

Nanotechnologia, kosmetyki, chemia supramolekularna

**Praca zbiorowa pod redakcją
Grzegorza Schroedera**



Cursiva
2010

Recenzenci

Wydanie I
2010

Cursiva
<http://www.cursiva.pl>

ISBN 978-83-62108-04-6

Spis treści

Książka adresowa	5
Rozdział 1	7
Zastosowanie nanotechnologii w kosmetologii <i>Agata Szlecht, Grzegorz Schroeder</i>	
Rozdział 2	35
Filtry przeciwsłoneczne w kosmetykach działające w zakresie promieniowania UV <i>Kamila Zając, Małgorzata Królik, Bogusława Łęska, Grzegorz Schroeder</i>	
Rozdział 3	63
Kwas hialuronowy <i>Agnieszka Maciejewska, Grzegorz Schroeder</i>	
Rozdział 4	89
Bezpieczeństwo w nanotechnologii <i>Aneta Pytlewska, Grzegorz Schroeder</i>	
Rozdział 5	123
Mocznik i jego zastosowanie w preparatach kosmetycznych <i>Daria Baran, Grażyna Bartkowiak, Grzegorz Schroeder</i>	
Rozdział 6	141
Zastosowanie alg w kosmetyce <i>Katarzyna Król, Karolina Klimaszka, Bogusława Łęska</i>	
Rozdział 7	163
Tautomeria, właściwości kwasowo-zasadowe i kompleksotwórcze pochodnych pirazyn <i>Anita Stefańska, Paweł Niedziałkowski, Dorota Zarzeckańska, Tadeusz Ossowski</i>	

Rozdział 8	191
Elektrostatyczna samoorganizacja <i>Szymon Jasiocki, Grzegorz Schroeder</i>	
Rozdział 9	215
Nanorurki węglowe <i>Michał Cegłowski</i>	
Rozdział 10	239
Zastosowanie spektrometrii mas z jonizacją/desorpcją laserową wspomaganą matrycą (MALDI) w chemii supramolekularnej <i>Grażyna Bartkowiak, Grzegorz Schroeder</i>	

Książka adresowa

Grzegorz Schroeder

Uniwersytet im. A. Mickiewicza
Wydział Chemii
Grunwaldzka 6
60-780 Poznań

Daria Baran

Uniwersytet im. A. Mickiewicza
Wydział Chemii
Grunwaldzka 6
60-780 Poznań

Grażyna Bartkowiak

Uniwersytet im. A. Mickiewicza
Wydział Chemii
Grunwaldzka 6
60-780 Poznań

Michał Cegłowski

Uniwersytet im. A. Mickiewicza
Wydział Chemii
Grunwaldzka 6
60-780 Poznań

Szymon Jasiocki

Uniwersytet im. A. Mickiewicza
Wydział Chemii
Grunwaldzka 6
60-780 Poznań

Karolina Klimaszka

Uniwersytet im. A. Mickiewicza
Wydział Chemii
Grunwaldzka 6
60-780 Poznań

Katarzyna Król

Uniwersytet im. A. Mickiewicza
Wydział Chemii
Grunwaldzka 6
60-780 Poznań

Małgorzata Królik

Uniwersytet im. A. Mickiewicza
Wydział Chemii
Grunwaldzka 6
60-780 Poznań

Bogusława Łęska

Uniwersytet im. A. Mickiewicza
Wydział Chemii
Grunwaldzka 6
60-780 Poznań

Paweł Niedziałkowski

Uniwersytet Gdański
Wydział Chemii
ul. Sobieskiego 18/19
80-952 Gdańsk

Agnieszka Maciejewska

Uniwersytet im. A. Mickiewicza
Wydział Chemii
Grunwaldzka 6
60-780 Poznań

Tadeusz Ossowski

Uniwersytet Gdański
Wydział Chemii
ul. Sobieskiego 18/19
80-952 Gdańsk

Aneta Pytlewska

Uniwersytet im. A. Mickiewicza
Wydział Chemii
Grunwaldzka 6
60-780 Poznań

Anita Stefańska

Uniwersytet Gdański
Wydział Chemii
ul. Sobieskiego 18/19
80-952 Gdańsk

Agata Szlecht

Uniwersytet im. A. Mickiewicza
Wydział Chemii
Grunwaldzka 6
60-780 Poznań

Kamila Zając

Uniwersytet im. A. Mickiewicza
Wydział Chemii
Grunwaldzka 6
60-780 Poznań

Dorota Zarzeckańska

Uniwersytet Gdański
Wydział Chemii
ul. Sobieskiego 18/19
80-952 Gdańsk

Rozdział 1

Zastosowanie nanotechnologii w kosmetologii

Agata Szelecht, Grzegorz Schroeder

*Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Wydział Chemii, Grunwaldzka 6,
60-780 Poznań*

Preparaty kosmetyczne reklamowane jako najnowsze i najskuteczniejsze zawierają w swoim składzie szereg aktywnych związków chemicznych. Te aktywne składniki kosmetyków mają nie tylko różną budowę chemiczną, ale również charakteryzują się różną wielkością cząsteczek. W ostatnich latach w świat kosmetyków wkroczyła nanotechnologia oferująca nowe aktywne składniki o wymiarach odpowiadających wielkości dużych molekuł posiadających unikalne właściwości charakterystyczne tylko dla tego wymiaru. Do grupy tej zaliczamy obecnie nanocząsteczki, których jeden z wymiarów nie przekracza 100 nm. Granica ta jest jednak umowna. Dolną granicą rozmiaru nanocząstek jest wielkość pojedynczego atomu – wynosi ona ok. 0,2 nm. Warto jednak zauważyć, że nie każdy obiekt, który spełnia kryteria wielkości można zaliczyć do obszaru zainteresowań nanonauki czy nanotechnologii. Niezbędnym i koniecznym warunkiem, jest to, aby nanometryczny obiekt wykazywał właściwości, których nie posiadają większe cząsteczki tego samego materiału [1-9].

Nanocząsteczki mogą występować w różnych kształtach, takich jak:

- kule; przykładem mogą być fulereny węglowe,
- rurki; tworzą je najczęściej pojedyncze atomy lub cząsteczki, które układają się w jedno lub kilkuwarstwowe rurki. Najbardziej popularne w tej grupie są nanorurki węglowej i układy zbudowane z azotku boru czy z tlenków metali przejściowych (TiO_2 czy ZnO),
- formy typu dendrymeru jak kształty “kwiatopodobne”. Do tej grupy zaliczamy np. cząsteczki ditlenku tytanu, które zostały otrzymane w taki sposób, że gładka powierzchnia cząsteczek ułożona była w formie „płatków kwiatu”, a rdzeń tworzył porowaty materiał [10].

Pojęciem szerszym w stosunku do pojęcia nanocząstki jest nanomateriał. Jest to materiał, który zbudowany jest z elementów nanometrycznych, o rozmiarach około 0,2-100 nm. Nanomateriały możemy podzielić na następujące grupy:

- materiały zero-wymiarowe (punktowe), np. kropki kwantowe i materiały nanoheterogeniczne, zbudowane w ten sposób, że w osnowie materiału umieszczone są cząstki nanometryczne (kropka kwantowa to bardzo mała cząstka materii jak choćby nanokryształ, którą można opisać za pomocą praw fizyki kwantowej i tylko za pomocą jednego wymiaru);
- materiały jedno- i dwuwymiarowe: są to przede wszystkim warstwy o grubości nanometrycznej, np. błona ditlenku tytanu, zbudowana z kryształków TiO_2 , które ułożone są jeden przy drugim. Tak utworzony film posiada silne właściwości katalityczne w odniesieniu do związków organicznych;
- materiały trójwymiarowe (nanokrystaliczne): złożone z kryształów o rozmiarach nanometrycznych; mogą występować jako homo- i heterogeniczne [10,11].

Cząsteczki i materiały w skali nano odróżnia od tych w skali makro:

- zwiększona twardość (nano-nikiel jest porównywalnie twardy do stali),
- znacznie większa wytrzymałość (nano-krzem jest bardziej odporny na rozciąganie niż stal) i występująca jednocześnie większa plastyczność. Ponadto niektóre nanomateriały ceramiczne charakteryzuje zjawisko tzw. superplastyczności, dzięki której materiały mogą ulegać odkształceniom nawet do 250%,
- zwiększona odporność na pełzanie. Dzięki czemu możliwa staje się produkcja tworzyw, które mogą być stosowane w wysokich temperaturach (np. nanometryczny węgiel krzemu),
- lepsze właściwości ślizgowe (materiały polimerowo-nanometryczne stosowane jako części w różnego rodzaju maszynach nie wymagają zastosowania smaru),
- znacznie lepsza biokompatybilność biomateriałów nanometrycznych,
- specyficzne lub zwiększone właściwości adsorpcyjne i absorpcyjne (np. w stosunku do wodoru) oraz oryginalne cechy magnetyczne znalazły zastosowanie w gromadzeniu informacji w elektronice i informatyce,
- zwiększona odporność chemiczna
- lepsza hydrofilowość grupy nanomateriałów, tzw. superhydrofilowość, która polega na obniżeniu kąta zwilżania powierzchni materiału przez wodę.

Własności danego materiału zależą od rozmiarów jego cząsteczek, doskonale obrazuje to przykład ditlenek tytanu. W formie makro jako biały pigment stosowany jest od początku XX w. Jego nanometryczny odpowiednik jest komercyjnym produktem na dzisiejszym rynku nanoproductów a jego

produkcja osiągnęła już skalę przemysłową.

Tabela 1. Porównanie właściwości cząstek ditlenku tytanu w zależności od ich wielkości [10,11].

Cecha	Ditlenek tytanu	
	Skala makro	Skala nano
Wielkość ziaren	0,1-0,3 μm	1-100 nm
Powierzchnia właściwa	$\approx 12 \text{ m}^2/\text{g}$	nawet $>300 \text{ m}^2/\text{g}$
Barwa	Biała	Przezroczysty
Reaktywność chemiczna	Bez zmian	
Absorbpcja promieniowania UV	Średnia	Wysoka
Aktywność fotokatalityczna	Niska	Wysoka
Hydrofilowość	Średnia	Bardzo wysoka
Zdolność antybakteryjna	Niska	Wysoka
Główne zastosowanie	Pigment	Fotokatalizator

Wyróżnia się dwie techniki wytwarzania obiektów w skali nano, które odróżnia kierunek działań.

- top-down: w metodzie tej następuje rozdrabnianie materiału,
- bottom-up: technika ta polega na otrzymywaniu z pojedynczych atomów większych struktur.

Techniki wytwarzania top-down są to procesy fizyczne, stosowane od dawna w nanotechnologii polegające na mechanicznym rozdrobieniu materiału. Przeważnie odbywa się to poprzez mielenie lub cięcie, w wyniku czego następuje zmiana struktury krystalicznej rozdrabnianej substancji. Metoda ta jednak posiada zarówno zalety jak i wady. Z jednej strony cechuje je proste oprzyrządowanie oraz niski koszt, z drugiej natomiast mała precyzja w wielkościach oraz rozkładzie wielkości cząsteczek, oraz procesy aglomeracji. Drugą metodą stosowaną w technice top-down jest litografia. Jest techniką, która służy do otrzymywania małych obiektów i stosowana jest przede wszystkim w elektronice przy produkcji elementów elektronicznych. Techniki litograficzne przeprowadza się w dwuetapowo:

- pierwszy etap polega na utworzeniu w danej strukturze wzoru, który powstaje np. dzięki działaniu promieni światła o danej długości, wiązki jonów lub elektronów. Właśnie takie działanie powoduje zmiany w danym materiale
- w drugim etapie następuje trawienie w kwasie i/lub osadzanie, którego celem jest pozbycie się zmodyfikowanego materiału (pozostałość tworzy nanoobiekt lub szablon, który po dodaniu odpowiedniego

związku stworzy nowy produkt) lub dobudowanie się dodatkowego materiału na zmodyfikowanym w początkowym etapie, stanowiącym swego rodzaju wzór.

Trzecią metodą techniki top-down są techniki ultraprecyzyjne takie jak skrawanie, trawienie, szlifowanie obiektów z precyzją nanometryczną [10-11].

Chemiczna synteza nanomateriałów metodą bottom-up obejmuje szereg metod, które dzielimy na:

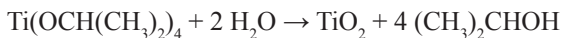
- metody chemicznej syntezy w fazie ciekłej (np. metoda zol-żel oraz metoda strąceniowa),
- metody chemicznej syntezy w fazie gazowej.

W technice chemicznej syntezy, którą prowadzi się w ciekłej fazie największym powodzeniem cieszy się metoda zol-żel. Jej liczne zalety to m.in.:

- czystość otrzymanywanych produktów,
- uzyskiwanie produktów o określonych właściwościach (dzięki możliwości sterowania procesami wytwarzania).
- otrzymanywane produkty charakteryzują różnorodność form,
- prostota wytwarzania.

Technikę zol-żel wykorzystuje się przede wszystkim w celu otrzymania nanotlenków metali przejściowych tj. TiO_2 , ZnO .

Celem metody zol-żel jest otrzymanie (przeważnie poprzez hydrolizę) zolu soli danego związku. Następnym etapem jest ogrzanie zolu, które prowadzi do otrzymania czystego związku oraz oddzielenia zbędnych produktów. Dzięki tak przeprowadzonemu procesowi, uzyskujemy bezpośrednio na danych powierzchniach, cienkie warstwy związków (nawet jednoatomowych warstw), bez potrzeby przeprowadzania procesu osadzania. Przykładem otrzymanywania związku w skali nano za pomocą metody zol-żel jest wytworzenie ditlenku tytanu w reakcji hydrolizy tetraizopropylu tytanu:



Etapy otrzymanywania ditlenku tytanu:

- otrzymanie zolu - sól organiczną tytanu (tetraizopropyl tytanu) poddaje się hydrolizie; otrzymujemy zol ditlenku tytanu
- przemiana zolu w żel – pozostawiony na okres kilkunastu godzin zol ulega przemianie w żel (proces żelowania, który oparty jest na kondensacji i polimeryzacji cząsteczek)
- kalcynacja lub suszenie w wysokiej temperaturze (ok. 500°C) żelu, w celu otrzymania produktu; przy otrzymanywaniu ditlenku tytanu usunięciu ulega część organiczna, która stanowi pewnego rodzaju matrycę, a sam produkt zostaje przekształcony w formę końcową

Synteza w fazie gazowej obejmuje kilka metod, z czego największe

znaczenie mają techniki chemicznego osadzania (chemical vapour deposition CVD) oraz pirolizy aerozolowej (spray pyrolysis deposition SPD). W metodzie CVD prekursor jest w fazie gazowej i synteza cząstek nanometrycznych zachodzi bezpośrednio z fazy gazowej. Technika SPD jest podobna do chemicznego osadzania, różni się tym, że aerozol formowany jest z roztworu prekursora i nanoszony jest na powierzchnię, gdzie zachodzi reakcja syntezy.

Drugą metodą stosowaną w technice bottom-up jest otrzymywanie nanomateriałów poprzez samoorganizację. Metoda ta opiera się na samoistnym tworzeniu się nanostruktur z atomów bądź cząstek. W taki sposób następuje produkcja fullerenów węglowych oraz nanorurek. Metody precyzyjnej kontroli substancji na poziomie pojedynczych atomów i cząstek (mikroskopy skali nano) dają możliwości stworzenia struktur z poszczególnych atomów i cząstek [10-11].

Nanocząsteczki i nanomateriały znalazły zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu, w tym również w przemyśle kosmetycznym. Liczba praktycznych zastosowań tych nowych materiałów wzrasta szybko, z drugiej jednak strony problemy związane z bezpieczeństwem i zdrowiem człowieka w przypadku kontaktu z nano produktami są do końca nierozeznane i opisane. Zaskakującym jest fakt, że większość raportów dotyczących ryzyka stosowania nanomateriałów w kosmetykach opisuje to ryzyko jako potencjalne i nie przedstawia istotnych dowodów.

Liczba zastosowań nanomateriałów w kosmetykach może być limitowana przez regulacje prawne. Zapisy dotyczące oceny bezpieczeństwa nanomateriałów prawdopodobnie zostaną zawarte w nowym rozporządzeniu UE dotyczącym kosmetyków. Z tego względu ważne jest dla wszystkich zainteresowanych z kręgu przemysłu kosmetycznego zapoznanie się z opublikowanymi danymi dotyczącymi bezpieczeństwa nanomateriałów, jak również monitorowanie inicjatyw legislacyjnych w tej dziedzinie. Z drugiej strony badania psychometryczne pokazują silną korelację społecznej percepcji zagrożeń związanych z nowymi technologiami, w tym nanotechnologią z akcjami nadzorującymi, prowadzonymi przez agencje rządowe. Powstaje pytanie „Czy rzeczywiste ryzyko, jakie niesie nanotechnologia staje się synonimem „nowego zagrożenia” w oczach społeczeństwa, podobnie jak aktualnie ma to miejsce w przypadku inżynierii genetycznej i jej zastosowania w żywności?”

Z punktu widzenia budowy nanomateriały można podzielić na: nanosfery, nanokapsuły i nanoemulsje.

Nanosfery są to polimeryczne systemy matrycowe, składające się ze stałego wnętrza o nieciągłej oraz porowatej strukturze. Aktywne czynniki adsorbowane są na polimerycznym materiale i ulegają rozpuszczeniu w

środoowisku polimeryzacji, które przystosowane jest do aktywnych składników hydrofilowych. Do grupy najczęściej używanych materiałów polimeryzacyjnych zaliczamy: polialkilocyjanoakrylan (PACA) lub jego pochodne, ale także kopolimer styrenu i makrocząsteczki biologiczne. W szczególnych przypadkach usieciowane polisiloksany stwarzają również możliwość związania in situ lipofilowych składników aktywnych. Adsorpcja substancji czynnych związana jest z porowatością polimeru. Nanosfery są małymi (ok. 100 nm) nośnikowymi systemami zdolnymi przenosić aminokwasy, składniki mineralne i organiczne oraz wyciągi roślinne. Takie nanonośniki zapewniają m.in. zwiększoną trwałość związków, takich jak retinol czy witamina C. Mogą również zwiększać biodostępność substancji aktywnych oraz poprawiać właściwości sensoryczne preparatu. W jednej z ostatnio podjętych prac przeprowadzono syntezę mezoporowatych nanosfer krzemionkowych i podjęto próbę absorpcji w ich wnętrzu substancji pochłaniającej promieniowanie UV - 2,2',4,4' tetrahydroksybenzofenonu (THBF). W celu syntezy pustych krzemionkowych nanosfer zmieszano krzemian tetraetylowy z chlorkiem trimetylocetyloamoniowym oraz zawiesiną polistyrenu. Następnie oddzielono osad i prażono, celem otrzymania czystego produktu. Badania z użyciem promieni Roentgena, elektronowej mikroskopii skaningowej oraz transmisyjnej, wykazały porowatość struktury oraz pomogły określić rozmiar i kształt cząstek. Zewnętrzna średnica uzyskanych nanosfer wyniosła ok. 400 nm. Badania absorpcji azotu potwierdziły jednakową wielkość cząstek oraz dowiodły, że otrzymano strukturę mezoporowatą. Metody spektroskopowe potwierdziły również, że zastosowana metoda syntezy, pozwala na skuteczną absorpcję THBF we wnętrzu nanosfer. Metoda ta może znaleźć zastosowanie w produkcji nośników dla filtrów UV. Natomiast mezosfery krzemionkowe mogą znaleźć zastosowanie w preparatach kosmetycznych. [12,13]

Nanokapsuły, to układy mogące uwięzić aktywną substancję w swoim wnętrzu i pod wpływem różnych czynników zewnętrznych uwolnić ją w pożądanym momencie. W preparatach kosmetycznych coraz częściej stosuje się nanonośniki lub promotory przenikania substancji aktywnych. Układy te są nieodzownymi składnikami dzisiejszych receptur kosmetycznych, gdyż znalazły zastosowanie jako transportery substancji biologicznie aktywnych. Istotnym elementem działania nanokapsulek jest możliwość dostarczenia aktywnych substancji w odpowiednie miejsce oraz kontrola ich uwalniania. Umożliwia to bardziej efektywne wykorzystanie aktywnych składników kosmetyku, gdyż możliwa staje się penetracja kosmetyku w głąb skóry. Gdy zbyt duża ilość czynnych biologicznie związków preparatu zostaje na powierzchni skóry, maleje efektywność kosmetyku. Stężenie w niższej położonych warstwach skóry jest zbyt

małe, aby osiągnięty został zamierzony efekt kosmetyczny.

Najważniejszą kwestią w tworzeniu nanonośników jest zamknięcie aktywnych substancji w otoczkę zbudowaną z naturalnych, biodostępnych lub biodegradowalnych materiałów. Powoduje to efektywniejsze oraz rozłożone w czasie wykorzystanie czynnych związków znajdujących się wewnątrz kapsuły. Kolejną zaletą tego typu kapsulek jest ochrona wrażliwych substancji przed szkodliwym działaniem czynników zewnętrznych tj. (wilgoć czy tlen) lub przed innymi składnikami receptury. Ponadto możliwe jest zwiększenie trwałości kosmetyku oraz zwiększenie działania niektórych surowców, poprzez oddzielenie reagujących ze sobą substancji. Wybór odpowiedniego rodzaju otoczki zamykającej kapsułę, umożliwi wprowadzenie substancji hydrofilowych do układów hydrofobowych i odwrotnie. Tego rodzaju nośniki pozwalają ponadto na kontrolę zapachu oraz barwy surowców. Nanokapsuły są zbudowane z płynnego lub żelowego wnętrza, osłoniętego polimeryzowaną osłonką. Aktywne czynniki złożone są najczęściej z tłuszczowej mieszaniny lub układu despersyjnego i cechuje je lipofilowy charakter.

Rozmieszczenie czynnika aktywnego w systemach nośnikowych polega na: rozpuszczeniu lub unieruchomieniu w matrycy lub na adsorpcji na powierzchni nanocząsteczek [12,14,15]. Obydwie techniki mają zastosowanie w przygotowaniu preparatów kosmetycznych. Najczęściej stosowane syntetyczne polimery w produkcji nanocząsteczek to:

PACA – Polialkilocyanoakrylan

PIBCA – Poliizobutyloakrylan

PIHCA – Poliizohexyloakrylan

IBCA – Izobutyloakrylan

PLA – Polylactic acid (kwas polimlekowy)

PMMA – Polimetylmetakrylan

PAA – Poliakryloamid

PGA – Polyglycolid acid (kwas poliglikolowy)

PLGA – Polylactic glycolic acid (kwas polimlekowo-glikolowy)

Technologia nanokapsuł ma obecnie duże zastosowanie w kosmologii. Produkcja nowych kosmetyków uwarunkowana jest koniecznością kontroli uwalniania substancji z organizmu lub ich ochroną przed dostaniem się do środowiska naturalnego. Nanokapsuły wykorzystuje się również w farmakologii do produkcji tzw. inteligentnych leków (smart drugs), które posiadają specyficzne chemiczne receptory mogące pomóc w leczeniu wielu chorób [16].

