

UNIwersytet w Białymstoku
Wydział Biologiczno - Chemiczny



**BADANIA SZYBKOŚCI DEGRADACJI WYBRANYCH
LEKÓW W UKŁADACH MODELOWYCH
I W PRÓBKACH WÓD RZECZNYCH**
(streszczenie)

Aneta Sokół

Promotor: dr hab. Joanna Karpińska, prof. UwB

Recenzenci: prof. dr hab. Irena Staneczko-Baranowska (Politechnika Śląska)

prof. dr hab. Anatol Kojło (Uniwersytet w Białymstoku)

BIAŁYSTOK 2013

Założenia i cele pracy

Jakość wody jest jednym z ważniejszych czynników mających bezpośredni wpływ na stan środowiska naturalnego, kondycję zamieszkujących go organizmów oraz zdrowie spożywających ją ludzi. W ostatnich latach obserwuje się pojawienie w wodach nowego typu zanieczyszczeń organicznych. Są to pozostałości farmaceutyków. Leki stanowią liczną i zróżnicowaną grupę związków organicznych. W chwili obecnej, na rynkach krajów Unii Europejskiej sprzedawanych jest ponad 3000 rodzajów związków aktywnych. Konsumpcja leków w Polsce należy do bardzo wysokich. Obecnie kupujemy 32 opakowania leków rocznie i zajmujemy trzecią pozycję w Europie po Francuzach i Grekach. Skonsumowane leki są wydalane z organizmu wraz z moczem i kałem w postaci niezmienionej lub jako metabolity. Innym źródłem zanieczyszczeń środowiska substancjami aktywnymi biologicznie są zakłady przemysłu farmaceutycznego produkujące różne preparaty, szpitale i jednostki diagnostyczne zrzucające do środowiska duże ilości przeterminowanych środków bez ich utylizacji, gospodarstwa domowe oraz fermy hodowlane. Trwałość farmaceutyków gra główną rolę w ich możliwym niekorzystnym działaniu na środowisko. Leki są projektowane tak, aby były odporne na czynniki zewnętrzne (wilgoć, powietrze, światło). Ważna jest bowiem trwałość preparatów i stabilność ich właściwości farmaceutycznych. Większość z nich nie ulega całkowitej biodegradacji podczas procesów oczyszczania ścieków i może przedostawać się do wód powierzchniowych oraz podziemnych. Dystrybucja farmaceutyków w środowisku naturalnym zachodzi głównie poprzez transport wodny. Obecność farmaceutyków w wodach naturalnych wpływa niekorzystnie na kondycję żyjących w niej organizmów. Stanowi również poważne źródło zagrożenia zdrowia człowieka. Podczas klasycznych procesów oczyszczania ścieków farmaceutyki zmniejszają aktywność osadu czynnego przez co utrudniają rozkład materii organicznej. Leki poprzez sorpcję przez małe organizmy mogą przedostawać się do łańcucha pokarmowego, kumulować się w organizmach ryb (np. leki cytostatyczne zawierające platynę, substancje cieniujące zawierające gadolin). Niektóre związki aktywne biologicznie wpływają destrukcyjnie na nabłonek i skrzela ryb. Obserwowane w ostatnich latach zjawisko feminizacji płazów i ryb spowodowane jest zaburzeniem równowagi hormonalnej poprzez obecne w wodzie zanieczyszczenia związkami endokrynnymi. Obecność małych, ale stałych ilości antybiotyków może działać jak mikroszczepionka. Istnieją badania potwierdzające systematyczny wzrost liczby szczepów bakterii opornych na antybiotyki.

