasu ($K_2S_2O_8$), następnie wsypano do szklanej zlewki i rozpuszczono w 200 mL wody destylowanej, uzyskując wodny roztwór nadsiarczanu potasu o stężeniu 2,45 mM. W butelce wykonanej z ciemnego szkła zmieszano 0,114 g ABTS (2,2'-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian) i 30 mL roztworu $K_2S_2O_8$ o stężeniu 2,45 mM. Przygotowany roztwór umieszczono na 24 h w miejscu bez dostępu światła w temperaturze pokojowej. Po dobowej inkubacji stężonego roztworu ABTS przygotowano roboczy roztwór ABTS za pomocą rozcieńczenia metanolem o stężeniu 50% (v/v). Absorbancja roztworu po rozcieńczeniu przy długości fali 734 nm mieściła się w zakresie 0,980–1,020. W celu oznaczenia aktywności antyoksydacyjnej w 1-centymetrowej kuwecie wymieszano 2500 μ L roboczego roztworu ABTS oraz 20 μ L badanego ekstraktu. Pomiar dokonano po 6-minutowej inkubacji w temperaturze pokojowej za pomocą spektrofotometru U5100 firmy Hitachi przy długości fali 734 nm. Aktywność antyoksydacyjną wyrażono, podobnie jak w metodzie DPPH, jako %RSA, korzystając z podanego wcześniej wzoru [6].

Współczynnik ochrony przeciwśłonecznej (ang. *sun protection factor*, SPF) wyznaczono *in vitro* zmodyfikowaną metodą opisaną przez Madanowską i in. [8]. Metoda polega na wyznaczeniu absorbancji badanego roztworu w 1-centymetrowych kuwetach kwarcowych w zakresie 290–320 nm i dokonaniu odpowiednich obliczeń z wykorzystaniem wzorów zamieszczonych w pracy [8]. Z uwagi na wysokie wartości absorbancji w podanym zakresie pomiarów do obliczeń wartości SPF sporządzone roztwory rozcieńczono 10-krotnie stosowanym rozpuszczalnikiem.

Aktywności antyoksydacyjne badanych ekstraktów wyrażono jako średnie arytmetyczne \pm odchylenie standardowe (SD). Wyznaczono również współczynniki korelacji pomiędzy wartościami współczynników ochrony przeciwśłonecznej (SPF) i wartościami aktywności antyoksydacyjnej oznaczonej każdą z opisanych metod (DPPH i ABTS). Wszystkich obliczeń dokonano za pomocą programu Excel z pakietu Microsoft Office.

WYNIKI BADAŃ

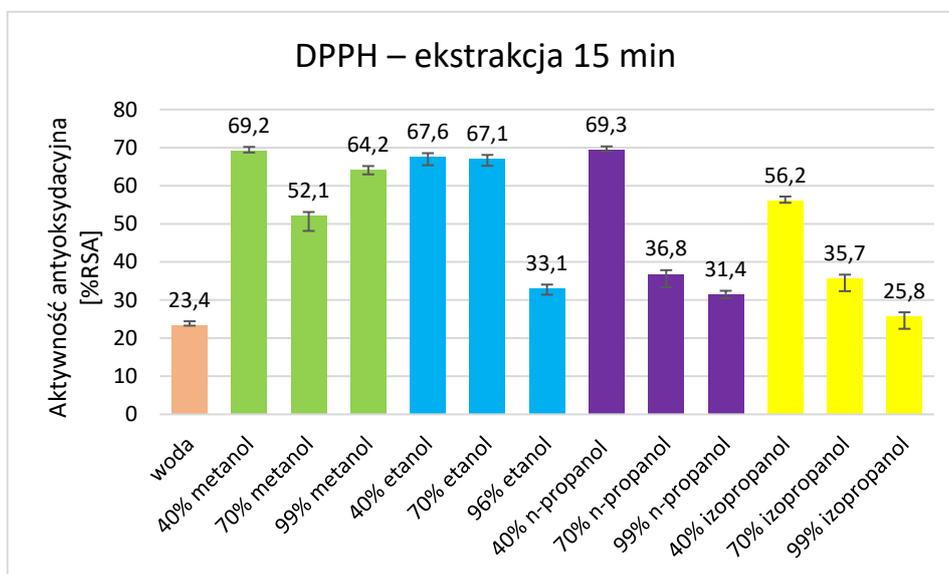
Aktywność antyoksydacyjna oznaczona metodą DPPH

Na rys. 1–3 przedstawiono średnie wartości aktywności antyoksydacyjnej wyrażonej jako %RSA, uzyskane z ekstraktów sporządzonych w poszczególnych rozpuszczalnikach. Rys. 1 dotyczy ekstraktów sporządzonych metodą ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami trwającej 15 min, rys. 2 – 30 min, a rys. 3 – 60 min.

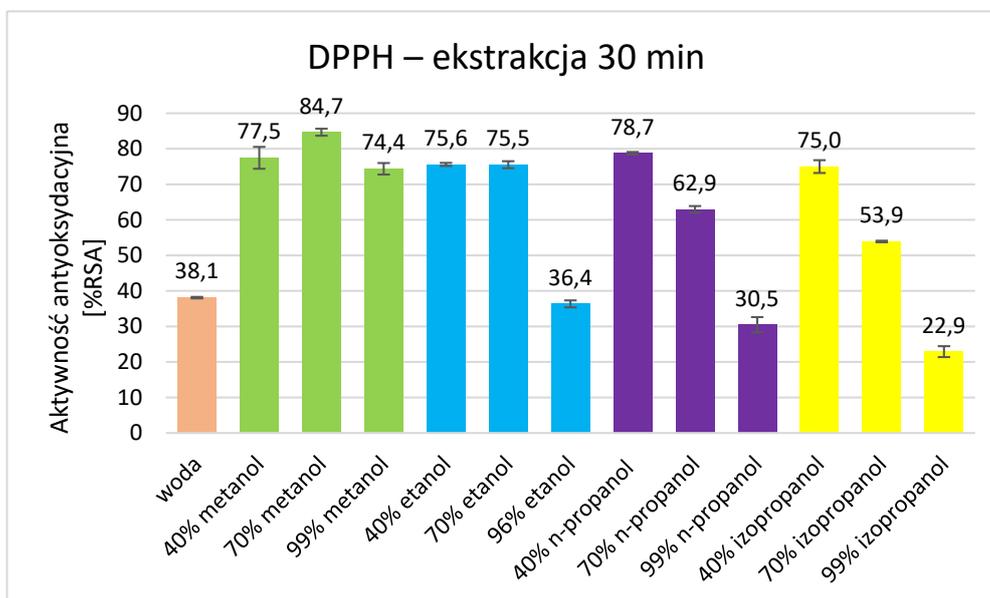
Najwyższą aktywność antyoksydacyjną oznaczoną metodą DPPH dla ekstraktów otrzymanych w wyniku 15-minutowej ekstrakcji stwierdzono dla wyciągów sporządzonych w metanolu o stężeniu 40% (v/v) oraz n-propanolu o stężeniu 40% (v/v); wynosiła ona odpowiednio $69,2 \pm 0,5$ %RSA oraz $69,3 \pm 0,2$ %RSA. Najniższą wartość zaobserwowano dla ekstraktów w wodzie i w 99-procentowym (v/v) n-propanolu – odpowiednio $23,4 \pm 0,2$ %RSA oraz $31,4 \pm 1,0$ %RSA (rys. 1).

Najwyższą aktywność przeciwutleniającą oznaczoną metodą DPPH dla ekstraktów otrzymanych w wyniku 30-minutowej ekstrakcji stwierdzono dla wyciągów sporządzonych w 70-procento-

wym (v/v) metanolu – $84,7 \pm 1,0$ %RSA, a najniższą dla ekstraktów w 99-procentowym (v/v) izopropanolu – $23,0 \pm 1,5$ %RSA (rys. 2).

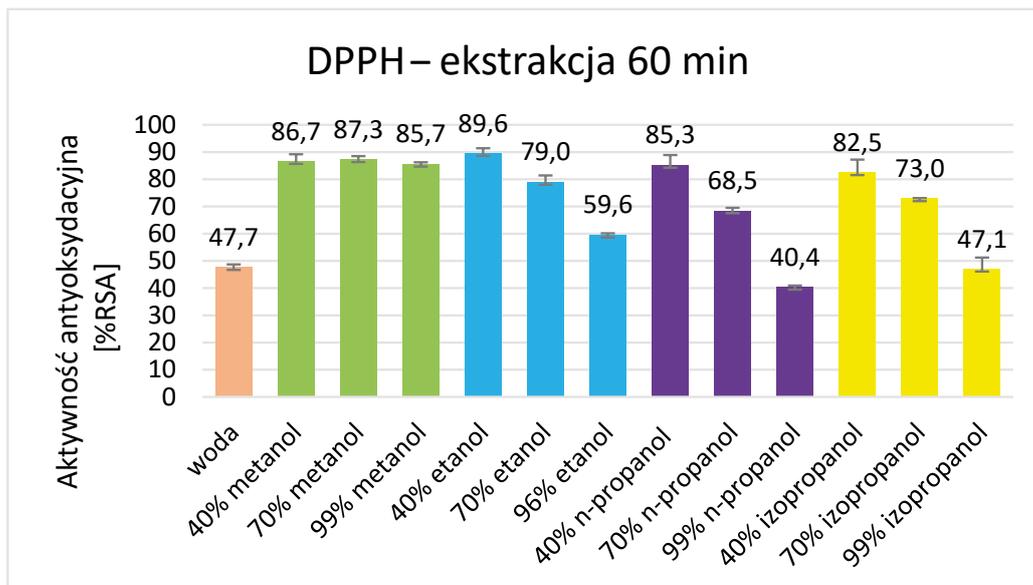


Rys. 1. Aktywność antyoksydacyjna wodnych i alkoholowych ekstraktów z pączków sosny zwyczajnej otrzymanych w wyniku 15-minutowej ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami. Pionowe linie oznaczają odchylenie standardowe (SD)



Rys. 2. Aktywność antyoksydacyjna wodnych i alkoholowych ekstraktów z pączków sosny zwyczajnej otrzymanych w wyniku 30-minutowej ekstrakcji. Pionowe linie oznaczają odchylenie standardowe (SD)

Najwyższą aktywność antyoksydacyjną oznaczoną metodą DPPH dla ekstraktów sporządzonych przez 60 min stwierdzono dla wyciągów przygotowanych w 40-procentowym (v/v) etanolu – $89,6 \pm 1,8$ %RSA, a najniższą dla ekstraktów w 99-procentowym (v/v) n-propanolu – $40,5 \pm 0,5$ %RSA (rys. 3).

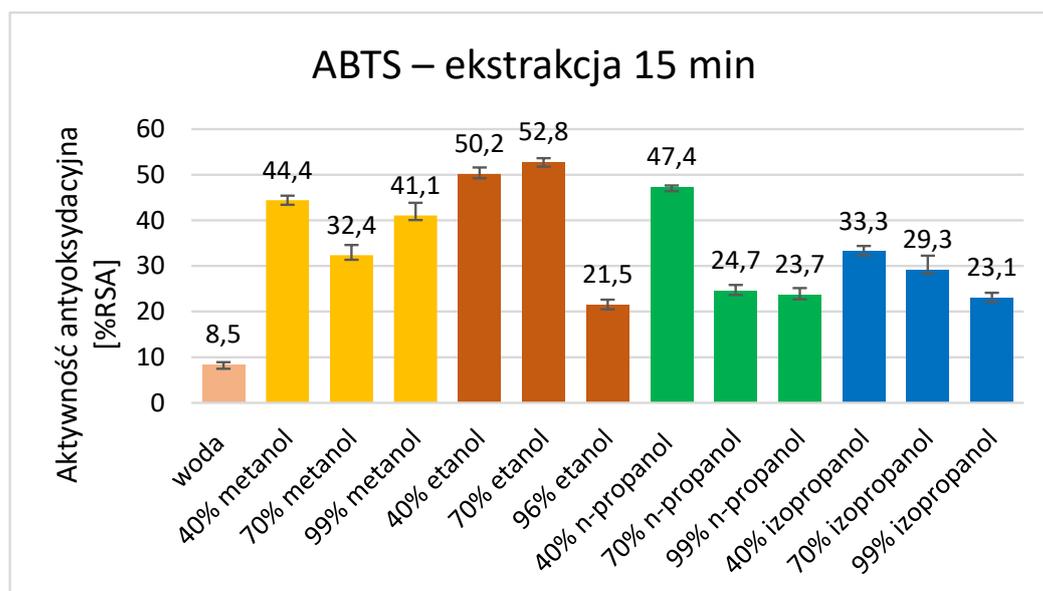


Rys. 3. Aktywność antyoksydacyjna wodnych i alkoholowych ekstraktów z pączków sosny zwyczajnej otrzymanych w wyniku 30-minutowej ekstrakcji. Pionowe linie oznaczają odchylenie standardowe (SD)

Aktywność antyoksydacyjna oznaczona metodą ABTS

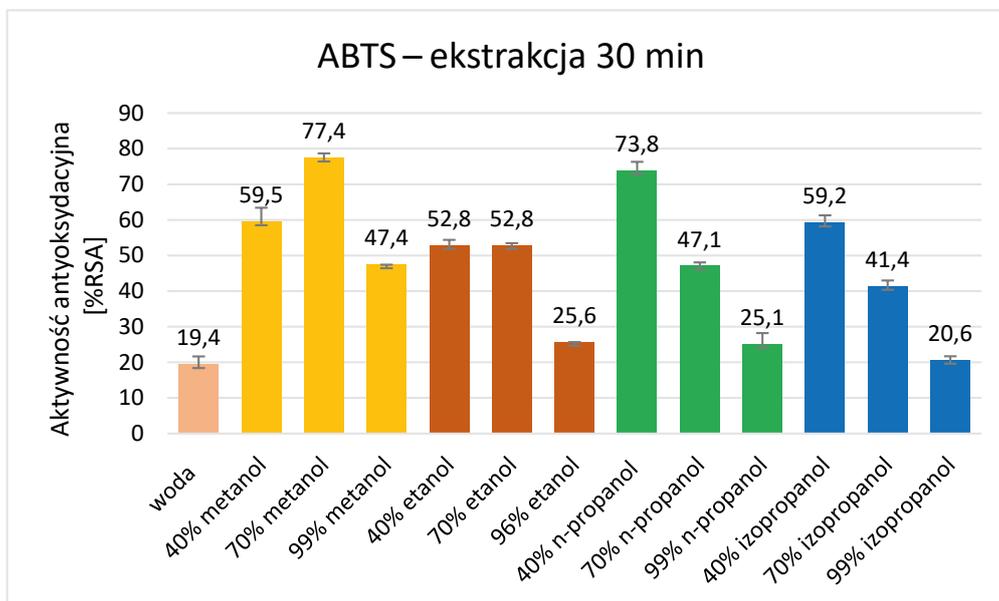
Na rys. 4–6 przedstawiono średnie wartości aktywności antyoksydacyjnej wyrażonej jako %RSA oznaczone metodą ABTS i uzyskane z ekstraktów sporządzonych w poszczególnych rozpuszczalnikach. Rys. 4 dotyczy ekstraktów sporządzonych metoda ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami trwającej 15 min, rys. 5 – 30 min, a rys. 6 – 60 min.

Najwyższą aktywność antyoksydacyjną oznaczoną metodą ABTS zaobserwowano dla ekstraktu 15-minutowego sporządzonego w 70-procentowym (v/v) etanolu – $52,8 \pm 0,9$ %RSA, a najniższą stwierdzono dla ekstraktów w wodzie – $8,5 \pm 0,4$ %RSA (rys. 4).



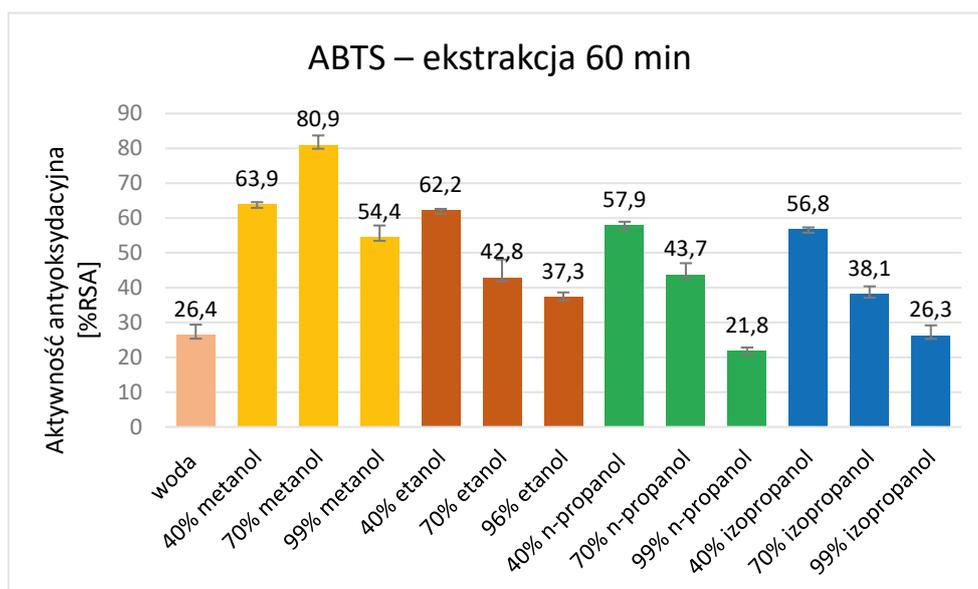
Rys. 4. Aktywność antyoksydacyjna wodnych i alkoholowych ekstraktów z pączków sosny zwyczajnej otrzymanych w wyniku 15-minutowej ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami. Pionowe linie oznaczają odchylenie standardowe (SD)

Najwyższą aktywność przeciwutleniającą oznaczoną metodą ABTS w przypadku ekstraktów sporządzonych w ciągu 30 min zaobserwowano dla ekstraktu w 70-procentowym (v/v) metanolu – $77,4 \pm 1,3$ %RSA, a najniższą dla ekstraktu sporządzonego w wodzie oraz w 99-procentowym (v/v) izopropanolu – odpowiednio $19,4 \pm 2,3$ i $20,6 \pm 1,1$ %RSA (rys. 5).



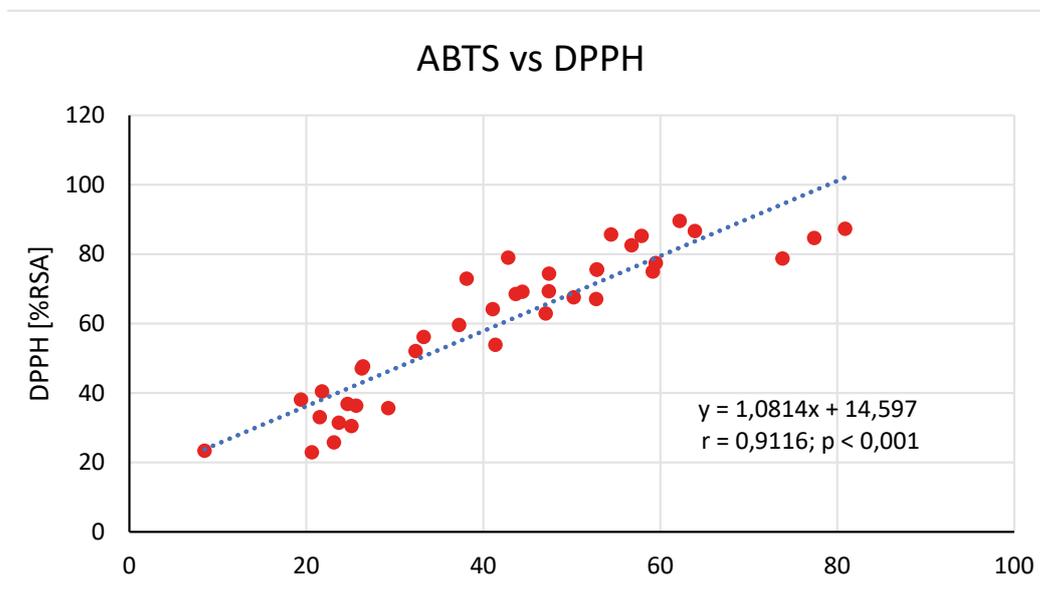
Rys. 5. Aktywność antyoksydacyjna wodnych i alkoholowych ekstraktów z pączków sosny zwyczajnej otrzymanych w wyniku 30-minutowej ekstrakcji. Pionowe linie oznaczają odchylenie standardowe (SD)

Najwyższą aktywność antyoksydacyjną oznaczoną metodą ABTS dla 60-minutowych ekstraktów zaobserwowano dla ekstraktu sporządzonego w 70-procentowym (v/v) metanolu – $54,4 \pm 3,4$ %RSA, a najniższą dla sporządzonego w 99-procentowym (v/v) n-propanolu – $21,8 \pm 1,1$ %RSA (rys. 6).



Rys. 6. Aktywność antyoksydacyjna wodnych i alkoholowych ekstraktów z pączków sosny zwyczajnej otrzymanych w wyniku 60-minutowej ekstrakcji. Pionowe linie oznaczają odchylenie standardowe (SD)

Na rys. 7 przedstawiono wykres prostej regresji pomiędzy wynikami aktywności antyoksydacyjnej oznaczonej metodą DPPH i ABTS. Stwierdzono wysoką korelację pomiędzy wynikami uzyskanymi obiema metodami; współczynnik korelacji wynosił $r = 0,9116$.