- - niosomy, posiadają strukturę zbliżoną do liposomów, lecz zbudowane są z niejonowych środków powierzchniowo czynnych, które otrzymywane są syntetycznie. Ich zastosowanie umożliwiło rozwiązanie problemów,

które pojawiały się przy zastosowaniu liposomów, a mianowicie: niską stabilność produktu oraz wyciek zamykanych substancji. Kolejną ich zaletą jest trwałość pod względem chemicznym, wadą natomiast, że zbudowane są z substancji obcych dla organizmu człowieka. Preparaty zawierające niosomy po nałożeniu na powierzchnię skóry, pod względem fizjologicznym zachowują się identycznie jak liposomy.

Do produkcji niosomów najczęściej stosowane są następujące rodzaje związków powierzchniowo czynnych:

1. Eter etylowy polioksyetylenoglikolu, $n=3-7$

$$\text{HO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-[O-CH}_2\text{-CH}_2\text{]}_n\text{-O-CH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_{14}\text{-CH}_3$$
2. Eter poliglicerylo alkilowy, $n= 12-18$

$$\text{HO-CH}_2\text{-CH(OH)-CH}_2\text{-[O-CH}_2\text{-CH(OH)-CH}_2\text{]}_n\text{-O-R}$$
3. Ester kwasu stearynowego i polietylenoglikolu

$$\text{HO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-[O-CH}_2\text{-CH}_2\text{]}_n\text{-O-CO-C}_{17}\text{H}_{35}$$

Firma L'Oreal w latach osiemdziesiątych XX wieku wprowadziła na rynek produkt kosmetyczny, które oparty został na nanonośnikach – Niosomes. Obecnie tego typu nośniki zawierające substancje czynne takie jak białka, kwas hialuronowy, czy antyoksydanty są szeroko stosowane na rynku kosmetycznym. Produkty kosmetyczne, zawierające w swoim składzie niosomy mogą mieć zastosowanie w kremach nawilżających, odżywczych, produktach do włosów, kosmetykach do opalania z filtrami oraz samoopalaczach, antyperspirantach i preparatach do golenia [17-19].

Od lat dziewięćdziesiątych nanotechnologia dzięki nowym narzędziom pozwalającymi manipulować tak małymi cząstkami rozwija się coraz szybciej. Potentatem w tej dziedzinie jest firma L'Oréal, który wydaje miliony dolarów na badania. L'Oreal opracował już technologię produkcji szminek do ust, cieni do powiek i farb do włosów, które swą barwę zawdzięczają nie tradycyjnym pigmentom, lecz nanocząstkom i płynnym kryształom. Lakierzy do paznokci są trwalsze i bezbarwne, dopóki pozostają w opakowaniach a właściwego koloru nabierają dopiero pod wpływem światła po naniesieniu na powierzchnię paznokcia. Kremy pielęgnacyjne zawierające nanostruktury są skuteczniejsze, ponieważ ich substancje aktywne docierają tam, gdzie są najbardziej potrzebne. Nanosomy wykorzystywane są również w kosmetykach chroniących ludzką skórę przed działaniem szkodliwych promieniowania UV, gdyż nie tylko pochłaniają promieniowanie UV, ale ponadto eliminują powstawanie reaktywnych form tlenu. Materiałami, które cieszą się dużym zainteresowaniem w przemyśle kosmetycznym są: dwutlenek cynku lub tytanu. TiO_2 stosowany jest w różnego rodzaju kremach i balsamach jako materiał pochłaniający promieniowanie UV, lecz niestety, w tym samym czasie emituje on fotoelektrony, które mogą brać

udział w produkcji nadtlenków oraz innych reaktywnych form tlenowych (ROS, ang. reactive oxygen species). Te reaktywne formy tlenu oraz nadtlenki reagują z lipidami oraz DNA w komórce, niszcząc jej istotne struktury. Zabezpieczając skórę przed promieniami UV pośrednio również ją uszkadzamy. Dzięki nanotechnologii udało się zmodyfikować powierzchniowo nanocząstki dwutlenku tytanu przez nałożenie nanowarstwy wykonanej z polimeru i ekstraktu z pestek winogron o właściwościach antyoksydacyjnych. Zmodyfikowany w ten sposób dwutlenek tytanu, nie tracąc nic ze swych właściwości (pochłanianie dużej ilości promieniowania UV), będzie zabezpieczał DNA komórek skóry przed niszczącym działaniem powstających w wyniku absorpcji UV fotoelektronów, które w dalszej kolejności generują czynniki uszkadzające materiał genetyczny komórki. Zmodyfikowany dwutlenek tytanu powinien trafić do wszystkich produktów kosmetycznych służących ochronie przeciw promieniowaniu UV, w których składzie jest obecnie czysty TiO_2 .

Pierwsze wzmianki o stałych nanocząstkach lipidowych (SLN) pojawiły się w latach osiemdziesiątych XX wieku. SLN są sferycznymi cząstkami o wymiarach 40-1000 nm; zbudowane są ze stałych lipidów i rozproszone w fazie wodnej, która zawiera emulgatory. W celu utrzymania zawiesiny lipidowych nanocząsteczek niezbędne są lipidy, emulgatory oraz woda. Wszelkie aktywne substancje przyłącza się do lipidowej matrycy, gdzie są albo zawieszane albo rozpuszczone. SLN otrzymywane są w wyniku zastąpienia fazy olejowej emulsji lipidami stałymi w temperaturze pokojowej i ciała ludzkiego. Aby otrzymać nanocząsteczki niezbędne jest zastosowanie jednej lub kilku grup lipidów takich jak:

- triglicerydy (tristearynian, tripalmitynian)
- glicerydy (monostearynian glicerolu, behenian glicerolu)
- kwasy tłuszczowe (stearynowy palmitynowy)
- steroidy (cholesterol)
- woski (palmitynian cetylu)

Ich udział w zawiesinie oscyluje między 0,1% a 30%. Należy pamiętać, że wraz ze wzrostem stężenia powyżej 5-10% przeważnie wzrasta również wielkość cząsteczek oraz rozrzut ich wielkości. Wybór emulgatorów przy produkcji nanocząsteczek nie ma większego znaczenia. Jednak ich zawartość powinna wynosić od 0,5% do 5%. Emulgatorami, stosowanymi w produktach przeznaczonych do skóry najczęściej są: Poloxamer 188, Polisorbat, Tyloxapol, TegoCare 450, Miranol Ultra C32, lecytyna, estry kwasów tłuszczowych oraz pochodne sacharozy. Aby zapobiec agregacji cząsteczek w zawiesinie można użyć kilku emulgatorów.

Przyłączenie aktywnych substancji do lipidowych nanocząsteczek

chroni je przed degradacją. Doskonałym przykładem może być przyłączenie koenzymu Q10 do palmitynianu cetylu, retinoidów, pamitynianu askorbylu czy kurkuminoidów. Kurkuminoidy, które są przeciwutleniaczami, hamują peroksydację lipidową a tym samym opóźniają proces starzenia skóry. Ulegają one jednak hydrolizie, utlenianiu oraz fotodegradacji, dlatego ich zastosowanie w kosmetologii nie jest zbyt powszechne. Ich trwałość można jednak znacznie udoskonalić, poprzez ich inkorporowanie do matrycy lipidowej (kwas stearynowy i monostearynian glicerolu). Stwierdzono, że po upływie 6 miesięcy przechowywania w temperaturze pokojowej i bez dostępu światła słonecznego zawartość kurkuminoidów w liofilizowanych SLN nie spadła poniżej 95%.

Nanostrukturalne nośniki lipidowe (NLC) są kolejną stosowaną obecnie generacją nanocząsteczek ze stałą matrycą. Jedną z ich zalet jest brak utraty substancji aktywnej podczas przechowywania, co ma miejsce w SLN. Stałe lipidy bądź ich mieszaniny, po utworzeniu SLN krystalizują w polifomicznych formach. Jednak podczas przechowywania przechodzą one w formy o mniejszej ilości szczelin w strukturze kryształu. Nanostrukturalne nośniki lipidowe powstają w wyniku złączenia stałych lipidów z olejami (np. Miglyol 812, Capmul MCM). W ten sposób otrzymujemy matrycę lipidową z obniżoną temperaturą topnienia w stosunku do stałego lipidu. Tak powstała matryca jest dalej stała w temperaturze ciała ludzkiego, nie ma struktury uporządkowanego kryształu, lecz występuje w stanie amorficznym lub niedoskonałego kryształu. Aktywne związki znacznie lepiej rozpuszczają się w olejach niż w stałych lipidach, dlatego też w NLC można umieścić większą ilość czynnej substancji. NLC mogą występować również w formie wielokrotnych systemów t.j. zawiesina olej/stały lipid/woda, które powstają poprzez zmieszanie stałego lipidu z dużą ilością oleju i przeprowadzeniu wysokociśnieniowej homogenizacji na gorąco. W wyniku ochładzania mieszaniny, zostaje przekroczona rozpuszczalność oleju w stałym lipidzie i następuje rozdzielenie faz. (tworzą się nanokompartymy olejowe w lipidowej matrycy).

Lipidowe nanocząsteczki są doskonałymi nośnikami aktywnych związków w kosmetykach stosowanych w ciągu dnia w celu nawilżenia skóry. Natomiast w kosmetykach przeznaczonych na noc mogą być wytwarzane z lipidowych nanocząsteczek, gdyż stężone zawiesiny posiadają tak gęstą konsystencję, że mogą samodzielnie tworzyć dany preparat. Dzięki swojej zdolności zwiększania nawilżenia skóry nanocząsteczki przyczyniają się również do zwiększenia elastyczności skóry, a więc mogą być wykorzystywane w preparatach przeciwzmarszczkowych. W próbach *in vivo* zbadano własności okluzyjne oraz możliwość redukcji zmarszczek kremu, a następnie badania powtórzono stosując dodatkowo 4% SLN. Wyniki pokazały, że sam krem zwiększył

nawilżenie skóry o 24%, a z dodatkiem SLN o 32%. Głębokość zmarszczek po zastosowaniu preparatu z SLN uległa zredukowaniu z 100% do 89,7%, a bez jego dodatku do 95,9%. Możliwości nanocząstek lipidowych w odniesieniu do pojemności związków aktywnych są jednak niezbyt zadowalające. Jest to uzależnione od tego jak aktywny związek ulega mieszanii z lipidową matrycą oraz od polimorficznej postaci lipidów. Pojemność ta wynosi przeważnie 1%, 4% (kwas ferulowy), 25% (tokoferol), 50% i więcej (rozpuszczalne, aktywne związki lipofilowe np. koenzym Q10). Dzięki zdolnościom adhezyjnym oraz możliwości przedłużonego uwalniania SLN i NLC są znakomitymi nośnikami perfum oraz preparatów odstraszających owady. Posiadają również właściwości antypoślizgowe (zawdzięczają je sferycznemu kształtowi cząsteczek) oraz możliwość utworzenia na skórze bariery mechanicznej, dzięki czemu mogą być stosowane przy podrażnionej i skłonnej do alergii skórze. Nanocząsteczki lipidowe charakteryzuje ponadto zdolność wybielania, która wykorzystywana jest w celu zmniejszenia zabarwienia związków aktywnych (np. żółty koenzym Q10). NLC oraz SLN znalazły zastosowanie w fizycznych i chemicznych filtrach przeciwsłonecznych. Same nanocząsteczki lipidowe odbijają promieniowanie i pozwalają uzyskać synergiczny efekt ochrony, dzięki czemu ilość samego filtra UV umieszczonego w preparacie może zostać zmniejszona, co pozwala ograniczyć nie tylko możliwość wystąpienia podrażnień, ale również koszty produkcji. Stosowanie SLN jest znacznie korzystniejsze niż NLC, gdyż nośniki te wykazują się większym stopniem krystalizacji lipidowej matrycy, czego efektem jest znacznie lepsze odbijanie promieni UV. SLN i NLC dzięki właściwości rozpraszania promieni słonecznych wykazują cechy fizykochemicznych filtrów przeciwko promieniowaniu UVA i UVB, z czego NLC okazało się skuteczniejsze, co wynika z większego rozpuszczenia cząsteczek filtra chemicznego w matrycy.

Kosmetyki zawierające SLN i NLC mogą być wytwarzane przez:

- włączanie nanocząstek do preparatów, gdzie część wody zostaje zastąpiona wodną zawiesiną nanocząstek.
- produkcję nanożeli, które wytwarza się poprzez dodanie środków żelujących do fazy wodnej zawiesin SLN lub NLC
- bezpośrednie tworzenie produktu, który zawiera wyłącznie stężoną zawiesinę nanocząstek

Obecnie do lipidowych nanocząstek włączono następujące związki aktywne, które znalazły zastosowanie w kosmetologii:

- kwas alfa liponowy
- kwas ferulowy
- tokoferol
- olejek jałowcowy

- nikotynamid
- środki zapachowe
- N,N-dietyl-m-toluamid (DEET)
- tretynoina
- kurkuminoidy
- koenzym Q10
- izotretynoina
- palmitynian askorbylu
- retinol
- avobenzon
- oksybenzon

Firma Dr. Rimpler GmbH w październiku 2005 rok wprowadziła jako pierwsza preparaty przeciwzmarszczkowe z koenzymem Q10, które oparte zostały na nanostrukturalnych nośnikach lipidowych: Cutanova NanorRepair Q10 Cream (0,5% Q10) oraz Intensive NanoRepair Q10 Serum (0,1% Q10). Następnie wiosną 2006 roku firma Dr Kurt Richter GmbH zaprezentowała koncentrat NLC do produkcji kosmetyków (z wosku Carnuba i oleju z czarnej porzeczki) - NanoLipid Restore CLR. W 2006 roku Dr Rimpler GmbH wypuściła kolejny produkt o nazwie NanoVital, który zawiera 0,1% koenzym Q10 i filtry przeciwśłoneczne. Kolejna firma – Amore Pacific, przygotowała w 2006 roku serię preparatów IOPE, która została oparta na NLC z olejem z czarnej porzeczki i koenzymem Q10. Linia ta oferuje produkty t.j.: Super Vital Cream, Serum, Eye-Cream, Extra moist softener, emulsja. W tym samym roku cztery produkty z NLC wypuściła firma Isabelle Lancray. Linia tych kosmetyków – “Surmer” została wzbogacona olejem Kukui. Natomiast koncern Beate Johnen na początku 2007 roku wypuścił na rynek produkty, które oprócz NLC zawierały koenzym Q10 oraz olej z awokado oraz Kukui.

Lipidowe nanocząsteczki zbudowane są przede wszystkim z biodegradowalnych lipidów, które rozkładają się do związków obecnych w organizmie ludzkim. Pomimo tego prowadzone są badania związane z toksycznością nanocząsteczek obecnych w tego typu układach.

Europejski Komitet Naukowy ds. Produktów Konsumenckich – Scientific Committee on Consumer Products (SCCP) wypowiedział się w 2007 roku na temat: “Bezpieczeństwo nanomateriałów w kosmetykach”. Opinia ta dotyczy przede wszystkim nanocząsteczek w tlenkach cynku i tytanu, które stosowane są jako fizyczne filtry przeciwśłoneczne. Nie ma jednak w dokumencie tym zbyt wiele wzmianek o nanocząsteczkach lipidowych. Jedyne zdania, które można odnieść do ich zastosowania to: “Nanomateriały (lipidy czy surfaktanty) mogą zachowywać się jak promotory wchłaniania, same wnikać do stratum

corneum (po rozpadzie cząstki na powierzchni skóry) i następnie zmieniając ułożenie międzykomórkowych lipidów w warstwach skóry”; “Na podstawie zaakceptowanych protokołów przenikania przez nieuszkodzoną skórę nie znaleziono ostatecznych dowodów na penetrację do żywych tkanek cząstek o rozmiarze ok. 20nm i większym”[20].

Nanoemulsje są to przezroczyste, jednorodne, układy wodno-olejowe recepturowane na bazie odpowiednich związków powierzchniowo-czynnych (które mogą być oparte na produktach naturalnych). Od zwykłych emulsji odróżnia je stopień rozdrobnienia fazy wewnętrznej, który jest w stosunku do nich, co najmniej o jeden rząd wielkości mniejszy. Rozdrobnienie układu zdyspergowanego w nanoemulsjach odpowiada wielkości drobin układów koloidalnych. Średnica cząsteczek fazy wewnętrznej nie przekracza 100 nm, co powoduje, że przechodzące przez układ światło przenika nie ulegając zjawisku dyfrakcji (efekt przezroczystości). Nanoemulsje charakteryzuje prostota procesu ich wytwarzania. Produkowane są one poprzez wymieszanie w odpowiedniej temperaturze, często jest to temperatura pokojowa, przygotowanych faz. Proces ten wymaga na ogół znacznie mniejszych ilości energii niż w przypadku tradycyjnych układów. W większości przypadków nie ma problemu z powiększaniem jego skali. W związku z niskim napięciem międzyfazowym, systemy te są stabilne termodynamicznie. Wykazują one trwałość w szerokim zakresie temperatur, nawet w przypadku zastosowania niejonowych środków powierzchniowo czynnych. Zjawiska destabilizacji układu, takie jak sedimentacja czy śmietanowanie praktycznie ich nie dotyczą. Nanoemulsje charakteryzuje stosunkowa łatwość wprowadzania substancji biologicznie aktywnych. Układy te cechuje również idealna homogeniczność produktu końcowego, wyższa zdolność solubilizacji oraz zwiększenie efektywności działania znajdujących się w nich aktywnych składników kosmetycznych. Ich cechy charakterystyczne to również: ładny wygląd produktu, jego przezroczystość, duża płynność, mała lepkość. Wszystkie opisane właściwości powodują, że układy te mogą stanowić bardzo dobrą formułę bazową dla wielu zastosowań kosmetycznych. Nanoemulsje wytwarzać można dzięki systemom opartym na inulinie. Inulina w połączeniu z kwasami tłuszczowymi tworzy związki powierzchniowo czynne, które są wysoce bezpieczne w zastosowaniu. Nie wykazują, bowiem działania drażniącego, ani właściwości uczulających. Stosowana jest w niskich stężeniach (0,2 - 1%) najczęściej przy produkcji stabilnych emulsji typu O/W. Jednak w przypadku nanoemulsji używać należy wyższych stężeń tego związku powierzchniowo czynnego. Zakłada się, że jego stężenie wynosić powinno 8% w stosunku do wagi zastosowanej fazy olejowej. Pamiętać jednak należy, że nadmierne użycie tego emulgatora może być przyczyną niestabilności układu.

Nanoemulsje znalazły zastosowanie w produktach kosmetycznych przeciwdziałających starzeniu się skóry. Problem z zastosowaniem nanoemulsji może stanowić kwestia jej przenikania do głębokich warstw skóry, co może powodować kumulację aktywnych składników i osiągnięcia przez wysokiego, szkodliwego stężenia nawet w głębi skóry [15, 21-23].

W recepturach kosmetycznych stosuje się przede wszystkim: tlenek tytanu oraz cynku, które wykorzystywane są jako filtry pochłaniające promieniowanie UV. Ich właściwości oraz działanie uzależnione jest od stopnia ich rozdrobnienia, gdyż wprowadzenie do kosmetyku zbyt dużych cząsteczek tlenków może powodować bielienie powierzchni skóry. Im większe są cząsteczki w preparacie promieniochronnym, który nakładany jest na powierzchnię skóry, tym szybciej ulegają one ścieraniu, co powoduje zmniejszeniem ochrony przed działaniem promieni UV. Wielkość cząsteczek w takich zastosowaniach jest rzędu, 20 nm. Zmniejszenie rozmiarów surowca pozwala na lepsze wykorzystanie go jako czynnika ochronnego, może jednak przyczynić się do wzrostu głębokości penetracji w głąb skóry. Obecne badania wykazują, że przy regularnym stosowaniu kremów zawierających w swoim składzie tak rozdrobniony ditlenek tytanu następuje jego trwale zaabsorbowanie przez skórę. Jest to o tyle niewskazane, gdyż cząsteczki tego surowca mogą generować pod wpływem promieniowania słonecznego niebezpieczne dla naszego organizmu wolne rodniki. Zastosowanie w najnowszych preparatach kosmetycznych znalazły również nanocząstki srebra i miedzi. Wykazują one silne działanie mikrobójcze, dzięki czemu mogą zastąpić stosowane dotychczas syntetyczne środki konserwujące. Ponadto ich właściwości biobójcze wykorzystywane są w mydłach, pastach do zębów oraz produktach do higieny jamy ustnej [15, 24].

Nanokrystaliczny tlenek cynku oraz diutlenek krzemu dzięki wysokiej fotostabilności oraz możliwości absorpcji promieniowania w szerokim zakresie stał się w ostatnich latach szeroko stosowany w chemii kosmetycznej. Wykorzystywany jest przy otrzymywaniu filtrów chroniących przed szkodliwym promieniowaniem ultrafioletowym (inkorporowany w ośrodku polimerowym) [25-27].

Podstawowym celem nanotechnologii jest wykorzystanie właściwości materiału poprzez zmianę wielkości cząsteczek oraz opracowanie skutecznego sposobu ich wytwarzania. Nowe właściwości tych małych układów w przypadku metali, zostały wykorzystane w metodzie opracowanej przez fizyka M.J. Pike-Bieguńskiego, polegającej na rozpylaniu metali w demineralizowanej wodzie. Nanokoloidalne roztwory metali, to niezwykle małe klastery (płytki) zbudowane z około 100 atomów każdy, zawieszony w idealnie czystej zdemineralizowanej wodzie. W tego typu roztworach koloidalnych, cząstki

metali stanowią zdecydowanie większą część procentową od jonów srebra (50-80 %). Dzięki temu uzyskujemy większą powierzchnię czynną. Nanokoloidy metali wykazują silne działanie grzybo- i bakteriobójcze oraz inne właściwości, niespotykane przy stosowaniu tradycyjnych koloidów. Określa się je jako niejonowe, tzn. że silnie zdyspergowana faza metaliczna takich koloidów nie zawiera chemicznie przyłączonych ujemnych grup anionowych, a sam zaś metal nie występuje tutaj w postaci dodatniego kationu. Produkowane tą metodą nanocząsteczkowe koloidy metaliczne nie zawierają typowych zanieczyszczeń powierzchniowych, jakie towarzyszą koloidom wytwarzanym chemicznie. Cząstki koloidalne stanowią mieszaninę faz krystalicznej i amorficznej. W szczególnych sytuacjach część amorficzna koloidu może być oddzielona od części krystalicznej. Przewodnictwo elektryczne koloidów jest wyższe od przewodnictwa czystego nośnika (fazy dyspergującej) a to z uwagi na występowanie tunelowego efektu przewodzenia. W związku z ogromnymi wartościami powierzchni czynnych cząsteczki koloidu zbliżają się do siebie na zaledwie kilka odległości cząsteczkowych. W przypadku H_2O wynoszą około 10 angstromów. Poza tym nanocząsteczki te pozostają w stałym ruchu (ruchy Browna), w czasie którego, uzyskują niewielkie dodatnie ładunki elektryczne, co powoduje, że odpychają się wzajemnie, a także z dużą łatwością wnikają do wnętrza bakterii i komórek, które zawsze mają ładunki ujemne. Dlatego mówimy, że metale nanokoloidalne są aktywne. Nie są to jednak ładunki typu jonowego, a wobec tego nanocząsteczki metali nie wchodzi w reakcje chemiczne z innymi jonami znajdującymi się w przyrodzie i organizmach. Nanocząsteczki metali są tak małe, że można je obserwować jedynie, przy zastosowaniu mikroskopu elektronowego. Im mniejsza nanocząsteczka, tym lepsza będzie biobójcza skuteczność roztworu. Optymalna wielkość nanocząsteczek metalu, to 1,5 do 5,0 nm, przy stężeniu 10 ppm. Dla porównania wirusy mają wielkość od 15 do 150 nm, a bakterie od 350 do 1000 nm. Wirusy i bakterie są, więc dużo większe od nanocząsteczek koloidalnych, które dzięki temu mogą swobodnie wnikać do wnętrza drobnoustrojów chorobotwórczych. Nanocząsteczki - szczególnie srebra, posiadają ogromną zdolność utleniania substancji, które je otaczają - nanokoloidalne srebro działa jak katalizator i upośledza enzym wykorzystywany przez drobnoustroje do przyswajania tlenu, powodując śmierć wszystkich mikroorganizmów jednokomórkowych. W efekcie mikroorganizmy te i ich formy wielopostaciowe, czy zmutowane, giną w około sześć minut po bezpośrednim kontakcie ze srebrem nanokoloidalnym. Ponadto organizmy chorobotwórcze nie potrafią wypracować odporności na np. nanokoloidalne srebro (a tak się dzieje, w przypadku antybiotyków), a ich mutacje są tak samo podatne na jego działanie. W żadnym z badań naukowych nie zanotowano

powstawania szczepów bakterii odpornych na działanie nanokolloidów.