W środowisku wodnym pod wpływem procesów biotycznych i abiotycznych leki ulegają procesom sorpcji i desorpcji na cząstkach zawieszonych materii organicznej i osadach, przemianom pod wpływem bakterii oraz fotodegradacji bezpośredniej bądź pośredniej zachodzącej w powierzchniowej warstwie wody. Trwałość leków w środowisku wodnym zależy od wielu czynników m.in. od obecności organicznej materii zawieszonych, stężenia jonów nieorganicznych

takich jak: CO_3^{2-} , HCO_3^- , NO_3^- , Fe^{3+} , Fe^{2+} oraz natężenia promieniowania słonecznego. Szereg leków jest potencjalnie światłoczuła, gdyż zawierają takie ugrupowania jak pierścienie aromatyczne, heteroatomy czy sprzężone układy nienasycone, które mogą absorbować promieniowanie słoneczne albo reagować w wodach naturalnych z produktami fotodegradacji innych związków (np. kwasów humusowych). Dlatego obok takich procesów usuwania zanieczyszczeń organicznych jak biodegradacja i sorpcja, proces fotodegradacji może grać główną rolę w rozkładzie środków leczniczych w wodach powierzchniowych. Procesy fotolizy bezpośredniej lub pośredniej rozpoczynają łańcuch przemian prowadzących do stopniowego zaniku danego związku. Jednak powstające związki pośrednie, często wykazują większą aktywność niż wyjściowy związek. Dlatego ważne jest rozpoznanie kinetyki reakcji fotolitycznych bezpośrednich i pośrednich farmaceutyków oraz czynników wpływających na ich trwałość.

Na podstawie przeglądu literatury stwierdzono brak danych dotyczących trwałości i kinetyki reakcji fotodegradacji takich grup leków jak: antagoniści receptorów histaminowych H_2 , leki α_1 -adrenolityczne i niektóre leki psychotropowe. Lekami blokującymi receptory α_1 -adrenolityczne jest to nowa grupa związków stosowana od połowy lat 90-tych. Głównie wykorzystywana w leczeniu nadciśnienia tętniczego i schorzeń urologicznych. Z tej grupy leków są szeroko stosowane doksazosyna (DOX) i terazosyna (TR). W literaturze niewiele jest doniesień na temat badania ich właściwości chemicznych. Brak jest prac dotyczących ich obecności w wodach powierzchniowych i ściekach, właściwości fotochemicznych oraz trwałości w warunkach środowiskowych. Dlatego też przeprowadzono badania dotyczące oceny fototrwałości tych substancji w środowisku wód powierzchniowych.

Drugą grupą badanych leków to tzw. antagoniści receptorów histaminowych H_2 . Związki te skutecznie hamują wydzielanie soku żołądkowego. Stosuje się je w leczeniu, a także w profilaktyce owrzodzeń dwunastnicy i żołądka. Wysokie zużycie preparatów należących do tej grupy leków oraz wysoki poziom ich wydalania z organizmu człowieka w formie macierzystej powoduje, że substancje te są coraz bardziej rozpowszechnione w środowisku naturalnym. Ich zawartość w wodach powierzchniowych i ściekach wynosi od kilku ng/L do kilku $\mu\text{g/L}$. Efektywność usuwania cymetydyny (CYM), famotydyny (FAM) i ranitydyny (RAN) podczas oczyszczania ścieków waha się od niskiej do bardzo wysokiej (od 15 do 60%). Nie jest dokładnie rozpoznany mechanizm przemian leków blokujących receptory histaminowe H_2 w środowisku wodnym pod wpływem światła.

Kolejną grupę związków stanowiły leki o działaniu psychotropowym. Z tej licznej grupy, do badań wybrano dwa: lewomepromazynę (LV), przedstawiciela neuroleptyków fenotiazynowych oraz olanzapinę (OLA) związek z grupy pochodnych benzodiazepiny. Konsumpcja tych leków kształtuje się na wysokim poziomie ze względu na stresujący styl życia współczesnego społeczeństwa, coraz

wyższą świadomość potrzeby dbania o zdrowie psychiczne oraz lepszą diagnostykę tego typu schorzeń. Pomimo obecności tych leków w środowisku niewiele jest danych dotyczących ich trwałości w wodach powierzchniowych oraz prawdopodobnego łańcucha przemian jakim ulegają.