Rys. 7. Korelacja pomiędzy wynikami oznaczeń aktywności antyoksydacyjnej wykonanych metodami DPPH i ABTS

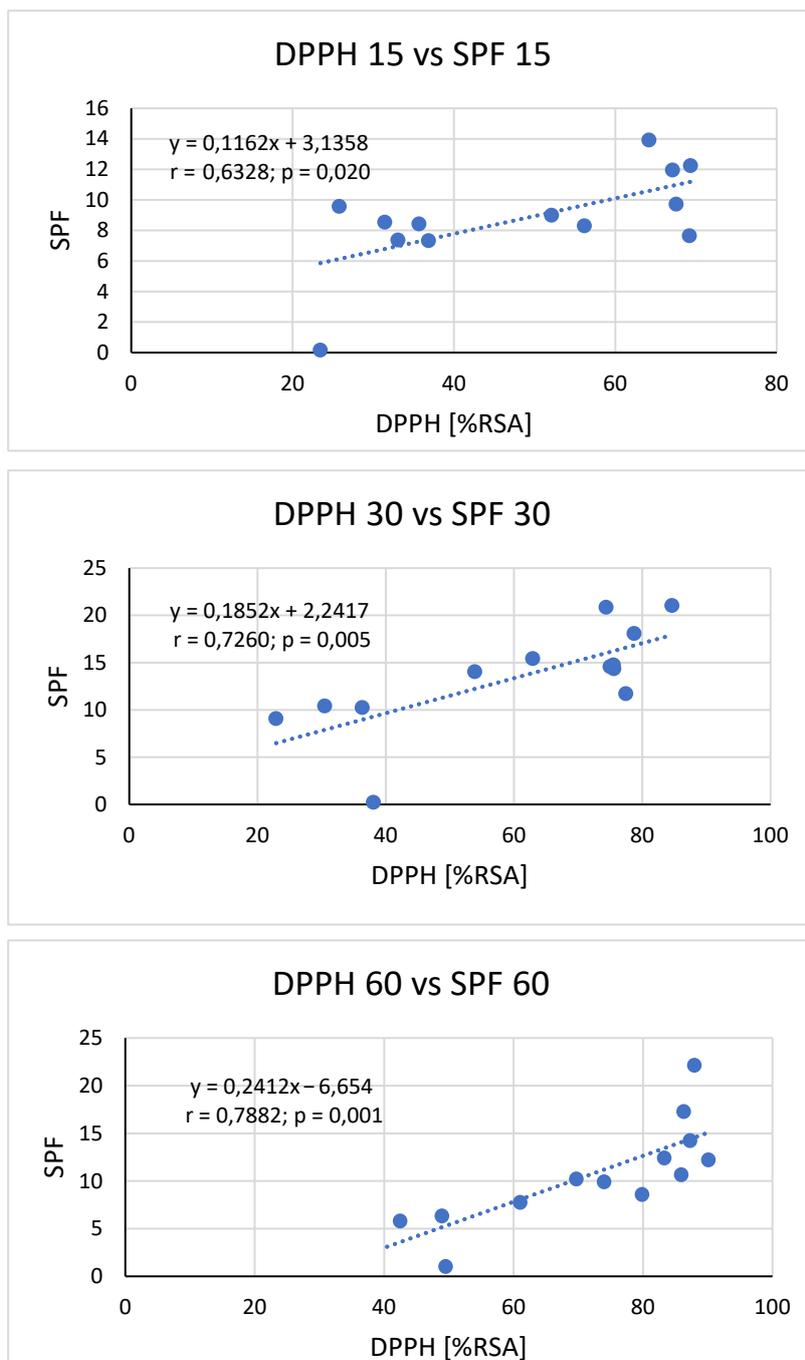
Współczynnik ochrony przeciwśłonecznej (SPF)

W tabeli 1 zebrano wartości współczynnika ochrony przeciwśłonecznej dla poszczególnych ekstraktów rozcieńczonych 10-krotnie wykorzystywanych do oznaczenia aktywności antyoksydacyjnej metodą DPPH i ABTS.

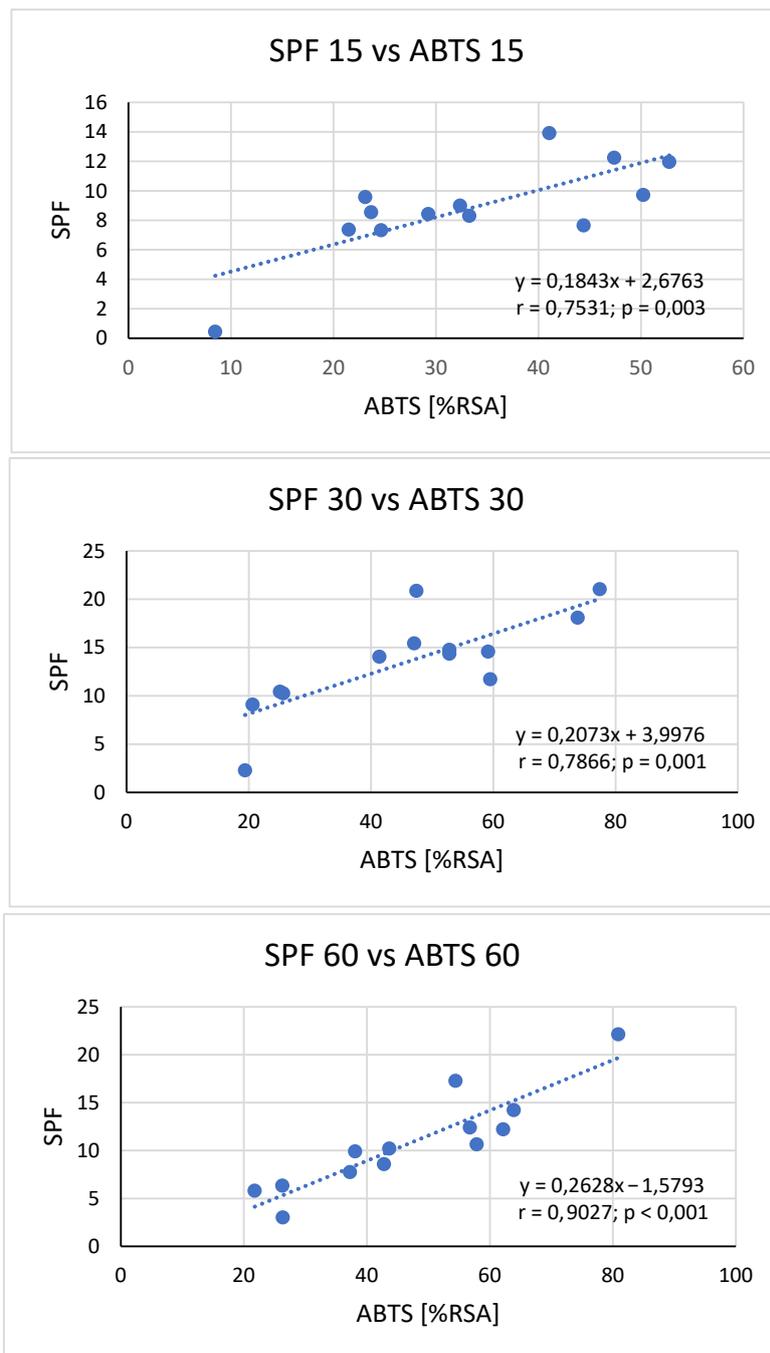
Tabela 1. Wartości współczynnika ochrony przeciwśłonecznej (SPF) *in vitro* otrzymanych ekstraktów

Rozpuszczalnik	Czas ekstrakcji		
	15 min	30 min	60 min
Woda	1,374	2,073	2,080
40-procentowy metanol	7,653	11,705	14,222
70-procentowy metanol	8,997	21,028	22,128
99-procentowy metanol	13,914	20,854	17,271
40-procentowy etanol	9,717	14,346	12,205
70-procentowy etanol	11,954	14,750	8,566
96-procentowy etanol	7,364	10,240	7,737
40-procentowy n-propanol	12,243	18,071	10,640
70-procentowy n-propanol	7,323	15,412	10,204
99-procentowy n-propanol	8,542	10,412	5,797
40-procentowy izopropanol	8,296	14,566	12,394
70-procentowy izopropanol	8,425	14,039	9,904
99-procentowy izopropanol	9,577	9,078	6,327

Na rys. 8 i 9 przedstawiono korelacje pomiędzy wartościami SPF uzyskanymi dla badanych ekstraktów oraz aktywnością antyoksydacyjną oznaczoną metodą DPPH (rys. 8) i ABTS (rys. 9). We wszystkich przedstawionych przypadkach stwierdzono istotną statystycznie korelację pomiędzy wartością SPF a aktywnością antyoksydacyjną, którą według skali zamieszczonej w pracy Stanciuskaite i in. [9] można zakwalifikować jako mocną $0,7 < r < 0,9$. Ponadto stwierdzono wysoce istotną statystycznie korelację pomiędzy aktywnościami antyoksydacyjnymi uzyskanymi metodą DPPH i ABTS (rys. 7).



Rys. 8. Korelacja pomiędzy wartościami aktywności antyoksydacyjnej oznaczonej metodą DPPH i współczynnikiem ochrony przeciwśonecznej SPF dla ekstraktów otrzymywanych po różnym czasie ekstrakcji



Rys. 9. Korelacja pomiędzy wartościami aktywności antyoksydacyjnej oznaczonej metodą ABTS i współczynnikiem ochrony przeciwsłonecznej SPF dla ekstraktów otrzymywanych po różnym czasie ekstrakcji

DYSKUSJA

W dzisiejszych czasach bardzo istotne jest zachowanie jak najdłużej młodego wyglądu, co sprzyja lepszemu samopoczuciu, ale także może w niektórych sytuacjach przynieść inne korzyści. Aby jak najdłużej zachować młody wygląd, należy stosować kremy zawierające antyoksydanty, które zapobiegają szkodliwemu działaniu spowodowanemu przez wolne rodniki. Cennym źródłem prze-

ciwutleniaczy są rośliny, które zawierają wiele grup związków wykazujących zdolność unieszkodliwiania wolnych rodników. Jedną z takich roślin wydaje się sosna zwyczajna (*Pinus sylvestris* L.), a jej interesującą częścią są pączki.

W dostępnym piśmiennictwie można znaleźć nieliczne prace dotyczące badania aktywności antyoksydacyjnej ekstraktów pozyskanych z różnych części sosny zwyczajnej. Niewiele prac dotyczy badania potencjału przeciwutleniającego ekstraktów z pączków, natomiast porównanie aktywności antyoksydacyjnej z wartością współczynnika ochrony przeciwśłonecznej było tematem bardzo niewielu prac [9]. Dlatego też podjęcie badań obejmujących porównanie aktywności antyoksydacyjnej oznaczonej dwiema metodami ekstraktów z pączków sosny sporządzonych w 13 rozpuszczalnikach ze współczynnikiem ochrony przeciwśłonecznej tych samych ekstraktów można uznać za nowatorskie, a uzyskane wyniki mogą mieć istotne implikacje praktyczne. Ponadto zbadano wpływ czasu ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami na uzyskane parametry w celu ustalenia optymalnych warunków przebiegu tego procesu.

W przedstawionym badaniu stwierdzono, że ekstrakty sporządzone z pączków sosny w wodzie i w czterech niskocząsteczkowych alkoholach (metanol, etanol, n-propanol i izopropanol) cechują się zróżnicowaną aktywnością antyoksydacyjną. Najkorzystniejszymi rozpuszczalnikami wydają się rozcieńczone alkohole, natomiast nierozcieńczone prowadzą do otrzymania ekstraktów o niższym potencjale przeciwutleniającym. Podobne wyniki uzyskano dla ekstraktów w wodzie. Ponieważ jednym z czynników sprzyjających powstawaniu szkodliwych wolnych rodników jest promieniowanie UV, w pracy zbadano również współczynnik ochrony przeciwśłonecznej SPF. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono istotną statystycznie korelację pomiędzy wartością SPF ekstraktów sporządzonych w określonym czasie (15, 30 lub 60 min) i aktywnością antyoksydacyjną. Również wartości potencjału przeciwutleniającego oznaczonego metodą DPPH korelowały w wysokim stopniu z odpowiednimi wartościami uzyskanymi metodą ABTS ($r = 0,9116$).

Nisca i in. badali aktywność antyoksydacyjną ekstraktów z kory sosny pospolitej. Ekstrakty sporządzili w 70-procentowym etanolu z wykorzystaniem – podobnie jak w badaniu własnym – ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami trwającej 30 min [10]. Procent zmiatania wolnych rodników oznaczony metodą ABTS dla roztworów o podobnym stężeniu jak w badaniu własnym wynosił 60–80%, natomiast przy zastosowaniu metody DPPH – 55–60% [10].

Skrypnik i in. badali ekstrakty z kory sosny pochodzącej z okolic Kaliningradu, wykorzystując do sporządzenia wyciągów ekstrakcję w gorącej wodzie (60°C) przez 1 h [11]. Ekstrakty sporządzali z całej kory i jej wierzchniej warstwy. Stwierdzili, że aktywność z całej kory oznaczona metodą DPPH była wyższa ($23,8 \pm 4,1$ mg/g surowca) niż z zewnętrznych warstw ($7,5 \pm 1,5$ mg/g). Wartości te były w wysokim stopniu skorelowane z całkowitym stężeniem tanin, flawonoidów i polifenoli (współczynniki korelacji 0,78–0,89) [11].

Koutsaviti i in. badali aktywność antyoksydacyjną olejku eterycznego uzyskanego z igieł sosny i wodnoalkoholowego ekstraktu z tych igieł [12]. Stwierdzili, że olejek eteryczny wykazywał aktywność antyoksydacyjną ponad 10-krotnie wyższą niż ekstrakt wodno-alkoholowy z igieł sosny [12].

Stanciauskaite i in. badali ekstrakty z pączków sosny zwyczajnej, brzozy brodawkowatej, topoli balsamicznej oraz z propolisu, oceniając ich aktywność antyoksydacyjną oraz współczynnik ochrony przeciwśłonecznej. Do przygotowania ekstraktów zastosowali metodę maceracji z użyciem 70-procentowego etanolu jako ekstrahenta w stosunku wagowym 1 cz. surowca roślinne-

go na 10 cz. rozpuszczalnika. Spośród przebadanych ekstraktów najwyższą aktywność antyoksydacyjną oznaczoną metodą DPPH, wyrażoną jako IC50, wykazywały ekstrakty z pączków sosny ($99,5 \pm 9,1 \mu\text{g CAE/ml}$, gdzie CAE to równoważnik kwasu kumarowego wykorzystywanego jako wzorzec w tych badaniach). Podobne obserwacje poczynili w przypadku oznaczeń metodą ABTS – również najwyższą aktywność spośród ekstraktów z pączków badanych drzew wykazywały etanolowe ekstrakty z pączków sosny ($171,3 \pm 10,0 \mu\text{g CAE/mL}$). Badacze ocenili także współczynnik ochrony przeciwsłonecznej (SPF) z ekstraktów o stężeniu $10 \mu\text{g/mL}$. W tym przypadku spośród przebadanych ekstraktów najniższą wartością tego parametru charakteryzował się ekstrakt z pączków sosny (2,010) [9]. Stanciauskaite i in. dokonali również oceny korelacji pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną oznaczoną zarówno metodą DPPH, jak i ABTS oraz współczynnika ochrony przeciwsłonecznej. W obu przypadkach obserwowano istotną statystycznie korelację pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą i wartością współczynnika ochrony przeciwsłonecznej [9]. Wyniki te pozostają w zgodzie z wynikami uzyskanymi w badaniu własnym.

Podsumowując, ekstrakty sporządzone z pączków sosny w niskocząsteczkowych alkoholach alifatycznych oraz w wodzie cechowały się dobrą aktywnością antyoksydacyjną i zadowalającym współczynnikiem ochrony przeciwsłonecznej SPF. Wyniki te mogą sugerować możliwość zastosowania wspomnianych ekstraktów jako składników preparatów przeciwstarzeniowych. Wymaga to oczywiście dalszych ukierunkowanych badań.

WNIOSKI

1. Ekstrakty z pączków sosny zwyczajnej cechowały się potencjałem antyoksydacyjnym.
2. Na uzyskane wyniki wpływ ma odpowiedni dobór rozpuszczalnika oraz czasu ekstrakcji.
3. Aktywność antyoksydacyjna otrzymanych ekstraktów była skorelowana z współczynnikiem ochrony przeciwsłonecznej, co również potwierdza potencjalną przydatność tych substancji jako składników preparatów antiaging.

LITERATURA

- [1] Wachowiak W., Perry A., Zaborowska J., González-Martínez S.C., Cavers S. Admixture and selection patterns across the European distribution of Scots pine, *Pinus sylvestris* (Pinaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 2022, 3(200), 416–432.
- [2] Szumny D., Szypuła E., Szydłowski M., Chlebda E., Skrzypiec-Spring M., Szumny A. Leki roślinne stosowane w chorobach układu oddechowego. *Dent. Med. Probl.* 2007, 44(4), 507–515.
- [3] Metsämuuronen S., Sirén H. Bioactive phenolic compounds, metabolism and properties: a review on valuable chemical compounds in Scots pine and Norway spruce. *Phytochem. Rev.* 2019, 18(3), 623–664.
- [4] Drózd P., Pyrzynska K. Extracts from pine and oak barks: phenolics, minerals and antioxidant potential. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 2019, 101(4), 464–472.
- [5] Grabowska A. Ocena właściwości promieniochronnych wybranych ekstraktów roślinnych. *Herbalism* 2020, 6(1), 65–75.

- [6] Nowak A., Klimowicz A., Duchnik W., Kucharski Ł., Florkowska K., Muzykiewicz A., Wira D., Zielonka-Brzezicka J., Siedłowska A., Nadarzewska K. Application of green extraction technique to evaluate of antioxidative capacity of wild population of fireweed (*Epilobium angustifolium*). *Herba Pol.* 2019, 65(4), 18–30.
- [7] Wąsik A., Klimowicz A. Extracts from *Corylus avellana* as a source of antioxidants useful in cosmetic preparations. *Pomeranian J. Life Sci.* 2022, 68(4), 56-66.
- [8] Madanowska A., Kowalska-Baron A. Application trial of a simple spectrophotometric method in determination of sun protection parameters of selected sunscreen cosmetics. *Biotechnol. Food Sci.* 2023, 85(1), 55–62.
- [9] Stanciauskaite M., Marksa M., Rimkiene L., Ramanauskiene, K. Evaluation of chemical composition, sun protection factor and antioxidant activity of lithuanian propolis and its plant precursors. *Plants* 2022, 11(24), 3558.
- [10] Nisca A., Ștefănescu R., Stegăruș D.I., Mare A.D., Farczadi L., Tanase C. Comparative study regarding the chemical composition and biological activity of pine (*Pinus nigra* and *P. sylvestris*) bark extracts. *Antioxidants* 2021, 10(2), 327.
- [11] Skrypnik L., Grigorev N., Michailov D., Antipina M., Danilova M., Pungin A. Comparative study on radical scavenging activity and phenolic compounds content in water bark extracts of alder (*Alnus glutinosa* L.) Gaertn.), oak (*Quercus robur* L.) and pine (*Pinus sylvestris* L.). *Eur. J. Wood Products* 2019, 77, 879–890.
- [12] Koutsaviti A., Toutoungy S., Saliba R., Loupassaki S., Tzakou O., Roussis V., Ioannou E. Antioxidant potential of pine needles: a systematic study on the essential oils and extracts of 46 species of the genus *Pinus*. *Foods* 2021, 10(1), 142.

Zawartość wybranych makro- i mikroelementów odpadów pomidora zwyczajnego (*Solanum lycopersicum*) w aspekcie ich zagospodarowania

Maja OWCZAREK¹, Hanna SIWEK², Anna BUCHWAŁ², Kamila BOJKO³

¹Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Studenckie Koło Naukowe Ekofuzja, Katedra Ogrodnictwa

²Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Katedra Bioinżynierii

³Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Katedra Ogrodnictwa

WSTĘP

Nadchodzące wyzwania związane ze wzrostem populacji, ochroną środowiska, uniezależnieniem się od paliw kopalnych, niestabilnym rynkiem i globalnym ociepleniem zmuszają sektor żywnościowy oraz nawozowy do stosowania nowych rozwiązań [1, 2, 3, 4]. W ostatnich latach zwiększa się ilość odpadów rolnych i spożywczych, które są zagrożeniem dla natury – nieodpowiedni recykling lub złe zagospodarowanie skutkują ciągłym gromadzeniem się odpadów, negatywnym wpływem na krajobraz i wzrastającym ryzykiem pożarowym [5, 6]. Dynamika wzrostu produkcji zielonych odpadów jest ściśle powiązana z bardzo szybką urbanizacją oraz ekspansją terenów zielonych [1].

Wyprodukowany zielony odpad należy traktować jako potencjalny lokalny biosurowiec lub zasób [5]. Transformacja zielonych odpadów w użyteczne i wartościowe bioprodukty wymaga odpowiedniej polityki związanej z gospodarką odpadami [6]. Biodopady to odpady ulegające biochemicznemu rozkładowi z ogrodów i parków, odpady kuchenne, a także odpady z zakładów produkujących lub wprowadzających do obrotu żywność – art. 3 ust. 1 pkt 1 ustawy z dnia 14 grudnia 2012 r. o odpadach (t.j. Dz. U. z 2023 r. poz. 1587 ze zm.) [7]. Nadanie konkretnych cech i właściwości biodopadom jest trudne ze względu na zróżnicowany cykl życia – zależny od np. lokalizacji geograficznej i klimatu, rodzaju i pH gleby, metod uprawy i nawożenia, przechowywania i magazynowania części roślin [8]. Odpady zielone składają się z celulozy, hemicelulozy i ligniny oraz w małych ilościach z cukrów, białek, tłuszczu i pozostałych związków [5]. Odpady zielone jako surowiec mają wiele zalet – są tanie, dostępne lokalnie i w dużych ilościach, a wyrób bazujący na nich jest w dużym stopniu biodegradowalny, nie ma dużego wpływu na środowisko i nie wytwarza wielu zanieczyszczeń [5].