Produkowane przez firmę "NANO-TECH" nanokolloidy są niechemiczne, co oznacza, że nie są wytwarzane w procesie chemicznym, ale w procesie fizycznym. Dzięki temu nie zawierają typowych zanieczyszczeń powierzchniowych, jakie towarzyszą nanokolloidom wytwarzanym chemicznie. Czystość oferowanych metali nanokolloidalnych wynosi 99.99 % metalu, takiego jak złoto srebro, czy miedź. Takie nanokolloidy wytwarzane są w wysokiej jakości wodzie pozbawionej substancji jonowych lub w innych od wody ośrodkach takich jak wodne roztwory alkoholi, kwasów organicznych, estrów, eterów, w polimerach, rozpuszczalnikach organicznych etc. Istnieje również możliwość wytworzenia metalicznych nanokolloidów jednoskładnikowych, bądź też nanokolloidów wieloskładnikowych. Przykładami takich nanokolloidów są: nanokolloidy platynowców, stopu złota, srebra i miedzi, stopów dentystycznych i podobnych. Każdy z nanokolloidów ma nieco inne właściwości:

- złoto ma wielką łatwość wnikania do wnętrza komórek organizmu i działa na nie, silnie pobudzająco i regenerująco, słabiej natomiast działa biobójczo.
- nanosrebro jest bardzo silnie bakteriobójcze i nieco słabiej działa grzybobójczo,
- miedź nanokolloidalna ma najsilniejsze działanie grzybobójcze, ale nieco słabsze bakteriobójcze [28-30].

Nanometale, czyli metale rozdrobione do nanometrycznych rozmiarów stanowią obecnie bardzo ciekawą grupę układów o szerokim zastosowaniu również w kosmetykach. Srebro to pierwiastek chemiczny o symbolu Ag, który pochodzi od łacińskiej nazwy srebra – argentum. Jest to metal, który posiada właściwości bakteriobójcze. Srebro działa na mikroorganizmy poprzez utlenianie katalityczne, denaturację białka, wnikanie do DNA i zapobieganie jego rozwojowi oraz poprzez reakcję ze ścianą komórki, która uniemożliwia oddychanie komórkowe. Mikroorganizmy nie uodparniają się na srebro. Srebro jest skuteczne wobec 99.9% bakterii i grzybów. W dawnych wiekach wodę przechowywano w srebrnych naczyniach, aby przedłużyć jego trwałość, ludzie używali srebrnych zastaw, aby przeżyć zarazy, a do mleka wrzucano srebrną monetę, aby nie skwaśniało. W starożytnym Egipcie jako lekarstwo na wrzody żołądka pito wodę, w której wcześniej umieszczane były srebrne sztabki, a rzymscy legionści, aby przyspieszyć gojenie ran przykładali do nich srebrne monety. Rozcieńczone roztwory azotanu srebra używano również do dezynfekcji. W medycynie niekonwencjonalnej stosuje się srebro koloidalne w celu leczenia różnych dolegliwości, gdyż posiada ono właściwości naturalnego antybiotyku. Spożycie dużej ilości srebra może spowodować chorobę zwaną

argyrią, która objawia się nieodwracalną zmianą koloru skóry na niebieskoszary. Nanotechnologia przywróciła zainteresowanie srebrem i jego właściwościami. Dzięki relatywnie niskiej cenie, dużej efektywności bakteriobójczej zaczęto stosować nanosrebro na skalę masową tym bardziej, że jest to produkt bezpieczny dla otoczenia. W skali nano rozdrobione srebro posiada duże możliwości biobójcze. Nanocząsteczkowe koloidy srebra są niemal niewrażliwe na działanie kwasów nieorganicznych i organicznych. Przykładem mogą być reakcje nanosrebra z kwasami azotowymi. W porównawczych badaniach rozpuszczano w tych kwasach monetę srebrną i jednocześnie próbowano rozpuścić drobiny niechemicznego nanokoloidu srebra. Po upływie jednej godziny gotowania monety srebrnej w 30% kwasie azotowym, moneta uległa całkowitemu rozpuszczeniu, podczas gdy nanocząsteczki srebra nie uległy większym zmianom. Po odkryciach możliwości uzyskiwania nanocząstek srebra nastąpił istny wysyp wszelkiego rodzaju środków biobójczych, impregnatów, farb, lakierów, płynów do mycia powierzchni, szamponów do dywanów, bandaży, opatrunków, sprzętów i protez medycznych, wykładzin podłogowych i ściennych, wnętrz lodówek i odkurzaczy, filtrów, szczoteczek do zębów, bidonów, butelek i smoczków dla dzieci, past do zębów, mydeł, dezodorantów, kremów czy polimerowych opakowań ze srebrem. Także kleje i podszewki w obuwnictwie, kleje pospolitych taśm klejących i tapet, papier toaletowy, bielizna, odzież, pościel, tapicerki i materace w meblarstwie, zabawki, miejsca hodowli i transportu zwierząt, poręcze, klamki, włączniki, kable elektryczne, klawiatury, obudowy komputerów i innych sprzętów w szpitalach a nawet takie drobiazgi jak ograniczniki do drzwi są już wykonywane z zastosowaniem nanocząsteczek srebra. Płyny technologiczne, woda basenowa a nawet woda pitna (gdzie normy zezwalają na to) zaczynają być odkażane srebrem. Nanosrebro w wodnych roztworach jest obecnie jednym z szeroko stosowanych środków biobójczych. Śmierć bakterii, pleśniaków, grzybów i zarodników powodowaną przez związki srebra znano już w dziewiętnastym wieku, nie potrafiiono jednak wyjaśnić mechanizmu tego działania. W ostatnich latach stwierdzono, że dla mikroorganizmów toksyczne są jony srebra, które działają na pojedyncze komórki. Katalityczne właściwości nanosrebra powodują utlenienie materiału genetycznego komórki. Głównym składnikiem ściany komórkowej bakterii jest peptydoglikan (mureina), który składa się z długich łańcuchów wielocukrowych, połączonych mostkami peptydowymi aminokwasów (cząstek organicznych zbudowanych z atomów węgla, tlenu, azotu i czasem siarki – metionina, cysteina). Cysteina jest jednym z aminokwasów budujących ścianę komórkową bakterii. Siarka bierze udział w syntezie białek, witamin oraz tworzeniu składników łańcucha transportu elektronów. Aminokwasy różnią się

między sobą grupą boczną (wyjątek – prolina). Grupa –SH w cysteinie (tiolowa) jest reaktywna. Dwie cysteiny mogą połączyć się przez grupy tiolowe tworząc mostek disiarczkowy, między dwoma tego samego typu cząsteczkami lub tworząc różne połączenia polipeptydowe. Są to silne atomowe wiązania, które występują w liczbie kilku lub kilkunastu w jednej białkowej cząsteczce. Pełnią one ważną rolę w tworzeniu trzeciorzędowej struktury białek - zapewniają stabilizację struktury. Na poziomie atomowym srebro posiada zdolność pochłaniania tlenu oraz działania jako katalizator w procesie utleniania. Tlen atomowy absorbowany na powierzchni srebra w roztworze zaczyna reagować z grupami tiolowymi, powodując wytworzenie przez atomy siarki wiązań typu -S-S-. W ten sposób bakteria traci możliwość oddychania, gdyż zamknięte zostają (ułożone w poprzek błony komórkowej) „kanały” przenoszenia elektronów. Katalityczne właściwości srebra i wytwarzanie tlenu aktywnego powoduje utlenienie materiału genetycznego komórki. Gdy srebro reaguje z odsłoniętymi peptydoglikanami, uniemożliwia oddychanie komórkowe. Wiążąc komórkowy system przepływu energii dezaktywuje bakterie, co powoduje ich obumarcie. Ponieważ komórki ssaków posiadają zupełnie inną powłokę m.in. nie posiadają peptydoglikanów, srebro nie oddziałuje na nie. Oddziaływanie srebra powoduje niszczenie struktury komórkowej. Każda komórka bez odpornej ścianki chemicznie jest podatna na oddziaływanie srebra. Dotyczy to bakterii i innych organizmów bez ścianek komórkowych m.in. wirusów międzykomórkowych. Badania wykonane w odniesieniu do *Pseudomonas Aeruginosa* (bakteria odporna i trudna do zwalczania), wykazały że jej organizm pochłania 12 % srebra. Mimo iż niejasnym pozostaje mechanizm wiązania srebra z DNA bez uszkodzania wiązań wodorowych spajających siatkę przestrzenną, to proces ten zapobiega rozwijaniu DNA, który jest ważnym etapem w rozmnażaniu komórek. Wodne roztwory z nanocząsteczkami srebra o wymiarach 10-12nm osadzone na nośniku np. krzemionkowym lub polimerowym są jednym z najskuteczniejszych środków dezynfekujących. Często jako komponent lub impregnat stosowany jest produkt na bazie wody z cząsteczkami nanokompozytu srebra i krzemu, który łączy biobójcze właściwości srebra i dezodoryzujące krzemu. Podłoże, na które jest stosowany nabiera właściwości bakteriobójcze, grzybobójcze, dezodorujące (kosmetyki, tkaniny) i antystatyczne. Skuteczność takiego preparatu wobec bakterii i grzybów wynosi ok. 99,99%. W 1cm³ roztworu przy stężeniu 1 ppm jest ok. 600x10¹² drobinek srebra [17-18].

Srebro koloidalne to alternatywa w wielu przypadkach dla leczenia antybiotykowego i może być stosowane wewnętrznie i zewnętrznie. To niezwykle skuteczny, naturalny środek antybakteryjny, niszczy ponad 650 różnych bakterii, podczas gdy standardowy antybiotyk nie więcej niż 10. Nie ma

negatywnych efektów ubocznych, jak np. osłabienie organizmu oraz nie wchodzi w interakcje z innymi lekami. Nanosrebro koloidalne szczególnie polecane jest: dla wzmocnienia układu odpornościowego, w bólach mięśni i stawów, w chorobie reumatycznej, w chorobie wrzodowej, dla poprawy funkcjonowania układu pokarmowego, w przeziębieniach i grypie oraz chorobach infekcyjnych. Zewnętrznie najczęściej zalecane jest stosowanie nanosrebra koloidalnego do przemywania w różnego rodzaju schorzeniach skórnych i do leczenia nawet trudno gojących się ran bezpośrednio przy pomocy rozpylacza, okładów czy wacików nasączonych koloidem. Poza tym może być zupełnie bezpiecznie zakraplane do oczu, czy nosa i stosowane do płukania jamy ustnej. Nanosrebro koloidalne stosowane zewnętrznie ma potwierdzoną skuteczność w przypadku leczenia: trudno gojących się ran, zadrapań i skaleczeń, zmian skórnych, łuszczyca, opryszczki czy ospy wietrznej, trądziku, wysypki i wyprysków, ukąszeń owadów, oparzeń, zapalenia skóry, uszu i oczu, a nawet dróg płciowych. Działanie antybakteryjne i antygrzybicze niejonowego nanokoloidu srebra wykorzystywane jest do oczyszczaniu wody pitnej, w saunach i basenach, gdyż w przeciwieństwie do chloru nie drażni oczu. Może być stosowany do dezynfekcji i dezynsekcji pomieszczeń, klimatyzacji, mebli i urządzeń. Srebro nanokoloidalne może być również bezpiecznie stosowane dla ochrony i leczenia zwierząt. Potwierdzono skuteczność jego działania w leczeniu i zapobieganiu chorób skórnych oraz w terapii zapalenia przyzębia u psów i kotów. Stosowany na zarodkach kurzych nie spowodował żadnych działań niepożądanych. To także nowoczesny środek do ochrony roślin przed rozwojem pleśni i grzybów, którym możemy bezpiecznie spryskać hodowane rośliny zarówno w domu, jak i w szklarniach czy ogrodach.

Nanosrebro stosowane jest jako komponent przy produkcji kosmetyków, co w sposób naturalny podnosi ich walory oraz właściwości bakterio i grzybobójcze. Stosowane jest również w kremach, w płynach do płukania jamy ustnej, żelach i tonikach antybakteryjnych, tonikach antybakteryjne, płynach i żelach do kąpieli i po goleniu, szamponach, w wodach kolońskich i toaletowych, chusteczkach antybakteryjnych, chusteczkach do demakijażu i chusteczkach do higieny intymnej, kosmetykach do walki z trądzikiem, w dezynfekcji bakterio i grzybobójczej hal produkcyjnych i innych pomieszczeń, dezynfekcji ciągów klimatyzacyjnych i powietrza w halach gdzie przebywają [19,20]. Nanocząsteczki srebra stanowią doskonałe rozwiązanie dla osób z bakteryjnymi infekcjami skóry. W ostatnich latach potwierdzono ich lepszą efektywność, w porównaniu do powszechnie stosowanych związków srebra. Nanocząsteczki srebra w kosmetykach mogą być stosowane jako środek antybakteryjny (bezpieczniejszy niż np. azotan srebra), gdyż bardzo znikoma

ilość zastosowanego srebra zmniejsza ryzyko wywołania efektów ubocznych, jakim jest pojawiające się przebarwienie skóry.

Złoto jest pierwiastkiem chemicznym o symbolu Au – łacińska nazwa aurum. Jest odporne na działanie czynników atmosferycznych i prawie wszystkich kwasów. Jest mało aktywne chemicznie, w temperaturze pokojowej wykazuje odporność na działanie większości kwasów. Roztwarza się w wodzie królewskiej i in. mieszaninach niektórych kwasów oraz w roztworze cyjanku potasu (w obecności utleniaczy). Z rtęcią tworzy amalgamat. Silnie ogrzane ulega działaniu chloru i fluoru. Właściwości lecznicze złota znane były w Chinach od około III w p.n.e, a w Europie dopiero od 1890 roku po przeprowadzeniu badań przez Roberta Kocha. Dowiedziono wówczas, że cyjanek złota hamuje rozwój bakterii gruźlicy. Od 1927 r. odkryto również jego użyteczność w leczeniu reumatycznego artretyzmu, a wcześniej używano go w dentystyce do plomb i sztucznych zębów. Z racji braku toksyczności i szkodliwości biologicznej, złoto jest idealne w wielu zastosowaniach medycznych. Nieco inne wykorzystanie złota proponuje nam nanotechnologia. Nanocząstki złota mają zdumiewające właściwości, zupełnie inne niż złoto w skalo makro. Ten cenny metal staje się jednak użyteczny dopiero po rozpuszczeniu lub rozdypergowaniu. Nanocząstki złota można rozpuścić w wodzie lub innych cieczach poprzez pokrycie powierzchni złotych drobinek różnorodnymi tiolami. Modyfikacja ta pozwala na bezproblemowe wprowadzanie do organizmu nanocząstek złota. Takie nanocząstki, czyli drobinki o wielkości miliardowych części metra, są idealnym materiałem, za pomocą, którego możliwe staje się wprowadzenie do organizmu substancji chemicznych, w tym i nowoczesnych leków. Jednak złoto jako metal, nie jest rozpuszczalne w wodzie, co stanowi swoisty problem przy opracowywaniu różnych form nanoterapii. Aby prawidłowo rozpuścić złoto należy je dokładnie rozdrobnić, aby otrzymać tzw. “złoty pył”, który należy odpowiednio zmodyfikować. W tym celu zastosować można tiole – przyłączając je do powierzchni złota. Tiole są związkami chemicznymi zawierającymi w swej strukturze grupę - SH, która samoczynnie, bardzo silnie wiąże się z powierzchnią złota. Naukowcom udało się zsyntetyzować cząsteczki złożonych tioli, które w swej strukturze zawierają również fragmenty silnie hydrofobowe, uzyskane dzięki zastąpieniu atomów wodoru atomami fluoru, oraz ugrupowania hydrofilowe. Drobinki złota stają się rozpuszczalne, gdy część hydrofilowa przyłączanych do powierzchni złota molekuł tioli znajduje się na końcach mających kontakt z wodą, a część hydrofobowa jest bliższa nanocząstce złota. W zależności od zastosowanych tioli można zmieniać charakter powierzchni nanocząstek złota, dzięki czemu możliwe jest rozpuszczanie ich w różnych cieczach. Fragment hydrofobowy łańcucha tiolowego przyłączany jest do

nanocząstek związków organicznych (np. leków), które mają zostać wprowadzone do żywych komórek, a które z racji właściwości hydrofobowych nie miałyby możliwości wnikięcia. Metoda ta pozwala np. na wprowadzenie do organizmu wraz z nanocząstkami złota przeciwutleniaczy stosowanych w różnego rodzaju zabiegach kosmetycznych. Prace nad wdrożeniem tej technologii prowadzone są w wielu laboratoriach. Kolejnym sposobem tworzenia nanocząstek złota jest reakcja kwasu tetrachlorozłotowego (III) z kwasem cytrynowym. Następuje reakcja redukcji złota, które zbija się w nanocząstki o wielkości odwrotnie proporcjonalnej do ilości dodanego kwasu cytrynowego tzn. im więcej kwasu cytrynowego dodamy, tym otrzymamy mniejsze nanocząstki. Interesująca jest kwestia koloru roztworu z takimi nanocząstkami. Gdy cząstki są niewielkie, wtedy barwa koloidu jest ciemnoczerwona, natomiast, gdy cząstki stają się większe barwa zmienia się poprzez różową i fioletową do niebieskiej. Zjawisko takie powstaje, dlatego, że podczas przepuszczania wiązki światła widzialnego przez koloid następuje ukierunkowanie elektronów walencyjnych nanocząstek (elektrony zaczynają drgać w jednym kierunku). Cząstki o różnych rozmiarach posiadają różną ilość oscylujących elektronów walencyjnych, a co za tym idzie pochłaniają różne długości fali. Mniejsze nanocząsteczki pochłaniają dłuższe fale, a czerwone światło ulega na nich odbiciu (stąd czerwona barwa). Większe cząstki pochłaniają coraz krótsze długości fal, dlatego widzimy niebieską barwę dopełniającą. Do najważniejszych właściwości rozpuszczonego złota należą: możliwość przenoszenia leków do wnętrza organizmu, bakteriostatyczność i bakteriobójczość. Ponadto małe nanostruktury (ok. 55 atomów) mogą być używane są jako katalizatory w reakcjach chemicznych (utlenianie węglowodorów można przeprowadzić jedynie w obecności tlenu). Nanozłoto wykorzystywane jest również przy produkcji produktów do higieny jamy ustnej i kosmetyków, gdzie podobnie, jak w przypadku lekarstw, pozwala na szybsze wnikanie składników odżywczych w głąb skóry (kosmetyki zapewniające intensywne nawilżenie oraz likwidację zmarszczek) [21-23]. Już w starożytności uważano złoto za minerał mający cudowne właściwości przywracania zdrowia i młodości. Obecnie jest ono stosowane przede wszystkim w kosmetyce. Nanokoloid złota dodawany do kosmetyków może stymulować syntezę kolagenu i przyczyniać się do rekonstrukcji tkanki skórnej. Niejonowy nanokoloid złota można zewnętrznie stosować w celu: przeciwdziałania i zmniejszenia już istniejących zmarszczek, oczyszczenia organizmu drogą skórą, leczenia ropni, liszajów, przewlekłych wysypek i trądziku. Złoto koloidalne może być również stosowane wewnętrznie. W medycynie przede wszystkim wykorzystywane jest złoto przy leczeniu rozległych oparzeń, gdyż działa jak naturalny opatrunek. Złoto koloidalne działa przeciwzapalnie, likwiduje objawy przewlekłych chorób

alergicznym i ma korzystny wpływ na układ krwionośny.

Przez wielu lekarzy i naukowców stosowanie złota nanokoloidalnego szczególnie polecane jest w przypadku: chorób reumatycznych i artretyzmu, rozległych oparzeń, wypadania włosów, leczenia stanów zapalnych stawów, przydatków czy wątroby, zwalczania palpacji i drżenia kończyn, wzmocnienia serca, pobudzenia układu odpornościowego, oraz w stanach melancholii [24-25].