Przedstawiona praca doktorska wymagała zrealizowania następujących celów:

- a) oceny fototrwałości wybranych przedstawicieli badanych grup leków w warunkach laboratoryjnych oraz w symulowanych warunkach środowiskowych metodą spektrofotometryczną;
- b) zbadania wpływu naturalnej matrycy wód powierzchniowych (m.in. ogólnego węgla organicznego, jonów: CO_3^{2-} , HCO_3^- , NO_3^- , Fe^{3+} , Fe^{2+} i innych) na szybkość transformacji badanych leków;
- c) jakościowej analizy produktów tworzących się w trakcie procesów fotolitycznych metodami chemometrycznymi, HPLC-UV i GC-MS.

Uzyskane wyniki pozwoliły na ocenę fototrwałości wymienionych leków, wskazanie czynników wpływających na ich trwałość w środowisku wód powierzchniowych oraz zaproponowanie prawdopodobnego mechanizmu przemian jakim ulegają.

Badania własne

W części doświadczalnej pracy zbadano szybkość degradacji wybranych leków α 1-adrenolitycznych, blokujących działanie receptorów histaminowych H_2 i psychotropowych w roztworach modelowych naświetlanych promieniowaniem UV oraz w obecności naturalnej matrycy pod wpływem symulowanego światła słonecznego. Zbadano również przebieg i kinetykę procesu $\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$ oraz klasycznej i fotoreakcji Fentona. Do oceny stopnia rozkładu badanych leków i wyznaczenia kinetycznych parametrów (rzędy reakcji, stałe szybkości i czasy połowicznej przemiany) badanych procesów wykorzystano metody spektrofotometryczne i chromatograficzne. Określono fototrwałość badanych leków oraz główne mechanizmy ich fotodegradacji (fotoliza bezpośrednia i pośrednia).

Stwierdzono, że doksazosyna, terazosyna i lewomepromazyna są fotoczułe i szybko ulegają fotodegradacji. Na szybkość badanych procesów ma wpływ pH środowiska. W przypadku lewomepromazyny (LV) sprzyja środowisko kwasowe. Głównym produktem fotolizy LV jest sulfotlenek lewomepromazyny, który nie powstaje w procesie Fentona. Zaobserwowano, że szybkość fotodegradacji DOX i TR rośnie wraz ze wzrostem pH roztworu. Cymetydyna, famotydyna, ranitydyna i olanzapina są fototrwałe. Wykonane eksperymenty wykazały, że badane leki w niewielkim stopniu rozkładają się w wyniku fotolizy bezpośredniej, a procesy ich fotodegradacji wymagają obecności sensybilizatorów. Proces transformacji famotydyny zależał od pH

roztworu. W środowisku kwasowym w wyniku naświetlania promieniowaniem UV (365 nm) nie zachodził rozkład związku. W miarę wzrostu pH badanych roztworów zmniejszała się trwałość leku. Sugeruje to, że proces hydrolizy stanowi pierwszy krok w łańcuchu przemian prowadzących do degradacji FAM. Prawdopodobnie jony hydroksylowe (OH^-) są zaangażowane w ten proces i pełnią rolę fotosensybilizatora.

Zbadano wpływ naturalnej matrycy na trwałość badanych związków. Szybkość ich fotodegradacji w obecności naturalnej matrycy zależy od rodzaju badanego leku. Fotodegradacja DOX, TR, CIM, FAM, RAN, LV i OLA w roztworach przygotowanych z użyciem wód powierzchniowych przebiegała z większą wydajnością niż w roztworach modelowych. Największą wydajność reakcji otrzymano dla roztworów DOX, TR, LV i OLA.

Stwierdzono, że w warunkach naturalnych, pod wpływem naświetlania promieniowaniem słonecznym, fotodegradacja badanych leków przebiega szybciej niż w obecności promieniowania nadfioletowego. Badane reakcje degradacji DOX, TR, LV zachodzą zgodnie z mechanizmem fotolizy bezpośredniej. W obecności zmiatacza wolnych rodników (jony węglanowe i wodorowęglanowe) szybkość rozkładu badanych leków była podobna do obserwowanej w roztworach wód powierzchniowych, co potwierdza powyższe założenie. Zaobserwowano, że związki chemiczne obecne w wodach powierzchniowych (m.in.: NO_3^- , SO_4^{2-} , Fe^{2+} , rozpuszczona materia organiczna) i symulowane światło słoneczne przyspieszają rozkład cymetydyny, famotydyny, ranitydyny i olanzapiny. Stwierdzono, że w przypadku CIM, FAM, RAN i OLA obecność zmiataczy wolnych rodników zmniejsza efektywność reakcji.