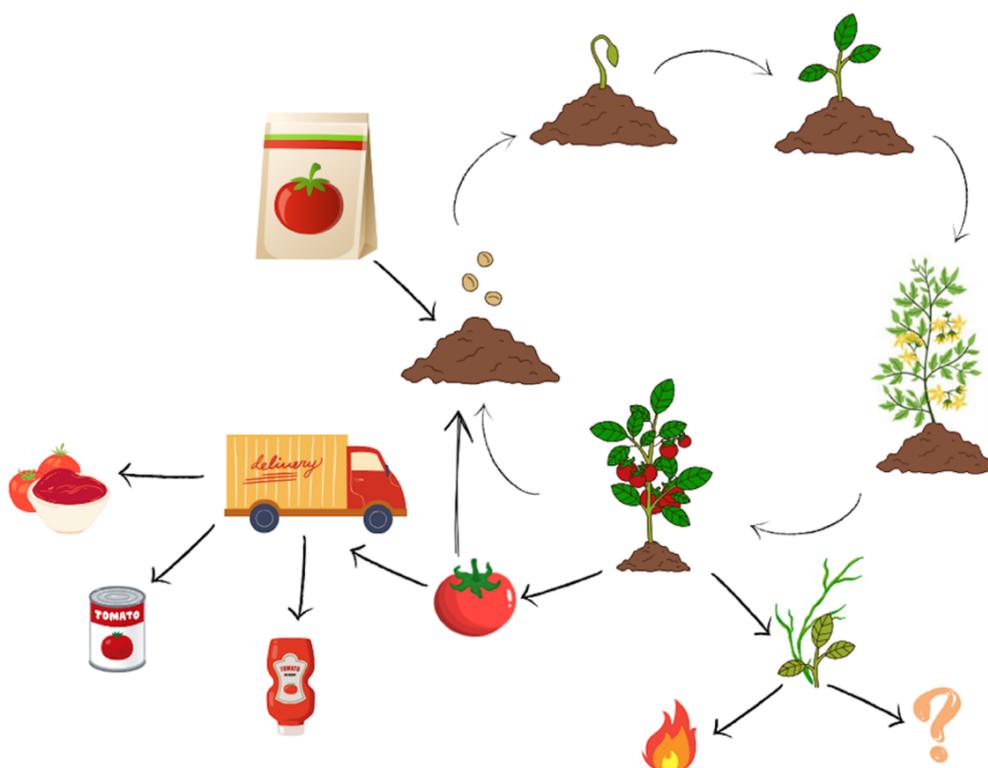
Najczęstszą praktyką zagospodarowania zielonych odpadów jest kompostowanie. Kompost to środek nawozowy, który powstaje w wyniku tlenowego rozkładu frakcji organicznej (pochodzenia roślinnego i zwierzęcego) przez mikroorganizmy, bakterie i grzyby [9, 10]. Produkty przemiany kompostowania to ditlenek węgla (CO₂), woda (H₂O) oraz materia organiczna [11]. Kompost po-

chodzący z odpadów zielonych jest bardziej ekologiczny i przyjazny środowisku, ponieważ zawiera mniej metali ciężkich, zanieczyszczeń czy bakterii *E. coli* [12]. W literaturze jest niewiele badań dotyczących składu odpadów ze zbiorów pomidora w postaci zielonych pozostałości (mieszaniny szypułek, liści i łodyg) oraz ich potencjalnego zagospodarowania w inny sposób niż wykorzystanie termochemiczne – produkcja ciepła w wyniku spalania, pirolizy lub gazyfikacji biomasy [3].

Celem pracy jest ocena zawartości wybranych makro- i mikroelementów zielonych odpadów pomidorowych (mieszanina szypułek, łodyg i liści) pochodzących z różnych konfiguracji nawożenia oraz zaproponowanie potencjalnej metody zagospodarowania powstałego odpadu.

Pomidor zwyczajny (*Solanum lycopersicum*)

Owoc pomidora zwyczajnego zawiera dużo witaminy C, karotenoidów oraz likopenu (związek z grupy karotenów), który działa antyoksydacyjnie, dlatego jest kluczowym składnikiem w diecie [13, 14]. Wykazano korelację między ilością spożytego likopenu a korzyściami zdrowotnymi – hamuje powstawanie nowotworów i zapobiega chorobom sercowo-naczyniowych [14, 15, 16, 17]. Roślina pomidora – szypułka, liście i łodygi – również jest źródłem składników odżywczych, związków fenolowych i pigmentów [18].



Rys. 1. Cykl życia pomidora (opracowanie własne; canva.com)

Do prawidłowego wzrostu rośliny potrzebują właściwej gospodarki składnikami odżywczymi, na które składają się makro- i mikroelementy [19]. Makroelementy to pierwiastki, które są niezbędne dla roślin do prawidłowego funkcjonowania (azot, fosfor, potas, siarka, wapń, magnez, sód). Natomiast mikroelementy to pozostałe pierwiastki (np. żelazo, mangan, miedź) w śladowych

ilościach, które pełnią istotną rolę w zapewnieniu optymalnych warunków do wzrostu, ale w nadmiarze mogą hamować niektóre procesy w roślinie i przekształcać szlaki metaboliczne [20]. Do prawidłowego wzrostu rośliny pomidora potrzeba dużej ilości azotu i fosforu [21, 22]. Uprawa polowa pomidora wymaga 100–150 kg/ha azotu oraz 20–40 kg/ha fosforu, natomiast w przypadku uprawy szklarniowej ilość jest zwiększona do 200–600 kg/ha azotu oraz 100–200 kg/ha fosforu [23]. Podczas całego okresu wegetacyjnego ze 100 kg zebranych owoców pomidora produkuje się 33 kg biomasy liści i łodyg – część łodygowa to aż 70% odpadu zielonego wyprodukowanego ze zbiorów pomidora, natomiast część listna (ze zbioru jednej sadzonki) to ok. 0,75 kg [24]. Zakłada się, że na podstawie dotychczasowego tempa wzrostu produkcji pomidora światowa produkcja do 2030 r. wyniesie ok. 222 mln ton [14]. Według szacunków każdego roku przetwarza się ok. 40 mln ton pomidorów [3]. 1 kg przerobionych pomidorów to ok. 20 g odrzutów i 20 g skórek oraz pestek pomidora [25]. Przerobione resztki pomidorów (wytłoki pomidorowe, skórka, nasiona) są stosowane jako pasza dla zwierząt, nawozy do roślin lub przekierowywane do składowisk odpadów [4, 14]. Na rys. 1 przedstawiono schemat cyklu życia rośliny pomidora.

Ekologiczne zagospodarowanie odpadów pomidora

Produkcja chemikaliów

Związki bioaktywne (m.in. likopen, karotenoidy, związki fenolowe) w odpadach rośliny pomidora można wyodrębnić w np. procesach ekstrakcji, działając enzymami, ultradźwiękami lub mikrofalami [26, 27]. Wykazano, że roślina pomidora zawiera metabolity wtórne – są to związki, które nie są niezbędne do wzrostu i rozwoju [28]. Pełnią one funkcję komunikatorów, które sygnalizują o sytuacji stresowej. W liściach pomidora metabolitami wtórnymi są związki fenolowe (flawonoidy). W suszonych liściach pomidora znajduje się 0,8–3,1 g/kg rutyny flawonoidowej [24]. Narażenie pomidora na warunki stresowe (niska temperatura, niedobór azotu) skutkuje akumulacją rutyny flawonoidowej i innych związków fenolowych w liściach [29, 30]. Junker-Frohn i in. badali wpływ czynników stresujących, abiotycznych na zawartość rutyny flawonoidowej w biomase liści pomidora [24]. Wykazali, że liście pomidora zmieniają swoją barwę w zależności od ilości podawanego azotu, a czynniki stresujące, abiotyczne wpływają korzystnie na produkcję rutyny flawonoidowej w liściach. Przeprowadzili ekstrakcję rutyny w czystym etanolu i etanolu o stężeniu 70% – za pomocą czystego etanolu wyekstrahowano 51% całkowitej zawartości rutyny, a w 70-procentowym etanolu wyekstrahowano 87%.

Nawożenie

Alternatywnym nawozem w uprawie rolnej może być poferment, który jest produktem ubocznym fermentacji beztlenowej (ang. *anaerobic digestion*, AD). W procesie beztlenowej fermentacji mikroorganizmy rozkładają substancje organiczną na biogaz, będący mieszaniną metanu, CH₄ z CO₂ oraz śladowych ilości pozostałych gazów – siarkowodoru (H₂S) i wodoru (H₂), oraz na poferment (odpad), który składa się z części stałej i płynnej [31]. Ries i in. przedstawili zastosowanie procesu AD odpadów spożywczych (m.in. pomidora), w którym wytworzony poferment traktowany jest jako potencjalny nawóz [2]. Poferment można stosować dogłębowo w postaci zawiesiny lub odseparować frakcję ciekłą od stałej. Poferment coraz częściej wykorzystywany jest jako nawóz płynny do

uprawy bezglebowej, ponieważ charakteryzuje się wysoką zawartością azotu (w szczególności jonu amonowego, NH_4^+ – składa się w 60–80% na całkowitą zawartość azotu) i potasu [18]. Według badań Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa (IUNG) surowy poferment zawiera ok. 0,5% azotu; 0,2% P_2O_5 i 0,4% K_2O [32]. Skład pofermentu przypomina ilościowo skład nawozów pochodzenia zwierzęcego, tj. gnojowicy czy obornika [33]. Neal i in. wykazali, że uprawa pomidora w pofermentacji z AD w stosunku do klasycznej uprawy hydroponicznej jest możliwa [21]. Jednak żywotność sadzonek pomidora była dużo niższa dla pofermentu z AD (tylko 25% – przeżyła 1 sadzonka z 4) niż hydroponiki (100% – 4 z 4). Problemami w zastosowaniu pofermentu z AD w formie płynnej jako nawozu są: ekstrakcja składników odżywczych, dalszy transport do obszarów wodnych i w ostateczności zanieczyszczenie oraz eutrofizacja wód [2, 33].

Innowacyjne metody zagospodarowania odpadów z pomidora

Jednym z nielicznych innowacyjnych badań dotyczących otrzymywania surowców chemicznych z zielonych odpadów pomidorowych jest ekstrakcja nanokryształów celulozy (ang. *cellulose nanocrystal*, CNC) [34]. Nanokryształy celulozy są to materiały celulozowe, które ze względu na swoją nietoksyczność i biokompatybilność znalazły zastosowanie w sektorze rolno-spożywczym. Ekstrakcję CNC z odpadów pomidora badali Schiavi i in. [35]. Celem ich pracy była synteza CNC z zielonych odpadów pomidora (mieszanina pędów, szypułek i liści). Ekstrahowano celulozę chemicznie (chlorynem sodu i wodorotlenkiem sodu) i enzymatycznie (trawienie mieszaniną celulazy, β -glukozydazy i hemicelulazy). Uzyskano wyniki na poziomie (kolejno): 6,2% oraz 4,2%. Jiang i in. zbadali uzysk CNC ze skórek pomidora na drodze chemicznej ekstrakcji. W zależności od użytych substratów do ekstrakcji (chloryn sodu i wodorotlenek potasu oraz wodorotlenek sodu i nadtlenu wodoru) uzyskali 15,7% oraz 10,2% CNC [36]. Moradi i in. przedstawili produkcję CNC z wyłoków pomidorowych. Po chemicznej ekstrakcji chlorynem sodu i wodorotlenkiem sodu uzyskali CNC na poziomie 16,3% [37].

Kolejne innowacyjne badania dotyczą otrzymywania biopaliwa z zielonych odpadów pomidorowych metodą hydrotermalnego upłynniania (ang. *hydrothermal liquefaction*, HTL). Proces ten zyskał na popularności jako metoda wytwórcza biopaliwa (bioolejów) ze względu na możliwość zastosowania różnych surowców, wysoką gęstość energetyczną i niską zawartość tlenu. HTL polega na wykorzystaniu wody i katalizatora w warunkach temperatury ok. 250–450°C i ciśnieniu 100–300 bar; w tych warunkach woda jest w stanie nadkrytycznym [38]. Biomasa przechodzi przez ciąg reakcji, w wyniku których uzyskuje się m.in. stałe produkty – bioropę lub biowęgiel. Zhang i in. wykonali hydrotermalne upłynnianie odpadów pomidorowych (mieszaniny łodyg, szypułek i liści) w warunkach: woda–etanol z użyciem katalizatora w temperaturze 250°C. W efekcie uzyskali bioolej o wydajności 45,1% [39].

Dunlop i in. wykazali, że pozostałości z uprawy pomidora (łodygi, liście, szypułki plastikowe klipsy oraz sznurki) mogą być zastosowane w uprawie hydroponicznej (bezglebowej) [40]. Przeprowadzili proces pirolizy odpadów pomidorowych w temperaturze 440–550°C w celu uzyskania biowęgla. Uzyskany surowiec wykazał właściwości podobne do biowęgla wyprodukowanego z drzewnej biomasy, jednak analizowane parametry (węgiel ogólny, azot całkowity, pH i zawartość ekstrahowanego fosforu w 2-procentowym roztworze kwasu mrówkowego) były najbliższe biowęgla pochodzącego z obornika.

W tabeli 1 przedstawiono średnią zawartość pierwiastków w liściach pomidora odmiany Alboran po 41 dniach od przeszczepu sadzonki.

Tabela 1. Średnia zawartość pierwiastków w liściach pomidora uprawianych w różnych mieszankach podłoża, n = 3 [40]

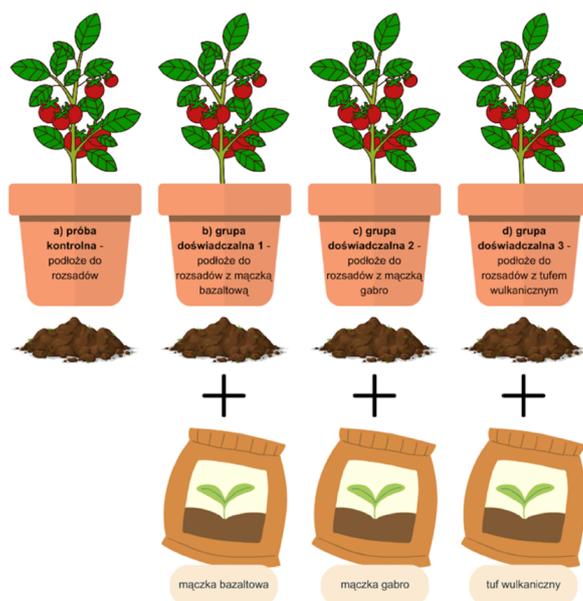
Rodzaj podłoża	N [g/kg]	P [g/kg]	K [g/kg]	Ca [g/kg]	Mg [g/kg]	Fe [mg/kg]	Cu [mg/kg]
0BC-100SD	4,54	0,56	3,28	3,73	0,43	169	13,6
25BC-75SD	4,50	0,56	3,37	3,97	0,49	193	13,4
50BC-50SD	4,59	0,61	3,37	4,06	0,54	174	13,3
75BD-25SD	4,54	0,58	3,47	3,99	0,58	172	13,3
100BC-0SD	4,58	0,57	3,64	3,76	0,63	178	13,5

BC – biowęgiel z pozostałości uprawy pomidora, SD – trociny sosnowe.

MATERIAŁY I METODY

Przygotowanie surowca

Odpad roślinny (szypułki, liście i zdrewniałe łodygi) pozyskano po zakończonym zbiorze dojrzałych owoców pomidora zwyczajnego (*Solanum lycopersicum*) odmiany Kmicic we współpracy z Katedrą Ogrodnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Rośliny uprawiano w czterech pojemnikach o pojemności 2 L wypełnionych kolejno: podłożem do produkcji rozsady firmy Kronen (rys. 2a); podłożem do produkcji rozsady z dodatkiem mączki bazaltowej (mieszanka autorska) (rys. 2b); podłożem do produkcji rozsady z dodatkiem mączki gabra (mieszanka autorska) (rys. 2c) oraz podłożem do produkcji rozsady z dodatkiem tufu wulkanicznego (mieszanka autorska) (rys. 2d).



Rys. 2. Uproszczony schemat uprawy obiektu doświadczalnego (opracowanie własne; canva.com)

Pozostałości pomidora wysuszono powietrznie (rys. 3). Następnie zmielono w młynku laboratoryjnym (WŻ-1, Instytut Sadkiewicza) i wykonano analizę sitową, aby uzyskać surowiec o uziarnieniu poniżej 5 mm. Uzyskane frakcje umieszczono w pojemnikach.



Rys. 3. Odpad roślinny – zdrewniałe części (szypułki, liście i łodygi) pomidora zwyczajnego (*Solanum lycopersicum*) odmiany Kmicic (zdjęcie: M. Owczarek)

Do wykonania mineralizacji próbek i oznaczeń wykorzystano następujące odczynniki: kwas siarkowy(VI) o stężeniu 96%, H_2SO_4 (Chempur); kwas nadchlorowy o stężeniu 70%, $HClO_4$ (Chempur); kwas borowy o stężeniu 3%, H_3BO_3 (Chempur), błękit bromofenolowy, $C_{19}H_{10}O_5Br_4S$ (Pol-Aura); wodorotlenek sodu, $NaOH$ (Chempur); kwas solny o stężeniu 38%, HCl (Warchem Sp. z o.o.); kwas azotowy(V) o stężeniu 65%, HNO_3 (Chempur); metawanadan amonu, NH_4VO_3 (Merck); heptamolibdenian amonu tetrahydrat, $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ (Avantor Performance Materials Poland S.A.); diwodorofosforan potasu, KH_2PO_4 (Pol-Aura); chlorek etylenu, $C_2H_4Cl_2$ (Warchem Sp. z o.o.).

Oznaczanie zawartości wilgoci

Zawartość wilgoci w biomasy oznaczono metodą wagowo-suszarkową w wagosuszarce (WPS110S, RADWAG) zgodnie z normą PN-EN ISO 18134-3:2023-12 [41]. Do badań odważono po 1 g próbki z dokładnością do 0,001 g i suszono w temperaturze 105°C do uzyskania stałej masy.

Mineralizacja próbek

Próbki biomasy mineralizowano „na mokro” zgodnie z normą PN-EN ISO 5983-1:2006 w manualnym mineralizatorze (KI 11/26, Gerhardt) [42]. Do kolb Kjeldahla odważono po 1 g próbki z dokładnością do 0,001 g; do każdej z nich wiano 10 cm³ kwasu siarkowego i ogrzewano do całkowitego odgazowania i zmacerowania próbek. Następnie dodano 3 cm³ kwasu nadchlorowego w celu utlenienia próbek i ponownie umieszczono kolby na mineralizatorze i podgrzewano aż do odbarwienia roztworu.

Oznaczanie zawartości azotu

Zawartość azotu oznaczono metodą Kjeldahla. Próbkę po mineralizacji przeniesiono ilościowo wodą destylowaną z kolb Kjeldahla do kolb miarowych o pojemności 100 cm³. Następnie z kolb miarowych pobrano po 5 cm³ roztworu i wprowadzono do kolb Kjeldahla. Do odbieralnika wprowadzono 30 cm³ kwasu borowego wraz z kilkoma kroplami wskaźnika – błękitu bromofenolowego. Kolbę Kjeldahla oraz odbieralnik umieszczono w aparacie destylacji z parą wodną (Vapodest, Gerhardt). Destylację przeprowadzono w obecności wodorotlenku sodu w celu uwolnienia amoniaku, który ostatecznie zatrzymany jest w roztworze kwasu borowego. Oznaczenie zawartości azotu ogólnego wykonano przez miareczkowanie destylatu titrantem (kwasem solnym) do uzyskania barwy szaroniebieskiej [43].

Oznaczanie zawartości fosforu

Zawartość fosforu oznaczono spektrofotometrycznie metodą wanado-molibdenową na spektrofotometrze UV-Vis (Thermo Scientific Evolution 201, Thermo Fisher Scientific). Pomiar absorbancji wykonano przy długości fali $\lambda = 390$ nm, długość drogi optycznej wynosiła 1 cm [44].

Oznaczanie zawartości metali

Wykonano oznaczenie zawartości mikrośladników, aby określić zawartość pierwiastków śladowych w materiale roślinnym. Oznaczenie wykonano metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej (ang. *atomic absorption spectrometry*, ASA) z atomizacją w płomieniu acetylenowo-powietrznym w spektrometrze (Solar S₄, Thermo Fisher Scientific).

Analiza statystyczna

Uzyskane wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji ANOVA, a podziału grup jednorodnych dokonano za pomocą testu Tukeya na poziomie istotności $p = 0,05$. Wszystkie wyniki zaprezentowano w postaci: średniej pomiarów \pm odchylenie standardowe (ang. *standard deviation*, SD), liczby powtórzeń $n = 3$. Analizy statystyczne wykonano w programie Statistica 13.3.

WYNIKI I DYSKUSJA WYNIKÓW

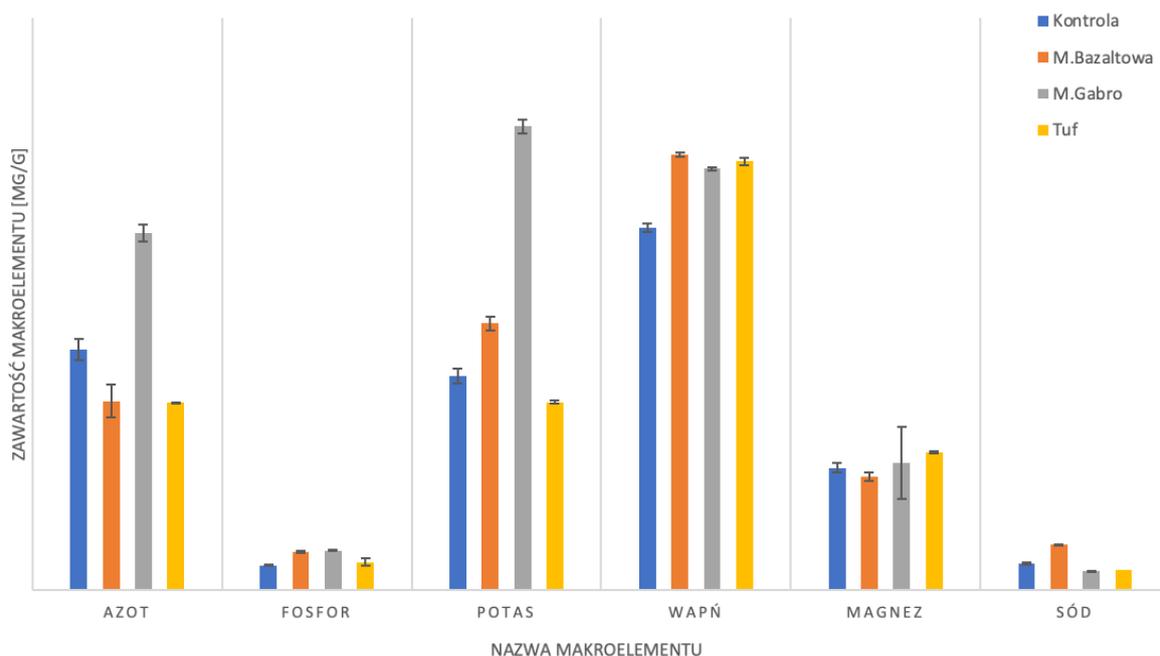
Zawartość wilgoci zestawiono w tabeli 2. W tabeli 3 zamieszczono wyniki oznaczeń makro- i mikrośladników mieszaniny odpadów (szypułek, łodyg i liści) pomidora. Na rys. 4 przedstawiono dane dotyczące zawartości wybranych makroelementów, wykres stworzono w programie Excel.