Miedź to pierwiastek chemiczny o symbolu Cu. Łacińska nazwa cuprum pochodzi od Cypru, gdzie już 1500 lat p.n.e. eksploatowano wielkie złoża miedzi. Prawdopodobnie była pierwszym znanym metalem wykorzystywanym już w czasach prehistorycznych. Samorodków miedzi ludzie używali np. do robienia grotów strzał. Wykazuje dużą odporność na korozję. Pod wpływem tlenu atmosferycznego pokrywa się warstwą tlenku, chroniącą przed dalszą korozją. Reaguje z fluorowcami, wilgotnym fluorowodorem, siarką i dwutlenkiem siarki. Rozpuszcza się w stężonym kwasie siarkowym i azotowym. Nanomiedź ma najsilniejsze ze wszystkich naszych nanokoloidów właściwości grzybobójcze. Miedź obecna w naszych organizmach aktywuje enzym niezbędny do budowy erytrocytów, przez co wpływa na prawidłowe funkcjonowanie układu krwiotwórczego. Miedź konieczna jest do absorpcji i metabolizmu żelaza oraz odgrywa bardzo istotną rolę przy utlenianiu witaminy C. Poprzez syntezę dopaminy wpływa na rozwój układu nerwowego, a poprzez syntezę kolagenu i elastyny - na regenerację tkanki łącznej. Niedobór miedzi powoduje zaburzenia w procesach oksydacyjno-redukcyjnych, które objawiają się różnymi chorobami, jak np. anemie, ograniczenia wzrostu i płodności, zaburzenia sytemu nerwowego (migreny), choroby układu krążenia, a także osteoporoza. Miedź ma działanie dezynfekujące, a w ciele jest częścią składową wielu przeciwciał zwalczających szereg chorób. Dlatego wewnętrznie stosowana jest szczególnie polecana w leczeniu: anemii, zaburzeń wzrostu, migren, osteoporozy, chorób układu krążenia, zaburzeń układu nerwowego, złego cholesterolu i zaburzeń oddychania tkankowego. Miedź może być np. w formie aerozolu stosowana zewnętrznie, przede wszystkim jako skuteczny lek antygrzybiczy. Zewnętrzne stosowanie miedzi nanokoloidalnej polecane jest do: poprawy wyglądu skóry i włosów, leczenia przewlekłych grzybic skórnych, zwalczania owrzodzenia skórnoego, zwalczania wolnych rodników, a tym samym zapobiegania procesom starzenia się naskórka. Nanokoloid miedzi ma znakomite zastosowanie również jako składnik dezodorantów, gdyż redukuje nadmierną potliwość i eliminuje przykry zapach potu. Miedź nanokoloidalna stosowana w kosmetyce: działa przeciwutleniająco, zwalcza wolne rodniki i zapobiega procesom starzenia naskórka, poprawia wygląd skóry i włosów, wzmacnia system odpornościowy,

ma zastosowanie jako składnik dezodorantów, gdyż redukuje nadmierną potliwość i eliminuje przykry zapach powstający z bakteriynego rozkładu potu, w kosmetykach przeciwwgrzybiczych np. do stóp (w krótkim czasie doskonale eliminuje bakterie i grzyby znajdujące się na stopach, bądź w obuwiu). Dezodorant można stosować bezpośrednio na stopy jak i do wewnątrz obuwia. Po odparowaniu wody, nanocząsteczki osadzają się na powierzchni skóry, tworząc na nich trwałą warstwę ochronną. Po godzinnej kąpeli np. w basenie publicznym, warstwa ochronna miedzi pozostaje nienaruszona [26-28].

Platyna (Pt) to pierwiastek chemiczny, którego nazwa pochodzi od hiszpańskiego słowa platyna, zdrobnienia słowa oznaczającego srebro. W postaci czystej jest to srebrzystobiały metal ciężki o gęstości 21,45 g/cm³, trudnotopliwy, miękki, kowalny i dobrze przewodzący prąd elektryczny (9,81 mikrooma x centymetr). Platyna jest metalem szlachetnym, ciężkim, trudnotopliwym, ułatwiającym wiele reakcji chemicznych. Jest ona w wielu takich reakcjach katalizatorem. Rozpuszcza się w wodzie królewskiej, która jest mieszaniną kwasów:azotowego i solnego (1:3). Platyna znalazła zastosowanie w przemyśle elektrycznym, elektronicznym, samochodowym, kosmicznym, chemicznym, medycynie i dentystyce, jubilerstwie. Stosuje się ją przy produkcji elementów urządzeń pomiarowych. Z platyny wykonuje się także rezystory stosowane do pomiaru temperatury ze względu na ich stabilność. Z jej stopów wytwarzane są również niektóre typy termopar. Platyna ma szerokie zastosowanie w przemyśle – stosuje się ją w branży motoryzacyjnej przy produkcji katalizatorów w samochodach z silnikiem diesla. Stosuje się ją również w stomatologii. Nanoplatyna już w mikroskopijnych stężeniach takich jak 0.01 ppm działa pobudzająco i regulująco w procesach: oddychania, krążenia, przyswajania pokarmów, wydalania, enzymatycznych. Związki platyny są wykorzystywane w chemioterapii do zwalczania niektórych rodzajów raka. Koloid platyny stosowany wewnętrznie może wspomagać w krwi ludzi i zwierząt proces katalitycznego niszczenia komórek rakowych występujących np. przy białaczce. Nanokoloid platyny może być także stosowany zewnętrznie. Bardzo silnie oddziałuje dermatologiczne, dzięki czemu może zmniejszać przebarwienia naskórka. Ponadto wpływa odmładzająco, oraz redukująco w odniesieniu do zdeformowanych komórek skóry, szczególności tak zwanych “plam wątrobowych” lub “plam starzeniowych”. Podobnie jak w przypadku nanokoloidów złota i srebra proponuje się przecieranie twarzy wacikami nasączonymi nanokoloidem platyny, dzięki czemu uzyska się wrażenie rozświetlonej, pełnej blasku cery. Ponadto można stosować platynę nanokoloidalną do nawilżenia skóry i zmniejszenia różnego rodzaju podrażnień, gdyż m.in. kontroluje zdrowy wygląd oraz jędrność skóry. Niechemiczny

nanokoloid platyny silnie oddziałowuje dermatologiczne, radykalnie zmniejszając przebarwienia naskórka, wzmacnia odczucie zapachów, koloid ten może być żelowany, działa odmładzająco oraz redukująco w odniesieniu do zdeformowanych komórek skóry, rozjaśnia przebarwienia, plamy wątrobowe oraz plamy naskórka, charakterystyczne dla okresu starzenia się, zapewnia skórze zdrowy i świeży wygląd, wzmacnia jej jędrność, jej regularne stosowanie powoduje obkurczenie rozszerzonych naczynek krwionośnych oraz poprawia stan cery, łagodzi dolegliwości alergiczne tj. wysypkę oraz rozjaśnia zmiany po wykwitach [29-30].

W ostatnich latach nanotechnologia spowodowała ogromną rewolucję w nauce: chemii, fizyce, biologii, medycynie oraz w wielu sektorach przemysłu. Coraz częściej wykorzystywana jest także w kosmetologii: produkcji kosmetyków oraz zabiegach pielęgnacyjnych. Obecnie na rynku kosmetycznym każdego miesiąca pojawiają się nowe produkty kosmetyczne, które zawierają struktury takie jak: nanokapsułki, niosomy czy nanoemulsje. Są one obecne m.in. w kremach nawilżających, odżywczych, produktach do pielęgnacji włosów, kosmetykach do opalania czy też w samoopalaczach. Substancje aktywne (np. kwas hialuronowy, białka, antyoksydanty), które zostały w nich zamknięte z łatwością przenikają barierę, jaką jest skóra i dostarczane są w do jej głębszych warstw, gdzie następuje ich uwolnienie.

Kremy, w których znaleźć można nanostruktury są znacznie bardziej skuteczne, gdyż substancje czynne w nich zawarte dostarczane i uwalniane są dokładnie w miejscach gdzie są potrzebne. Ponadto nanocząsteczki wykorzystywane są w produktach, które chronią skórę przed szkodliwych działaniem promieni UV, a ich działanie polega na pochłanianiu promieniowania UV oraz eliminacji powstających reaktywnych form tlenu.

Zastosowanie nanotechnologii w kosmetyce niesie ze sobą zarówno korzyści jak i ryzyko. Pamiętać, bowiem należy, że małe rozmiary nanostruktur pozwalają im na penetrację nie tylko głębszych warstw skóry, ale również na przenikanie do krwi, a wraz z nią do różnych organów, gdzie może nastąpić ich kumulacja. Budzi to niepokój, zwłaszcza, jeśli mamy do czynienia z ich dostępem do pęcherzyków płucnych czy też komórek układu nerwowego. Przeciwnicy nanocząsteczek są zdania, że powinny być one zakazane w produktach konsumenckich, gdyż nie został dokładnie sprawdzony ich wpływ na organizm ludzki. Dlatego też liczba zastosowań nanomateriałów w kosmetykach jest ciągle ograniczona a dalszy rozwój może być limitowany przez przyszłe regulacje prawne.

Producenci produktów kosmetycznych, które zawierają nanocząsteczki zapewniają jednak, że ich produkty są bezpieczne, wnikają, przy zastosowaniu w postaci preparatów kosmetycznych, tylko w zewnętrzne warstwy skóry i nie

docierają i nie są kumulowane w organach istotnych dla życia i zdrowia ludzi.

Literatura:

1. Nanotechnologie, Red.nauk. Robert W. Kelsall, Ian W. Hamley, Mark Geoghegan, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2008
2. A. Mazurkiewicz, Nanonauki i nanotechnologie, Stan i perspektywy rozwoju, Instytut Technologii Eksploatacji- PIB, Radom 2007
3. B. Dręczewski, A. Herman, P. Wroczyński, Nanotechnologia. Stan obecny i perspektywy, Politechnika Gdańska, Gdańsk 1997
- Z.Tang, P. Sheng, Nanoscale Phenomena, Basic Science to Device Applications, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2008
4. E. Roduner, Nanoscopic Materials, Size-dependent Phenomena, Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Cambridge 2006
5. M. Kohler, W. Fritzsche, Nanotechnology, An Introduction to Nanostructuring Techniques, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim 2007
6. G. L. Hornyak, Nanotechnology, Health and Environmental Risks, Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton 2008
7. P. Boisseau, P. Houdy, M. Lahmani, Nanoscience Nanobiotechnology and Nanobiology, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2007
8. M. Ratner, D. Ratner, Nanotechnology: A Gentle Introduction to the Next Big Idea, Hall Professional Technical Reference,2002
9. Nanonauka i Nanotechnologia, Narodowa Strategia dla Polski - Raport, Warszawa 2008.
10. http://www.wiedzainfo.pl/wyklady/703/nanotechnologia_zagadnienia_podstawowe.html
11. http://www.chem.ug.edu.pl/nkch/sp3/sp3_6.pdf
12. M-C. Martini, W. Placek, Kosmetologia i farmakologia skóry, , Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2007
13. http://www.innovia.pl/aktualnosci/synteza_nanosfer_krzemionkowych_i_ich_zastosowanie_w_kosmetyce.htm
14. http://bez-recepty.pgf.com.pl/index.php?co=artyk&id_artyk=2564
15. <http://www.chemical.pl/artykuly/chemical-review/7566/nanokosmetyki-w-natarciu.html>
16. http://www.ekologia-info.pl/index.php?option=com_content&task=view&id=87&Itemid=77
17. <http://www.cabines.pl/artykuly/index.php/23/nanokosmetyki>
18. http://www.farmacja.e-lama.pl/biofarmacja/biofarm_6.pdf
19. <http://www.ibmb.uni.wroc.pl/publak/liposomy%20w%20>

- dermatologii_2008.pdf
20. H. Wosicka, J. Lulek, Stałe nanocząsteczki lipidowe i nanostrukturalne nośniki lipidowe w nowoczesnych kosmetykach, *Pol. J. Cosmetol.*, 12, 23, (2009)
 21. <http://www.chemical.pl/artykuly/chemical-review/7419/emulgatory.html>
 22. http://biotechnologia.pl/info/kosmetologia/23_aktualnosci/8445_nanoemulsje_przelom_w_leczeniu_oparzen.html
 23. <http://www.biotechnologia.com.pl/kosmetologia/37/840>
 24. <http://www.laboratoria.net/pl/modules.php?name=News&file=article&sid=3329>
 25. M. Przybyszewska, M. Zaborski, Nanometryczny tlenek cynku. Metody syntezy, właściwości, zastosowanie, *Przemysł Chemiczny*, 88/2(2009), 15
 26. <http://www.chemical.pl/artykuly/chemical-review/7127/krzemionki-koloidalne-w-kosmetykach-i-farmacji.html>
 27. http://biotechnologia.pl/info/kosmetologia/34_artykuly-opracowania/4002_kosmetyczne_zastosowanie_dwutlenku_krzemu_sio2.html
 28. <http://zdrowie-online.info/nanokoloidy-zastosowania.html>
 29. <http://www.nano-tech.pl/pl/nanotechnologia/>
 30. <http://www.rynekchemiczny.com.pl/content/view/122/>
 31. http://bc.biblos.pk.edu.pl/bc/resources/CT/CzasopismoTechniczne_1Ch_2007/WzorekZ/NanosrebroNowy/pdf/WzorekZ_NanosrebroNowy.pdf
 32. <http://www.mydelkoznanosrebrem.pl/nanotechnologia.php>
 33. http://www.nano-tech.pl/pl/nanotechnologia/nanosrebro_w_kosmetyce
 34. <http://www.kosmetyki.istore.pl/sklep,937,,03,,pl-pln,229207,0.html>
 35. <http://e-numizmatyka.pl/portal/strona-glowna/zloto/lista-artykulow/zastosowanie-zlota.html>
 36. http://www.eduskrypt.pl/rozpuszczalne_zloto-info-20367.html
 37. http://www.chem.univ.gda.pl/nkch/sp3/sp3_6.pdf
 38. http://www.nano-tech.pl/pl/nanotechnologia/nanozloto_w_kosmetyce_i_urodzcie
 39. <http://zdrowie-online.info/nano-zloto-w-medycynie.html>
 40. http://www.nano-tech.pl/pl/nanotechnologia/nanomiedz_w_kosmetyce/
 41. <http://zdrowie-online.info/nanokoloidy-zastosowania.html>
 42. <http://www.ziola-zycia.com.pl/miedz-nanokoloidalna-p-167>

- html?osCsid=6de65c758592351af2cff86b66087cb3
43. http://www.nano-tech.pl/pl/nanotechnologia/nanoplatyny_z_rodem_w_kosmetyce/
 44. <http://edumed.com.pl/sklep.php/p9279-Nano-platyna-koloidalna-Pt-50-300ml.html>

Rozdział 2

Filtry przeciwsłoneczne w kosmetykach działające w zakresie promieniowania UV

Kamila Zając, Małgorzata Królik, Bogusława Łęska,
Grzegorz Schroeder

*Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Wydział Chemii, Grunwaldzka 6,
60-780 Poznań*

Częste spędzanie wolnego czasu na powietrzu, minimalizacja ubioru, zmniejszanie warstwy ozonowej w stratosferze, a także wzrost popularności korzystania z solarium przyczyniają się do znacznego wzrostu ekspozycji na promieniowanie ultrafioletowe. Już w latach trzydziestych ubiegłego stulecia opisano w literaturze medycznej negatywną rolę promieniowania ultrafioletowego na skórę ludzką. Wzmoczone ostrzeżenia o zależności pomiędzy ekspozycją na promieniowanie UV a objawami starzenia się, powstawania zmarszczek i zaburzeń pigmentacji na skórze, wywołały powszechne zainteresowanie produktami chroniącymi przed słońcem, zwłaszcza środkami kosmetycznymi o działaniu leczniczym.

Dziś już wiadomo, że nie tylko ze względów estetycznych należy chronić skórę przed promieniami UV, ale przede wszystkim ze względów zdrowotnych. Zapadalność na czerniaka zwiększyła się ponad trzykrotnie w ostatnich dwóch dziesięcioleciach. Koncerny kosmetyczne prześcigają się w opracowywaniu i wprowadzaniu do swoich produktów filtrów przeciwsłonecznych działających w zakresie promieniowania UV, co daje możliwość coraz lepszej ochrony naszej skóry przed tym promieniowaniem.

Kosmetyki chroniące przed promieniowaniem UV są najlepszą inwestycją w utrzymaniu skóry w dobrej kondycji i zdrowiu. Należy przy tym pamiętać, że skórę należy chronić zarówno latem, jak i zimą.

Kosmetyki zawierające filtry chroniące przed UV stosuje się obecnie nie tylko w preparatach do opalania, ale również w kosmetykach codziennego użytku, takich jak pudry, czy pomadki ochronne. Popularyzacja tego rodzaju kosmetyków świadczy o wzrastającej świadomości ludzi na temat zagrożeń, jakie niesie za sobą nadmierna ekspozycja na promieniowanie słoneczne.

Jednocześnie jednak osłabia czujność osób narażonych na promieniowanie UV i sprawia, że powszechnym stało się przekonanie, iż zamiast unikać ekspozycji, wystarczy użyć odpowiedniego kosmetyku [1].

Pojęcie preparatu kosmetycznego definiuje:

- Dyrektywa Rady z 27 lipca 1976 r. w sprawie ustawodawstwa państw członkowskich w dziedzinie kosmetyków (76/768/EEC);
- Ustawa z 30 marca 2001 r. o kosmetykach (Dz. U. Z 2001, Nr 42, poz. 473);
- Rozporządzenie Ministra Zdrowia z 16 czerwca 2003 r. w sprawie określenia kategorii produktów będących kosmetykami (Dz. U. Z 2003 r., Nr 125, poz. 1168);
- Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 30 marca 2005 r. w sprawie list substancji niedozwolonych lub dozwolonych z ograniczeniami do stosowania w kosmetykach oraz znaków graficznych umieszczanych na opakowaniach kosmetyków (Dz. U. Nr 72, poz. 642 z późn. zm.).

Produktem kosmetycznym jest każda substancja lub mieszanina przeznaczona do kontaktu z różnymi zewnętrznymi częściami ciała ludzkiego (naskórek, owłosienie, paznokcie, wargi oraz zewnętrzne narządy płciowe) lub z zębami, błonami śluzowymi jamy ustnej, której wyłącznym lub głównym celem jest utrzymywanie ich w czystości, perfumowanie, zmiana wyglądu, korygowanie zapachu ciała, ich ochrony lub utrzymywania w dobrej kondycji. Do kosmetyków należą:

1. kremy, emulsje, płyny, żele i oliwki oraz balsamy do skóry;
2. maseczki do twarzy, bez peelingu chemicznego;
3. podkłady barwiące;
4. pudry do makijażu, pudry do kąpieli, pudry higieniczne;
5. mydła toaletowe, mydła dezodoryzujące;
6. perfumy, wody toaletowe i kolońskie;
7. środki do kąpieli i pod prysznic;
8. środki do depilacji;
9. dezodoranty i środki przeciw poceniu;
10. środki do pielęgnacji włosów, w tym:
11. środki do barwienia i rozjaśniania,
 - do trwałej ondulacji, do prostowania i utrwalania,
 - do układania,
 - do mycia,
 - odżywki,
 - do utrwalania fryzury,
12. środki do golenia;

13. środki do makijażu i demakijażu;
14. środki przeznaczone do pielęgnacji i malowania ust;
15. środki do pielęgnacji zębów i jamy ustnej;
16. środki do pielęgnacji i malowania paznokci;
17. środki do higieny zewnętrznych narządów płciowych;
18. środki do opalania i chroniące przed promieniowaniem UV;
19. środki do samoopalania;
20. środki do rozjaśniania skóry;
21. środki przeciw zmarszczkom.

Obecnie w Unii Europejskiej dozwolonych jest zaledwie 26 substancji promieniochronnych, uważanych za bezpieczne do stosowania w kosmetykach. Reguluje to Rozporządzenie Ministra Zdrowia Dz.Ust. Nr 201. poz.2063 i 2064 z 2004 roku. Załącznik tego rozporządzenia zawiera listę substancji promieniochronnych dozwolonych do stosowania w kosmetykach (tabela 1). Załącznik nie zawiera środków promieniochronnych stosowanych wyłącznie w celu zabezpieczenia kosmetyku przed działaniem promieniowania ultrafioletowego.

Wymagania prawne wprowadzają również konieczność informowania konsumentów o ewentualnych zagrożeniach, jednakże nie mogą one być następujące:

- „blokada przeciwsłoneczna” lub „całkowita ochrona” dla 100% ochrony przed promieniowaniem UV;
- „całodzienna ochrona” przy braku konieczności ponownego nanoszenia produktu niezależnie od okoliczności.

Konsumenci powinni być informowani o zagrożeniach związanych z nadmiernym narażeniem na promieniowanie UV oraz o kategorii produktów ochrony przeciwsłonecznej wymaganych przy pewnym poziomie narażenia na promieniowanie słoneczne niektórych rodzajów skóry, np. na stronach internetowych, w ulotkach i notatkach prasowych.

Każdy człowiek jest narażony na promieniowanie ultrafioletowe emitowane przez Słońce. Niewielka ilość tego promieniowania jest korzystna dla zdrowia i pełni zasadniczą rolę w produkcji witaminy D. Jednakże zbyt długie przebywanie w zasięgu promieni słonecznych może doprowadzić do wielu problemów zdrowotnych, najczęściej raka skóry i katarakty.

Do powierzchni Ziemi dociera szerokie widmo fal elektromagnetycznych. Ze względu na wpływ na skórę istotne jest promieniowanie podczerwone, które stanowi ok. 40%, światło widzialne (50%) oraz promieniowanie ultrafioletowe (10%). Należy jednak wziąć pod uwagę fakt, iż stosunek ten może zmieniać się w zależności od położenia geograficznego, pory dnia, pory roku lub zachmurzenia.

Tabela 1. Lista substancji promieniochronnych dozwolonych do stosowania w kosmetykach.

kwasy 4-aminobenzoesowy	metrylosiarczan 3(4'-metrylobenzylideno)bornan-2-on
ester 3,3,5-trimetylocykloheksyloвого kwasu salicylowego	2-hydroksy-4-metoksybenzofenon
kwasy 2-fenylenobenzimidazolo-5-sulfonowy i jego sole: potasowa, sodowa, trójetanoloaminowa	1,4-fenylenodimetylideno-bis-3-(1-metylosulfo-2-keto-7,7-dimetylobicyklo[2.2.1] heptan) i sole
butylometoksydibenzoilometan	3-(4'-sulfbenzylideno)bornan-2-on i jego sole
ester 2-etyloheksyloвого kwasu 2-cyjano-3,3-difenyloakrylowego	polimer N-(2 i 4) -(3'-metrylbenzylideno-2'-on)akrylamidu
ester 2-etyloheksyloвого kwasu 4-metoksycynamonowego	oksyetylenowany kwas etylo-4-aminobenzoesowy
ester izopentylowy kwasu 4-metoksycynamonowego	2,4,6-tris[amino(p-karboksy-2'-etyloheksylo)fenylo]-1,3,5-triazyna
drometrizol trisiloksanu	4,4-(((6-(((1,1-dimetylethyl)amino)carbonyl)phenyl)amino)-1,3,5-triazine-2,4-diyl)diimino)bis-,bis (2-ethylhexyl)ester)
3(4'-metrylo)benzylidenobornan-2-on	3-benzylidenobornan-2-on
ester 2-etyloheksyloвого kwasu salicylowego	ester 2-etyloheksyloвого kwasu 4-dimetyloaminobenzoesowego
kwasy 2-hydroksy-4-metoksybenzofenono-5-sulfonowy i jego sól sodowa	2,2'-metyleno-bis-(6-(2H-benzotriazol-2-ilo)-4-1,1,3,3-tetrametylobutylo) fenol
sól monosodowa kwasu 2,2'-(1,4-fenyleno)bis(1H-benzimidazolo-4,6-disulfonowego)	(1,3,5)-triazine-2,4-bis((4-(2-ethylhexyloxy)-2-hydroxy)-phenyl)-6-(4-methoxyphenyl)
dimethicodiethylbenzalmalonate	ditlenek tytanu

Promieniowanie podczerwone (IR) to zakres fal elektromagnetycznych powyżej 700 nm. Promienie, które dotarło do powierzchni skóry sprawia uczucie ciepła, co pozytywnie wpływa na samopoczucie. Należy jednak pamiętać, że

to promieniowanie również może negatywnie wpływać na ludzki organizm powodując przegrzanie, odwodnienie, a nawet udar słoneczny.

