

# **STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTOSKIEJ**

## **Nanostrukturalne materiały porowate jako aktywne katalizatory oraz nośniki leków w medycynie i ochronie środowiska**



Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

**Aleksandra Joanna Korzeniowska**

Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego

Praca doktorska wykonana opieką promotorską

Prof. dr hab. Barbary Gil

Kraków 2019

Głównym celem pracy doktorskiej było zbadanie potencjału nowej klasy zeolitów dwuwymiarowych (warstwowych) w zastosowaniach, które są w chwili obecnej największym wyzwaniem dla współczesnej chemii, a związanych bezpośrednio z zagrożonym przez postęp cywilizacyjny zdrowiem człowieka.

Zgodnie z danymi Światowej Organizacji Zdrowia trzy na cztery choroby trapiące obecnie ludzkość mają swoje źródło w fatalnej i ciągle pogarszającej się kondycji środowiska naturalnego, degradowanego przez nie zrównoważoną aktywność przemysłową. Przemysł chemiczny, jeszcze w drugiej połowie ubiegłego wieku uważany za dobroczyńcę ludzkości, zapewniać miał wzrost dobrobytu nie tylko obecnych, ale i przyszłych pokoleń. Świadomość zagrożenia niekontrolowaną industrializacją znajduje swoje odzwierciedlenie w liczbie regulacji poświęconych ochronie środowiska, a wydanych w ostatnim ćwierćwieczu przez Unię Europejską, w ramach szeroko rozumianej polityki klimatycznej.

Branża chemiczna obecnie otwarcie popiera przesłanie, iż bez uwzględnienia roli ekologii dalszy rozwój przemysłu wytwórczego jest niemożliwy do osiągnięcia, a ekologia stanowi nie tylko kosztowny obowiązek, ale jest szansą dalszego rozwoju dzięki inwestycjom w technologie innowacyjne, przynoszące długofalowe korzyści.

W 2010 roku Interdyscyplinarny Zespół Ekspertów PAN określił wiodące kierunki rozwoju badań podstawowych i stosowanych w obszarze szeroko pojętej chemii w Polsce i na pierwszym miejscu znalazła się chemia na pograniczu biologii, farmacji i medycyny<sup>1</sup>.

Prezentowana praca doktorska wpisuje się w tak rozumianą misję nauk chemicznych, eksploruje bowiem innowacyjne nowe materiały, jakimi są zeolity dwuwymiarowe w obu najważniejszych potencjalnych zastosowaniach – ochronie środowiska (konstrukcja katalizatorów w procesach katalitycznych) i ochronie zdrowia (nośniki substancji aktywnych w zastosowaniach biomedycznych).

Pierwszy z wątków został rozwinięty w kierunku optymalizacji syntezy dwuwymiarowych materiałów zeolitowych, w szczególności zeolitu MCM-56, w celu otrzymania kryształów o najbardziej rozwiniętych powierzchniach zewnętrznych, w których centra aktywne znajdują się bezpośrednio na powierzchni lub tuż pod powierzchnią warstwy, co przyczyniło się do zwiększenia ich dostępności dla reagentów o dużych rozmiarach cząsteczek. Otrzymane zeolity badano w testowej reakcji alkilacji Friedela-Craftsa mezytylenu alkoholem benzylovym. W pracy uzyskano zeolity MCM-56 o stężeniu centrów kwasowych typu Brønsteda (BAS) przekraczających 1000  $\mu\text{moli/g}$  oraz o powierzchniach

---

<sup>1</sup> B. Marciniak, NAUKA 1 (2012) 123-132

całkowitych w granicach 500 m<sup>2</sup>/g, są to najlepsze wyniki opublikowane dla tego typu materiałów. Przeprowadzona synteza zeolitu MCM-56 na bazie różnych źródeł krzemionki (Aerosilu, Ultrasilu oraz Ludoxu) pozwoliła określić następujące trendy:

- z wydłużaniem czasu syntezy stężenie BAS początkowo rośnie, a następnie ustala się na jednym poziomie (limitowanym przez Si/Al w żelu syntezy), przy czym najefektywniejsze wprowadzenie glinu do struktury następuje, gdy źródłem krzemu jest Aerosil, pozwalający na osiągnięcie największego stężenia BAS,
- powierzchnia właściwa BET dla MCM-56 rośnie w analogiczny sposób, przy czym wzrost ten jest niezależny od źródła krzemu,
- kwasowość zeolitu MCM-56, określana jako stężenie BAS może zostać ekstrapolowana z wielkości powierzchni maksimum IR, charakterystycznego dla podwójnych pierścieni sześciocłonowych (D6R) zeolitu w formie *as-synthesized*, niezależnie od źródła krzemu, co pozwala na bardzo szybką diagnostykę jakości uzyskanego w danej syntezie materiału,
- stężenia zewnętrznych centrów kwasowych typu Brønsteda, czyli centrów zlokalizowanych na powierzchni lub blisko powierzchni warstw nie można skorelować z czasem syntezy,
- aktywność katalityczna badanych materiałów w reakcji alkilacji mezytylenu alkoholem benzylovym zależy od dostępności centrów kwasowych typu Brønsteda, a zatem ilości tych centrów zlokalizowanych na powierzchniach warstw i we wlotach do kanałów sinusoidalnych, które można skwantyfikować za pomocą ilościowej adsorpcji trimetyloacetonitrylu badanej metodą spektroskopii IR,
- najmniej efektywnym źródłem krzemu w synteze zeolitu MCM-56 jest Ultrasil, podczas gdy preparaty syntezowane z użyciem Aerosilu i Ultrasilu charakteryzowały się większym stężeniem zewnętrznych centrów kwasowych typu Brønsteda i najlepszą aktywnością katalityczną w reakcji alkilacji mezytylenu alkoholem benzylovym.

W pracy przedstawiono również wyniki stanowiące efekt poszukiwań nowego, taniego, nieszkodliwego dla środowiska, a przede wszystkim efektywnego tytanowego katalizatora na bazie otrzymanych materiałów. Opracowano tytanowy katalizator o strukturze MCM-56 i parametrach przewyższających komercyjny, wąskoporowaty tytanozeolit TS-1 w reakcjach utleniania cząsteczek organicznych o dużych rozmiarach. Badania oparto na koncepcji, że istnienie na powierzchni dwuwymiarowych zeolitów MWW specyficznych centrów

glinowych, zwanych piramidalnymi, można usunąć poprzez dealuminację roztworem  $\text{HNO}_3$ , w wyniku czego powstają wakacje (usunięto 1/3 atomów glinu ze struktury), które następnie zastąpiono atomami tytanu z roztworu acetyloacetonianu izopropanolanu tytanu w izopropanolu. Właściwości tych centrów, jak wynika z przeprowadzonych badań, w tym testów katalitycznych reakcji sulfonowania tioanizolu oraz epoksydowania cyklooktenu, są zbliżone do centrów aktywnych obecnych w TS-1, w zeolicie TiAlMCM-56 nie występują jednak ograniczenia dyfuzyjne, wpływające na reakcje dużych cząsteczek. Warto przy tym podkreślić, że badany materiał posiadał w swojej strukturze zarówno atomy glinu, jak i centra kwasowe typu Brønsteda, co do tej pory praktycznie dyskwalifikowało taki materiał w procesach utleniania związków organicznych za pomocą nadtlenu wodoru.

Drugi wątek przedstawiony w pracy dotyczy zastosowania zeolitów dwuwymiarowych jako potencjalnych nośników w systemie kontrolowanego uwalniania leków. Jako substancje lecznicze wybrano dwie struktury różniące się przede wszystkim rozpuszczalnością w wodzie oraz w buforowanej fosforanem soli fizjologicznej – cyprofloksacynę oraz piracetam. Wybrane zeolity dwuwymiarowe należały do dwóch różnych typów struktur – MWW oraz FER, i różniły się nie tylko strukturą, ale również właściwościami chemicznymi warstw – ZSM-55 (o strukturze FER) był materiałem praktycznie czysto krzemionkowym, MCM-22 (MWW) zawierał w strukturze również centra typu Brønsteda i Lewisa. Jako materiał porównawczy zastosowano mezoporowatą krzemionkę SBA-15 o trzech różnych średnicach porów. Taki dobór nośników umożliwił śledzenie procesu immobilizacji, która w zależności od doboru nośnika wykorzystywała procesy fizyczne (adsorpcja, absorpcja) lub chemiczne, poprzez wytworzenie wiązań kowalencyjnych, jonowych lub van der Waalsa.

W przeprowadzonych badaniach udowodniono, że materiały SBA-15, nawet bez konieczności dodatkowej funkcjonalizacji powierzchni, mogą służyć jako nośniki zwiększające biodostępność substancji leczniczych, przy czym mechanizm ten może być dwojaki. Dla bardzo słabo rozpuszczalnych leków silna interakcja pomiędzy nośnikiem a lekiem powoduje, oprócz amorfizacji, również zmianę formy leku – cyprofloksacyna nie występuje już jako najslabiej rozpuszczalny jon obojnaczy, a w postaci bardziej zbliżonej do soli, czyli formy relatywnie najlepiej rozpuszczalnej. W przypadku leku bardzo dobrze rozpuszczalnego, piracetamu, jego silne oddziaływanie z nośnikiem powoduje spowolnienie uwalniania, zatem mniejsze dawki mogą zostać bardziej skutecznie metabolizowane przez organizm. Należy przy tym zaznaczyć, że w tym drugim przypadku największą korzyścią jest możliwość ograniczenia dawkowania leku, a co za tym idzie mniejszego jego wydalania w

formie niezmienionej, która następnie znajdzie się w środowisku wodnym, gdzie musi ulec procesowi rozkładu, wchodząc w interakcje z innymi związkami chemicznymi i organizmami żywymi. Jest to zatem bardziej korzyść ekonomiczna i ekologiczna, niż medyczna.