Tabela 2. Oznaczenie zawartości wilgoci odpadów pomidora (*Solanum lycopersicum*) w zależności od zastosowanej uprawy mieszanki podłoża (opracowanie własne)

Parametr	Kontrola	Dodatek mączki bazaltowej	Dodatek mączki gąbro	Dodatek tufu wulkanicznego
Zawartość wilgoci [%]	9,56 \pm 0,18	8,74 \pm 0,06	8,06 \pm 0,13	9,04 \pm 0,05

Tabela 3. Wyniki makro- i mikroelementów odpadów pomidora (*Solanum lycopersicum*) w zależności od zastosowanej uprawy mieszanki podłoża (opracowanie własne)

Pierwiastek	Kontrola	Dodatek mączki bazaltowej	Dodatek mączki gabra	Dodatek tufu wulkanicznego
Makroelementy				
N [mg/g]	12,62 ± 0,55	9,92 ± 0,87	18,73 ± 0,43	9,85 ± 0,92
P [mg/g]	1,31 ± 0,03	2,00 ± 0,04	2,08 ± 0,03	1,48 ± 0,01
K [mg/g]	11,24 ± 0,38	14,00 ± 0,35	24,33 ± 0,36	9,87 ± 0,20
Ca [mg/g]	19,01 ± 0,25	22,84 ± 0,22	22,11 ± 1,89	22,49 ± 0,20
Mg [mg/g]	6,41 ± 0,21	5,95 ± 0,13	6,70 ± 0,08	7,23 ± 0,07
Na [mg/g]	1,40 ± 0,03	2,41 ± 0,01	1,01 ± 0,004	1,07 ± 0,08
Mikroelementy				
Cu [mg/g]	0,0032 ± 0,0001	0,0052 ± 0,0001	0,0073 ± 0,0003	0,0060 ± 0,0002
Fe [mg/g]	0,37 ± 0,017	0,30 ± 0,001	0,37 ± 0,007	0,51 ± 0,014
Mg [mg/g]	0,23 ± 0,0028	0,03 ± 0,0004	0,15 ± 0,0013	0,19 ± 0,0018
Zn [mg/g]	0,06 ± 0,0034	0,04 ± 0,0011	0,03 ± 0,0005	0,03 ± 0,0011
Ni [mg/g]	0,0021 ± 0,0025	–	–	0,0011 ± 0,0012
Pozostałe				
Cd [mg/g]	0,0014 ± 0,0001	0,0008 ± 0,000008	0,0016 ± 0,0002	0,0013 ± 0,0001
Pb [mg/g]	0,0014 ± 0,0002	0,0005 ± 0,0002	0,0013 ± 0,0009	–



Rys. 4. Zależność zawartości wybranych makroelementów w odpadach pomidora w zależności od sposobu nawożenia (opracowanie własne w programie Excel)

Nawożenie miało istotny wpływ na zawartość azotu, fosforu i pierwiastków śladowych ($p < 0,05$). Największą zawartość azotu i potasu odnotowano w podłożu z dodatkiem mączki gabra (rys. 4). Mączki mineralne to środki na bazie skały bazaltowej, które polepszają właściwości gleby oraz doprowadzają do intensywnego rozmnażania mikroorganizmów [45]. Zawierają różne składniki odżywcze, których ilość zależy od pochodzenia i miejsca wydobycia [46]. Mączka składa się głównie z tlenków zasadowych, glinu oraz krzemionki. Składniki odżywcze z mączki są stopniowo uwalniane w glebie i pełnią rolę rezerwuaru nawozowego. Dodatkowo wiążą wodę i ułatwiają wymianę jonów. Określono, że mączkę bazaltową można stosować bezpośrednio jako nawóz lub dodatek do naturalnych środków nawozowych (obornik, kompost). Dodatek mączki bazaltowej może działać korzystnie na zwiększenie aktywności enzymatycznej w związku z poborem azotu, fosforu i siarki [47]. Według Tyburskiego mączki bazaltowe są bardzo dobrym substratem nawozowym do upraw warzywnych [48]. Różnica między mączką bazaltową a mączką gabra wynika z rodzaju skały – bazalt to skała wylewna, a gabra to skała głębinowa, co wpływa na różnicę w teksturze i uziarnieniu [49]. Jednak obie mają bardzo podobne właściwości i wpływ na glebę. Tufy to skały wyrzucane przez wulkan oraz popioły i pyły wulkaniczne [50]. Tuf wulkaniczny ma skład jak poprzednie środki polepszające właściwości gleby – zawiera dużo tlenków alkalicznych, glinu i krzemionki. Strukturalnie tuf wulkaniczny składa się z glinokrzemianów, jak zeolity [51]. Wszystkie zastosowane dodatki nawozowe poprawiły zawartość pierwiastków alkalicznych, co jednoznacznie wskazywało na ich najwyższą zawartość w składzie tych środków nawozowych.

Zielone odpady charakteryzuje sezonowość i zmienność składu w zależności od pory roku [52]. Boldrin i in. wykazali zmienność składu odpadów ogrodowych w zależności od miesiąca zbioru [53]. Badanie przeprowadzono w Aarhus (Dania). Najwyższą zawartość makroskładników, takich jak: wapń, potas, magnez, odnotowali w kwietniu i maju. Wraz z nadchodzącym sezonem letnim, wzmożonym i dłużej trwającym światłem słonecznym, rośliny rozpoczynają wzrost i intensywniej pobierają składniki odżywcze z gleby, czego wynikiem jest ich zwiększona zawartość w ich składzie [53]. Pomidor jest źródłem potasu, a duża zawartość tego pierwiastka jest wynikiem m.in. transportu i akumulacji składników odżywczych z gleby do kwiatów, a następnie do ich owoców [54]. Średnia zawartość potasu w owocach pomidora to ok. 4,0 mg/g suchej masy [55]. Chaudhary i in. w swoim przeglądzie zestawili skład trzech pomidorów: surowego, ugotowanego i niedojrzałego, zielonego pomidora [54]. Wszystkie pomidory charakteryzowały się wysoką zawartością potasu – ponad 200 mg, fosforu – niecałe 30 mg oraz magnezu – ok. 10 mg w owocu. Erba i in. zbadali skład pomidora uprawianego w szklarni z zastosowaniem różnych technik agrotechnicznych [56]. Uzyskali następujące wyniki wybranych pierwiastków: ok. 2,2 mg/g potasu, 0,13 mg/g fosforu i 0,04 mg/g wapnia. Wartości literaturowe pokrywają się z uzyskanymi wynikami dla odpadów z roślin pomidora (wysoka zawartość azotu, potasu, wapnia i magnezu) – co oznacza, że część składników odżywczych po zbiorze dojrzałych owoców zmagazynowana jest w pozostałościach i może być zagospodarowana do konkretnych celów.

W procesach produkcji chemikaliów i biopaliw – fermentacji metanowej i hydrotermalnym upłynnianiu – do osiągnięcia pożądanego rezultatu należy zastosować konkretne odczynniki lub utrzymać właściwe parametry prowadzenia procesu. Ze względu na uniwersalność produkcji biogazu (możliwość zastosowania różnego rodzaju wsadu, np. kiszonka, obornik, gnojowica) oraz wytwarzanie pofermentu, który można utylizować w przyjazny dla środowiska sposób, na-

leżałoby rozpatrzyć wykorzystanie odpadów pomidora w fermentacji metanowej i równoczesną produkcję biogazu z zastosowaniem odpadu, pofermentu jako nawozu płynnego [57]. Szilágyi i in. opisali produkcję biogazu w wyniku fermentacji mezofilowej w zależności od zastosowanego substratu: wymłóconej kukurydzy, odpadów pomidora oraz kombinacji obu substratów [58]. Wynioskowali, że odpady pomidorowe mogą być obiecującym wsadem do produkcji biogazu, jeżeli mają stosunkowo małą zawartość ligniny i hemicelulozy. Uzyskali oni z odpadów pomidorowych 290 mL biogazu/g VS (ang. *volatile solids*, lotne ciało stałe), natomiast dla wymłóconej kukurydzy 960 mL biogazu/g VS. Ekstrakcja związków flawonoidowych i bioaktywnych przyniosłaby wiele korzyści w zakresie produkcji chemikaliów – ekstraktów naturalnych. Ekstrakcję likopenu i karotenoidów (pigmentów, barwników oraz antyoksydantów) można przeprowadzić z odpadów owocu pomidora – miąższu i skórek. W procesie ekstrakcji najistotniejszy jest rozpuszczalnik. Najczęściej stosowany jest organiczny, np. etanol, aceton, heksan i etery. Rozwiązaniami alternatywnymi dla uciążliwych organicznych rozpuszczalników są mleczan etylu i D-limonen. Mleczan etylu jest biodegradowalny, rozkłada się na ditlenek węgla i wodę [59]. Można go uzyskać w wyniku fermentacji frakcji węglowodanów – z przetwórstwa owoców i warzyw. D-limonen to rozpuszczalnik o zapachu cytrusów, który można uzyskać w wyniku ekstrakcji skórki pomarańczowej poprzez destylację parą wodną [60]. Limonen to najczęściej stosowany zamiennik dichlorometanu do ekstrakcji likopenu, jednak wydajność procesu nie jest tak efektywna jak w przypadku zastosowania konwencjonalnego rozpuszczalnika [25]. Zastosowanie takich praktyk lokalnie byłoby właściwe dla przemysłu przetwórczego i żywnościowego, jednak są to wciąż metody drogie i nieoptymalne. W literaturze metody otrzymywania biopaliw z biomasy odpadowej (biopaliwa II generacji) są bardzo dobrze opisane i stanowią podstawę dalszych poszukiwań tańszych i bardziej ekologicznych rozwiązań.

Wysokie zawartości składników odżywczych (azot, potas) i mała zawartość substancji toksycznych metali ciężkich (kadm, ołów) umożliwiają zagospodarowanie odpadu pomidorowego jako kompost (tabela 3). Dopuszczalna zawartość metali ciężkich w roślinach dla kadmu wynosi 0,00002 mg/g, a dla ołowiu 0,002 mg/g [61]. Według Rady Kompostowania (ang. *US Composting Council*) kompost musi spełniać następujące limity zawartości wybranych metali ciężkich: 0,039 mg/g kadmu, 1,5 mg/g miedzi, 0,42 mg/g niklu, 0,3 mg/g ołowiu oraz 2,8 mg/g cynku [62]. Przy wykorzystaniu badanego materiału na kompost ze względu na stosunkowo wysoką zawartość azotu (rys. 4) należałoby dodać substrat kompostowy bogaty w węgiel, aby uzyskać stosunek C/N wynoszący ok. 20–30 [25]. Odpowiedni stosunek C/N można uzyskać, dawkując obornik lub biowęgiel [63]. Durmuş i in. zbadali wpływ kompostu pomidorowego na plon pomidorów [9]. Kompost pomidorowy składał się ze zgnitych owoców pomidora oraz zielonych pozostałości pomidorowych – szypułek, pędów i liści. Kompost charakteryzował się zawartością: 3,4% azotu, 1,42% fosforu, 1,02% potasu, 1,71% wapnia oraz 0,53% magnezu. Wykazali, że wysokie dawkowanie kompostu jako środka nawozowego działa korzystnie na plon. Klangkongsub i in. zbadali wpływ wermikompostu z odpadów pomidorowych (szypułka, pędy i liście) na plon kapusty chińskiej i kwiat cynii [57]. Wykazali, że powstały wermikompost jest bardzo dobrej jakości (całkowita zawartość: 1,37% azotu, 0,68% fosforu i 0,68% potasu) – obie rośliny wykazały znaczny wzrost. Wermikompostowanie z odpadów pomidora przyczynia się do wzrostu substancji humusowych, które aktywują szlaki metaboliczne roślin, działają korzystnie na regulację wzrostu roślin oraz poprawiają aktywność mikrobiologiczną mikroorganizmów [25]. Kompostowanie oraz wermikompostowanie skutkują produkcją materii

organicznej, z której można wyekstrahować substancje humusowe [64]. W zależności od pochodzenia mogą one wykazywać zróżnicowane działanie (nawet hamujące), więc należałoby wykonać badania dotyczące wpływu składu kompostu i wermikompostu na uprawę danej rośliny [65]. Wykazano, że stosowanie kompostów z odpadów pomidorowych przyczynia się do wzrostu zawartości azotu w glebie [66]. Wykorzystanie odpadu do kompostu byłoby możliwe, jednak należałoby skontrolować parametry, np. pH, zawartość metali ciężkich, zawartość składników odżywczych (azotu, fosforu, potasu) oraz obecność patogenów w kompoście.

WNIOSKI

1. Nawożenie zastosowanymi środkami nawozowymi – mączką gabra, mączką bazaltową oraz tufem wulkanicznym wpłynęło istotnie na zawartość wybranych pierwiastków w części nadziemnej roślin, czyli zielonym odpadzie pomidorowym.
2. Najlepsze parametry składników odżywczych uzyskano dla odpadów pomidora nawożonego mączką gabra. Odpad ten charakteryzował się wysoką zawartością azotu (18,73 mg/g), potasu (24,33 mg/g) i wapnia (22,11 mg/g).
3. Zielone odpady pomidorowe są bogate w podstawowe składniki odżywcze (azot, potas) oraz charakteryzują się niską zawartością metali toksycznych. W związku z tym byłyby odpowiednim substratem nawozowym do zastosowania w kompoście lub wermikompoście albo jako samoistny nawóz płynny bogaty w szeroką gamę składników odżywczych (przy uprzedniej odpowiedniej uprawie roślin i metodach nawożenia podczas okresu wegetacyjnego).
4. Do rozpatrywania odpadu pomidorowego dla pozostałych zastosowań (np. produkcja biopaliw, chemikaliów, ekstraktów) należałoby wykonać szereg badań uzupełniających, które dotyczyłyby zawartości m.in. celulozy, hemicelulozy, ligniny, węgla, wodoru, tlenu, siarki, związków flawonoidowych – w celu poszerzenia charakterystyki badanych surowców.
5. Odpad pomidorowy jest obiecującym surowcem w biorafineriach, sektorze nawozowym i rolnym oraz przemyśle chemicznym. Jednak ze względu na duże rozproszenie odpadu pomidorowego zaleca się produkcję i utylizację lokalnie, czego efektem będzie ograniczenie kosztów, energii oraz emisji gazów cieplarnianych.

LITERATURA

- [1] Liu X., Xie Y., Sheng H. Green waste characteristics and sustainable recycling options. *Resour. Environ. Sustain.* 2023, 11.
- [2] Ries J., Chen Z., Park Y. Potential applications of food-waste-based anaerobic digestate for sustainable crop production practice. *Sustainability* 2023, 15(11).
- [3] Stylianou M., Laifi T., Bennici S., Doutournie P., Limousy L., Agapiou A., Papamichael I., Khiari B., Jeguirim M., Zorpas A.A. Tomato waste biochar in the framework of circular economy. *Sci. Total Environ.* 2023, 871.

- [4] Trombino S., Cassano R., Procopio D., Di Gioia M.L., Barone E. Valorization of tomato waste as a source of carotenoids. *Molecules* 2021, 26(16).
- [5] Bhanghe V.P., Prince William S.P., Vaidya A.N., Chokhandre A.R. Green waste as a resource for value added product generation: a review. *Int. J. Recent Trends Sci. Technol.* 2012, 4(1), 22–33.
- [6] Rutkowska A. Możliwość wykorzystania organicznych surowców odpadowych do produkcji nawozów i środków poprawiających właściwości gleby, <https://www.iung.pl/wp-content/uploads/2023/01/Rutkowska-Tom-2.pdf> (dostęp: 27.03.2024).
- [7] Ustawa z dnia 14 grudnia 2012 r. o odpadach (t.j. Dz. U. z 2023 r. poz. 1587 ze zm.)
- [8] Kopeć M., Szewczyk W., Badach E., Chwastek M., Dacko M., Płonka A., Wojewodzic T. Szacowanie potencjału bioodpadów w przykładowej gminie. *Pol. J. Sustain. Dev.* 2023, 27(2), 35–42.
- [9] Durmuş M., Kızılkaya R. The effect of tomato waste compost on yield of tomato and some biological properties of soil. *Agronomy* 2022, 12(6).
- [10] De Corato U. Agricultural waste recycling in horticultural intensive farming systems by on-farm composting and compost-based tea application improves soil quality and plant health: A review under the perspective of a circular economy. *Sci. Total Environ.* 2020, 738.
- [11] Azim K., Soudi B., Boukhari S., Perissol C., Roussos S., Thami Alami I. Composting parameters and compost quality: A literature review. *Organ. Agric.* 2017, 8.
- [12] González-Hernández A.I., Gómez-Sánchez M.A., Pérez-Sánchez R., Morales-Corts M.R. Garden waste compost tea: A horticultural alternative to promote plant growth and root traits in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Horticulturae* 2023, 9(10).
- [13] Tomato. *Britannica*, <https://www.britannica.com/plant/tomato> (dostęp: 23.03.2024).
- [14] Chabi I.B., Zannou O., Dedehou E.S., Ayegnon B.P., Odouaro O.B., Maqsood S., Galanakis C.M., Kayode A.P. Tomato pomace as a source of valuable functional ingredients for improving physicochemical and sensory properties and extending the shelf life of foods: A review. *Heliyon* 2024, 10(3).
- [15] Naziri E., Nenadis N., Mantzouridou F., Tsimidou M. Valorization of the major agrifood industrial by-products and waste from Central Macedonia (Greece) for the recovery of compounds for food applications. *Food Res. Int.* 2014, 65, 350–358.
- [16] Nayak A., Bhushan B. An overview of the recent trend on the waste valorization techniques for food wastes. *J. Environ. Manag.* 2019, 233, 352–370.
- [17] Madia V.N., De Vita D., Ialongo D., Tudino V., De Leo A., Scipione L., Di Santo R., Costi R., Messori A. Recent advances in recovery of lycopene from tomato waste: a potent antioxidant with endless benefits. *Molecules* 2021, 26(15).
- [18] Almedia P.V., Rodrigues R.P., Gaspar M.C., Braga M.E., Quina M.J. Integrated management of residues from tomato production: Recovery of value-added compounds and biogas production in the biorefinery context. *J. Environ. Manag.* 2021, 299.
- [19] Sharma K., Kaur H. Influence of macro and micro nutrients on growth and yield parameters of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) under open field conditions. *Pharma Innov. J.* 2023, 12(6), 4842–4844.
- [20] Ahmed N., Zhang B., Chachar Z., Li J., Xiao G., Wang Q., Hayat F., Deng L., Narejo M., Bozdar B., Tu P. Micronutrients and their effects on Horticultural crop quality, productivity and sustainability. *Sci. Hortic.* 2024, 323.
- [21] Neal J., Wilkie A.C. Anaerobic digester effluent as fertilizer for hydroponically grown tomatoes. *J. Undergr. Res.* 2014, 15(3).

- [22] Magwaza S.T., Magwaza L.S., Odindo A.O., Mditshwa A., Buckley C. Partially treated domestic wastewater as a nutrient source for tomatoes (*Lycopersicon solanum*) grown in a hydroponic system: effect on nutrient absorption and yield. *Heliyon* 2020, 6(12).
- [23] Heuvelink E. Tomatoes. CAB International, 2005.
- [24] Junker-Frohn L.V., Lück M., Schmittgen S., Wensing J., Carraresi L., Thiele B., Groher T., Reimer J.J., Bröring S., Noga G., Jupke A., Schurr U., Usadel B., Wiese-Klinkenberg A., Wormit A. Tomato's green gold: bioeconomy potential of residual tomato leaf biomass as a novel source for the secondary metabolite rutin. *ACS Omega* 2019, 4(21), 19071–19080.
- [25] Fritsch C., Staebler A., Happel A., Marquez M.A., Aguilo-Aguayo I., Abadias M., Gallur M., Cicognini I.M., Montanari A., Lopez M.J., Suarez-Estrella F., Brunton N., Luengo E., Sisti L., Ferri M., Belotti G. Processing, valorization and application of bio-waste derived compounds from potato, tomato, olive and cereals: a review. *Sustainability* 2017, 9(8).
- [26] Aniceto J.P., Rodrigues V.H., Portugal I., Silva C.M. Valorization of tomato residues by supercritical fluid extraction. *Processes* 2022, 10(1).
- [27] Benitez J.J., Ramirez-Pozo M.C., Duran-Barrantes M.M., Heredia A. Bio-based lacquers from industrially processed tomato pomace for sustainable metal food packaging. *J. Clean. Prod.* 2023, 386.
- [28] Jasiński M., Mazurkiewicz E., Rodziewicz P., Figlerowicz M. Flawonoidy – budowa, właściwości i funkcja ze szczególnym uwzględnieniem roślin motylkowatych. *Biotechnologia* 2009, 2(85), 81–94.
- [29] Løvdal R., Olsen K.M., Slimestad R., Verheul M., Lillo C. Synergetic effects of nitrogen depletion, temperature, and light on the content of phenolic compounds and gene expression in leaves of tomato. *Phytochemistry* 2010, 71, 605–613
- [30] Bénard C., Bourgaud F., Gautier H. Impact of temporary nitrogen deprivation on tomato leaf phenolics. *Int. J. Mol. Sci.* 2011, 12(11), 7971–7981.
- [31] Semeraro B., Summa D., Costa S., Zappaterra F., Tamburini E. Bio-delignification of green waste (GW) in co-digestion with the organic fraction of municipal solid waste (OFMSW) to enhance biogas production. *Appl. Sci.* 2021, 11(13).
- [32] Jadczyzyn T., Winiarski R. Wykorzystanie pofermentu z biogazowni rolniczych do nawożenia. *Stud. Rap. IUNG-PIB* 2017, 53(7), 105–118.
- [33] Piątek M., Bartkowiak A. Ocena wybranych właściwości fizykochemicznych gleby nawożonej masą pofermentacyjną. *Woda Środ. Obsz. Wiej.* 2019, 19(1), 55–66.
- [34] Pirozzi A., Olivieri F., Castaldo R., Gentile G., Donsi F. Cellulose isolation from tomato pomace: part II – integrating high-pressure homogenization in a cascade hydrolysis process for the recovery of nanostructured cellulose and bioactive molecules. *Foods* 2023, 12(17).
- [35] Schiavi D., Ronchetti R., Di Lorenzo V., Vivani R., Giovagnoli S., Camaioni E., Balestra G.M. Sustainable protocols for cellulose nanocrystals synthesis from tomato waste and their antimicrobial properties against *Pseudomonas syringae* pv. tomato. *Plants* 2023, 12(4).
- [36] Jiang F., Hsieh Y. Cellulose nanocrystal isolation from tomato peels and assembled nanofibers. *Carbohydr. Polym.* 2015, 122, 60–68.
- [37] Moradi E., Fathi M. Production of cellulose nanocrystals from tomato pomace as a food waste and their application for stabilizing of Pickering emulsions. *Bioact. Carbohydr. Diet. Fibre* 2023, 30.
- [38] Grande L., Pedroarena I., Korili S.A., Gil A. Hydrothermal liquefaction of biomass as one of the most promising alternatives for the synthesis of advanced liquid biofuels: a review. *Materials* 2021, 14(18).