Promieniowanie ultrafioletowe to drugie pasmo promieniowania słonecznego, które w istotny sposób wpływa na nasze zdrowie. Zakres fal ultrafioletowych (UV) dzieli się na trzy przedziały:

- ultrafiolet C (UVC) od 200 do 280 nm
- ultrafiolet B (UVB) od 280 do 320 nm
- ultrafiolet A (UVA) : UVA1 (340-400 nm)
UVA2 (320-340 nm)

Promieniowanie UV jest głównie odpowiedzialne za odczyny skórne. Ultrafiolet C (UVC), o najwyższej energii, nazywany jest „krótkim promieniowaniem”, które zwykle nie dociera do powierzchni ziemi, gdyż jest pochłaniane przez atmosferę przede wszystkim przez warstwę ozonową. Ma dość silnie niszczące działanie dla mikroorganizmów, co sprawia, że stosowane jest do sterylizacji powietrza. Jest szkodliwe dla spojówki i rogówki oka. Lampy stosowane w solariach nie emitują tego zakresu promieniowania. Promieniowanie ultrafioletowe B (UVB) jest składową naturalnego światła słonecznego docierającego do Ziemi. Ma silne działanie rumieniotwórcze, powodujące tzw. oparzenia słoneczne. Promienie te nie przechodzą przez szyby okienne, lecz zdolne są do penetracji przez wodę i szkło kwarcowe. Promieniowanie UVB jest odpowiedzialne za opaleniznę skóry. Mają działanie drażniące spojówki i rogówkę, ale znacznie mniejsze aniżeli promienie UVC. UVA, tak zwane „długie promieniowanie” przenika przez szyby, a w małych dawkach nie podrażnia spojówek. Jest, więc promieniowaniem, które w najmniejszym stopniu wpływa na ludzki organizm [2,3,4].

Poziom promieniowania UV docierającego do powierzchni Ziemi zależy od kilku czynników:

- wysokości Słońca – im wyżej nad horyzontem znajduje się Słońce, tym promieniowanie jest silniejsze,
- szerokości geograficznej – obszary znajdujące się bliżej równika narażone są na silniejsze promieniowanie,
- zachmurzenia – bezchmurne niebo przyczynia się do intensywnego promieniowania,
- grubości warstwy ozonowej,
- odbicia od powierzchni Ziemi – śnieg odbija ok. 80% promieniowania

Głębokość przenikania promieni słonecznych do tkanek zależy od długości fali. Krótsze fale, takie jak UVB, przenikają płytko do naskórka i skóry właściwej, natomiast dłuższe promieniowanie podczerwone przenika nawet do tkanki podskórnej [3,4]. Promienie UVB były przez dłuższy czas uważane

za główną przyczynę szkodliwości Słońca, niemniej jednak ostatnio okazało się, że UVA jest równie niebezpieczne, ponieważ ilość UVA docierającego do powierzchni ziemi jest znacznie większa, stanowi 6,3% całkowitej emisji promieniowania słonecznego, kiedy UVB tylko 1,5%. Należy zwrócić uwagę na fakt, że natężenie promieniowania UVA jest prawie identyczne przez cały dzień, natomiast największe natężenie promieniowania UVB następuje w godzinach popołudniowych [3].

Należy pamiętać, że narażenie skóry na nadmierne promieniowanie UV grozi poważnymi konsekwencjami zdrowotnymi takimi jak: rak skóry, w tym także czerniak złośliwy; rak rogówki lub spojówki; katarakta, czyli choroba powodująca zmętnienie soczewki i prowadząca często do ślepoty; poparzenia skóry; uaktywnienie się wirusa typu herpes (powodującego m.in. opryszczkę), przyspieszone starzenie się skóry. Stosując odpowiednie kosmetyki z filtrami UV przez cały rok, możemy zminimalizować szkodliwe działanie na skórę.

Filtry przeciwsłoneczne to związki wykorzystywane w kosmetykach, których podstawowym zadaniem jest ochrona skóry przed szkodliwym działaniem światła słonecznego. We współczesnych kosmetykach możemy spotkać dwie grupy filtrów. Pierwszą grupę stanowi związki chemiczne absorbujące (pochłaniające) energię niesioną przez promieniowanie słoneczne, drugą natomiast, przeżywającą obecnie swój renesans, tworzą filtry fizyczne, związki nieprzepuszczające promieniowania ultrafioletowego, działające jak mikrolustra.

Istnieje wiele podziałów filtrów UV. Filtry te można podzielić na filtry mineralne, zwane również fizycznymi, i filtry chemiczne, zwane także organicznymi, chroniącymi zarówno przed UVA, jak i przed UVB.

Filtry mineralne działają na zasadzie lustra, odbijają promieniowanie słoneczne. Do tego rodzaju filtrów zaliczamy między innymi dwa naturalne pigmenty mineralne – tlenek cynku (INCI: *zinc oxide*) i ditlenek tytanu (INCI: *titanium dioxide*). Są one uważane za filtry tzw. szerokospektralne, tzn. chroniące zarówno przed UVA, jak i UVB. Badania wykazują, że tlenek cynku jest skuteczniejszy w zakresie długopasmowym (czyli UVA), zaś ditlenek tytanu lepiej chroni przed UVB i krótkofalowym UVA. Stąd należy wnioskować, że skuteczne mogą być tylko preparaty zawierające (przynajmniej) oba wymienione pigmenty jednocześnie.

Kremy ochronne oparte na tych substancjach mają szereg zalet, a główną z nich jest to, że są świetnie tolerowane. W związku z tym nadają się nawet dla najwrażliwszych cer oraz dla małych dzieci. Ponadto są stabilne, a więc nie tracą swoich właściwości wraz z upływem czasu, czy to pod wpływem promieniowania czy tlenu. W praktyce oznacza to, że w idealnych warunkach, gdy produkt nie

został starty lub zmyty z powierzchni skóry, nie ma potrzeby ponownej aplikacji preparatu ochronnego bazującego na filtrach fizycznych. Niestety, filtry mineralne mają także wady. Najbardziej uciążliwą jest barwienie skóry. Osoby posługujące się pędzlem wiedzą, że zarówno tlenek cynku, jak i dwutlenek tytanu są bardzo jasne (biel cynkowa i tytanowa bazują na dokładnie tych samych pigmentach, które latem nakładamy sobie na twarz i całą resztę). Żeby osiągnąć nominalny SPF (Sun Protection Factor) z opakowania, należy nałożyć dość sporo kremu ochronnego. Mineralny filtr nałożony grubą warstwą stworzyć może *białą maskę gejszy*. Ponadto większość receptur bazuje na minerałach rozpuszczalnych w tłuszczach, co sprawia, że kremy zawierające filtry fizyczne mogą się wydawać „ciężkie” (dla cer tłustych jest to zdecydowaną wadą, dla suchych natomiast może być zaletą). Na szczęście opracowano różne metody, by niedogodności te zniwelować, a najskuteczniejszą z nich jest mikronizowanie pigmentów. Drobnio zmielone mineralne „lusterka” nadal spełniają swoją rolę, dając się przy tym wymieszać z wodą, lecz nie nadają skórze białego koloru, a co najwyżej białawą poświatę. Niestety, okazuje się, że im drobniej zmielone są minerały, tym gorzej chronią w zakresie promieniowania UVA. Ogólnie można stwierdzić, że filtry mineralne są raczej kiepskie pod tym względem, co oznacza, iż nie chronią dość dobrze przed powstawaniem zmarszczek i przebarwień.

Filtry chemiczne to dużo bardziej urozmaicona rodzina. Ich działanie polega nie na odbijaniu światła, lecz na jego pochłanianiu i zamianie energii świetlnej w ciepło bądź też w światło o innej szerokości pasma (często fluorescencyjnej, stąd po aplikacji niektórych preparatów z filtrami ma się wrażenie błękitnawej poświaty).

Co prawda filtry chemiczne nie barwią skóry tak, jak filtry mineralne, są też generalnie „lżejsze”, lecz mogą zabarwiać tkaniny, włókna sztuczne, a w szczególności poliester – trwale. Filtry chemiczne mają też większy potencjał drażniący, stąd osoby o bardzo wrażliwej cerze mogą mieć uczucie szczypania lub pieczenia po zaaplikowaniu preparatu z takim filtrem. Największym mankamentem filtrów chemicznych jest jednak fakt, że niektóre z nich tracą swą skuteczność wraz z upływem czasu (mowa głównie o Parsolu 1789). Wynika to ze sposobu ich działania. Stąd też większość producentów zaleca ponowną aplikację kremów po upływie dwóch godzin, w celu zapewnienia jak najskuteczniejszej ochrony [5].

Powszechność stosowanie preparatów zawierających filtry UV spowodowała, że ważne stało się ujednoczenie terminów stosowanych do charakterystyki filtrów. Tak, aby informacje zawarte w literaturze oraz na opakowaniach produktów stały się dla wszystkich jasne.

Ważnym terminem często używanym przy charakteryzowaniu substancji

będących filtrami przeciwsłonecznymi jest fotostabilność. Fotostabilność jest to zdolność cząsteczki filtru do utrzymania swych właściwości ochronnych w stanie niezmienionym w określonym przedziale czasowym, podczas którego jest on poddawany działaniu promieni słonecznych [6, 7].

Rozpad substancji promieniochronnych może prowadzić do negatywnych skutków ubocznych. Po fotolizie związek nie tylko traci swoje właściwości absorpcyjne, ale może powodować różnego typu choroby skóry, od alergii po choroby nowotworowe.

Kolejnym czynnikiem charakteryzującym filtry UV jest ich substancywność. Oznacza ona zdolność składnika do wiązania się z powierzchnią, w przypadku substancji promieniochronnych określa ich powinowactwo do włókien kolagenowych warstwy rogowej naskórka. Wzrost substancywności zwiększa wodoodporność preparatów przeciwsłonecznych.

Przenikalność przez skórę składników kremów jest to możliwość przejścia tych substancji aktywnych przez kolejne warstwy skóry do organizmu człowieka. Właściwość ta jest poznana dla większości kosmetyków, ponieważ umożliwia działanie ich składników w głębi skóry, co znacznie zwiększa ich efektywność. W przypadku substancji przeciwsłonecznych nie jest to jednak pozytywna cecha. Związki te w większości są szkodliwe dla organizmu, a ich dostanie się w głąb ciała może doprowadzić nawet do powstawania nowotworów. Dlatego dąży się do zminimalizowania przenikalności filtrów UV przez skórę.

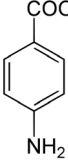
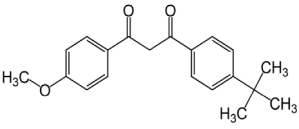
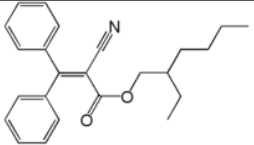
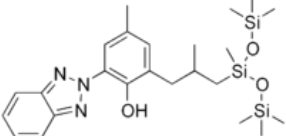
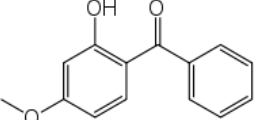
Współczynnik SPF (Sun Protection Factor) jest wielkością często pojawiającą się na opakowaniach kosmetyków zawierających substancje chroniące przed promieniowaniem UV. Oznacza stosunek ilości promieniowania ultrafioletowego powodującego oparzenie podczas stosowania filtru do ilości promieniowania powodującego taki sam stopień oparzenia bez jego zastosowania. SPF przyjmuje zazwyczaj wartości od 0 do 20, najwyższy spotykany w kosmetykach współczynnik wynosi >50 . Produkt z SPF 2 blokuje 50% promieniowania, SPF 15 (93,3%), SPF 30 (96,7%), a SPF 50 (98%) [8-11].

SPF określa zdolność kosmetyku do ochrony tylko przed rumieniotwórczym promieniowaniem UVB. Wraz ze wzrostem świadomości, jak szkodliwe może być promieniowanie UVA pojawiła się potrzeba wyznaczenia współczynnika charakteryzującego ochronę przed tym promieniowaniem. Wiele firm stosuje obecnie IPD (ang. Immediate Pigmentation Darkening) lub PPD (ang. Persistent Pigmentation Darkening). Wskaźniki te określa się za pomocą pomiaru wywołanej przez promieniowanie UV A opalenizny natychmiastowej (IPD) lub trwałej (PPD) uzyskanej po wystawieniu ohotników na światło słoneczne po użyciu odpowiednich kosmetyków. Wskaźniki te nie są jednak ekwiwalentne dla różnych producentów. Alternatywnie stosuje się tzn. standard australijski

nazywany w Stanach Zjednoczonych „broad spektrum”, mówi on, że kosmetyk zatrzymuje minimum 90% promieniowania UVA docierającego do skóry [9-11].

Do najpopularniejszych filtrów chemicznych należą: kwas 4-aminobenzoowy (PABA), jego estry, salicylany, cynamoniany, 2-hydroksy-4-metoksybenzofenon, pochodne kwasu salicylowego oraz pochodne kwasu 4-metoksycynamonowego.[12]

Tabela 2. Przykładowe związki chemiczne stosowane jako filtry przeciwsłoneczne w kremach

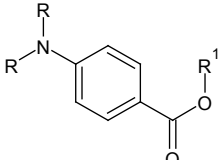
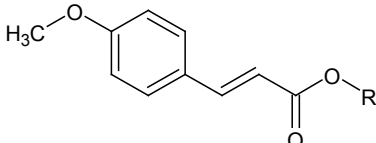
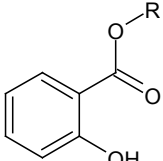
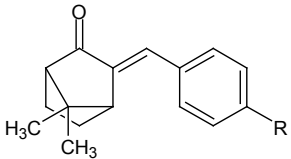
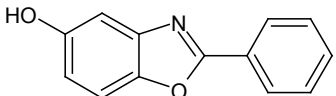
Nazwa	Nazwa handlowa (popularna)	Funkcja	Wzór chemiczny
kwas 4-aminobenzoowy	PABA	Związek pochłaniający promienie UV-B.	
butylo methoksydibenzoilometan	Parsol 1789, Eusolex 9020, Escalol 517, avobenzon	Związek pochłaniający promienie UV-A.	
oktokrylen	-	Związek pochłaniający promienie UV-B.	
drometrizol trisiloksanu i jego pochodne	silatrisol	Związek pochłaniający promienie UV-B i UV-A,	
2-hydroksy-4-metoksybenzofenon	Eusolex 4360, Escalol 567	Związek pochłaniający promienie UV-B i UV-A.	

Filtry przeciwsłoneczne UV B chronią przed promieniowaniem w zakresie 285-320 nm. Badania nad tą grupą związków prowadzone są od bardzo wielu

lat, dlatego obecnie jest to grupa dwudziestu związków o sprawdzonym i ulepszonym działaniu. Ze względu na budowę chemiczną, można je podzielić na grupy pochodnych, następujących związków:

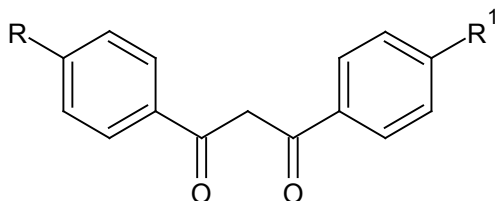
- kwasu 4-aminobenzoesowego;
- kwasu 4-metoksycynamonowego;
- kwasu salicylowego;
- terpenów;
- połączeń o zróżnicowanej budowie.

Tabela 3. Wzory ogólne filtrów UV B

Grupa pochodnych	Wzór ogólny
kwasu 4-aminobenzoesowego	
kwasu 4-metoksycynamonowego	
kwasu salicylowego	
terpenów	
połączenia o zróżnicowanej budowie (przykładowy związek- witisol)	

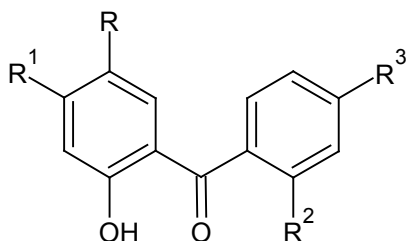
Filtry UVA stanowią znacznie mniejszą grupę związków stosowanych w kosmetykach. Badania nad nimi zaczęły się w ostatnich latach, a ich stosowanie

ma charakter profilaktyki przeciw fototoksyczności, nie natomiast ochrony przed oparzeniami, jak w przypadku filtrów UV B. Filtry UVA są głównie pochodnymi dibenzoilometanu, o właściwościach hydrofobowych.



Wzór ogólny filtrów UV A.

Obecnie stosuje się głównie szeroko zakresowe filtry UV A+B. Otrzymuje się je przez stosowanie mieszanin związków, które wspólnie obejmują cały zakres ochrony lub pojedynczych składników o szerokim zakresie filtru. Do najczęściej stosowanych filtrów szeroko zakresowych należą Eusolex 8020, będący mieszaniną filtrów UV A i UV B, oraz pochodne 2-hydroksybenzofenonu, pochłaniające promieniowanie słoneczne o długości fal 285-400 nm.



Wzór ogólny filtrów UV A+B

W większości kremów ochronnych możemy znaleźć mieszankę obu rodzajów filtrów. Substancje te muszą często występować w odpowiednich proporcjach, stężeniach, muszą mieć odpowiednie substancje nośne, niektóre mogą wzajemnie niwelować swoje działanie lub je wzmacniać, mieć niepożądane skutki uboczne etc.

Warte uwagi są produkty koncernu L'Oréal, do którego należą firmy takie jak Garnier, L'Oréal Paris, Vichy, La Roche-Posay, Lancôme i Biotherm. Wszystkie te firmy używają w swych produktach ochronnych m.in. filtrów chemicznych Mexoryl (linia słoneczna Garnier prócz Mexorylu XL stosuje także Tinosorb M),

zapewniających doskonałą ochronę UVA. Kolejną firmą, której produkty linii słonecznej zapewnią odpowiednią ochronę jest apteczna firma Avene. Kremy tej firmy dzielą się na czysto mineralne w białych opakowaniach i chemiczno-mineralne w pomarańczowych. Warto dodać, że Avene jest też jedyną firmą, która nie stosuje w filtrach chemicznych Parsola 1789.

Filtrów chroniących w zakresie UVB znanych jest obecnie bardzo dużo rodzajów, natomiast jeszcze nadal mamy zbyt mało skutecznych filtrów anty-UVA. Dlatego też chemicy stale pracują nad nowymi związkami, które chroniłyby w szerokim zakresie UV.

Do tej pory do grupy filtrów anty-UVA należały:

- ditlenek tytanu (Titanium Dioxide)
- tlenek cynku (Zinc Oxide)
- Parsol 1789 (Avobenzone) – Butyl Methoxydibenzoylmethane
- Mexoryl SX – Terephthalidene Dicamphor Sulfonic Acid
- Mexoryl XL – Drometriloze Trisiloxane

Od 2001 r. do tej listy dołączyły dwa związki, które są filtrami chemicznymi opatentowanymi przez firmę CBIA- Specialty Chemicals Corporation. Filtry te powszechnie znane są pod nazwą Tinosorb:

- Tinosorb S – bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl
- Tinosorb M – methylene bis- benzotriazolyl tetramethylbutylphenol

Filtry Tinosorb chronią równie skutecznie przed promieniowaniem UVB, jak i UVA. Filtr Tinosorb M łączy w sobie cechy filtrów chemicznych i mineralnych, a to dzięki temu, że ma on postać mikronizowanego filtru chemicznego. Chroni przed promieniowaniem działając w podwójny sposób. Z jednej strony dzięki swej mikronizowanej strukturze działa podobnie jak filtry mineralne – rozprasza i odbija promienie słoneczne, z drugiej zaś działa tak, jak wszystkie filtry chemiczne – pochłania energię światła słonecznego.

Tinosorb M jest substancją rozpuszczalną w tłuszczach. Jednak dzięki małym rozmiarom cząsteczek (200 nm) ma zdolność rozpraszania się w wodnej fazie kosmetyku, dzięki temu sprawdza się zarówno w emulsjach typu o/l (olej w wodzie – cząsteczki tłuszczu zostały umieszczone wewnątrz cząsteczki wody, dzięki temu emulsja ma lżejszą, typowo nawilżającą konsystencję) oraz emulsjach typu w/o (woda w oleju – cząsteczki wody znajdują się wewnątrz oleju, dzięki czemu ma on charakter mocno natłuszczający suchą i wrażliwą cerę, minusem takiego typu emulsji jest to, że bardzo wolno się wchłaniają, pozostawiając tłustą warstewkę).

Tinosorb S jest również substancją rozpuszczalną w tłuszczach i równie skuteczną w ochronie przed promieniowaniem UVA i UVB.

Oba typy filtrów wykazują wysoką fotostabilnością. Dodatkowo, użyte

z innymi filtrami podwyższają ich stabilność oraz skuteczność, tak jest np. w przypadku filtru Parsol 1789 (Avobenzone).

Mają także zdolność podwyższenia wartości faktora SPF zwłaszcza jeśli stosuje się je wspólnie z bardzo popularnym filtrem anti-UVB OMC (octyl methoxycinnamate). Dzięki temu mimo dodania do kosmetyku mniejszej ilości filtrów, nadal otrzymuje się wysoki stopień protekcji, co z kolei pozwala produkować nietłuste preparaty ochronne o wysokich faktorach SPF.

Filtry Tinosorb są dopuszczone do użytku w Europie od marca 2001 roku. Maksymalne dopuszczalne stężenie tych filtrów w masie kosmetyku wynosi 10%. Firma CIBA stara się obecnie o zaaprobowanie tych filtrów przez FDA, Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (Food and Drug Administration) i dopuszczenie ich do użytku także w USA. Niestety nie są one tam jeszcze stosowane, podobnie jak filtry z rodzaju Mexoryl [6].

Jedynym globalnie zatwierdzonym do stosowania w produktach ochrony przeciwsłonecznej filtrem anti- UVA jest Parsol 1789, inaczej też zwany Avobenzon (butyl methoxydibenzoylmethane; BMDBM). Jego wysoki stopień absorpcji UVA, szerokie jej pasmo (zarówno w zakresie promieniowania UVA I, jak i UVA II), które spełnia wymóg krytycznej długości fali, a także długa historia bezpiecznego stosowania sprawiają, że filtr ten jest najczęściej wybieranym filtrem w celu uzyskania ochrony przed promieniami typu UVA [17].

Parsol 1789 jeszcze do niedawna był uważany za filtr o niskiej fotostabilności. Wszystko za sprawą Roberta Sayre'a, fizyka z dziedziny fotobiologii z Uniwersytetu w Memphis. Na przełomie maja i czerwca 1998 r. w magazynie „Health” ukazał się artykuł Roberta Sayre'a, który sugerował, że filtr Parsol 1789 ulega fotodegradacji, co znaczy, że traci on 50% swej skuteczności po zaledwie 30 minutach ekspozycji na słońcu. Informacje te wywołały duże poruszenie wśród dermatologów, onkologów i kosmetologów, tym bardziej, że dotychczasowy stan wiedzy na temat tego filtru był zupełnie odmienny.

Parsol 1789, inaczej Avobenzon, jest patentem firmy Hoffman La Roche. Jest jednym z najstarszych i najlepiej poznanych filtrów anti-UVA, stosowany od 1981 roku. W Kanadzie, Australii, a także w Europie jest filtrem najczęściej wchodzącym w skład kosmetyków ochronnych spośród wszystkich filtrów chroniących przed promieniami UVA. W USA organizacja FDA dopuściła tą substancję do użytku po 7 latach bardzo szczegółowych badań. Przepisy FDA dopuszczające dany związek chemiczny do użytku są znane ze swej surowości i dokładności, mimo to Avobenzon przeszedł przez te wszystkie protokoły i został zaaprobowany, co świadczy o jego skuteczności.