Wykorzystano metodę głównych składowych (ang. *Principal Component Analysis*, PCA) w celu określenia liczby form spektralnych powstających podczas fotolizy i numeryczną dekompozycję widm (ang. *Multivariate Curve Resolution-Alternating Least Squares*, MCR-ALS) do oszacowania zawartości poszczególnych form spektralnych oraz odtworzenia ich widm.

Do identyfikacji powstałych produktów fotodegradacji LV i OLA wykorzystano chromatografię gazową z detektorem masowym (GC-MS), a do analizy jakościowej produktów fotodegradacji DOX i TR metodę HPLC-MS/MS. Analiza GC-MS, HPLC-UV i HPLC-MS/MS roztworów badanych leków pozwala ominąć ograniczenia związane z właściwościami pomiaru spektrofotometrycznego takimi jak niska selektywność wynikająca z addytywności absorpcji jak również niewystarczająca czułość.

W dalszej części pracy omówiono wpływ $\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$ oraz klasycznej i fotokatalitycznej reakcji Fentona na degradację badanych farmaceutyków w roztworach modelowych. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że naświetlanie DOX, TR, CIM, FAM, RAN, LV i OLA w obecności H_2O_2 znacznie przyspiesza procesy ich rozkładu. Zastosowanie silnego utleniacza jakim są rodniki hydroksylowe ($\text{OH}\cdot$) powstające podczas reakcji Fentona zdecydowanie zwiększyło

szybkość degradacji badanych związków. Stwierdzono, że skuteczność utleniania zależy od rodzaju badanej substancji, jej budowy chemicznej, stężenia i stosunku molowego reagentów odczynnika Fentona.

Przy wyborze zaawansowanego procesu utleniania wzięto pod uwagę aspekty praktyczne i możliwość jej realizacji w skali technicznej. Korzyści wynikające z zastosowania ditlenku diwodoru w układzie H_2O_2/UV związane są z jego dostępnością, dużą stabilnością termiczną i rozpuszczalnością w wodzie, możliwością stosowania w istniejących układach technologicznych oraz magazynowania w miejscu użycia. Jednak szybkość powstawania rodników $\bullet OH$ ograniczona jest małym współczynnikiem absorpcji promieniowania UV przez ditlenek diwodoru oraz przepuszczalnością promieniowania UV przez wodę. W porównaniu do działania samego światła UV oraz promieniowania UV i ditlenku diwodoru, proces Fentona należy do najbardziej skutecznych metod rozkładu badanych związków. Ponadto metoda jest tania, a reagenty łatwo dostępne. Dodatkową zaletą jest brak toksycznych produktów pochodzących od składników odczynnika Fentona. H_2O_2 ulega bowiem rozkładowi, a jony żelaza są łatwe do usunięcia. Jednak jej zastosowanie technologiczne np. do oczyszczania ścieków przemysłowych jest utrudnione w związku z koniecznością prowadzenia reakcji w roztworach o pH poniżej 4. Dodatkowo proces Fentona wymaga optymalizacji stężeń reagentów oraz ich stosunku molowego w zależności od składu oczyszczanej wody. Metoda Fentona jest skutecznym sposobem usuwania trudno biodegradowalnych związków chemicznych, które przy pełnej mineralizacji rozkładają się do ditlenku węgla i wody.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono że degradacja leków metodą foto-Fentona przebiegała szybciej w stosunku do procesów w układach: H_2O_2/UV i H_2O_2/Fe^{2+} . Uzyskane wyniki poszerzają wiedzę na temat trwałości badanych leków, a zastosowane zaawansowane metody utleniania (AOPs) mogą być wykorzystane w procesach ich usuwania ze ścieków przemysłowych. Rezultaty przeprowadzonych badań mogą stanowić źródło informacji niezbędnych do wyboru odpowiedniej metody eliminacji badanych farmaceutyków z wody.