- [39] Zhang B., Biswal B.K., Zhang J., Balasubramanian R. Hydrothermal treatment of biomass feedstocks for sustainable production of chemicals, fuels, and materials: progress and perspectives. *Chem. Rev.* 2023, 123(11), 7193–7294.
- [40] Dunlop S.J., Arbestain M.C., Bishop P.A., Wargent J.J. Closing the loop: use of biochar produced from tomato crop green waste as a substrate for soilless, hydroponic tomato production. *HortScience horts*, 2015, 50(10), 1572–1581.
- [41] PN-EN ISO 18134-3:2023-12, Biopaliwa stałe. Oznaczanie zawartości wilgoci. Część 3: Wilgoć w próbce do analizy ogólnej.
- [42] PN-EN ISO 5983-1:2006, Pasze. Oznaczanie zawartości azotu i obliczanie zawartości białka ogólnego. Część 1: Metoda Kjeldahla.
- [43] Kjeldahl J. New method for the determination of nitrogen in organic substances. *Zeit. Anal. Chem.* 1883, 22(1), 366–383.
- [44] Tyszkiewicz Z.E., Czubaszek R., Roj-Rojewski S. Podstawowe metody laboratoryjnej analizy gleby. *Po-
litechnika Białostocka*, 2019.
- [45] Maliszewski M. Preliminary studies of the psychico-chemical properties of basalt rock flour from the Męcinka Mine in Lower Silesia. *Min. Sci.* 2021, 28, 175–187.
- [46] Zagożdżon P.P. Mączki bazaltowe w zastosowaniach rolniczych i pokrewnych. *Min. Sci.* 2008, 34, 133–142.
- [47] Moscatelli M.C., Massaccesi L., Marabottini R., Primavera F., Riccini A., Marinari S. The beneficial use of balast flour comined to a microbial consortium to improve soil quality in basalt and carbonatic dismissed quarries. *Catena* 2024, 237.
- [48] Tyburski J. Żyzność gleby i gospodarka nawozowa w rolnictwie ekologicznym. https://iung.pl/sir/zeszyto6_4.pdf (dostęp: 4.04.2024).
- [49] Kubuszewski T. Podobieństwa i różnice we właściwościach kruszyw gabrowych i bazaltowych. *Min. Sci.* 2012, 134(41), 153–162.
- [50] Asniar N., Purwana Y.M., Surjandari N.S. Tuff as rock and soil: review of the literature on tuff geotechnical, chemical and mineralogical properties around the World and in Indonesia. *AIP Conf. Proceed.* 2019, 2114.
- [51] Mikuła J., Łach M. Potencjalne zastosowania glinokrzemianów pochodzenia wulkanicznego. *Tech. Trans.* 2012, 109(8), 109–122.
- [52] Manu M.K., Kumar R., Garg A. Physical and chemical characterization of yard Waste. *Int. J. Appl. Eng. Res.* 2013, 16(16), 1891–1896.
- [53] Boldrin A., Christensen T.H. Seasonal generation and composition of garden waste in Aarhus (Denmark). *Waste Manag.* 2010, 30(4), 551-557.
- [54] Chaudhary P., Sharma A., Singh B., Nagpal A.K. Bioactivities of phytochemicals present in tomato. *J. Food Sci. Technol.* 2018, 55(8), 2833–2849.
- [55] Galieni A., Stagnari F., Specca S., D'Egidio S., Pagnani G., Pisante M. Management of crop residues to improve quality traits of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruits. *Ital. J. Agron.* 2017, 12(1).
- [56] Erba D., Casiraghi M.C., Ribas-Agusti A., Caceres R., Marfa O., Castellari M. Nutritional value of tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) grown in greenhouse by different agronomic techniques. *J. Food Compos. Anal.* 2013, 31(2), 245–251.
- [57] Klangkongsub S., Sohsalam P. Vermicompost production by using tomato residue and yard waste. *J. Med. Bioengin.* 2013, 2(4), 270–273.

- [58] Szilágyi A., Bodor A., Tolvai N., Kovacs K.L., Bodai L., Wirth R., Bagi Z., Szepesi A., Marko V., Kakuk B., Bounedjoum N., Rakhely G. A comparative analysis of biogas production from tomato bio-waste in mesophilic batch and continuous anaerobic digestion systems. *PLoS One* 2021, 16(3).
- [59] Kua Y.L., Gan S., Morris A., Kiat H. Ethyl lactate as a potential green solvent to extract hydrophilic (polar) and lipophilic (non-polar) phytonutrients simultaneously from fruit and vegetable by-products. *Sustain. Chem. Pharm.* 2016, 4, 21–31.
- [60] Chemat-Djenni Z., Ferhat M.A., Tomao V., Chemat F. Carotenoid extraction from tomato using a green solvent resulting from orange processing waste. *J. Essent. Oil-Bear. Plants* 2013, 13(2), 139–147.
- [61] Permissible limits of heavy metals in soil and plants. WHO, 1996.
- [62] US Composting Council. <https://www.compostingcouncil.org/page/TestResultLimits> (dostęp: 12.04.2024).
- [63] Wei L., Shutao W., Jin Z., Tong X. Biochar influences the microbial community structure during tomato stalk composting with chicken manure. *Bioresour. Technol.* 2014, 154, 148–154.
- [64] Gonet S.S., Cerny J. Zastosowanie preparatów humusowych z oxyhumolitów w uprawie pomidora w szklarni. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 1996, 429, 109–111.
- [65] Rose M.T., Patti A., Little K., Brown A. A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: practical implications for agriculture. *Adv. Agron.* 2014, 124, 37–89.
- [66] Tits M., Elsen A., Bries J., Vandendriessche H. Short-term and long-term effects of vegetable, fruit and garden waste compost applications in an arable crop rotation in Flanders. *Plant Soil* 2014, 376, 43–59.

Aktywne biologicznie estrokwaty z kationem pochodzącym od L-karnityny

Tomasz RZEMIENIECKI, Adriana OLEJNICZAK, Damian Krystian KACZMAREK,
Michał NIEMCZAK

Politechnika Poznańska, Wydział Technologii Chemicznej

WSTĘP

Karnityna, związek chemiczny naturalnie występujący w organizmach żywych, odgrywa istotną rolę w transporcie kwasów tłuszczowych do mitochondriów, gdzie są one przekształcane w energię niezbędną do normalnego funkcjonowania komórek [1]. Ze względu na intensywne zapotrzebowanie energetyczne mięśni szkieletowych i serca u zwierząt tkanki te zawierają szczególnie wysoki poziom karnityny w porównaniu z innymi częściami organizmu. Atom węgla z przyłączoną grupą hydroksylową w strukturze karnityny jest atomem chiralnym, a związek ten występuje w organizmach żywych przeważnie w formie L-karnityny [2]. Dzięki roli, jaką odgrywa w procesach biologicznych, L-karnityna uznawana jest za substancję niemutagenną, niekancerogenną i niskotoksyczną dla ludzi. Dawka wywołująca trwałe negatywne skutki dla zdrowia ludzkiego nie została dotąd ustalona [3].

Z uwagi na obecność czwartorzędowego atomu azotu oraz grupy karboksylanowej w strukturze L-karnityny istnieje możliwość przeprowadzenia reakcji alkilowania tego związku z użyciem 1-halogenoalkanów w celu uzyskania substancji o zupełnie odmiennych właściwościach: halogenków L-karnitynianu alkilu. Bromki L-karnitynianu alkilu, które mają łańcuch alkilowy składający się z co najmniej osiem atomów węgla, wykazują wysoką aktywność powierzchniową, co wynika z amfifilowej struktury chemicznej [4]. Ponadto Grassiri i in. wykazali, że sole zawierające kation L-karnitynianu alkilu charakteryzują się znaczną aktywnością przeciwdrobnoustrojową [5]. Skutkiem *O*-alkilowania grupy karboksylanowej w strukturze L-karnityny w kationie jest pojawienie się wiązania estrowego. Produkty tej reakcji należą zatem do estrokwatów (ang. *esterquats*), czyli substancji jonowych mających w swojej strukturze zarówno czwartorzędowy atom azotu, jak i grupę estrową. Substancje te znane są z amfifilowości, a ze względu na ulepszoną biodegradowalność uważane są za przyjaźniejsze środowisku niż tradycyjne surfaktanty kationowe, takie jak np. halogenki benzalkoniowe [6]. Jako estrokwaty kationy L-karnitynianu alkilu łatwo ulegają hydrolizie do nietoksycznych lub słabo toksycznych produktów, takich jak L-karnityna i alkohole tłuszczowe. Wszystkie te właściwości przyczyniają się do wysokiego potencjału aplikacyjnego soli L-karnitynianu alkilu, jednakże ich podatność na degradację w obecności wody, zwłaszcza w podwyższonej temperaturze i środowisku zasadowym, sprawia, że produkty te wymagają ścisłej kontroli warunków reakcji oraz przechowywania.

Antyoksydanty to grupa substancji chemicznych, których działanie polega na zdolności do neutralizowania wolnych rodników stanowiących przyczynę występowania stresu oksydacyjnego

w organizmach żywych. Ponieważ istnieje sugerowana zależność pomiędzy stresem oksydacyjnym a ryzykiem zachorowania na nowotwory [7], antyoksydanty mogą być postrzegane jako potencjalne czynniki ograniczające występowanie chorób nowotworowych u ludzi. W związku z tym istnieje potrzeba przeprowadzania dokładnych badań i rozwoju działań dotyczących tej grupy związków. Do znanych substancji o właściwościach antyoksydacyjnych należą naturalne kwasy fenolowe, takie jak kwas galusowy, kwas syringowy, kwas gentyzynowy i kwas wanilinowy. Niemniej jednak substancje te są podatne na degradację, dlatego wymagają szczególnych warunków przechowywania.

W celu połączenia aktywności przeciwdrobnoustrojowej halogenków L-karnitynianu alkilu oraz działania antyoksydacyjnego kwasu gentyzynowego, a przy tym mając na uwadze naturalne pochodzenie wymienionych surowców i ich ograniczoną toksyczność, dokonano syntezy soli zawierających oba jony aktywne biologicznie. Należy podkreślić, że gentyzyniany L-karnitynianu alkilu nie zostały dotychczas opisane w żadnej publikacji naukowej, a połączenie potencjalnej aktywności antyseptycznej i antyoksydacyjnej oraz amfifilowy charakter związku polepszający biodostępność substancji aktywnej mogą stanowić o ich wysokim potencjale aplikacyjnym. Celem potwierdzenia poprawności struktur nowych związków chemicznych zaplanowano analizę spektroskopową. Zbadano także rozpuszczalność otrzymanych gentyzynianów oraz wstępnie określono stopień zagrożenia związanego z ich wpływem na środowisko naturalne poprzez ocenę toksyczności ostrej wobec organizmów wodnych.

METODYKA PROWADZENIA BADAŃ

Użyte materiały

L-karnitynę (98%), bromoetan (99%), 1-bromoheksan (98%), 1-bromododekan (97%), 1-bromooktadekan (97%), kwas gentyzynowy (98%), chlorek potasu (99%), wodorowęglan sodu (>99,7%) oraz kwas borowy (>99,5%) zakupiono od firmy Merck (Niemcy). Wodorotlenek potasu (85%), aceton (99,6%), acetonitryl (99,5%), chloroform (98,0%), dimetylosulfotlenek (99,0%), heksan (99,0%), 2-propanol (99,0%), metanol (99,8%), octan etylu (99,5%), toluen (99,0%) zostały wyprodukowane przez firmę Avantor (Stany Zjednoczone). Odczynniki do przygotowania wody morskiej: chlorek sodu, dwuwodny chlorek wapnia, sześciowodny chlorek magnezu dostarczyła firma Chempur (Polska), natomiast siedmiowodny siarczan magnezu dostarczyła firma Pol-Aura (Polska). Woda destylowana (przewodnictwo <2 $\mu\text{S}/\text{m}$) została wytworzona w Zakładzie Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej.

Synteza związków

Bromki L-karnitynianu alkilu zostały otrzymane na drodze *O*-alkilowania karnityny odpowiednim 1-bromoalkanem zgodnie z uprzednio opisanymi procedurami [8]. W celu otrzymania gentyzynianu potasu rozpuszczono w metanolu kwas gentyzynowy, po czym w stechiometrycznej ilości dodano wodorotlenku potasu. Układ reakcyjny mieszano przez 30 min w temperaturze pokojowej, następnie odparowano rozpuszczalnik i suszono próżniowo gotowy produkt.

Syntezę gentyzynianów L-karnitynianu alkilu przeprowadzono według jednoetapowej metody na drodze wymiany jonowej. Do wyposażonej w mieszadło magnetyczne kolby okrągłodennej

wprowadzono roztwór odpowiedniego bromku L-karnitynianu alkilu w metanolu, po czym dodano wytworzony uprzednio gentyzynian potasu w stosunku molowym 1:1. Następnie uruchomiono mieszanie i prowadzono reakcję wymiany w czasie 20 min, zachowując stałą temperaturę roztworu równą 25°C. Po zakończeniu reakcji ochłodzono mieszaninę poreakcyjną do -10°C i odsączono wytrącony z metanolu bromek potasu na drodze sączenia próżniowego. W dalszej kolejności z przesączu odparowano metanol, a pozostałość rozpuszczono w bezwodnym acetonie w celu usunięcia pozostałości soli nieorganicznej. W przypadku trudności z rozpuszczeniem produktu w acetonie do układu dodawano bezwodny metanol w takiej objętości, by z acetonem tworzył mieszaninę w stosunku 1:30 objętościowo. Roztwór gentyzynianu L-karnitynianu alkilu w acetonie ochłodzono do temperatury -15°C, po czym przesączono, a osad dwukrotnie przemyto czystym acetonem. Z uzyskanego przesączu odparowano aceton, a uzyskany surowy produkt suszono w warunkach obniżonego ciśnienia w celu usunięcia lotnych pozostałości.

Analiza spektroskopowa

Uzyskane związki scharakteryzowano z użyciem technik spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR) oraz protonowego i węglowego magnetycznego rezonansu jądrowego (^1H i ^{13}C NMR) w celu potwierdzenia poprawności struktury chemicznej otrzymanych produktów. Widma FT-IR zarejestrowano z użyciem spektrometru ReactIR® 15 (Mettler Toledo™, Stany Zjednoczone) wyposażonego w sondę z diamentową końcówką zdolną do generowania widm w zakresie liczby falowej 650–3000 cm^{-1} . Pomiar prowadzono, nakładając czysty związek na sondę spektrometru i analizując zarejestrowane widmo za pomocą oprogramowania iCIR 4.3. Pomiedzy kolejnymi pomiarami dokładnie przemywano sondę czystym metanolem aż do zaniku wszelkich sygnałów pochodzących od poprzedniego związku.

Widma protonowego i węglowego magnetycznego rezonansu jądrowego zarejestrowano w Środowiskowym Laboratorium Unikalnej Aparatury Chemicznej w Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. W tym celu użyto aparatu Varian XL generującego widma z częstotliwością 400 MHz dla widm protonowych i 100 MHz dla widm węglowych. Wzorcem do określenia przesunięcia chemicznego był tetrametylosilan, a jako rozpuszczalnika użyto deuterowanego metanolu.

Analiza rozpuszczalności

Dla wszystkich otrzymanych gentyzynianów L-karnitynianu alkilu określono rozpuszczalność w wodzie oraz w dziewięciu rozpuszczalnikach organicznych, które uszeregowano według malejącej polarności w skali Snydera: metanolu, dimetylosulfotlenku (DMSO), acetonitrylu, acetonu, 2-propanolu, octanu etylu, chloroformu, toluenu oraz heksanu. Analizę przeprowadzono zgodnie ze zmodyfikowaną metodyką opracowaną przez A.I. Vogela [9], w ramach której badano kolejne progi rozpuszczalności według ściśle określonej procedury. Pomiary prowadzono w stałej temperaturze 25°C. Do naważki 0,1 g ($\pm 0,001$ g) badanego związku dodano 1 cm^3 danego rozpuszczalnika i oceniono rozpuszczalność po upływie 1 min. Jeśli naważka pozostała nierozpuszczona, dodawano kolejne 2 cm^3 rozpuszczalnika, ponownie mieszano i określano, czy związek uległ rozpuszczeniu. W zależności od przeprowadzonej obserwacji oceniono zakres rozpuszczalności każdego ze związków. Jeśli badany związek ulegał rozpuszczeniu w 1 cm^3 rozpuszczalnika (>100 g/dm^3), określano go jako dobrze rozpuszczalny („+”), w przypadku rozpuszczenia w 3 cm^3 (33,3–100 g/dm^3) ozna-

czano związek jako średnio rozpuszczalny („±”), natomiast w przypadku nierozpuszczenia naważki w 3 cm³ rozpuszczalnika i podgrzaniu (<33,3 g/dm³) uznawano związek za trudno rozpuszczalny („–”) w danym rozpuszczalniku.

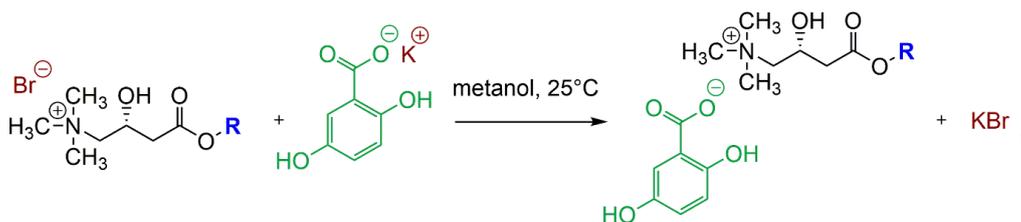
Analiza ekotoksyczności ostrej

W celu określenia wpływu otrzymanych związków na organizmy żyjące w środowisku wodnym wykorzystano zestawy testowe Artoxkit M (MicroBioTests Inc., Belgia) do pomiaru toksyczności ostrej wobec skorupiaków morskich z gatunku słonaczek (*Artemia franciscana* L.). Zgodnie z instrukcją producenta Artoxkit M celem wstępnego oznaczenia wpływu badanych związków na skorupiaki przygotowano szereg roztworów badanych związków o malejących stężeniach: 1000, 100, 10, 1 i 0,1 mg/dm³ w roztworze wodnym o składzie symulującym wodę morską i zawierającym następujące składniki: chlorek sodu (26,4 g/dm³), chlorek potasu (0,84 g/dm³), dwuwodny chlorek wapnia (1,67 g/dm³), sześciowodny chlorek magnezu (4,60 g/dm³), siedmiowodny siarczan(VI) magnezu (5,58 g/dm³), wodorowęglan sodu (0,17 g/dm³) oraz kwas borowy (0,03 g/dm³). Układem kontrolnym było medium niezawierające dodatku gentyzyny L-karnitynianu alkilu. Ze względu na możliwość hydrolizy kationu L-karnitynianu alkilu analizy rozpoczęto w czasie do 1 h po przygotowaniu roztworów. W każdym z badanych roztworów umieszczono po 10 żywych osobników *A. franciscana*, które zostały pozyskane 30 h przed eksperymentem z cyst wskutek ich inkubacji. Pojemniki z badanymi roztworami były inkubowane w temperaturze 25°C. Po 24 i 48 h od rozpoczęcia eksperymentu zbadano liczbę żywych osobników w każdym z badanych roztworów. Każdą próbę powtórzono trzykrotnie. Na podstawie średniej wartości uzyskanych wyników określono zakres toksyczności badanych gentyzyny L-karnitynianu alkilu oraz efektywne stężenie, w którym przeżywalność organizmów wynosiła 50% (EC₅₀).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Synteza

Wskutek zastosowania reakcji wymiany jonowej z użyciem czwartorzędowego halogenku amoniowego i soli alkalicznej kwasu organicznego uzyskano szereg homologiczny nowych związków chemicznych należących do grupy estrokwatów. Nowo otrzymane związki zawierały w kationie nierozgałęziony podstawnik alkilowy mający 2, 6, 12 lub 18 atomów węgla. W toku dalszych badań możliwa zatem była ocena wpływu znacznej zmiany długości podstawnika alkilowego na właściwości syntezowanego gentyzyny. Źródło kationu zawierającego wiązanie estrowe otrzymywane było w reakcji O-alkilowania, która charakteryzuje się pełną ekonomią atomową i brakiem powstawania produktów ubocznych [8]. Proces reakcji wymiany anionu bromkowego w kationie estrokwatu pochodzącego od L-karnityny na anion pochodzący od kwasu gentyzynowego przedstawiono na rys. 1. Jako rozpuszczalnika użyto bezwodnego metanolu, a proces był możliwy do przeprowadzenia w temperaturze pokojowej. Wydajność syntez według zaproponowanej metody była bardzo wysoka i mieściła się w zakresie 97–99% wartości teoretycznej. Bez względu na długość podstawnika alkilowego w kationie wszystkie uzyskane produkty miały postać wysoce lepkich cieczy. Zjawisko to wynika najprawdopodobniej z obecności w kationie i anionie nowych związków licznych grup hydroksylowych, które były zdolne do tworzenia licznych wiązań wodorowych.