Ważnym faktem świadczącym o pozytywnych wartościach tego filtru jest artykuł, który ukazał się w 1996 r. w czerwcowym numerze „Journal

od Chromatography BioMedical Applications”. Tekst dotyczył badań nad fotostabilnością Parsola 1789. W podsumowaniu podano, że po 72 godzinach ekspozycji na promienie słoneczne właściwości ochronne Avobenzone obniżyły się jedynie o 25% w stosunku do początkowej zdolności ochronnej. Okazuje się, zatem, że jego fotostabilność jest zupełnie wystarczająca.

Podsumowując, należy dodać, iż wyniki badań Roberta Soyer’a nie zostały potwierdzone przez żadnych innych niezależnych naukowców. Ponadto było one przeprowadzone jedynie metodami *in vitro*, a nie *in vivo*. Dodatkowo Sayre podczas badań nad Avobenzenem stosował mniejsze ilości preparatu ochronnego na centymetr kwadratowy. Prawdopodobnie jest to 2mg preparatu z filtrami na centymetr kwadratowy skóry.

Tak więc wszystko przemawia za tym, że informacje z 1998 roku były tylko pogłoskami, które wprowadziły zamieszanie na rynku kosmetycznym. W rzeczywistości możemy całkowicie polegać na kremach ochronnych zawierających ten typ filtra UV. Dużą zaletą Parsolu 1789 jest tak rzadko spotykana i skuteczna ochrona przed pełnym zakresem fal długich UVA II, których działanie jest w skutkach najgroźniejsze.

Wskazano także, że jeśli Parsol 1789 jest stosowany w towarzystwie niektórych filtrów UVB w tym Octocrylene (Neo Heliopan 303) i 4-Methylbenzilidene Camphor (Eusolex 6300), wówczas substancje te zapobiegają jego degradacji, co prowadzi do wzmocnienia jego zdolności ochronnych i stabilności.

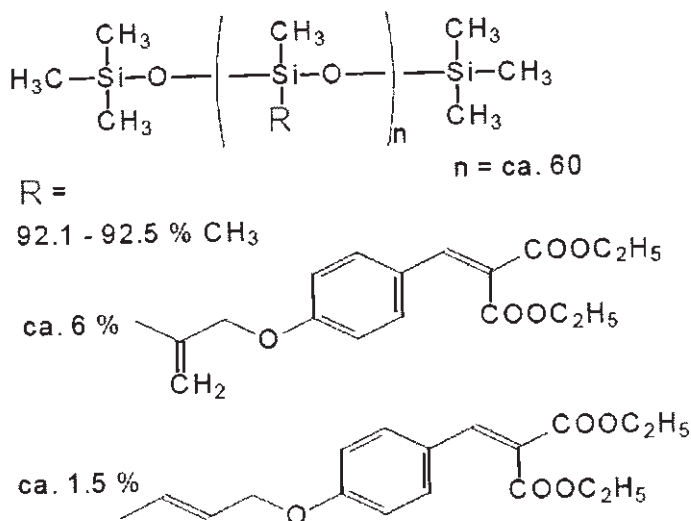
Avobenzone powinien być stosowany w stężeniu od 2 do 3%, maksymalnie do 5%. W przypadku kremów o wysokich faktorach, od SPF 30 wzwyż, w których jest on stosowany w dość dużym stężeniu, ich nałożenie może czasem spowodować pojawienie się żółtych plam na ubraniach. Plamy te nie są trwałe i znikają całkowicie po użyciu każdego, zwykłego detergentu [13-14].

Parsol 1789 mimo iż jest najczęściej stosowanym filtrem UVA posiada poważną wadę, którą jest możliwość fotodegradacji w sytuacji, gdy nieprawidłowo zostanie skomponowana receptura. Można oczywiście temu zapobiec stosując odpowiedni fotostabilizator. Jako przykład można podać tu Octocrylene (OC; Parsol 340), który w satysfakcjonujący sposób zapobiega fotodegradacji Parsola 1789. Dodatkowo BMDDBM odpowiednio wydajnego wygaszacza typu triplet-triplet, który jest między innymi OC, powoduje, że fotostabilność jaką może osiągnąć BMDDBM to poziom 100%.

Dzięki połączeniu filtrów Parsol 1789 i Parsol 340 można otrzymać fotostabilny układ anty UVA. Jednakże należy pamiętać, że w celu osiągnięcia pożądanego *in vivo* SPF należy zastosować odpowiednio wydajną kombinację filtrów UVB.

W Europie jest 28 filtrów łatwiej lub trudniej dostępnych dla osób opracowujących receptury kosmetyczne i które są stosunkowo często stosowane. Jedynym z ostatnio zarejestrowanych filtrów jest Parsol SLX (Polysilicone-15). Jest to polimeryczny filtr UV oparty na silikonie, o stosunkowo dużej cząsteczce, w której grupy chromoforowe dołączone są do głównych łańcuchów polisiloksanów i które wnoszą tylko 30% do masy cząsteczkowej filtra. Parsol SLX w połączeniu z Parsolem HS (Phenylbenzimidazole Sulfonic Acid) daje układ Silinie synergiczny. Połączenie 3% Parsola SLX, 4% Parsola 1789 pozwala osiągnąć SPF 30 metodą *in vivo*, przy udziale tych filtrów na poziomie 11%. Dodatkową zaletą takiego połączenia, przy niskim udziale filtrów, jest to, że zastosowane filtry UVB są rozpuszczalne w wodzie bądź oparte na silikonie, dzięki czemu zyskują bardzo lekkie odczucie na skórze [17].

Parsol SLX reprezentuje nową generację filtrów chroniących przed promieniowaniem UVB [16].



Parsol SLX

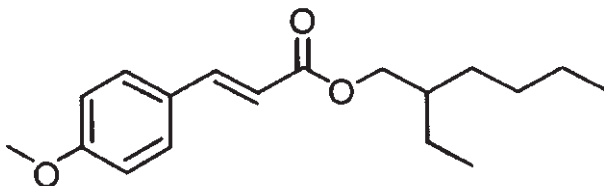
Polisilicon-15 jest związkiem organicznym stosowanym przede wszystkim w produktach do włosów, takich jak szampony, odżywki, lakiery [15]. Chroni włosy przed szkodliwym i osłabiającym działaniem promieni ultrafioletowych, co w połączeniu z suszeniem i czesaniem znacznie niszczy strukturę włosów.

Filtr ten chroni naturalny kolor włosów, a także włosów farbowanych podczas ekspozycji na promieniowanie słoneczne i inne czynniki atmosferyczne.

W Unii Europejskiej ten rodzaj filtru jest zatwierdzony i dopuszczony do stosowania również w kremach ochronnych [15].

W strukturze tego związku grupy chromoforowe przyłączone są do głównego łańcucha polisiloksanu w sposób kontrolowany, z zachowaniem optymalnej odległości między tymi grupami. Niski poziom chromoforów skutkuje co prawda umiarkowaną wartością stopnia absorpcji, to jednak przy nie wygórowanych wynikach *in vitro* osiąga się wysokie rezultaty w badaniach SPF *in vivo*. Wynika to z ulepszonej dystrybucji na skórze, co wspomagane jest polimeryczną naturą samej cząsteczki, a także lepszym rozprzestrzenianiem się aktywnej cząsteczki silikonu [16,17].

Parsol MCX (etyloheksylometokscynamonian) jest filtrem należącym do grupy filtrów chemicznych opracowanych przez firmę DSM Nutritional Products. Parsol MCX jest pochodną kwasu cyjanonowego, dzięki czemu posiada właściwości absorcyjne promieniowania ultrafioletowego.



Parsol MCX

Parsol MCX jest jednym z najczęściej stosowanych w kosmetykach do twarzy i włosów filtrem ochronnym w zakresie promieniowania UVB.

Parsol MCX nie tylko chroni skórę przed promieniowaniem UV, ale również minimalizuje efekty długiej ekspozycji na słońcu [17,18].

Filtrem będącym pochodną kwasu cyjanonowego jest również popularny metokscynamonian oktylu, zwany OMC, który również stanowi skuteczną ochronę przed promieniowaniem UVB.

Mikrokapsułki są małutkimi mikrocząsteczkami o średnicy nanometrów lub milimetrów, które pełnią rolę nośników. Zbudowane z materiału ośrodkowego (tzn. rdzenia) i otaczającej membrany (zwanej czasami ścianą) są swego rodzaju komorami, w których zamyka się substancje biologicznie aktywne. Rdzeń stanowić może 10-90% ogólnej masy mikrokapsułki.

W zależności od morfologii mikrokapsułki można podzielić na trzy kategorie:

- jednośrodkowe
- wielośrodkowe
- typu sieciowego.

Dzięki takim nośnikom, o mikroskopijnych rozmiarach, ogromnej powierzchni roboczej oraz dużej różnorodności funkcjonalnej, swobodnie nadawanej, możliwy jest transport wszelkiego rodzaju składników aktywnych (np. witamin, enzymów, białek, itp.) w głąb skóry z dużą wydajnością [19, 21].

Mikrokapsułki mają niewątpliwie wiele zalet. Dzięki technice mikrokapsułkowania można w sposób kontrolowany uwalniać substancje czynne – w określonym miejscu i określonym czasie, co powoduje jednocześnie przedłużone działanie substancji aktywnych. Mikrokapsułki mogą chronić zamknięte związki powodując np. oksydację lub dezaktywację. Mogą również powodować zwiększenie trwałości preparatu poprzez oddzielenie wzajemnie reagujących substancji, a także maskować nieprzyjemne zapachy.

Dzięki takim właściwością, te mikronośniki znalazły zastosowanie w wielu dziedzinach, między innymi kosmologii, farmaceutyce, chemii [19,21].

„Mikroenkapsulacja jest to proces, w wyniku którego uzyskuje się wieloskładnikowe mikrocząsteczki (o składzie spożywczym, farmaceutycznym, kosmetycznym, biotechnologicznym) o rozmiarach od kilku do kilkuset mikrometrów i są to produkty o specjalnych, nowych i pożądanym właściwościach.” [22]

Mikroenkapsulacja jest techniką, dzięki której wytwarza się mikroskopijne kapsułki. Technika ta była stosowana już na wielu płaszczyznach badawczych. Chemicy, farmaceuci, a także kosmologowie wykorzystywali już niejednokrotnie mikroenkapsulację w swoich pracach.

Pierwszym przemysłowym produktem, przy którego produkcji wykorzystano tę technikę był bezwęglowy papier kopiujący, wprowadzony przez firmę Green and Schleicher już w latach 50-tych ubiegłego stulecia. Mikrokapsułki w nim użyte wytworzono przez kompleksowanie koacerwacji żelatyny i gumy arabskiej [23].

Do dnia dzisiejszego bezwęglowy papier kopiujący jest jednym z najbardziej znaczących produktów, gdzie wykorzystuje się technologię mikroenkapsulacji i nadal jest produkowany komercyjnie.

Przy produkcji mikrokapsulek duży nacisk kładzie się na wytwarzanie produktów o znakomitych cechach. Uzyskać je można rozważając strategię wytworzenia mikrokapsulek o jak najmniejszych rozmiarach i najcieńszych ściankach.

Dotychczas udało się wytworzyć mikrokapsułki, które uwalniają w sposób kontrolowany substancje lecznicze, a także takie, które posiadają właściwości magnetoelektryczne, wymagane w mikrocząsteczkach tonerów do drukarek.

Materiały tworzące membrany są wybierane z myślą o tym, do jakich celów wykorzystane zostaną mikrokapsułki, co będzie rdzeniem, a także w jakich warunkach będą pełniły swoje zadanie. Dlatego do wytworzenia mikrokapsulek stosuje się zarówno syntetyczne i naturalne polimery, jak również tłuszcze i materiały nieorganiczne [19].

Coraz częściej spotyka się dziedziny nauki, w których wykorzystuje się innowacyjne metody dostarczania różnego rodzaju substancji. Stąd mikrokapsułki są coraz częściej stosowane jako nośniki substancji aktywnych.

Znanymi produktami wytworzonymi techniką mikroenkapsulacji są m.in. sztuczny kawior i popularna kalka kopiująca [19]. Coraz częściej słyszy się także o produktach kosmetycznych, do których wprowadza się składniki aktywne zamknięte w mikrokapsułkach. Przedłużone działanie, odpowiednie nawilżenie i wygładzenie skóry, poprawa jędrności i napięcia to bez wątpienia zalety preparatów kosmetycznych, które można osiągnąć właśnie dzięki innowacyjnej technologii mikroenkapsulacji [23].

Nie tylko w kremach odżywczych, przeciwzmarszczkowych, ujędrniających, nawilżających, ale także w żelach, piankach myjących, peelingach, szamponach i odżywkach do włosów stosowane są mikrokapsułki z składnikami aktywnymi, dzięki którym uzyskuje się jeszcze lepsze działanie [19,21,23].

Drukarnia to miejsce, gdzie mikro-nośniki stają się odpowiedzialne za zapachy. Najbardziej skuteczną metodą przenoszenia zapachów na druk jest metoda mikrokapsułkowania olejków zapachowych, które uwalniają zapach dopiero po rozgnieceniu ich podczas pocierania. Dzięki temu uzyskuje się efekt zapachowy w dowolnym momencie, a ogromna liczba takich mikrocząsteczek sprawia, że „zabieg” możemy powtórzyć wielokrotnie zachowując przy tym wysoki poziom intensywności zapachu [24].

Jeszcze bardziej popularne są ostatnim czasie mikrokapsułkowe leki. Ważne jest, by dawka zastosowanego leku była odpowiednio dobrana oraz precyzyjnie dostarczona w konkretne miejsce w organizmie, co jest trudne do osiągnięcia stosując tradycyjne metody dawkowania. Lek uwalniany bezpośrednio w miejscu, gdzie powinien się on znaleźć zmniejsza ryzyko przedawkowania oraz pojawienia się efektów ubocznych [25]. Wszystko to osiągnąć można dzięki nowoczesnej metodzie mikrokapsułkowania medykamentów.

Tagra RND jest pierwszą, i jak na razie jedyną firmą, która na skalę przemysłową produkuje mikrokapsułkowane składniki stosowane w kosmetyce. Tagra opracowała już ponad 40 różnych mikrokapsułkowanych produktów.

Firma produkuje: *Tagravi Range™: Mikrokapsułkowane witaminy oraz Tagrant Range™: Mikrokapsułkowane flawonoidy*

- Tagravit A2: Wysoka stabilna forma palmitynianu retinolu – witamina A
- Tagravit R1: Najwyższa stabilność czystego retinolu C50
- Tagravit E1: Wysoce stabilny z aktywnymi formami wolnej witaminy E-tokoferolu
- Tagravit F1: Bezzapachowa stabilna mieszanina wolnej formy kwasu linolowego i linolenowego
- Tagrant GS1: mikrokapsułkowany wyciąg z pestek winogron
- Tagrant Rutin1: mikrokapsułkowana witamina PP
- Tagrant Licorice1: mikrokapsułkowany ekstrakt z lukrecji – zawierający glabridin

Flawonoidy to substancje zaliczane do grupy związków organicznych, znajdujące się w roślinach, owocach i warzywach spełniające funkcję barwników, nadające intensywny kolor i ograniczające szkodliwy wpływ promieniowania ultrafioletowego. Są znane z pozytywnego wpływu na zdrowie, zwiększają ogólną odporność skóry. Mają silne właściwości anty-utleniające, sprzyjające szybkiemu procesowi uzdrawiania skóry. Ich silne kolory mogą negatywnie wpływać na estetykę kosmetyków i zmiany ich naturalnych kolorów z upływem czasu.

Tagra RND Technology „oswoiła” jak gdyby potężne składniki (flawonoidy), zwiększając ich stabilność i trwałość (co w rezultacie dało możliwości zastosowania ich praktycznie we wszystkich typach kosmetyków). Mikrokapsułki flawonoidów, o średnim rozmiarze 40 mikrometrów, są jednorodnie rozproszone w każdym preparacie.

Produkty Tagranat nawet po roku składowania mogą zmienić swoją barwę tylko nieznacznie, bądź też wcale. Naturalny kolor Flawonoidu jest dobrze zamaskowany w roztworze, aby dać bardziej delikatne, miłe dla oka odcienie. Siła Flawonoidu jest w pełni widoczna praktycznie dopiero po nałożeniu kosmetyku. Firma produkuje: *Tagrol Range™: Mikrokapsułkowane oleje naturalne, Tagrol Volatile Range™: Mikrokapsułkowane lotne związki, Tagrol Range™: Mikrokapsułkowane olejki eteryczne, TagraCap Range™ TagraCap Range™: Mikrokapsułkowane pigmenty oraz TagraCap pigments:*

- Tagrol EPO1: mikrokapsułkowany olej wiesiołka
- Tagrol B1: mikrokapsułkowany olej ogórecznika
- Tagrol H1: mikrokapsułkowana ropa rokitnika zwyczajnego
- Tagrol TTO1: olej z drzewa herbacianego –
- Tagrol MEnt1: mentol

- Tagrol EPO1: wiesiołek
- Tagrol PO1: mikrokapsułkowana paczula
- Targol EC1: mikrokapsułkowany eukaliptus cytrynowy
- Targol CM1: mikrokapsułkowany rumianek
- Targol GN1: mikrokapsułkowany imbir
- YellowCap1: mikrokapsułkowany żółty tlenek żelaza; wygląd produktu: blado żółty proszek, aktywny „Ładunek” w każdym Micro-cap: 36%
- RedCap1: mikrokapsułkowany tlenek żelaza; wygląd produktu: blado czerwony proszek, aktywny „Ładunek” w każdym Micro-cap: 36%
- BlackCap1: mikrokapsułkowany czarny tlenek żelaza; wygląd produktu: blady szary proszek, aktywny „Ładunek” w każdym Micro-cap 36%
- GreenCap1: mikrokapsułkowany zielony tlenek chromu; wygląd produktu: jasnozielonego proszku, aktywny „Ładunek” w każdym Micro-cap: 36%
- BlueCap1: mikrokapsułkowany niebieski żelazocyjanku; wygląd produktu: blady szary proszek, aktywny „Ładunek” w każdym Micro-cap: 40%
- WhiteCap1: mikrokapsułkowany Ti_2O_3 ; wygląd produktu: biały proszek, aktywny „Ładunek” w każdym Micro-cap: 80%

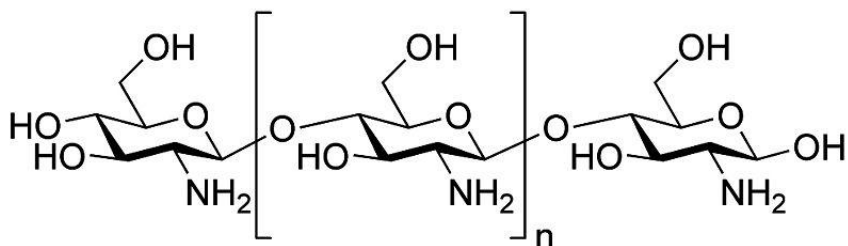
Tagra RND™ Technology potrafi mikroenkapsulować każdy pigment osobno lub ich mieszaniny. Inną zaletą mikrokapsulowanych pigmentów, jaką należy tu wymienić jest ich łatwość użycia (nie jest wymagany specjalny sprzęt). Każda tagracap może być odmierzona (dodawana) indywidualnie dla łatwego tworzenia nowych odcieni i później jednolitych, pasujących kolorów. Jako alternatywa, „formułowanie” może maskować obecność jednego lub więcej kolorów dla efektu „see one color / release another”.

Chitozan jest wysokocząsteczkowym kopolimerem z acetyloglukozaminowym i glukozaminowym łańcuchem. Otrzymuje się go przez deacetylację chityny (Poli-b-1,4-D-N-acetyloglukozaminy)[31].

Chityna występuje w morskich bezkręgowcach, takich jak skorupiaki (krewetki, kraby, homary itp.) i mięczaki oraz u owadów, gdzie stanowi główny składnik egzoszkieletu, a także niektórych gatunków grzybów, stanowiąc składnik ścian komórkowych jako główny polimer włóknisty. Chitozan, tak samo jak chityna, obecny jest również w takich organizmach jak algi i drożdże.

Chityna odkryta została w 1811 roku przez Branconnota jako alkalioporna frakcja z wyższych grzybów. W 1823 roku Odier wyizolował nierozpuszczalną pozostałość, którą nazwano chityną, co w języku greckim oznacza tunikę lub szatę. Pierwsze doniesienie na temat chitozanu pojawiły się w 1859 roku.

Rouget jako pierwszy otrzymał rozpuszczalną w kwasie frakcję chityny w czasie gotowania w stężonym roztworze wodorotlenku potasu. Jednak chitozan już wcześniej znany i stosowany był w krajach Wschodu i Ameryce do opatrywania otarć skóry i leczenia ran ciętych.



Budowa cząsteczki chitozanu

Strukturalnie, budowę chitozanu można powiązać z budową cząsteczki celulozy, która składa się z długich łańcuchów glukozowych połączonych ze sobą. W chitozanie budowa bloków łańcuchowych jest nieco zmienioną formą glukozy [25].

Mikrokryształiczny chitozan charakteryzuje się szeregiem właściwości użytkowych: wysoką wartością wskaźnika wtórego pęcznienia, zdolnością do tworzenia błon polimerowych bezpośrednio z zawiesiny, wysoką adhezyjnością, kontrolowaną bioaktywnością, a zwłaszcza działaniem antybakteryjnym, biozgodnością i nietoksycznością, wysoką stabilnością w postaci zawiesiny, dobrą mieszalnością z szeregiem substancji, w tym polimerami, dużą reaktywnością chemiczną, dużą pojemnością sorpcyjną oraz zdolnościami chelatującymi.

Chitozna jest substancją biodegradowalną, a więc łatwo rozkładaną przez mikroorganizmy na substancje pierwsze. Z tą też właściwością wiąże się jego nietoksyczność [25,26].

Mikrokryształiczny chitozan jako pochodna chityny jest polimerem charakteryzującym się szeregiem właściwości użytkowych, a przede wszystkim bioaktywnością, biodegradowalnością, bakteriostatycznością wraz z bezpiecznym profilem toksykologicznym, a także posiada zdolności błon i włóknotwórcze. Oprócz tego ma unikatowe cechy sorpcyjne i chelatujące w stosunku do jonów. Dzięki tym zaletom stał się cennym podłożem wykorzystywanym w wielu dziedzinach, m.in. inżynierii wodnej, medycynie, farmacji oraz kosmetologii [26,27,28,29].

Właściwości sorpcyjne chitozanu pozwalają na swobodne wykorzystanie

go w technologii oczyszczania ścieków. Stosowany w tej technologii chitozan może mieć postać płatków, proszku lub kuleczek, stanowiąc wypełnienia kolumn sorpcyjnych takich jonów, jak miedź, nikiel czy żelazo, a także usuwać barwniki z wody. Jednak nadal poszukuje się najbardziej efektywnej formy zastosowanego związku, nie wykluczając odpowiedniej jego modyfikacji [28,30].