W przypadku materiałów zawierających piracetam zaobserwowano spowolnienie procesu uwalniania leku, przy czym proces ten najwolniej przebiegał dla dwóch przypadków: detemplatowanego zeolitu ZSM-55 oraz podpórkowanego FeMCM-22. W przypadku ZSM-55 prawdopodobnie największą rolę odgrywa fakt wprowadzenia piracetamu pomiędzy warstwy, które zapadają się stopniowo w miarę uwalniania leku. Natomiast w przypadku FeMCM-22 najważniejszą przyczyną wpływającą na spowolnienie uwalniania piracetamu jest oddziaływanie pomiędzy centrami typu Brønsteda i Lewisa zawartymi w nośniku, a cząsteczkami wprowadzonego leku.

W celu określenia toksyczności oraz wpływu na żywotność komórek eukariotycznych (mysich fibroblastów, linia L929, ATCC) różnych struktur, w tym SBA-15, ZSM-5 oraz ZSM-55, przeprowadzono badania cytotoksyczności oraz żywotności. Pierwszy z nich opierał się na teście ToxiLight™, w którym badano stężenie kinazy adenylowej, ponieważ w przypadku uszkodzenia błony komórkowej następuje jej wyciek z wnętrza komórki do otaczającego środowiska. Po 24 godzinach dla najwyższych zastosowanych stężeń badanych materiałów (1,2 mg/ml) obserwuje się zmniejszoną liczebność komórek oraz podwyższony poziom toksyczności, który oznacza żywotność komórek dla materiału SBA-15 na poziomie 25 %, dla ZSM-5 na poziomie 35 % oraz dla ZSM-55 na poziomie 22 % w odniesieniu do grupy kontrolnej. Po 72 godzinnej inkubacji dla ZSM-55 i SBA-15 nie obserwuje się znaczących zmian co oznacza, że zastosowanie nawet wysokiego stężenia materiałów nie zatrzymuje proliferacji, a jedynie spowalnia ją, natomiast dla ZSM-5 toksyczność osiąga ok. 80 %, co potwierdza negatywny wpływ wysokiego stężenia ZSM-5 na żywotność oraz proliferację mysich fibroblastów.

Przeprowadzone badania cytotoksyczności wskazują, że zastosowane zeolity (ZSM-55) jak i materiały mezoporowate (SBA-15) mogą być potencjalnymi nośnikami leków nie wpływającymi negatywnie na żywotność i proliferację komórek, z którymi miały bezpośredni kontakt.

Aktywność metaboliczną komórek badano z zastosowaniem testu PrestoBlue™, wykrywającego produkty procesów, które zachodzą w komórkach nieuszkodzonych, dzięki czemu możliwe jest określenie liczby komórek o prawidłowym metabolizmie mitochondrialnym. Dla wszystkich badanych materiałów po 24 godzinach inkubacji

obserwuje się obniżenie żywotności komórek do poziomu ok. 70 % przy zastosowaniu najwyższego stężenia badanego materiału. Po wydłużeniu czasu inkubacji do 72 godzin, żywotność mysich fibroblastów zależy od rodzaju zastosowanego materiału. Znaczące różnice widoczne są szczególnie w przypadku ZSM-5, gdzie zastosowanie stężenia 1,2 mg/ml powoduje spadek żywotności o 80 %. Najmniejszy wpływ na żywotność fibroblastów nawet dla wysokich stężeń obserwuje się w przypadku SBA-15. Wydłużenie inkubacji spowodowało obniżenie żywotności jedynie o 7 % w porównaniu do wyników uzyskanych po 24 godzinach.

Publikacje w ramach badań poprowadzonych do pracy doktorskiej:

1. A. Korzeniowska, J. Grzybek, W.J. Roth, A. Kowalczyk, P. Michorczyk, J. Čejka, J. Přech, B. Gil  
"Incorporation of Ti as a Pyramidal Framework Site in the Mono-Layered MCM-56 Zeolite and its Oxidation Activity"  
*ChemCatChem*, **2019**, 11, 520-527  
IF= 4,674
2. W. J. Roth, B. Gil, A. Mayoral, J. Grzybek, A. Korzeniowska, M. Kubu, W. Makowski, J. Čejka, Z. Olejniczak, M. Mazur  
"Pillaring of layered zeolite precursors with ferrierite topology leading to unusual molecular sieves on the micro/mesoporous border"  
*Dalton Trans.*, **2018**, 47, 3029–3037  
IF= 4,099