Rys. 1. Synteza gentyzynianów L-karnitynianu alkilu, R = C₂H₅, C₆H₁₃, C₁₂H₂₅, C₁₈H₃₇

Opracowano metodykę przeprowadzania wymiany jonowej, która umożliwiała efektywne oczyszczanie mieszaniny poreakcyjnej z powstającego produktu ubocznego – bromku potasu. Proces dwuetapowego usuwania nieorganicznego halogenku składał się z chłodzenia mieszaniny poreakcyjnej i jej przesączania oraz z ługowania powstałej pozostałości acetonem, w którym rozpuszczalność bromku potasu jest bardzo niska. Wskutek zastosowania takiego zestawu operacji laboratoryjnych zawartość halogenków w uzyskanym roztworze nie przekraczała 500 ppm, co potwierdził test polegający na wkropleniu wodnego roztworu uzyskanych gentyzynianów L-karnitynianu alkilu do 0,001-molowego roztworu azotanu srebra. Właściwości uzyskanych produktów zestawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Otrzymane gentyzyniany L-karnitynianu alkilu

Nr związku	R	Wydajność syntezy [%]	Postać w temperaturze 25°C	Zawartość wody [%]
1	C ₂ H ₅	97	wysoco lepka ciecz	2,02
2	C ₆ H ₁₃	99	wysoco lepka ciecz	1,97
3	C ₁₂ H ₂₅	98	wysoco lepka ciecz	4,03
4	C ₁₈ H ₃₇	97	wysoco lepka ciecz	1,76

R – podstawnik alkilowy w strukturze kationu L-karnitynianu alkilu.

Ze względu na higroskopijność uzyskanych produktów dodatkowo wykonano analizę zawartości wody metodą Karla–Fischera z użyciem kulometru TitroLine 7500 KF firmy SI Analytics (Niemcy). Wyniki tej analizy wykazały, że pomimo długotrwałego suszenia w warunkach obniżonego ciśnienia analizowane produkty zawierały od 1,76 (związek nr 4) do 4,0% (związek nr 3) wody w masie. Obniżenie tej zawartości wymagałoby przeprowadzania syntez i przechowywania związków z użyciem zaawansowanych technik laboratoryjnych takich jak praca w komorze rękawicowej bądź częściowego usuwania wody na drodze wielokrotnej destylacji azeotropowej z użyciem specjalnie przygotowanych rozpuszczalników. Dlatego też obecność określonej ilości wody w uzyskanych związkach została uwzględniona w toku przygotowywania naważek na dalszych etapach analizy otrzymanych gentyzynianów.

Analiza spektroskopowa

Przeprowadzenie analizy spektroskopowej z użyciem podstawowych technik jak FT-IR lub NMR jest istotną częścią charakterystyki nowych związków organicznych. Wyniki analiz wykonanych wymienionymi technikami umożliwiają ponadto potwierdzenie poprawności zaplanowanej struktury chemicznej związków. Ze względu na ograniczoną stabilność chemiczną kwasu gentyzyno-

wego i możliwość jego degradacji w toku prowadzenia reakcji, a także możliwość zajścia reakcji ubocznych kationu estrokwatu (hydroliza wiązania estrowego, transestryfikacja), sprawdzenie obecności wszystkich elementów założonej struktury chemicznej gentyzynianów L-karnitynianu alkilu jest szczególnie istotne.

Dla wszystkich uzyskanych soli kwasu gentyzynowego zarejestrowano widma FT-IR oraz protonowe i węglowe widma NMR. Opis widm przedstawiono poniżej:

Gentyzynian L-karnitynianu etylu

FT-IR (substancja czysta, cm^{-1}) = 2931; 2918; 2871; 2859; 1724; 1640; 1590; 1485; 1461; 1375; 1344; 1240; 1186; 1075; 965; 960; 936; 830; 785; 720; 685.

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ [ppm] = 1,24 (3H, $J = 7,1$ Hz, t); 2,54 (2H, $J_{1,2} = 1,6$ Hz; $J_{1,3} = 6,3$, dd); 3,20 (9H, s); 3,41 (2H, m); 4,13 (2H, $J_{1,2} = 2,1$; $J_{1,3} = 7,2$ Hz, qd); 4,57 (1H, m); 6,64 (1H, m); 6,79 (1H, $J_{1,2} = 3,1$; $J_{1,3} = 8,7$ Hz, dd); 7,28 (1H, m).

^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ [ppm] = 14,49 (1C); 41,19 (1C); 54,98 (3C); 61,98 (1C); 64,11 (1C); 71,16 (1C); 117,04 (1C); 117,55 (1C); 120,31 (1C); 121,50 (1C); 149,84 (1C); 155,60 (1C); 171,92 (1C); 175,72 (1C).

Gentyzynian L-karnitynianu heksylu

FT-IR (substancja czysta, cm^{-1}) = 2920; 2856; 1725; 1640; 1591; 1485; 1460; 1376; 1340; 1240; 1221; 1184; 1075; 965; 960; 935; 831; 785; 720; 685.

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ [ppm] = 0,89 (3H, m); 1,31 (6H, m); 1,61 (2H, m); 2,57 (2H, $J_{1,2} = 3,5$; $J_{1,3} = 6,3$ Hz, dd); 3,23 (9H, s); 3,45 (2H, m); 4,09 (2H, $J_{1,2} = 3,5$; $J_{1,3} = 6,7$ Hz, td); 4,58 (1H, m); 6,66 (1H, $J_{1,2} = 0,4$; $J_{1,3} = 8,7$ Hz, dd); 6,81 (1H, $J_{1,2} = 3,1$; $J_{1,3} = 8,7$ Hz, dd); 7,30 (1H, m).

^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ [ppm] = 14,49 (1C); 23,66 (1C); 26,72 (1C); 29,68 (1C); 30,91 (1C); 32,64 (1C); 41,27 (1C); 55,09 (3C); 64,23 (1C); 66,17 (1C); 71,20 (1C); 117,05 (1C); 117,66 (1C); 120,40 (1C); 121,61 (1C); 149,92 (1C); 155,55 (1C); 172,06 (1C); 175,66 (1C).

Gentyzynian L-karnitynianu dodecylu

FT-IR (substancja czysta, cm^{-1}) = 2920; 2855; 1725; 1640; 1590; 1485; 1460; 1375; 1340; 1240; 1185; 1075; 965; 960; 935; 830; 785; 720; 685.

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ [ppm] = 0,90 (3H, m); 1,27 (18H, m); 1,62 (2H, m); 2,58 (2H, $J_{1,2} = 4,9$; $J_{1,3} = 6,3$ Hz, dd); 3,22 (9H, s); 3,45 (2H, m); 4,10 (2H, $J_{1,2} = 3,3$; $J_{1,3} = 6,8$ Hz, td); 4,59 (1H, m); 6,64 (1H, m); 6,80 (1H, $J_{1,2} = 3,2$; $J_{1,3} = 8,7$ Hz, dd); 7,29 (1H, m).

^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ [ppm] = 14,49 (1C); 23,66 (1C); 27,00 (1C); 29,68 (1C); 30,71 (1C); 30,91 (4C); 32,64 (1C); 41,27 (1C); 55,09 (3C); 64,23 (1C); 66,10 (1C); 71,20 (1C); 117,14 (1C); 117,66 (1C); 120,40 (1C); 121,64 (1C); 149,94 (1C); 155,70 (1C); 172,09 (1C); 175,66 (1C).

Gentyzynian L-karnitynianu oktadecylu

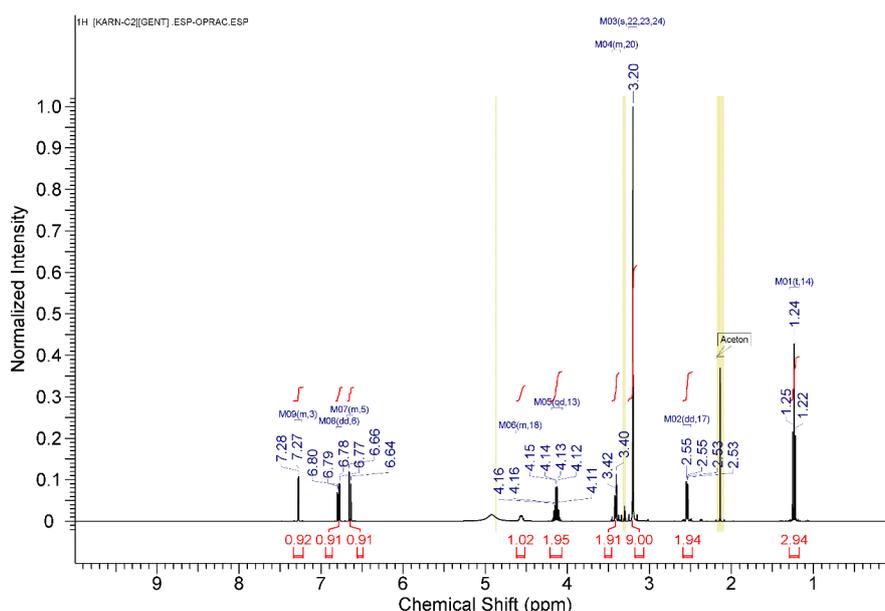
FT-IR (substancja czysta, cm^{-1}) = 2919; 2855; 1725; 1640; 1590; 1485; 1460; 1375; 1340; 1240; 1185; 1076; 965; 960; 936; 830; 785; 720; 685.

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ [ppm] = 0,89 (3H, m); 1,31 (30H, m); 1,63 (2H, m); 2,56 (2H, $J_{1,2} = 2,2$; $J_{1,3} = 6,4$ Hz, dd); 3,21 (9H, s); 3,43 (2H, m); 4,09 (2H, m); 4,59 (1H, m); 6,65 (1H, $J = 8,7$ Hz, d); 6,78 (1H, $J_{1,2} = 3,1$; $J_{1,3} = 8,7$ Hz, dd); 7,28 (1H, $J = 3,1$ Hz, d).

^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ [ppm] = 14,54 (1C); 23,78 (1C); 27,05 (1C); 29,71 (1C); 30,47 (1C); 30,84 (10C); 33,12 (1C); 41,14 (1C); 54,94 (3C); 64,15 (1C); 66,11 (1C); 71,16 (1C); 117,02 (1C); 117,52 (1C); 120,23 (1C); 121,48 (1C); 149,83 (1C); 155,62 (1C); 172,03 (1C); 175,77 (1C).

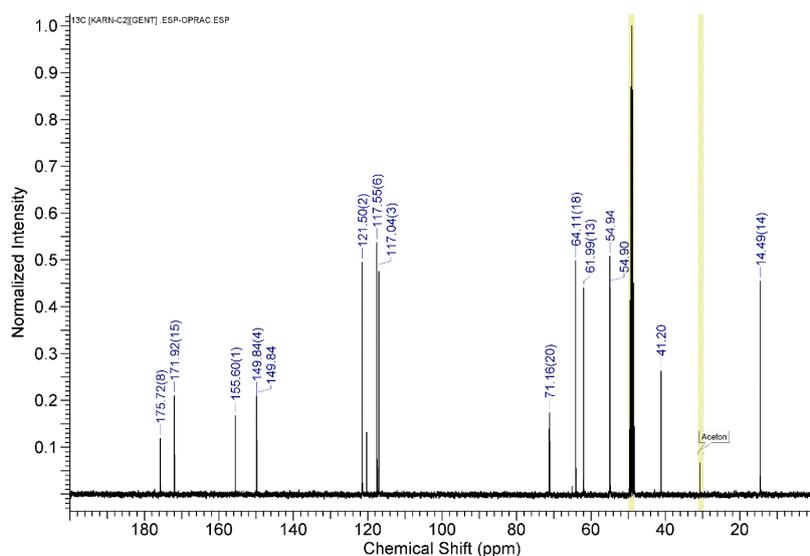
Widma FT-IR wygenerowane dla wszystkich badanych związków mają bardzo podobną charakterystykę. Wskazuje to na obecność jednakowych struktur chemicznych w kationach i anionie związków nr 1–4 oraz na fakt, że zmiana długości alkilu w kationie nie ma wpływu na liczbę falową sygnałów na widmach FT-IR. Można wyróżnić obecność charakterystycznych sygnałów pochodzących od rozciągających wiązań C–H ($2850\text{--}2950\text{ cm}^{-1}$) oraz od wiązań z grupy karboksylanowej w anionie gentyzynianowym (2 sygnały w okolicy $1340\text{--}1380\text{ cm}^{-1}$) i od wiązań rozciągających i zginających C–N ($830\text{--}980\text{ cm}^{-1}$) w kationie z czwartorzędowym atomem azotu. Należy przy tym podkreślić, że intensywność wspomnianych pasm pochodzących od wiązań rozciągających C–H wyraźnie rosła w szeregu $1 < 2 < 3 < 4$. Zjawisko to jest związane ze znaczącym wzrostem długości alkilu w kationie. Występowanie charakterystycznych pasm pochodzących od danych grup funkcyjnych stanowi wstępne potwierdzenie poprawności struktury syntezowanych związków.

Szczegółowej analizie poddano również widma NMR. Na rys. 2 i 3 przedstawiono przykładowe widma NMR wykonane dla gentyzynianu L-karnitynianu etylu. Na widmie protonowym występują wszystkie oczekiwane pasma pochodzące od występujących w założonej strukturze ugrupowań. W porównaniu z widmami bromków L-karnitynianu alkilu [4] w zakresie przesunięć chemicznych $6,5\text{--}7,5\text{ ppm}$ pojawiły się sygnały pochodzące od atomów wodoru w pierścieniu aromatycznym anionu gentyzynianowego. Analiza integracji uzyskanych sygnałów wykazała, że stosunek anionu i kationu w związkach nr 1–4 wynosi ok. 1:1. Niemożliwe do zaobserwowania były natomiast pasma pochodzące od grup hydroksylowych w anionie ze względu na zastosowanie wysoce polarnego rozpuszczalnika, jakim był deuterowany metanol. Wzrost długości łańcucha alkilowego w szeregu homologicznym 1–4 był również widoczny z powodu wzrostu integracji charakterystycznego pasma sygnałów przy przesunięciu chemicznym ok. $1,2\text{--}1,3\text{ ppm}$. Wszelkie te informacje jednoznacznie wskazują, że wymiana anionu bromkowego na anion kwasu gentyzynowego w przypadku wszystkich badanych związków zakończyła się powodzeniem.



Rys. 2. Widmo ^1H NMR gentyzynianu L-karnitynianu etylu (związek nr 1)

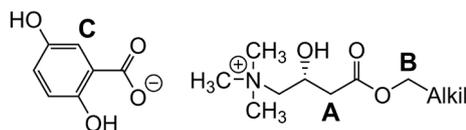
Istotnym dopełnieniem wyżej opisanej charakterystyki spektralnej była analiza widm ^{13}C NMR. Siedem charakterystycznych sygnałów przy przesunięciu chemicznym powyżej 100 ppm (z wyłączeniem sygnału przy przesunięciu ok. 172 ppm pochodzącego od grupy estrowej w kationie L-karnitynianu alkilu) pochodzi od sześciu atomów węgla w pierścieniu aromatycznym i atomu węgla w grupie karboksylanowej anionu gentyzyny. We wszystkich analizowanych widmach sygnały te były obecne, co potwierdza udane wprowadzenie anionu gentyzyny do struktury nowych związków. Na wzrastającą długość alkilu w szeregu homologicznym wskazuje natomiast wzrost liczby sygnałów w zakresie 20–30 ppm, w którym występują sygnały pochodzące od atomów węgla w strukturach alifatycznych z wiązaniami nasyconymi.



Rys. 2. Widmo ^{13}C NMR gentyzyny L-karnitynianu etylu (związek nr 1)

W tabeli 2 zestawiono przesunięcia chemiczne trzech charakterystycznych pasm na widmach NMR pochodzących od konkretnych grup atomów w strukturze gentyzyny L-karnitynianu alkilu.

Tabela 2. Porównanie przesunięć chemicznych wybranych sygnałów na widmach NMR gentyzyny L-karnitynianu alkilu



Nr związku	Przesunięcie chemiczne pasma na widmie ^1H NMR [ppm]			Przesunięcie chemiczne pasma na widmie ^{13}C NMR [ppm]		
	A	B	C	A	B	C
1	2,54	4,13	7,28	41,19	61,98	117,04
2	2,57	4,09	7,30	41,27	66,17	117,05
3	2,58	4,10	7,29	41,27	66,10	117,14
4	2,56	4,09	7,28	41,14	66,11	117,02

Jedynie w przypadku gentyzyny L-karnitynianu etylu (związek nr 1) zauważono znaczącą różnicę wynikającą ze zmiany długości łańcucha w kationie: pasmo B (pochodzące od grupy CH₂ w łańcuchu alkilowym położonej w bezpośrednim sąsiedztwie grupy estrowej) pojawia się na widmie ¹³C NMR związku nr 1 przy niższym przesunięciu chemicznym (61,98 ppm) w porównaniu z widmami związków z dłuższym łańcuchem (związki nr 2–4), dla których odpowiedni sygnał zaobserwowano przy przesunięciu 66,10–66,17 ppm. Zmiana długości łańcucha alkilowego nie powodowała innych znaczących zmian przesunięcia chemicznego pasm A i C.

Analiza rozpuszczalności

Znajomość zakresów rozpuszczalności nowych związków w wodzie i popularnych rozpuszczalnikach organicznych jest przydatna w projektowaniu i ulepszaniu procesów otrzymywania, oczyszczania i przechowywania nowych związków organicznych. Celem scharakteryzowania tej właściwości związków nr 1–4 wykonano badanie rozpuszczalności w stałej temperaturze w 10 modelowych rozpuszczalnikach o zróżnicowanej polarności. W tabeli 3 przedstawiono rezultaty analizy. Wyniki porównano z dostępnymi w literaturze rezultatami przeprowadzonej wg tej samej metody analizy rozpuszczalności odpowiednich bromków L-karnitynianu alkilu (oznaczone w tabeli 3 jako B1–B4), które były prekursorami soli z anionem gentyzyny [10].

Tabela 3. Rozpuszczalność gentyzyny L-karnitynianu alkilu i bromków L-karnitynianu alkilu

Nr związku	Woda	Metanol	DMSO	Acetonitryl	Aceton	2-propanol	Octan etylu	Chloroform	Toluen	Heksan
	wskaźnik polarności wg Snydera									
	9,0 ^a	6,6	6,5	6,2	5,1	4,3	4,3	4,1	2,3	0,0
1	+	±	–	±	–	–	–	–	–	–
2	+	+	+	±	+	+	–	+	–	–
3	±	+	–	±	+	–	+	+	–	–
4	–	±	–	–	–	–	–	–	–	–
B1 ^b	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–
B2	±	+	±	–	±	±	–	±	–	–
B3	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–
B4	–	±	±	–	–	±	–	+	–	–

^a Polarność wg Snydera; ^b literą „B” oznaczono wyniki dla bromków L-karnitynianu alkilu z podstawnikiem alkilowym o długości odpowiadającej gentyzynie z odpowiednim numerem, na podstawie [10].

+ – związek dobrze rozpuszczalny, ± – związek średnio rozpuszczalny, – – związek trudno rozpuszczalny.

Obecność wiązania jonowego oraz licznych ugrupowań hydroksylowych w strukturze uzyskanych związków skutkowałą lepszą ich rozpuszczalnością w rozpuszczalnikach o wyższej polarności (większej niż 5 w skali Snydera). Uniwersalnym rozpuszczalnikiem dla wszystkich związków był metanol, w którym analizowane produkty rozpuszczały się dobrze (związki nr 2 i 3) lub średnio (związki nr 1 i 4). Trzy związki z krótszymi łańcuchami alkilowymi (związki nr 1–3) co najmniej średnio rozpuszczały się również w wodzie oraz w acetonitrylu. W substancjach słabo polarnych większość gentyzynianów była trudno rozpuszczalna (np. w 2-propanolu rozpuszczał się tylko związek nr 2, w octanie etylu tylko związek nr 3). W badanych substancjach o najniższej polarności – toluenie i heksanie – żadna z badanych soli nie ulegała zauważalnemu rozpuszczeniu.

Różnice w długości alkilu w kationach otrzymanych soli miały znaczący wpływ na ich rozpuszczalność w badanych mediach. Związek nr 1 z najkrótszym podstawnikiem ulegał rozpuszczeniu wyłącznie w trzech rozpuszczalnikach wysoce polarnych: wodzie, metanolu i acetonitrylu. Związki nr 2 i 3, zawierające łańcuch alkilowy o średniej długości (odpowiednio heksylowy i dodecyłowy), rozpuszczały się w zauważalnym stopniu w większości badanych rozpuszczalników. Najbardziej ograniczoną rozpuszczalnością w wybranych substancjach charakteryzował się gentyzynian L-karnitynianu oktadecylu (związek nr 4). Obecność długiego łańcucha zawierającego 18 atomów węgla ograniczała powinowactwo do rozpuszczalników polarnych, a jednocześnie nie umożliwiała rozpuszczenia w układach o niskiej polarności. W efekcie związek nr 4 nie ulegał zauważalnemu rozpuszczeniu w żadnym rozpuszczalniku oprócz metanolu.

Związki nr 1–4 charakteryzowały się podobną, lecz nieco odmienną rozpuszczalnością w porównaniu z ich prekursorami – bromkami L-karnitynianu alkilu (związki nr B1–B4) [10]. Wymiana anionu bromkowego na gentyzynianowy powodowała m.in. poprawę rozpuszczalności niektórych związków z szeregu homologicznego w wodzie (np. związek nr 3 był średnio rozpuszczalny w wodzie, podczas gdy odpowiedni bromek B3 nie wykazywał zauważalnej rozpuszczalności) oraz w niektórych rozpuszczalnikach organicznych o średniej polarności, np. w acetonitrylu, acetonie oraz w octanie etylu. Bromki wykazywały natomiast lepsze powinowactwo do DMSO. Sole B1–B4 wykazywały zauważalną rozpuszczalność w tym rozpuszczalniku, podczas gdy spośród gentyzynianów w DMSO rozpuszczał się wyłącznie bromek L-karnitynianu heksylu (związek nr 2). Podobnie jak w przypadku gentyzynianów żaden z bromków nie ulegał rozpuszczeniu w toluenie lub heksanie.