Chitozan przyspiesza krzepnięcie krwi, dzięki czemu znalazła zastosowanie w bandażach i innych rodzajach opatrunków. Sprawia to, że rany szybciej się goją i zablizniają. Polimer ten jest również wykorzystywany do produkcji otoczek na leki, stosowany jako kapsułki hydrożelowe pozwala na uwalnianie leku w odpowiednim miejscu przewodu pokarmowego [27].

Dzięki zdolnościom wiązania tłuszczu i cholesterolu z pożywienia, a także dzięki właściwościom pęcznienia, chitozan stał się popularnym suplementem diety wspomagającym odchudzanie, a jednocześnie przywracającym ogólną równowagę biologiczną organizmu [26, 27].

Chitozan jest naturalnym kationowym polimerem, który wykorzystywany jest w kremach, mleczkach kosmetycznych, maseczkach, a także w produktach do pielęgnacji włosów.

Głównymi problemami wynikającymi ze stosowania filtrów słonecznych, szczególnie organicznych, jest ich reaktywność oraz przenikalność przez skórę.

Problem reaktywności sprowadza się głównie do dwóch aspektów. Pierwszym jest rozpad filtrów chemicznych pod wpływem promieniowania na inne substancje. Substancje te są często fotouczulaczami, tzn. związkami zwiększającymi wrażliwość skóry na szkodliwy wpływ promieniowania UV. Zrozumiałe jest, że składniki, których rozpad prowadzi do takich produktów nie mogą być stosowane w preparatach kosmetycznych. Fotoliza substancji promieniochronnych również, może prowadzić do powstania związków toksycznych dla ludzkiego organizmu, powodujących podrażnienia skóry.

Wzrastająca popularność kosmetyków zawierających filtry UV, spowodowała, że organizm „wystawiony” jest na działanie coraz większej ilości tych substancji. Powszechnie wiadomo, że długotrwała ekspozycja na alergen może wywołać uczulenie nawet u osób, wcześniej nie cierpiących na tę dolegliwość. Stąd coraz częstsze przypadki występowania pokrzywki, kontaktowego zapalenia skóry, obiektywnego podrażnienia skóry oraz wielu innych chorób.

Aby aplikacja kosmetyków przeciwsłonecznych była bezpieczna, należy również ograniczyć przenikanie przez skórę, zarówno substancji promieniochronnych, jak i produktów ich fotolizy. Wpływ tych związków na ludzki organizm nie został jeszcze do końca zbadany, wiadomo jednak, że wszelkie „obce” substancje nie wpływają korzystnie na funkcjonowanie

organizmu.

Do doskonałym sposobem na zniwelowanie negatywnych skutków działania omawianych związków jest użycie nowej technologii, jaką jest mikrokapsulacja. Polega ona na zamykaniu we wnętrzu kapsułki jednej lub kilku substancji promieniochronnych. Metoda ta ma bardzo wiele zalet.

Zwiększa ona również fotostabilność filtrów UV, ponieważ cząsteczki dłużej pozostają we właściwej postaci, a co za tym idzie efekt ochronny kremu zawierającego kapsułki jest długotrwały. Ponadto, mniejsza ilość produktów fotolizy gromadzi się na skórze. W ten sposób wzrasta bezpieczeństwo stosowania preparatu.

Metoda ta zwiększa również substancywność, tj. powinowactwo cząstek do skóry. Mikrokapsułki mają duże powinowactwo do włókien kolagenowych, co powoduje, że w porównaniu ze zwykłymi filtrami, są one bardziej wodoodporne.

Dzięki zastosowaniu tej metody możemy również zwiększyć stężenie używanego składnika. Ukryty w mikrokapsułce nie powoduje podrażnień skóry, oraz nie przenika do jej wnętrza, stąd dopuszczalne stężenie wzrasta wielokrotnie. Właściwość ta pozwala nam na uzyskanie wyższego współczynnika SPF (ang. Sun Protection Factor), wytwarzanego produktu.

Wytwarzanie preparatów zawierających mikropasulowane filtry jest bardzo proste, a otrzymane produkty są stabilne. Ponadto, w większości, kapsułki są biodegradowalne, a więc ich dystrybucja nie przysparza kłopotu z ewentualną utylizacją produktu, po jego przeterminowaniu.[13-14, 32-35]

Wszystkie te zalety sprawiają, że zainteresowanie tą metodą jest coraz większe. Wraz ze wzrastającym zainteresowaniem, znikają wady tej technologii tzn. mała wiedza na temat negatywnego wpływu na organizm oraz brak doświadczenia w produkcji.

Kapsułki mogą być wykonane z różnych substancji. Obecnie najbardziej popularne są trzy typy mikrokapsulek: kapsułki zol-żel, kapsułki polimerowe oraz kapsułki tłuszczowe.

Kapsułki zol-żel zbudowane są z rdzenia zawierającego substancje promieniochronną oraz powłoki ze szkła kwarcowego. Zaletą tego typu powłoki jest bierność chemiczna oraz przepuszczalność promieniowania UV. Filtr UV stanowi 80% masy kapsułki.

Kapsułki otrzymuje się w procesie międzyfazowej polikondensacji. Roztwory otrzymane w ten sposób mają 35%-38% stężenie aktywnego filtru w wodzie.

Rozmiary otrzymanych cząstek mieszczą się w zakresie 0,3-3 μm . Są to wielkości zapewniające odpowiednie rozprowadzanie preparatu kosmetycznego na skórze i jednorodność kosmetyku, a jednocześnie pozwalają zapobiegać

penetracji kapsułek przez naskórek. Kapsułki tworzą jednolitą warstwę na skórze dzięki czemu efektywnie absorbują szkodliwe promieniowanie UV.[8,9]

Kapsułki o powłoce polimerowej utworzone są z polimerów takich jak np. pochodna polisacharydu bazująca na kwasie hialuronowym, etyloceluloza oraz syntetycznych polimerów.

Kapsułki tego typu, podobnie jak te z osłonką typu sol-gel (zol-żel), pozwalają na otrzymanie produktu o przyjemnej konsystencji. Wielkość kapsułek wynosi ok. 2,05 μm , zapewnia to bezpieczeństwo stosowania preparatu, zapobiegając jego przenikaniu przez naskórek.

Dodatkowymi zaletami tych produktów jest ich biodegradowalność oraz duże powinowactwo do włókien kolagenowych w naskórku. Ta druga cecha sprawia, że kosmetyki z tego typu kapsułkami są o znacznie bardziej wodoodporne od powszechnie stosowanych kremów z filtrem[8,11].

Kapsułki w formie emulsji, o powłoce lipidowej otrzymywane są głównie z glicerolu behenylowego lub poloksameru 188. Wydajność tego procesu wynosi 76,9%-80,9%. Uzyskane cząsteczki mają rozmiar od 7 μm do 25 μm . Jak zauważono, pomimo tego, iż związki te nie mogą przenikać bezpośrednio przez skórę, to możliwe jest dostawanie się ich do organizmu poprzez mieszki włosowe. Nie zbadano jednak, jak duża ilość substancji może zostać wchłonięta w ten sposób.

W badaniach potwierdzono, że proces kapsulacji zwiększa fotostabilność filtrów UV. Właściwości ochronne takich preparatów mogą być zmniejszone przez agregację mikrokapsułek. Zmiana ta jest jednak na tyle mała, że nie wpływa drastycznie na wielkość współczynnika SPF[12,13].

Metoda mikrokapsulacji wydaje się być idealnym sposobem na spełnienie tych wymagań.

Umieszczenie filtrów przeciwsłonecznych w kapsułkach zbudowanych z różnego typu materiałów posiada wiele zalet:

- zwiększa fotostabilność filtrów;
- zwiększa substancywność;
- kapsułki są stosunkowo łatwe do otrzymania;
- związki promienochronne nie mają kontaktu ze skórą;
- istnieje możliwość użycia większych stężeń substancji aktywnych;
- można uzyskać wysoki współczynnik SPF(Sun Protection Factor);
- kapsułki są w większości biodegradowalne;
- zmniejszają penetrację skóry.

Te doskonałe właściwości oraz łatwość produkcji powodują, że mikrokapsulacja staje się coraz bardziej popularna. Stosowana jest aktualnie nie tylko przy produkcji preparatów kosmetycznych, ale również w przemyśle

farmaceutycznym, farbách do dekoracji wnętrz oraz w wielu innych dziedzinach życia.

Wraz z rozwojem nanotechnologii prawdopodobnie i ta metoda znajdzie coraz szersze zastosowanie, jako sposób na zapobieganie wnikaniu nanocząsteczek do organizmu ludzkiego. Mikrokapsulacja, będąca doskonałym sposobem na zapewnienie bezpieczeństwa, jest wspaniałym rozwiązaniem zarówno dla konsumenta jak i producenta. Wszystkie te cechy gwarantują, iż metoda ta będzie się rozwijać się bardzo pręźnie i wkrótce stanie się powszechnie stosowaną.

Literatura:

1. A. Chisvert, M.C. Pascual-Mart, A. Salvador; *Determination of the UV filters worldwide authorized in sunscreens by high-performance liquid chromatography. Use of cyclodextrins as mobile phase modifier*; J. Chromatogr. A; 921(2001) 207-215
2. M. Serafin, D. Rosińska-Borkowska, *The impact of solar radiation on skin of the children and the means of protection against the harm*; Borgis – Nowa Pediatria 1/2002, s. 26-30
3. J.P. Ortonne, R. Marks: *Solar stimulus. Photodamaged Skin: Clinical Signs, Causes and Management*. Wyd. Martin Dunitz. London 1999, 5
4. O. Braun-Falco, *Photodermatoses. Dermatology*. Wyd. Springer-Verlag Berlin 1991, 380
5. <http://www.pinezka.pl/moda-i-uroda-arch/2137-filtrujemy-filtry>
6. B. Kwiatkowska; <http://mediaweb.pl/beauty/wyswietl.php?id=1011>
7. B. Kwiatkowska; http://mediaweb.pl/beauty/wyswietl_vad.php?id=966
8. http://ec.europa.eu/health-eu/news/sun_uv_pl.htm
9. <http://www.skin911.com/spf.html>
10. www.bio-med.pl/promieniowanie_uv.html
11. http://www.innovia.pl/artykuly/pokaz/chemia_kosmetyczna__ochrona_do_potegi__czyli_o_sposobach_wzmacniania_efektywnosci_produkow_ochrony_przeciwsłonecznej.htm
12. M. Molski, *Chemia piękna*; Wydawnictwo Naukowe PWN; Warszawa 2009
13. Buonocore, C. La Rosa; *New microencapsulated sunscreens: technology and comparative evaluation*; J. Pharmaceutics; 242 (2002); 207-211
14. N. Lapidot, O. Gans, F. Biagini, L. Sosonkin, C. Rottman; *Advanced Sunscreens: UV Absorbers Encapsulated in Sol-Gel Glass Microcapsules*; J. Sol-Gel Science and Technology; 26 (2003); 67-72
15. R. Schwarzenbach, U. Huber, *Optymalizacja skuteczności ochrony*

- przeciwsłonecznej*; SOFW-Journal, 6 (128) 2002, 20-30
16. DSM Nutritional Products, *Parsol SLX- UV Production by Liquid-Mineral Technology*
 17. R. Hermann, Ch. Mendrok-Edinger, K. Smith, D. Lenz, C. Ploton; *Efficient UV – Protection Systems Following the New European Sun Care Standard*; DSM Nutritional Products
 18. Roche Vitamins Inc.; *Parsol SLX. The UV Protektor for Hair*
 19. H. Yoshizawa, Y. Lemura, Y. Kawano, Y. Hatate; J. Chem. Eng. Japa, 26,198 (1993)
 20. Encyklopedia Kosmetyczna ASPI <http://www.kosmetyka.eu/mokrokapsulki.html>
 21. http://bez-recepty.pgf.com.pl/index.php?co=artyk&id_artyk=307
 22. S. Kuberski, J. Kasznia, M. Piątkowski, M. Marczak, E. Marciniak, A. Zawadzka, M. Bizukojć; *Badania kinetyki i dynamii mikroenkapsulacji podczas procesu suszenia rozpryskowego*; <http://nauka.opi.org.pl/raporty/opisy/synaba/130000/sn130725.htm>
 23. B.K. Greek, L. Schleicher; US patent, 2800457, CA 1957, 51:15842d (1957)
 24. <http://www.mhp.com.pl/gfx/mhp/userfiles/files/pdf/inne/druki-it-pachnaca.pdf>
 25. M. Piątkowski; *Chemiczna modyfikacja chitozanu w polu promieniowania mikrofalowego*; Czasopismo Techniczne Ch. Wyd. Politechniki Krakowskiej, z. 1-Ch/2008
 26. <http://www.biologia.pl/article1258.html>
 27. R. Saj; *Zastosowanie chityny i chitozanu*; <http://bioinfo.mol.uj.edu.pl/articles/Saj03>
 28. Z. Kułak, A. Niekraszewicz, H. Struszczyk; *Wykorzystanie chitozanu do sorpcji jonów metali ciężkich*”; Polimery 2001, 46, nr 1
 29. M.Jaworska, „Alternatywny chitozan”; [ttp://kbn.icm.edu.pl/pub/kbn/eureka/0215/93.html](http://kbn.icm.edu.pl/pub/kbn/eureka/0215/93.html)
 30. E. Tomczak, D. Szczerkowska, M. Manios; *Zastosowanie wypełnienia chitozanowego w kolumnie do sorpcji jonów Cu(II), Ni(II), Zn(II)*; Proceedings of ECOpole Vo.1, No.1/2
 31. http://www.igb.fraunhofer.de/WWW/GF/Biokataylse/en/GFBK_221_B1_Chitosan.en.html
 32. C.Rottman, O. Gans, F. Biagini, N. Lapidot; *Advanced Sunscreens: UV Absorbers Entrapped in Sol-Gel Glass Microcapsules.*; <http://www.sol-gel.com>
 33. R.Alvarez-Raman, G.Barre, R.H., Guy, H Fessi; *Biodegradable*

- polymer nanocapsules containing a sunscreens agent: preparation and photoprotection*,. J. Pharmaceutics and Biopharmaceutics; 52 (2001); 191-195
34. S. Scalia, M. Mezzena; *Incorporaton In Lipid Microparticles of the UVA Filter; Butyl Metoxydibenzoylmethane Combined with the UVB Filter; Octoethylene: Effect on Photostability*; AAPS PharmSciTech; 10, (2009); 384-390
35. R. Tursilli, P. Genaldine, L. Delattre, S. Scalia; *Solid lipid microparticles containing the sunscreen agent octyl-dimethylaminobenzoate: Effect of the vehicle*; J. Pharmaceutics and Biopharmaceutics; 66 (2007); 483-487

Rozdział 3

Kwas hialuronowy

Agnieszka Maciejewska, Grzegorz Schroeder

*Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Wydział Chemii, Grunwaldzka 6,
60-780 Poznań*

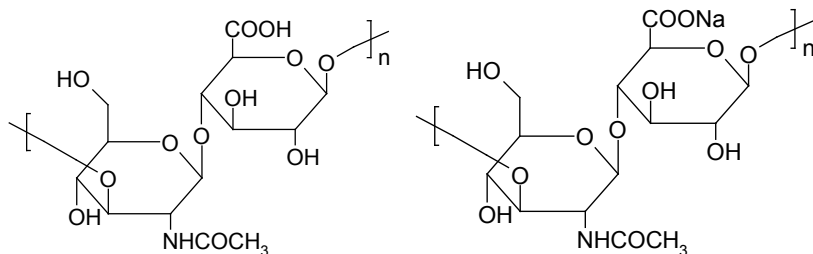
W ostatnich latach znaczący wzrost zainteresowania kwasem hialuronowym, wynika z jego wyjątkowych zdolności do wiązania ogromnych ilości cząsteczek wody. Związek ten rozpoczął swoją dynamiczną karierę w kosmologii, gdy stwierdzono, że w miarę starzenia jego zawartość w skórze ludzkiej zmniejsza się.

W medycynie kwas hialuronowy jest stosowany już od lat pięćdziesiątych zeszłego wieku. Początkowo w okulistyce w chirurgii oka oraz w leczeniu stawów a od ponad dwudziestu lat jako wypełniacz służący do szybkiego i nieinwazyjnego korygowania niedoskonałości ciała w medycynie estetycznej. K. Meyer oraz J. Palmers w 1934r. wyizolowali wcześniej nieznaną substancję chemiczną z ciała szklistego krowiego oka. Okazało się, że wyizolowana substancja zawiera dwie cząsteczki cukru jedną z nich była cząsteczka kwasu uronowego. Zaproponowano dla niej nazwę kwas hialuronowy, która jest połączeniem greckiego słowa „hyalos”, oznaczającego szkło, aby opisać jego szklisty, przejrzysty wygląd i kwasu uronowego.

Komercyjnie kwas hialuronowy (HA) po raz pierwszy znalazł zastosowanie w 1942 roku, kiedy E. Balazas złożył wniosek o patent na wykorzystanie go jako substytutu białka jaj do wyrobów piekarniczych. Pięćdziesiąt lat później ten uczony stał się ekspertem w temacie kwasu hialuronowego i jemu przypisuje się większość odkryć związanych z tą substancją. E. Balzas odkrył, że cząsteczka nie jest wbrew nazwie kwasem lecz biopolimerem, w którym występują mery disacharydowe utworzone z amidu kwasu D-glukuronowego i *N*-acetylo-D-glukozaminy.

Kwas hialuronowy jest polisacharydem, czyli cząsteczką złożoną z łańcucha cukrów. W skład kwasu wchodzi mery disacharydowe utworzone z amidu kwasu d-glukuronowego i d-N-acetyloglukozaminy połączone przemiennie wiązaniem beta-1, 4 i beta-1, 3 glikozydowym. Średnia długość dwucukru wynosi 1 nm, cząsteczka hialuronianu może w swojej budowie posiadać 10

000 powtórzeń połączeń kwasu D-glukuronowego i N-acetylo-D-glukozyminy. Długość może dochodzić do 10 mikrometrów, w przybliżeniu równa średnicy ludzkich erytrocytów. Kwas hialuronowy (hialuronian, HA) jest zaliczany do grupy mukopolisacharydów o liniowej strukturze, utworzonej z kwasu D-glukuronowego i N-acetylo-D-glukozyminy [1-10].



Ryc. 1. Wzór kwasu hialuronowego i jego soli sodowej

Cząsteczki HA, utworzone z setek, a nawet tysięcy cukrowych podjednostek, nie podlegają jakimkolwiek modyfikacjom np. siarczanowaniu czy epimeryzacji, jak pozostałe typy glikozoaminoglikanów. W organizmach żywych zmienna jest natomiast długość polimeru, jego stężenie HA oraz miejsce jego występowania [2].

Wyróżnić można siedem rodzajów glikozaminoglikanów:

1. kwas hialuronowy,
2. 4-siarczan chondroityny,
3. 6-siarczan chondroityny,
4. siarczan dermatanu,
5. siarczan keratanu,
6. siarczan heparanu
7. heparyna.

Masa cząsteczkowa kwasu hialuronowego zawiera się w granicach 10^5 – 10^7 Da, w zależności od rodzaju tkanki, choć przyjmuje także i znacznie mniejsze wartości, gdy ten wielocząsteczkowy glikozoaminoglikan (GAG) ulega *in vivo* degradacji do mniejszych fragmentów, a nawet – oligosacharydów [2]. Syntetyzowany przez błony komórkowe w przeciwieństwie do innych glikozoaminoglikanów takich jak: siarczan chondroityny lub siarczan heparyny nie łączy się z białkiem rdzeniowym. Wykazuje ujemne działanie elektromagnetyczne i przyciąga olbrzymie ilości wody; liczne łańcuchy kwasu hialuronowego przeplatają się i krzyżują wzajemnie, tworząc w ten sposób roztwory o dużej elastyczności i lepkości, nadając skórze spójność i elastyczność.

HA swoją sławę zawdzięcza zdolności utrzymywania nawilżenia skóry.

Połowa całego kwasu hialuronowego zawartego w organizmie człowieka znajduje się w skórze. Woda stanowi 3/4 masy naszego ciała, HA utrzymuje znaczną część tej wody (wodę hydratacyjną) w organizmie. Jego funkcją jest również kontrola poziomu płynu tkankowego, zawartego w macierzy pozakomórkowej, utrzymanie właściwego stanu płynnej tkanki łącznej, kontrola uwodnienia tkanek i transportu wodnego, supramolekularny montaż proteoglikanów w macierzy pozakomórkowej. W zależności od lokalizacji i rodzaju tkanki, w której występuje kwas hialuronowy ma różną masę cząsteczkową. Jest polimerem liniowym o jednorodnej strukturze i długości łańcucha dochodzącej do 2,5 μm . W roztworach wodnych stanowi konformację dość sztywnej lewoskrętnej helisy, która stabilizowana jest przez mostki wodorowe. Występuje naturalnie w postaci soli sodowej. Główną zaletą kwasu hialuronowego jest to, że każda jego cząsteczka może związać 250 cząsteczek wody. Cząsteczki kwasu hialuronowego są jednymi z najbardziej hydrofilowych cząsteczek w przyrodzie [3].

W przeciwieństwie do innych glikoaminoglikanów HA nie tworzy kowalencyjnego wiązania z białkami, nie może, więc wchodzić w skład typowego proteoglikanu. Może natomiast stanowić oś, na której wiążą się inne proteoglikany tworząc wraz z nimi „agregat proteoglikanu”. [4]

Występuje on we wszystkich żywych organizmach, choć nie jest charakterystyczny jedynie dla organizmów wyższych. Jego obecność stwierdzono na przykład w otoczkach ścian komórkowych niektórych bakterii (*Pasteurella*, *Streptococcus*). W przypadku bakterii *Streptococcus* identyczny skład bakteryjnego polisacharydu z polisacharydem organizmu wyższego, hamuje uruchomienie przez ustrój gospodarza mechanizmów obronnych, takich jak proces fagocytozy i uczynienie układu dopełniacza, wobec czynnika wirulencji, jakim jest bakteryjny HA. U kręgowców zlokalizowany jest w macierzy zewnątrzkomórkowej tkanki łącznej (wykazano, że może również wystąpić wewnątrzkomórkowo), płynie maziowym oraz w obrębie innych tkanek. W skórze tworzy macierz tkankową w obrębie, której zatopione są włókna kolagenowe i elastynowe, a także inne struktury międzykomórkowe.

W organizmach żywych HA występuje w postaci soli, hialuronianu i znajduje się w dużych stężeniach w wielu miękkich tkankach, łącznych, w tym skóry, pępowiny i płynu stawowego i ciała szklatego oka. Znaczne ilości HA znajdują się także w płucach, nerkach, mózgu i tkance mięśniowej. Niepowtarzalny charakter cząsteczek HA oraz jego biogodność pozwala na wykorzystanie go w leczeniu schorzeń takich jak zapalenie stawów poprzez uzupełnienie płynu stawowego metodą wstrzyknięć domięscowych. Pomocny jest również w

chirurgii oka, ponieważ przyspiesza regenerację i wspomaga gojenie się ran. Od 1980 r. zyskał niezwykłą renomę w kosmetologii i medycynie estetycznej, dzięki swoim właściwościom pozwala w szybki i nieinwazyjny sposób korygować niedoskonałości ciała.