Analiza ekotoksyczności ostrej

Badanie toksyczności wobec organizmów modelowych, takich jak skorupiaki z gatunku *A. franciscana*, należy do analiz kluczowych w kontekście potencjalnego zastosowania soli kwasu gentyzynowego. Jako że leki i ich metabolity w znacznych ilościach trafiają do środowiska, w szczególności do wód rzecznych i mórz, nowe substancje o potencjalnej aktywności powinny być projektowane i oceniane pod kątem ich ewentualnego wpływu na środowisko naturalne. Przeprowadzone badania miały na celu wstępne określenie wpływu gentyzynianów L-karnitynianu alkilu na bezkręgowce żyjące w wodach morskich w zależności od ich stężenia oraz długości łańcucha alkilowego w kationie. Rezultaty badań zestawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Toksyczność ostra nowych soli z anionem gentyzynyowym wobec *A. franciscana*

Stężenie soli [mg/dm ³]	Wskaźnik przeżywalności w roztworach danego związku po 24 h [%]			
	1	2	3	4
1000	100	60	0	23
100	100	100	0	80
10	100	100	97	100
1	100	100	100	100
0,1	100	100	100	100
Klasa toksyczności ^a	stosunkowy brak szkodliwości	stosunkowy brak szkodliwości	niska toksyczność	praktyczny brak toksyczności

^a Zgodnie z [11]: EC₅₀ w zakresie 0,1–1 mg/dm³ – wysoka toksyczność, 1–10 mg/dm³ – umiarkowana toksyczność, 10–100 mg/dm³ – niska toksyczność, 100–1000 mg/dm³ – praktyczny brak toksyczności; >1000 mg/dm³ – stosunkowy brak szkodliwości

Zgodnie z metodyką producenta testów po uzyskaniu danych z tabeli 4 poczyniono kolejną obserwację po 48 h od rozpoczęcia testu, jednakże przeżywalność słonaczków (*A. franciscana*) w badanych roztworach była jednakowa jak po pierwszych 24 h testu.

Wyniki przeprowadzonego badania wstępnego wskazują, że próg toksyczności wobec skorupiaków *A. franciscana* jest zależny od długości łańcucha alkilowego w strukturze kationu. Estrokwat z najkrótszym podstawnikiem – etylowym (związek nr 1) nie wykazał toksyczności wobec skorupiaków nawet w najwyższym z badanych stężeń (1000 mg/dm³), a pochodna heksylowa (związek nr 2) była toksyczna wyłącznie w najwyższym stężeniu – w bardziej rozcieńczonych roztworach nie wykazywała żadnego negatywnego wpływu na badane osobniki słonaczków. Najwyższą toksycznością charakteryzował się związek nr 3. W dwóch najbardziej stężonych roztworach przeżywalność organizmów wyniosła 0%, lecz rozcieńczenie tej soli do stężenia 10 mg/dm³ lub niższego powodowało ograniczenie toksyczności prawie do minimum. Jako że wartość EC₅₀ dla związku nr 3 zawierała się w zakresie 10–100 mg/dm³, związek ten przypisano do klasy substancji słabo toksycznych wobec *A. franciscana*.

Zwiększenie długości podstawnika alkilowego do 18 atomów węgla powodowało wyraźne ograniczenie toksyczności wobec badanych skorupiaków. Wartość EC₅₀ dla związku nr 4 mieściła się w zakresie 100–1000, a w roztworach o stężeniu 10 mg/dm³ lub niższym przeżywalność organizmów wynosiła 100%. Jest to klasyczny przykład wystąpienia efektu odcięcia (ang. *cut-off effect*), który polega na spadku aktywności biologicznej substancji amfifilowych mających stosunkowo długie łańcuchy alkilowe [12]. Jak można zaobserwować, zarówno obecność w badanych roztworach anionu gentyzynyowego, jak i ugrupowania pochodzącego od karnityny sama w sobie nie była przyczyną toksyczności wobec badanego organizmu modelowego.

WNIOSKI

Wskutek opracowania i zastosowania nowej metodyki syntezy otrzymane zostały cztery nieopisane dotąd estrokwaty z anionem gentyzynyowym i kationem pochodzącym od L-karnityny za-

wierającym łańcuch etylowy, heksylowy, dodecylowy lub oktadecylowy. Przeprowadzona charakterystyka spektralna pozwoliła na potwierdzenie pełnej poprawności zaprojektowanych struktur chemicznych oraz braku zanieczyszczeń organicznych pochodzących z reakcji ubocznych bądź rozkładu produktu głównego. Możliwe jest zatem bezpieczne przechowywanie podatnych na degradację soli (anion gentyzyny, wiązanie estrowe) pomimo ich higroskopijności i znacznej zawartości wody w oczyszczonych i osuszonych związkach.

Jako związki jonowe gentyzyny L-karnitynianu alkilu w licznych przypadkach wykazywały dobrą rozpuszczalność w rozpuszczalnikach polarnych, z wyjątkiem soli z podstawnikiem oktadecylowym (związek nr 4), która nie rozpuszczała się ani w rozpuszczalnikach polarnych, ani niepolarnych. Zmiana długości łańcucha alkilowego ma istotny wpływ nie tylko na parametry fizykochemiczne, ale również na toksyczność nowo otrzymanych substancji wobec organizmów słonowodnych. Badanie wykazało, że pochodne krótkołańcuchowych (związki nr 1 i 2) nawet w stężeniach sięgających 1000 mg/dm³ nie wykazują ostrej toksyczności wobec *A. franciscana*. Sól z podstawnikiem dodecylowym przejawiała jednak zauważalną, lecz nadal niską toksyczność wobec morskich skorupiaków. Są to wyniki badań wstępnych wskazujące na zakresy wartości EC₅₀, do wyznaczenia dokładnych wartości niezbędne jest wykonanie dodatkowych serii badań w węższym zakresie stężeń. Podwyższona toksyczność ostra wobec *A. franciscana* zaobserwowana dla substancji nr 3 i 4 wynika z obecności w strukturze badanych związków długiego podstawnika amfifilowego. Na podstawie wyników przeprowadzonych analiz można zatem wnioskować, że poprzez zmianę długości łańcucha alkilowego można efektywnie modyfikować właściwości fizykochemiczne oraz aktywność biologiczną gentyzyny L-karnitynianu alkilu.

Badania zostały sfinansowane ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (0912/SBAD/2409). Badania toksyczności ostrej wobec organizmów wodnych zostały sfinansowane w ramach projektu LIDER XIII (0029/L-13/2022) finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju.

LITERATURA

- [1] Belay B., Esteban-Cruciani N., Walsh C.A., Kaskel F.J. The use of levo-carnitine in children with renal disease: a review and a call for future studies. *Pediatr. Nephrol.* 2006, 21, 308–317.
- [2] Matsouka M., Igisu H. Comparison of the effects of L-carnitine, d-carnitine and acetyl-L-carnitine on the neurotoxicity of ammonia. *Biochem. Pharmacol.* 1993, 46, 159–164.
- [3] Carnitine. Office of Dietary Supplements, US National Institutes of Health, 10.10.2017. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Carnitine-HealthProfessional/> (dostęp: 10.04.2024).
- [4] Mero A., Mezzetta A., Nowicki J., Łuczak J., Guazzelli L. Betaine and L-carnitine ester bromides: Synthesis and comparative study of their thermal behaviour and surface activity. *J. Mol. Liq.* 2021, 3345, e115988.
- [5] Grassiri B., Mezzetta A., Maisetta G., Migone C., Fabiano A., Esin S., Guazzelli L., Zambito Y., Batoni G., Piras A. M. Betaine- and L-carnitine-based ionic liquids as solubilising and stabilising agents for the formulation of antimicrobial eye drops containing diacerein. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, e2714.
- [6] Bagha-Tehrani A.R., Oskarsson H., van Ginkel C.G., Holmberg K. Cationic ester-containing gemini surfactants: Chemical hydrolysis and biodegradation. *J. Coll. Interf. Sci.* 2007, 312, 444–452.

- [7] Thyagarajan A., Sahu R.P. Potential contributions of antioxidants to cancer therapy: Immunomodulation and radiosensitization. *Integr. Cancer Ther.* 2018, 17, 210–216.
- [8] Häckl K., Mühlbauer A., Ontiveros J. F., Marinkovic S., Estrine B., Kunz W., Nardello-Rataj V. Carnitine alkyl ester bromides as novel biosourced ionic liquids, cationic hydrotropes and surfactants. *J. Coll. Interf. Sci.* 2018, 511, 165–173.
- [9] Vogel A.I., Furniss B.S. *Vogel's textbook of practical organic chemistry.* Longman, 1984.
- [10] Jarzyna P., Olejniczak A., Stachowiak W., Rzemieniecki T., Niemczak M. Synteza czwartorzędowych soli amoniowych z kationem karnityny zawierających w swojej strukturze wiązanie estrowe, w: Z. Lenzion-Bieluń, D. Moszyński (red.), *Postępy w technologii i inżynierii chemicznej 2023.* Wydawnictwo Uczelniane Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, 2023.
- [11] El-Harbawi M. Toxicity measurement of imidazolium ionic liquids using acute toxicity test. *Procedia Chem.* 2014, 9, 40–52.
- [12] Balgavý P., Devínsky F. Cut-off effects in biological activities of surfactants. *Adv. Coll. Interf. Sci.* 1996, 66, 23–63.

Narażenie na zakażenie bakteriami w ręcznej myjni samochodowej

Piotr WOŹNIAK, Marek GRYTA

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Katedra Technologii Chemicznej Nieorganicznej i Inżynierii Środowiska

WSTĘP

Bakterie są jednym z typów zanieczyszczeń mikrobiologicznych powietrza i tym samym wskaźnikiem zanieczyszczenia atmosfery w przestrzeni otwartej i w miejscach publicznych [1]. Pomimo powszechności ich występowania istnieje niewiele doniesień literaturowych dotyczących drobnoustrojów obecnych na terenie myjni samochodowych oraz ich wpływu na zdrowie człowieka. Myjnia samochodowa stwarza dobre warunki do rozwoju, jak również do łatwego rozprzestrzenienia się patogenów i drobnoustrojów chorobotwórczych drogą powietrzną oraz przez kontakt z zanieczyszczoną powierzchnią [2].

Podczas mycia samochodu płyny myjące wyphywają z dyszy natryskowej pod wysokim ciśnieniem (>10 MPa), co sprzyja powstawaniu aerozolu zawierającego zanieczyszczenia usuwane z powierzchni samochodu. W trakcie mycia nieuchronne jest wdychanie takiego aerozolu, który z reguły zawiera wirusy, bakterie oraz grzyby [3, 4]. Ich zawartość będzie zmienna, gdyż stopień zanieczyszczenia powierzchni samochodu zależy od intensywności jego użytkowania oraz czynników środowiskowych, tj. opadów deszczu i zmian temperatury [5]. Występujące w środowisku mikroorganizmy mogą być przenoszone na samochody z powierzchni jezdni oraz pobocza przez kurz osiadający podczas jazdy pojazdu, jak również depozycję zanieczyszczonego aerozolu powstającego na drogach podczas deszczu [6, 7].

Często używane części pojazdu, takie jak klamki w drzwiach, stanowią istotne źródło zanieczyszczeń mikrobiologicznych zawierających różne rodzaje bakterii, w tym niebezpieczne dla zdrowia patogeny chorobotwórcze [8, 9]. Część z nich ma zdolność do tworzenia form przetrwalnikowych, a tym samym mogą przetrwać w niekorzystnych warunkach. Z karoserii samochodów wyizolowano bakterie rodzaju *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* spp., *Bacillus* spp., *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Salmonella* spp. oraz gatunki bakterii oportunistycznych *Streptococcus* spp. i *Staphylococcus* spp. [10, 11, 12, 13]. Patogeny z tej grupy mogą spowodować infekcje układu moczowego, infekcje dróg oddechowych, a także zwiększają ryzyko wystąpienia chorób skóry, zapalenia jelit oraz wystąpienia biegunek [9]. Obecność powyższych gatunków może świadczyć m.in. o zanieczyszczeniach pochodzących od fekalii, które są przyczyną chorób przenoszonych drogą pokarmową.

Ludzie nie są świadomi potencjalnych zagrożeń mikrobiologicznych występujących podczas mycia samochodów. Często wyjazd na myjnię traktowany jest jako atrakcja, można także zobaczyć dzieci biegające wokół mytego przez rodziców samochodu. Ponadto stosowane do mycia płyny są

chemicznie agresywne, co może spowodować uszkodzenia wrażliwych części ciała, jak oczy. Z tych względów konieczne jest propagowanie bezpiecznych zasad użytkowania myjni. W celu zapobiegania rozprzestrzenianiu się infekcji istotne jest cykliczne powtarzanie dezynfekcji instalacji myjni. Jest to szczególnie istotne podczas mycia pojazdów metodami wykorzystującymi wysokie ciśnienie, co ułatwia tworzenie aerozolu i w efekcie zwiększa ekspozycję użytkowników myjni samochodowej na środki chemiczne, mikroorganizmy i endotoksyny [14]. Prawidłowe stosowanie środków ochrony osobistej, oprócz higieny rąk, jest zalecanym środkiem ograniczającym przenoszenie chorób, a także zmniejszającym ryzyko narażenia na wdychanie mikroorganizmów [15, 16].

W większości myjni ręcznych odcieki z mycia samochodów spływają do odstoju, z którego poprzez odolejacz odpływają do kanalizacji. Do umycia samochodu zużywa się znaczne ilości wody. Z tego względu w niektórych instalacjach stosuje się częściowy recykling wody, oczyszczonej najczęściej tylko przez sedymentację i filtrację przez złoża piaskowe. Jeśli z takiej wody nie są usuwane mikroorganizmy, np. przez jej chlorowanie, znacznie wzrasta ryzyko zarażenia osób myjących samochody [17].

Celem prezentowanych badań było określenie ryzyka związanego z obecnością mikroorganizmów patogennych w bioaerozolu powstającym podczas mycia samochodów. Wyznaczono liczebność mikroorganizmów zasiedlających różne części karoserii samochodu osobowego. Zbadano skuteczność wybranych grup antybiotyków wobec występujących na myjni mikroorganizmów. Dodatkowo określono właściwości przeciwbakteryjne wybranych środków chemicznych używanych do mycia samochodów.

MATERIAŁY I METODY

Pożywki do hodowli bakterii

Do celów wzrostowych komórek bakteryjnych zastosowano podłoże agarowe PCA firmy BioMaxima SA (Lublin, Polska). Przygotowanie bulionów oraz podłoży agarowych przeprowadzono według zaleceń producenta. Otrzymany roztwór poddano sterylizacji przez 15 min w temperaturze 121°C. Wysterylizowane płynne podłoże schłodzono do temperatury 60°C, a następnie rozlano na sterylne szalki Petriego.

Podłoże laktozowe TTC do oznaczania liczby komórek bakteryjnych *Escherichia coli* zawierało czynnik selektywny Tergitol-7® (BioMaxima, Lublin, Polska). Podłoże wykonano analogicznie jak płytki z PCA, dodając do ochłodzonego i wyjałowionego roztworu 2,5 mL 1-procentowego roztworu czynnika Tergitol-7.

Określenie antybiotykooporności

Właściwości biobójcze oraz bakteriostatyczne określono z zużyciem wybranych antybiotyków: ampicyliny (5 mg/L), powodującej hamowanie wzrostu bakterii Gram+ i Gram-, polimyksyny B (10 mg/L), hamującej wzrost bakterii Gram-, oraz D-cykloseryny (400 mg/L), wankomycyny (10 mg/L) i mieszaniny trzech antybiotyków, tj. siarczanu polimyksyny B (10 mg/L), Ceftazydymu (20 mg/L) i Akryflawiny HCl (5 mg/L), o szerokim spektrum działania wobec bakterii Gram+ i Gram- [18]. W badanych ściekach identyfikację drobnoustrojów przeprowadzono metodą spektrometrii

masowej przy użyciu aparatu MALDI Biotyper® (MBT) firmy Bruker (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany). Gatunek bakterii został określony na podstawie porównania widma masowego badanego mikroorganizmu z biblioteką referencyjną widm masowych MBT IVD, zawierającej 4194 gatunki [19]. Poszczególnych gatunków bakterii do testów nie izolowano i pomiary prowadzono zbiorczo dla badanego roztworu. W tym celu odpowiednią ilość antybiotyku rozpraszano w 2 mL sterylnej wody, a uzyskaną zawiesinę mieszano z 500 mL wysterylizowanego agaru PCA i wylewano podłoże na szalki Petriego. Następnie na płytki nanoszono 0,3 mL badanego roztworu.

Przebieg doświadczenia

Mikroorganizmy patogenne do badań zostały pozyskane z powierzchni samochodu oraz pistoletu natryskowego podającego środek myjący i wodę do spłukiwania. Próbki z 5 cm² powierzchni samochodu pobrano za pomocą sterylnej wacika z przodu nadproża, felgi tylnego koła i tylnych drzwi. Wacik wypłukano w 5 mL 0,85-procentowego roztworu soli fizjologicznej.

Próbki z instalacji myjni uzyskano, pobierając wodę z pistoletu natryskowego przed myciem oraz po zakończeniu mycia samochodu (program: mycie wstępne, turbo piana, spłukiwanie). Próbki pobrano w trzech różnych ręcznych myjniach samochodowych.

Trzeci rodzaj próbek stanowiły depozyty bioaerozolu na płytkach agarowych PCA. Badania prowadzono metodą sedymentacji. Płytki rozłożono wokół samochodu osobowego w różnych odległościach od karoserii: 50, 100, 150 oraz 200 cm. Po uruchomieniu wstępnego mycia samochodu szalki zostały wystawione na ekspozycję nawiewanego w ich kierunku bioaerozolu przez 60 s.

Z uzyskanych próbek ciekłych pobrano 1 mL płynu i rozcieńczono 10-krotnie przy użyciu 0,85-procentowego roztworu soli fizjologicznej. Następnie 0,3 mL otrzymanego roztworu naniesiono na płytki Petriego z podłożem agarowym PCA z dodatkiem/bez dodatku antybiotyku. Proces inkubacji prowadzono w temperaturze 37°C przez 24 h. Do obliczenia liczby kolonii użyto półautomatycznego licznika kolonii LKB 2002 (Pol-Eko-Aparatura, Polska). Liczbę bakterii wyrażono w jednostce CFU/mL (ang. *colony-forming unit*).

Do określenia właściwości przeciwbakteryjnych płynów używanych na myjni do mycia samochodów wybrano dwa rodzaje środków powierzchniowo-czynnych: płyn do mycia felg (Wheel Cleaner) o wartości pH = 11,8 ± 0,05 oraz środek pianotwórczy (Turbo Foam) o pH = 9,37 ± 0,02. Badania przeprowadzono, stosując modelowe organizmy *Escherichia coli* K12 (ATCC 29425). Wartości pH odnosiły się do stężenia środków (0,5%) stosowanego na myjniach samochodowych. Do badania 0,5-procentowe roztwory tych środków przygotowano w 0,85-procentowym roztworze soli fizjologicznej. Do trzech zlewek zawierających badany środek dodano zawiesinę bakterii *E. coli*, uzyskując ich zawartość początkową 1,5·10⁸ CFU/mL. Test prowadzono przez 30 min, badając zmianę liczebności kolonii bakteryjnych w czasie.

WYNIKI

Ilość bakterii na karoserii i myjni samochodowej

Podczas mycia samochodu źródłem zagrożeń mikrobiologicznych mogą być organizmy usuwane z powierzchni samochodu oraz zanieczyszczona woda, którą do wykonanych badań pobrano z pi-

stoletów natryskowych. Do badań pobrano także próbki z samochodu, który nie był myty przez okres dwóch miesięcy (październik–listopad), podczas których prawie nie było opadów deszczu. Chociaż w ocenie wizualnej karoseria samochodu była jedynie średnio zakurzona, to uzyskane wyniki wykazały, że powierzchnię zasiedlała ogromna liczba bakterii (tabela 1). Ich źródłem są różne miejsca przestrzeni miejskiej, stąd także mieszkańcy mają z nimi codzienny kontakt, co wytwarza pewien poziom odporności. Prawdopodobnie nie oznacza to jednak braku problemów zdrowotnych, gdy do organizmu wprowadzimy setki/tysiące razy większe ilości bakterii, niż ma to miejsce podczas standardowego użytkowania samochodu. Wdychanie aerozolu powstającego podczas mycia samochodów stwarza taką możliwość.

Tabela 1. Ilość bakterii w próbkach pobranych z karoserii samochodu oraz z pistoletów natryskowych

Miejsce pobrania próbki	CFU/mL	CFU/cm ²
Nadproże	–	5,90·10 ⁶
Drzwi	–	1,94·10 ⁶
Koło	–	3,01·10 ⁶
Pistolet 1	3,14·10 ⁵	–
Pistolet 2	3,59·10 ⁵	–
Pistolet 3	1,88·10 ⁵	–

Przeprowadzone badania mikrobiologiczne wykazały także znaczne ilości bakterii w wodzie wypływającej z pistoletów natryskowych. Przedstawione w tabeli 1 wyniki wskazują, że ich liczba może przekraczać poziom 3·10⁵ CFU/mL. Taki wynik pokazuje, że używane na myjni środki chemiczne nie dezaktywują bakterii, stąd nie wyeliminują ich rozwoju także w instalacji myjącej. Z tego względu istnieje konieczność cyklicznej dezynfekcji instalacji myjni.

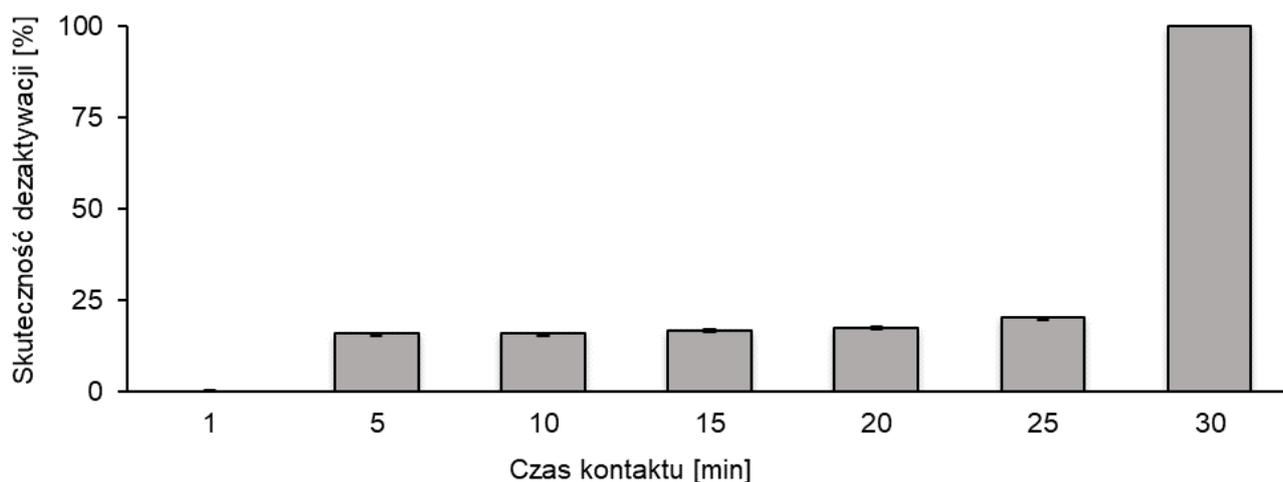
Odcieki z mycia samochodów spływają do osadnika. W większości przypadków zebrane ścieki po przepłynięciu przez odolejacz odprowadzane są z myjni do kanalizacji sanitarnej, którą przepływają do biologicznej oczyszczalni ścieków. Zanieczyszczona woda oprócz związków chemicznych jest również skażona mikrobiologicznie [19, 20]. Jak wykazały przeprowadzone badania, stosowane na myjni środki chemiczne nie eliminują bakterii, stąd mogą się one nadal rozwijać w odstojniku. W ściekach powstałych podczas mycia samochodów zidentyfikowano ponad 30 rodzajów bakterii [19]. W prowadzonych badaniach nie wykryto obecności grzybów. Przeprowadzona analiza taksonomiczna wyizolowanych bakterii pozwoliła zaliczyć je do trzech rzędów: *Firmicutes*, *Proteobacteria* i *Enterobacteria*. Najliczniej występowały bakterie z rodzaju *Pseudomonas* sp., *Aeromonas* sp., *Bacillus* sp. oraz *Citrobacter* sp. Analizę taksonomiczną bakterii zidentyfikowanych w ściekach przeprowadzono, konstruując drzewo filogenetyczne z wykorzystaniem sekwencji genu 16S rRNA z baz danych sekwencji nukleotydów NCBI/EZtaxon/Ribosomal Database Project (RPD) przy użyciu programu BLAST (blastn).

Przeprowadzone badania wody pobieranej z pistoletów natryskowych potwierdziły, że jeśli na myjni nie ma odpowiednich procesów oczyszczania, wzrasta niebezpieczeństwo zakażenia w przypadku ponownego wykorzystania wody myjącej. Dlatego stosowanie recyklingu wody oprócz

klasycznej filtracji piaskowej wspomaganej oczyszczaniem biologicznym [17] koniecznie wymaga wprowadzenia etapu dezynfekcji odzyskiwanej wody myjącej.

Skuteczność dezynfekcji

Środki stosowane do mycia samochodów oprócz detergentów zawierają także kwasy lub zasady. Z tego względu mogą wykazywać pewne właściwości bakteriobójcze. W celu ich określenia zbadano przeżywalności bakterii *E. coli* w roztworach środków chemicznych używanych na myjniach. Z badanych środków tylko dla płynu Wheel Cleaner stwierdzono brak bakterii po 30 min kontaktu (rys. 1). Jednak i w tym przypadku dla krótszych czasów kontaktu ilość żywych bakterii była nadal znaczna. Taki wynik wskazuje, że podczas mycia samochodu ze względu na krótki czas kontaktu płynów z karoserią nawet chemicznie agresywny roztwór nie wyeliminuje bakterii, które podczas mycia pod ciśnieniem przedostają się do aerozolu.



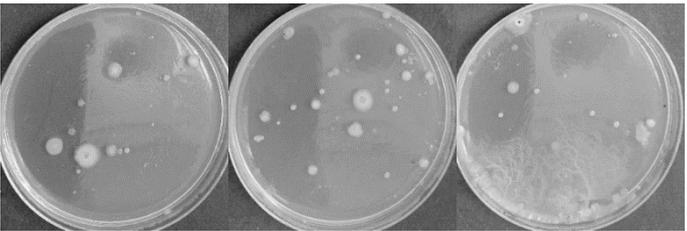
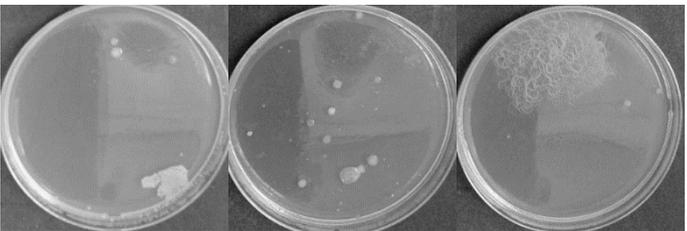
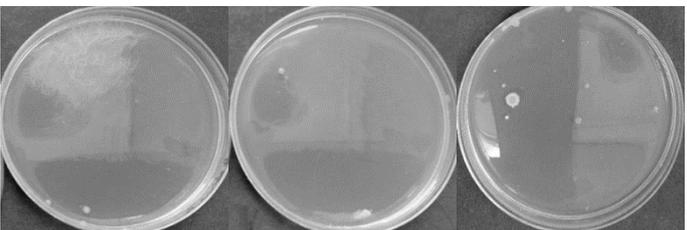
Rys. 1. Skuteczność działania przeciwbakteryjnego alkalicznego środka powierzchniowoczynnego (0,5% Wheel Cleaner) na komórki bakteryjne *E. coli* w czasie (0–30 min)

Przeprowadzone badania pozwoliły stwierdzić, że środki stosowane do mycia samochodów wykazują niewielkie właściwości bakteriobójcze. Badane preparaty zawierały drugorzędowy alkanosulfonian sodu, którego bakteriobójcze właściwości w połączeniu z wysokim pH roztworów zakłócają metabolizm bakterii, co w efekcie prowadzi do wystąpienia efektu letalnego [21]. Na myjniach koncentraty badanych środków myjących rozcieńcza się do 0,5%. Roztwory o takim stężeniu skutecznie usuwają zanieczyszczenia z powierzchni samochodu, ale – jak wykazały prowadzone badania – ich użycie nie pozwoliło na całkowitą eliminację bakterii. Efekt działania zależał w znacznym stopniu od wartości pH. Optymalna wartość pH środowiska do rozwoju bakterii *Escherichia coli* wynosi 6,50–7,50, a każde jego gwałtowne zmiany mogą skutkować w zakłóceniu prawidłowego procesu podziału komórkowego [21, 22]. Z tego też względu największą redukcję liczby bakterii uzyskano dla płynu Wheel Cleaner, którego wysokie pH (11,8) ograniczyło rozwój komórek *E. coli*. Całkowity proces dezynfekcyjny osiągnięto po 30 min kontaktu. Pianotwórczy środek myjący Tur-

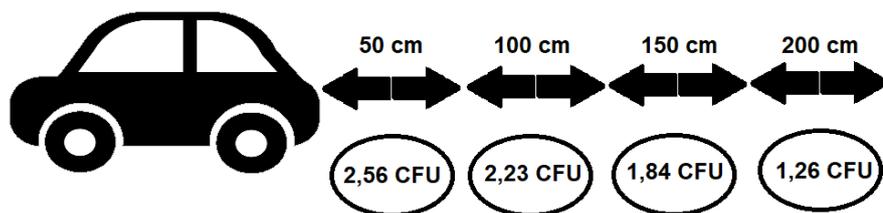
bo Foam nie ograniczył rozwoju *E. coli*. Całkowite usunięcie bakterii jest trudne, nawet konwencjonalne procesy oczyszczania i dezynfekcji wody nie prowadzą do inaktywacji wszystkich bakterii i ich form przetrwalnikowych [23]. Z tego względu nie można oczekiwać, że użycie popularnych płynów stosowanych do mycia samochodów spowoduje całkowitą redukcję żywotności komórek bakteryjnych.

Wpływ odległości od samochodu na ilość mikroorganizmów w aerozolu

Ze względu na sedymentację zawartość mikroorganizmów w aerozolu powstającym podczas mycia samochodów jest zmienna. Zgodnie z przewidywaniami przeprowadzone badania wykazały, że ich liczba w aerozolu otaczającym osobę myjącą samochód zmniejszałaby się wraz ze wzrostem odległości od samochodu (rys. 2 i 3). Osoba myjąca z reguły znajduje się w odległości poniżej 1 m od karoserii, stąd jest narażona na wdychanie mikroorganizmów. Wartości pokazane na rys. 3 uzyskano dla czasu 60 s, jednak czas mycia samochodu jest zdecydowanie dłuższy (ok. 10 min), co sprzyja wdychaniu jeszcze większej liczby mikroorganizmów.

Odległość od pojazdu [cm]	Wyniki		
50			
100			
150			
200			

Rys. 2. Liczebność mikroorganizmów na szalkach rozstawionych wokół samochodu mytego na myjni



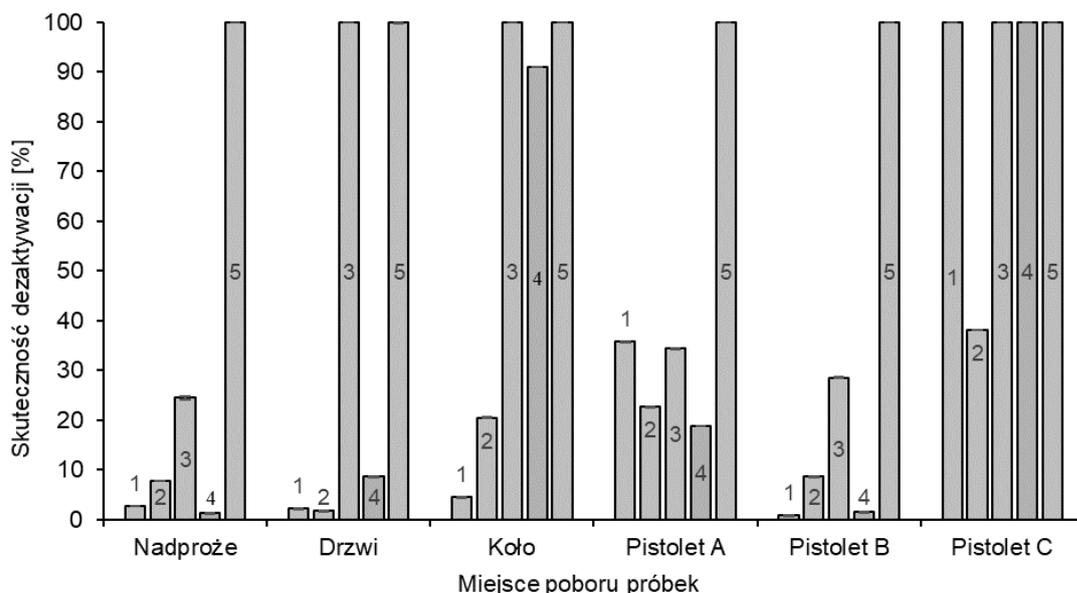
Rys. 3. Zmiany liczby mikroorganizmów zdeponowanych w czasie 60 s na płytkach Petriego w zależności od odległości od mytego samochodu

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że stopień zagrożenia mikrobiologicznego na myjniach jest istotny. Potwierdzono, że podstawowym źródłem zakażenia jest wytwarzany bioaerozol. Osoby myjące samochody z użyciem dysz ciśnieniowych wdychają znaczną liczbę mikroorganizmów chorobotwórczych, z których część wykazuje antybiotykooporność. Wyznaczona liczba bakterii na płytkach wystawionych na ekspozycję w odległości 50 i 100 cm od samochodu wynosiła odpowiednio $2,56 \pm 0,02$ i $2,23 \pm 0,23$ log CFU, a w odległości 2 m ilość bakterii zmniejszyła się do $1,26 \pm 0,06$ log CFU. Potwierdza to, że na kontakt z organizmami obecnymi w powstającym bioaerozolu najbardziej narażone są osoby bezpośrednio myjące samochód. Pomimo to trudno jest spotkać na myjniach ręcznych osoby myjące samochody, które stosują środki ochrony osobistej. Przeprowadzone badania problemów zdrowotnych pracowników myjni wykazały, że w większości zaniedbują oni stosowanie takich środków [24]. W rezultacie codzienna ekspozycyjna na mikroorganizmy oraz środki chemiczne doprowadza do wystąpienia wielu objawów chorobowych. Do najczęściej wskazywanych należą podrażnienia górnych dróg oddechowych, oczu oraz skóry. Efekty kontaktu z patogenami mogą objawiać się jako nudności/dyskomfort w żołądku, pieczenie lub wysypka skórna. Blisko 60% pracowników myjni samochodowych przypisało jeden lub więcej problemów zdrowotnych jako konsekwencję wykonywanej pracy, a ponad 40% pracowników myjni poddawało się konsultacji lekarskiej z powodu objawów chorobowych wynikających z miejsca pracy. Powstałe objawy chorobowe mogą także wynikać z zakażeń bakteryjnych [24].

Antybiotykooporność

W przypadku chorób wynikających z zarażenia bakteriami podstawową metodą leczenia jest antybiotykoterapia. Niestety, w efekcie jej powszechnego stosowania wiele bakterii uodporniło się na popularne antybiotyki. Potwierdziły to także przeprowadzone badania, gdyż znaczna część użytych antybiotyków wykazała małą skuteczność działania przeciwko bakteriom obecnym na myjni (rys. 4).

Przeprowadzone badania wykazały, że na myjniach bytują bakterie wykazujące znaczną antybiotykooporność, co może utrudniać leczenie. Skuteczność działania ampicyliny, należącej do grupy antybiotyków β -laktamowych o szerokim spektrum działania przeciwbakteryjnego, nie została potwierdzona wobec wszystkich analizowanych próbek. W przypadku stosowania polimyksyny B, należącej do grupy kationowych antybiotyków lipopeptydowych, uzyskano dezaktywację większości komórek bakteryjnych, co potwierdza jej stosunkowo dobre działanie bakteriobójcze i bakteriostatyczne wobec bakterii obecnych w analizowanym materiale.



Rys. 4. Skuteczność działania przeciwbakteryjnego antybiotyków i mieszanki antybiotyków (polimyksyna, ceftazydym i akryflawina) na bakterie obecne na karoserii samochodu i w pistoletach natryskowych myjni samochodowych (antybiotyki: 1 – ampicylina, 2 – polimyksyna B, 3 – D-cyklooseryna, 4 – wankomycyna, 5 – mieszanka antybiotyków)

Wysoką skuteczność przeciwbakteryjną osiągnięto przy zastosowaniu D-cyklooseryny, wykazującej szerokie spektrum działania wobec bakterii Gram+ oraz Gram-. Całkowita inaktywacja została osiągnięta w przypadku bakterii w próbkach pobranych z koła i drzwi samochodu (rys. 4). Natomiast przeżyła część bakterii pobranych z nadproża. To miejsce było zanieczyszczone związkami ropopochodnymi, co sprzyja modyfikacji właściwości bakterii [25]. Uzyskany wynik wskazuje, że różnorodność składu zanieczyszczeń (środowisko) może wpływać na właściwości bakterii zasiedlających daną część samochodu.

W przypadku zastosowania wankomycyny wykazano całkowitą dezaktywację bakterii obecnych w próbce pobranej z koła samochodu oraz w wodzie pobranej z pistoletu na myjni C. Najmniejszą skuteczność odnotowano dla próbki pobranej z nadproża, drzwi pojazdu oraz dla pistoletu z myjni B. Wankomycyna wykazuje działanie hamujące wobec bakterii Gram+, stąd ta mniejsza skuteczność może wskazywać na obecność także bakterii Gram-.

Największą skuteczność wobec badanych mikroorganizmów, niezależnie od miejsca poboru próbki, uzyskano dla mieszanki antybiotyków (polimyksyny B, ceftazydymy i akryflawiny HCl), która wykazała szerokie spektrum działania wobec bakterii Gram+ oraz Gram-. Stąd taka mieszanka antybiotyków może zostać z powodzeniem wykorzystana do ograniczenia zakażeń wywołanych bakteriami zasiedlającymi myjnię samochodowe.

WNIOSKI

Przeprowadzone badania wykazały, że środowisko myjni samochodowych stanowi istotne źródło patogenów, a prowadzone w niej procesy mycia mogą pośredniczyć w ich rozprzestrzenianiu na ludzi.

Niebezpieczeństwo związane z myciem samochodu wynika w szczególności z wdychania bioaerozolu, w którym mikroorganizmy mają możliwość szybkiego rozprzestrzeniania się w powietrzu.

W badaniach potwierdzono, że mikroorganizmy zmywane z powierzchni samochodu przechodzą do aerozolu wytwarzanego przez płyn wyływający pod wysokim ciśnieniem z dyszy pistoletu na karoserię pojazdu. W przypadku odległości 50 cm od mytego samochodu ilość organizmów deponowana w ciągu 60 s na płytkę Petriego wynosiła $2,56 \pm 0,02$ log CFU i zmniejszała się wraz z odległością do $1,26 \pm 0,06$ log CFU (odległość 200 cm).

Z badanych środków stosowanych do mycia samochodów, jedynym całkowicie inaktywującym komórki bakteryjne *E. coli* był zasadowy (pH = 11,8) Wheel Cleaner, dla którego całkowity proces dezynfekcyjny osiągnięto po 30 min kontaktu. W przypadku środków myjących o niższej wartości pH nie uzyskano wystarczającego efektu bakteriobójczego i bakteriostatycznego. Ponadto ze względu na krótki czas kontaktu środka myjącego z karoserią efektywność działania nawet skutecznych środków będzie ograniczona.



**NAUKA DLA
SPOŁECZEŃSTWA**

Badania dofinansowana ze środków budżetu państwa w ramach programu Ministra Edukacji i Nauki pod nazwą „Nauka dla Społeczeństwa” nr projektu NdS/538617/2021/2022 kwota dofinansowania 352135 zł, całkowita wartość projektu 352 135 zł.

LITERATURA

- [1] Breza-Boruta B. Mikrobiologiczne zanieczyszczenia powietrza na terenie oczyszczalni ścieków. Woda Środ. Obsz. Wiej. 2010, 10, 49–57.
- [2] Oranusi S., Ebelebe I.R., Egbadon E.O. Diversity of commercial intercity vehicles (buses and tricycle). Futo. J. Ser. 2016, 2, 235–243.
- [3] Jones C.M., Hernández Lozada N.J., Pflieger B.F. Efflux systems in bacteria and their metabolic engineering applications. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2015, 99, 9381–9393.
- [4] Tellier R., Li Y., Cowling B.J., Tang J.W. Recognition of aerosol transmission of infectious agents: A commentary. BMC. Infect. Dis. 2019, 19, 1–9.
- [5] Boone S.A., Gerba C.P. The prevalence of human parainfluenza virus 1 on indoor office fomites. Food. Environ. Virol. 2010, 2, 41–46.
- [6] Hucho W., Sovran G. Aerodynamics of road vehicles. Annu. Rev. Fluid. Mech. 1993, 25, 485–537.
- [7] Abu-Allaban M., Gillies J.A., Gertler A.W., Clayton R., Proffitt D. Tailpipe, resuspended road dust, and brake-wear emission factors from on-road vehicles. Atmos. Environ. 2003, 37, 5283–5293.
- [8] Klepeis N.E., Nelson W.C., Ott W.R., Robinson J.P., Tsang A.M., Switzer P. The National Human Activity Pattern Survey (NHAPS): A resource for assessing exposure to environmental pollutants. J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol. 2001, 11, 231–252.

-
- [9] Wojgani H., Kehsa C., Cloutman-Green E., Gray C., Gant V., Klein N. Hospital door handle design and their contamination with bacteria: A real life observational study. Are we pulling against closed doors? *PLoS One* 2012, 7, 1–6.
- [10] Maori L. The prevalence of bacterial organisms on toilet door handles in Secondary Schools in Bokkos LGA., Jos, Plateau State, Nigeria. *J. Pharm. Biol. Sci.* 2013, 8, 85–91.
- [11] Al-Harmoosh R., J. Eidan A., Al-Hadrawy H.A., Mohammed Q.A., Hamed A. Q. Potential Bacterial Contaminants in the Handles of Car Doors. *J. Pure. Appl. Microbiol.* 2018,12, 2193–2198.
- [12] Opere B.O., Ojo J., Omonigbehin E., Bamidele M. Antibiotic susceptibility and plasmid profile analysis of pathogenic bacteria isolated from environmental surfaces in public toilets. *Transnatl. J. Sci. Technol.* 2013, 3, 22–30.
- [13] Iskandar S., Saif A., Nawas T. Isolation of potentially pathogenic bacteria from public service cars door handles. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2018, 7, 1154–1159.
- [14] Madsen A.M., Matthiesen C.B. Exposure to aerosols during high-pressure cleaning and relationship with health effects. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2013, 20, 420–425.
- [15] Gralton J., McLaws M.L. Protecting healthcare workers from pandemic influenza: N95 or surgical masks? *Crit. Care. Med.* 2010, 38, 657–667.
- [16] Bartoszko J.J., Farooqi M.A., Alhazzani W., Loeb M.. Medical masks vs N95 respirators for preventing COVID-19 in healthcare workers: A systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Influenza. Other. Resp.* 2020, 14, 365–373.
- [17] Zaneti R.N., Etchepare R., Rubio J. Car wash wastewater treatment and water reuse – a case study. *Water. Sci. Technol.* 2013, 67, 82–88.
- [18] Osman K.M., Samir A., Abo-Shama U.H., Mohamed E.H., Orabi A., Zolnikov T. Determination of virulence and antibiotic resistance pattern of biofilm producing *Listeria* species isolated from retail raw milk. *BMC Microbiol.* 2016, 16, 1–13.
- [19] Woźniak P., Dubicki M., Gryta M. Microbiological hazard analysis of car wash wastewaters. *Pol. J. Environ. Stud.* 2023, 32, 3871–3882.
- [20] Janik H., Kupiec A. Trends in modern car washing. *Pol. J. Environ. Stud.* 2007, 16, 927–931.
- [21] Davey K.R. Modelling the combined effect of temperature and pH on the rate coefficient for bacterial growth. *Int. J. Food. Microbiol.* 1994, 23, 295–303.
- [22] Mueller E.A., Westfall C.S., Levin P.A. pH-dependent activation of cytokinesis modulates *Escherichia coli* cell size. *PLOS Genet.* 2020,16, 1–24.
- [23] Hill T.B., Daniels G.C., Feng J., Harding M.W. Hard to kill: Inactivation of *Plasmodiophora brassicae* resting spores using chemical disinfectants. *Plant Dis.* 2022, 106, 190–196.
- [24] Dickens B., Ruiz-Olivo L., Palaguachi D., Jimenez D., Markowitz S.B. Occupational health of New York City car wash workers. *J. Occup. Environ. Med.* 2019, 61, 77–79.
- [25] Ojewumi M.E., Ejemen V.A., Taiwo O.S., Adekeye BT., Awolu O.O., Ojewumi E.O. Bioremediation study of raw and treated crude petroleum oil polluted soil with *Aspergillus niger* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Ecol. Eng.* 2018, 19, 226–235.