W badaniach eksperymentalnych nad chorobą zwyrodnieniową stawów, stwierdzono, że glikozoaminoglikany mają działanie ochronne na chrząstki; egzogenny kwas hialuronowy jest znanym składnikiem chrząstki. Egzogenny HA zwiększa syntezę chondrocytów, zmniejsza produkcję i zmienia zachowanie komórek układu odpornościowego. Funkcje te są widoczne w procesie usówiania reaktywnych form tlenu, wolne rodniki, zahamowaniu migracji leukocytów i makrofagów oraz regulacji proliferacji fibroblastów. Hialuronian jest istotny dla modulowania nawodnienia tkanek i równowagi osmotycznej. Oprócz swojej funkcji jako biernej cząsteczki strukturalnej, hialuronian działa również jako cząsteczka sygnalizacyjna poprzez interakcje z receptorami na powierzchni komórek i regulacji proliferacji komórek, migracji i różnicowania. Hialuronian ma zasadnicze znaczenie dla embriogenezy.

Funkcje hialuronianu są zróżnicowane. Ze względu na swoje właściwości higroskopijne, hialuronian znaczący sposób wpływa na nawilżenie i właściwości fizyczne macierzy pozakomórkowej. [5]

W wielkocząsteczkowej postaci, HA pełni w organizmie rolę homeostatyczną, nie wykazując zdolności aktywowania procesów immunologicznych. Degradowany podczas procesów zapalnych, tkankowej destrukcji czy onkogenezy do drobnocząsteczkowych fragmentów, wykazuje zdolność indukowania w komórkach śródbłonkowych, nabłonkowych, dendrytycznych, w fibroblastach czy też makrofagach, ekspresji genów zapalnych, z następową ekspresją chemokin, takich jak MIP-1 α , MIP-1 β , KC, RANTES, MCP-1, IL-8, białko 10 indukowane INF, oraz z następową ekspresją cytokin, takich jak IL-12 czy TNF- α .

Fragmety hialuronianu wykazują również, zdolność indukcji biosyntezy enzymów degradujących metaloproteinazy. Aktualnie także wiadomo, że oligomery HA stymulują procesy komórkowej migracji, proliferacji i dojrzewania, wykazują dodatkowo działanie proangiogenne. Ponadto natywne łańcuchy HA, o dużej masie cząsteczkowej, hamują procesy proliferacji, migracji, wykazują działanie antyangiogenne, przeciwzapalne i immunosupresyjne [2].

„Natywne, ujemnie naładowane, nierozgałęzione polimery hialuronianu o dużej masie cząsteczkowej, występując powszechnie w pozakomórkowej macierzy wszystkich tkanek zwierzęcych, odgrywają istotną rolę w utrzymaniu strukturalnej integralności tkanki. Biorą także udział w sekwestracji

reaktywnych form tlenu, pozanaczyniowej dystrybucji białek osocza, oraz w wodnoelektrolitowej homeostazie przestrzeni pozakomórkowej.

HA uczestniczy także w kontrolowaniu uwodnienia skóry, zarówno w różnych okresach ontogenezy, jak i w stanach patologicznych, np. procesach zapalnych. Właśnie w skórze jest umiejscowiona połowa ustrojowych zasobów hialuronianu, gdzie ten naturalny, polianionowy polisacharyd zajmuje znaczącą część pozakomórkowej macierzy wspomnianej tkanki, determinując jej sprężystość, wilgotność i pożądaną strukturę, a ponadto zapewniając transport jonów i składników odżywczych. Z omawianych właściwości wiązania wody przez HA wynika, że jego zawartość w tkankach determinuje stan ich uwodnienia” [2].

Zdolność do wiązania wody przez kwas hialuronowy jest wynikiem nieprzeciętnej budowy cząsteczkowej, którą można scharakteryzować poprzez:

- strukturę spiralną,
- grupy karboksylowe skierowane na zewnątrz,
- brak możliwości zwijania się,
- przyciąganie dodatnich cząstek z zewnątrz, wzrost ciśnienia osmotycznego wewnątrz.

Kwas hialuronowy w roztworze wodnym tworzy przypadkowe pętle i spirale, które są zdolne do wiązania dużych ilości wody. Twory te w fizjologicznym pH wykazują charakterystyczną lepkość i wiskoelastyczność [6].

Kwas hialuronowy przyjmuje ogromną hydrodynamiczną objętość, tworząc roztwory o dużej lepkości i elastyczności, które wypełniają międzykomórkową przestrzeń, oraz stanowią fizjologiczny „smar” dla powierzchni stawowych i pochewek ścięgniętych. Znaczne uwodnienie cząsteczek HA sprawia, że jego roztwory cechują się bardzo dobrą osmotycznością, co jest szczególnie istotne w przypadku nerek, gdzie omawiane roztwory pełnią funkcję buforu osmotycznego [2].

Glikozaminoglikany są podstawą bardziej skomplikowanych cząsteczek, zwanych proteoglikanami, które zawierają jądro proteinowe z przyłączonymi bocznymi łańcuchami GAG. Materiałem budulcowym wielu z nich jest kwas hialuronowy. Najbardziej znaczącym parametrem proteoglikanów jest ich zdolność do wiązania wody. Jest to uwarunkowane obecnością GAG w proteoglikanach. Zdolność kwasu hialuronowego do wiązania wody jest także źródłem jego wiskoelastycznych właściwości. Termin ten stosowany jest do płynów, które częściowo wykazują właściwości cieczy, a częściowo ciała stałego. Kwas hialuronowy chroni delikatną strukturę tkanek przed siłami ciśnienia zewnętrznego. W stawach, jako główny składnik płynu maziowego, syntezowany przez synowioocyty (komórki maziówki) kwas hialuronowy

stanowi ochronę ich powierzchni stawowych przed siłami powstającymi w trakcie ruchu.

Dzięki silnym właściwościom higroskopijnym, kwas hialuronowy aplikowany jest podczas zabiegów w iniekcjach do stawu zapewniając odżywianie chrząstki i umożliwiając transport substancji odżywczych [6].

Funkcje HA są realizowane za pośrednictwem interakcji HA i swoistych białek wiążących, tzw. hialadheryn.

Pierwszymi z opisanych hialadheryn były tzw. białko wiążące oraz agrekan, razem z którymi HA tworzy agregaty proteoglikanowe (PG). Te kompleksy, odgrywają ogromną rolę w tworzeniu i stabilizacji pozakomórkowej macierzy chrząstki, generując jej viskoelastyczne właściwości i nadając zdolność „przenoszenia” znaczących obciążeń. Udowodniono, że doświadczalne usunięcie genu białka wiążącego, lub też upośledzenie funkcjonalnych właściwości agrekanu, prowadzi do defektów szkieletu, a zwłaszcza tkanek chrzęstnych, wynikiem, czego jest skrócenie kończyn, rozszczep podniebienia, czy inne czaszkowo-twarzowe zniekształcenia.

Strukturalne kompleksy HA z dużymi, agregującymi proteoglikanami – hialadherynami, występują również w tkankach pozachrzęstnych. W skórze występuje wersikan, a w tkance nerwowej hialuronektyn, brewikan oraz neurokan. Wymienione kompleksy PG–HA są stabilizowane także białkami wiążącymi, natomiast same PG i wspomniane białka wiążące są zaliczane do hialadheryn tkankowych.

Makrocząsteczki HA oddziałują dodatkowo z powierzchniowymi receptorami komórek macierzy pozakomórkowej tzw. hialadherynami powierzchni komórek. Najlepiej poznanymi hialadherynami są CD44 oraz RHAMM. Odkrycie obu tych receptorów potwierdziło bezpośredni udział hialuronianu w regulacji mobilności komórek oraz procesów inwazji i proliferacji. Obydwa wspomniane receptory uczestniczą w wiązaniu zarówno HA o dużej masie cząsteczkowej, jak i drobnocząsteczkowych fragmentów HA. Głównym dla hialuronianu receptorem powierzchni komórek jest CD44, transmembranowa glikoproteina, występująca na powierzchni większości komórek. CD44 – integralne białko błonowe, pośredniczy w pobudzaniu procesów adhezji, agregacji, migracji i proliferacji komórkowej, w angiogenezie, w przekazywaniu sygnałów na szlaku macierz–komórka i komórka–macierz, i w internalizacji oraz degradacji HA.

Receptor RHAMM, występuje w wielu izoformach, cechuje się również wewnątrzkomórkowym umiejscowieniem, występując w cytosolu, w obrębie cytoszkieletu, oraz w jądrze. Pośredniczy on w migracji i proliferacji prawidłowych oraz nowotworowych komórek

W organizmie występują nie tylko hialadheryny tkankowe i hialadheryny powierzchni komórek, obecne są także hialadheryny umiejscowione wewnątrzkomórkowo. Dzięki czemu udowodniono, że HA występuje także i wewnątrz komórek. Wcześniej sądzono, że kwas hialuronowy, ze względu na jego ekspansywną, hydrodynamiczną strukturę, ogromne rozmiary cząsteczek i polianionowe właściwości, jest makrocząsteczką wyłącznie pozakomórkową. Poznane są trzy swoiste receptory wewnątrzkomórkowe HA, oprócz wewnątrzkomórkowej izoformy receptora RHAMM. Są to receptor CDC37, któremu przypisuje się uczestnictwo w regulacji cyklu komórkowego, jak i w regulacji aktywności komórkowych kinaz, oraz trzecie białko – receptor IHABP4, najprawdopodobniej uczestniczące w wewnątrzkomórkowym przekaznictwie sygnałów [2].

„Biosynteza kwasu hialuronowego odbywa się na powierzchni komórek (na błonie plazmatycznej) przez stopniowe i naprzemienne dodawanie zaktywowanych budujących go cząsteczek tj: UDP-N-acetyloglukozaminy i UDP-glukurianianu do redukującego końca rosnącego łańcucha polisacharydowego. Urydynodifosforan (UDP), przymocowany do wydłużającego się łańcucha jest uwalniany, gdy tylko następny nukleotyd z resztą cukrową zostanie dostarczony. Proponowany mechanizm biosyntezy, przypominający tworzenie bakteryjnych polisacharydów, nie zawiera procesu inicjacji na białku rdzeniowym.” [7]

W biosyntezie kwasu hialuronowego biorą udział enzymy z grupy syntez hialuronianowych takie jak glikozylotransferazy HAS-1, HAS-2 i HAS-3 mają one charakter pozabłonowych białek enzymatycznych. Enzym HAS-2 i HAS-3 zarówno jeden jak i drugi złożony jest z dwóch podjednostek. Pierwsza z nich ma za zadanie katalizę reakcji tranzlikolizacji kwasu D-glukuronowego, natomiast druga odpowiada za katalizę N-acetylo-D-glukozaminy. Mogą one przyłączać na przemian podjednostki monosacharydowe do końca budowanego aktualnie łańcucha hialuroninu.

W trakcie reakcji syntezy, następuje wzrost łańcucha kwasu hialuronowego, który ulega przemieszczeniu na zewnątrz błony komórkowej. W rezultacie następuje nieograniczony wzrost łańcucha, aż do uzyskania masy cząsteczkowej sięgającej 107 Da. HA na zewnątrz komórki, wiąże wodę, tworząc otoczkę ochronną i około komórkowe środowisko o odpowiednim stopniu uwodnienia. Jest to niezwykle istotne w przypadku tkanek skóry. Wpływ na ostateczną długość łańcucha hialuronianu ma zróżnicowanie własności katalitycznych syntez hialuronianowych oraz ich różnice w lokalizacji w okolicach błony komórkowej [3].

W przeciwieństwie do innych glikozaminoglikanów kwas hialuronowy nie

jest syntetyzowany jak zwykły proteoglikan.

„Hialuronian- to unikalny glikozamnioglikan z następujących powodów:

- ma znacznie dłuższy łańcuch polisacharydowy,
- nie ulega siarkowaniu ani epimeryzacji podczas syntezy,
- w przeciwieństwie do innych GAG nie jest syntetyzowany w aparacie Golgiego oraz
- nie wiąże się kowalencyjnie z białkiem rdzeniowym”[8].

W związku z tym, że kwas hialuronowy nie wiąże się z białkiem rdzeniowym, nadano mu nazwę „honorowego proteoglikanu „Występuje on z reguły w małych ilościach w tkankach organizmów dojrzałych. Wyjątkowo obficie występuje podczas rozwoju embrionalnego, gojenia się ran oraz diagnostyce, ciałku szklistym oka, pępowinie i płynie maziówkowym [7].

„W przypadku dużych stężeń łańcuchy hialuronianu mogą splatać się luźnie, podwójnie lub tripletowo, struktury formujące wokół powierzchni komórek pojedynczy płaszcz rozległych i ciągłych sieci z usidlonymi w nich cząsteczkami wody” [8]. Niebagatelne znaczenie dla formowania i fizjologii tkanek łącznych mają interakcje między kolagenem i proteoglikanami. Badania wykonane przy użyciu mikroskopu elektronowego wykazują, że proteoglikany są ułożone w uporządkowany sposób, wzdłuż włókien kolagenowych, w różnorodnych tkankach włączają chrząstkę, aortę i ścięgna. Charakter tej interakcji nie jest klarowny [7].

Okres półtrwania HA w organizmie jest krótki, najszybciej usuwany jest z krwi w przeciągu 2-5 minut, w skórze 12 godzin, w chrząstkach 1-3 tygodnie, w ciele szklistym oka ponad 2 miesiące. Każdego dnia około 1/3 jego zasobów w organizmie ulega degradacji i usuwaniu, jest zastępowana nowo zsyntezowanymi cząsteczkami kwasu hialuronowego. Na szybkość reakcji prowadzących do degradacji tego biopolimeru ma wpływ rodzaj tkanki. Część kwasu ulega rozkładowi w miejscu syntezy i pierwotnego występowania w tkance, reszta wędruje z limfą do węzłów chłonnych i tam ulega dalszej degradacji. [5].

Degradacja kwasu hialuronowego u ssaków następuje w sposób enzymatyczny, w wyniku działania trzech typów enzymów: hialuronidazy, BD-glukuronidazy i β -N-acetylo-heksozoaminidazy. W organizmie te enzymy występują w różnych formach; wewnątrzkomórkowo i w surowicy.

W trakcie procesu degradacji hialuronidaza rozczepia kwas hialuronowy o wysokiej masie cząsteczkowej na mniejsze oligosacharydy, natomiast β -D-glukuronidazy i β -N-acetylheksozoaminidaza powodują dalszą degradację fragmentów oligosacharydów. Produkty degradacji hialuronianu to oligosacharydy i cząsteczki hialuronianu o małej masie, wykazują one właściwości proangiogenne. Reakcja **katalitycznej hydrolizy kwasu**

hialuronowego, powoduje obniżenie lepkości kwasu hialuronowego, oraz zwiększa przepuszczalność tkanek. Najczęściej wykorzystuje się go w chirurgii okulistycznej.

Niektóre bakterie, takie jak *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes et pneumoniae* oraz *Clostridium perfringens*, produkują hialuronidazy jako czynnik zwiększający przenikanie przez tkanki organizmu. [5] Hialuronidazy są najbardziej aktywne w środowisku, którym pH nie przekracza 7,0. Działanie hialuronidaz bakteryjnych powoduje produkcję dwucukrów, a hialuronidaz cukrów zbudowanych z sześciu lub ośmiu podjednostek monocukrowych.

W komórkach, kwas hialuronowy jest rozkładany nie tylko przez hialuronidazy ale także przez reaktywne formy tlenu. Można zmniejszyć działanie wolnych rodników poprzez zewnętrzne wspomaganie naturalnej ochrony antyoksydacyjnej [3].

Większość węglowodanów, szczególnie cukrów prostych, jest podatna na utlenianie pod wpływem reaktywnych form tlenu (RFT). Szczególną rolę w metabolizmie żywych organizmów odgrywa glukoza, reaguje ona z rodnikiem hydroksylowym (wygaszanie rodnika), ulega utlenieniu z możliwością powstania dalszych reaktywnych form rodnikowych. Najwięcej badań poświęcono wpływowi RTF na kwas hialuronowy. Związek ten jest odpowiedzialny za prawidłowe funkcjonowanie stawów. Duże cząsteczki kwasu hialuronowego tworzą sieć wyjątkowej lepkości i sprężystości oraz zdolności utrzymywania wody. Badania wykazały, że HA ochrania powierzchniowo czynne fosfolipidy przed enzymatyczną lizą przy udziale fosfolipazy A2, pełni również bardzo ważną funkcję w nawilżaniu powierzchni stawowych oraz stanowi wypełniacz i barierę ochronną w obrębie stawu. Kwas hialuronowy posiada dużą cząsteczkę, mimo tego łatwo ona ulega depolimeryzacji m.in. pod wpływem światła, temperatury, oddziaływań mechanicznych i chemicznych. Wolne rodniki zwłaszcza OH, które powstają podczas tzw. wybuchu tlenowego w stawie ogarniętym stanem zapalnym, inicjują depolimeryzację kwasu poprzez rozrywanie wiązań glikozydowych między monomerami. W rezultacie zmniejsza się lepkość płynu stawowego, powoduje to niedostateczną ochronę powierzchni chrząstek stawowych i ich nadmierne tarcie, prowadząc do uszkodzeń i trudności związanych z ruchem danego stawu.

Depolimeryzacja kwasu hialuronowego powoduje aktywację enzymu tkankowej kalikreiny, uwolnienia naskórkowego czynnika wzrostu EGF i prowadzi do nadmiernego wydzielania śluzu z postępującą obstrukcją dróg oddechowych. Proces ten jest prawdopodobnie odpowiedzialny za szkodliwe działania dymu papierosowego na układ oddechowy, właśnie na skutek indukcji depolimeryzacji HA przez RFT [9].

Kwas hialuronowy przyspiesza gojenie, szczególnie na poziomie krążenia krwi. Zwiększa przepływ krwi w małych naczyniach. Jest stymulantem komórkowym. Występuje on z reguły w małych ilościach w tkankach organizmów dojrzałych. Wyjątkowo obficie występuje podczas rozwoju embrionalnego, gojenia się ran oraz w ciałku szklistym oka, pępowinie i płynie maziówkowym.

„W zjawisko gojenia są szczególnie zaangażowane cztery czynniki wzrostu:

- epidermal growth factor (EGF)- czynnik wzrostowy naskórkowy. Najwięcej receptorów dla EGF mają komórki warstwy podstawnej naskórka, komórki śródbłonka i fibroblasty. Receptor EGF jest glikoproteiną, która stymuluje *In vitro* proliferację fibroblastów, keratynocytów i działa na tworzenie ziarniny.
- transforming growth factor (TGF) – czynnik wzrostowy transformujący. Występują dwa typy alfa i beta, TGF-alfa jest bardziej skuteczny w pobudzaniu abiogenezy i migracji keratynocytów. Natomiast TGF-beta ma swoiste receptory, które dotyczą wszystkich komórek naskórka. *In vitro* przyspiesza dojrzewanie keratynocytów i syntezę keratyny.
- fibroblast growth factor (FGF)- czynnik wzrostu fibroblastów. FGF jest obecny we wszystkich tkankach i działa na różne komórki: śródbłonka, fibroblasty, miofibroblasty, keratynocyty, *In vivo* FGF jest zdolny do przyciągania komórek do rany poprzez chemotaksję.
- platelet derived growth factor (PDGF)- czynnik wzrostu pochodzenia płytkowego

PDGF działa na fibroblasty zwiększając zawartość hydroksyprowliny i grubość skóry”[10]

Kwas hialuronowy pełni w procesie gojenia się funkcje zarówno strukturalno biomechaniczne jak i regulatorowe. W pierwszej fazie gojenia – fazie hemostazy, wielkocząsteczkowy HA nagromadza się w łożysku rany, a jego cząsteczki ulegają związaniu z fibryną i fibronektyną, tworząc tzw. tymczasową macierz, ułatwiającą rekrutację komórek zapalnych (neutrofilów, makrofagów, limfocytów) oraz fibroblastów. W kolejnej fazie gojenia – fazie zapalenia, omawiany GAG nasila biosyntezę prozapalnych cytokin: TNF- α , IL-1 β czy IL-8, w następstwie interakcji z receptorem CD44 oraz receptorem typu TOLL. Poprzez stymulowanie działania TNF- α i IL-1 β komórki śródbłonka naczyń syntetyzują kwas hialuronowy, co ułatwia adhezję, która jest aktywowana działaniem cytokin i limfocytów.

Jednak kwas hialuronowy może pełnić funkcję moderatora fazy zapalnej w następstwie wychwytu wolnych rodników oraz interakcji z hialadheryną – TSG-6 i inhibitorem proteazy surowiczej – Ial [9,11]. Interakcje hialuronianu

z kompleksem TSG-6/1αI przyczyniają się do redukcji odpowiedzi zapalnej, po czym do stabilizacji ziarniny, powstającej w kolejnej fazie procesu gojenia, tj. fazy proliferacyjnej. W fazie zapalnej HA stymuluje nie tylko „odrywanie” fibroblastów od macierzy, ale również pobudza mitozę.

Macierz wczesnej ziarniny (do trzeciego dnia od uszkodzenia) posiada duże ilości kwasu hialuronowego i fibronektyny. Co więcej HA wpływa na biosyntezę kolagenów w macierzy wypełniającej miejsce uszkodzenia.

W toku kolejnego etapu fazy proliferacyjnej – epitelializacji hialuronian, przez interakcję z receptorami CD44 i RHAMM, stymuluje migrację i proliferację keratynocytów. Zjawiska te są odpowiedzialne za powstawanie „prawidłowego” naskórka, jak i jego „naprawę”.

W fazie proliferacyjnej – angiogenezie, łańcuchy HA, przejawiają działanie antyangiogenne oraz stymulują powstawanie nowych naczyń krwionośnych. Ostatnia faza procesu gojenia – faza remodelingu, odpowiedzialna jest za obkurczanie się powierzchni rany oraz dojrzewania ziarniny do postaci blizny. Drobnocząsteczkowe fragmenty HA stymulują ekspresję TGF-β1 i -β2, promując tworzenie blizny. Wielkocząsteczkowy hialuronian nasila natomiast ekspresję TGF-β3 – czynnika wzrostowego zmniejszającego proces bliznowacenia. Badania wykazały, że zawartość HA w łożysku gojącej się rany ulega zmianom, w miarę progresji procesów naprawczych. Stwierdzono, iż GAG ten jest dominującym glikanem tkanki ziarninującej, ale w natępnych etapach gojenia jego zawartość stopniowo się obniża osiągając *plateau* w końcowej fazie omawianego procesu [2]. Skóra nieustannie się zmienia, traci swoją sprężystość i elastyczność. Młody wygląd to nie tylko brak zmarszczek i bruzd, ale także charakterystyczna wolumetria twarzy czyli objętość. Wypełniacze są jednym z rozwiązań pomocnych w korygowaniu konturu twarzy i utraty jej objętości, służą jako uzupełnienie chirurgicznych i nie chirurgicznych zabiegów odmładzających.

Stabilizowany kwas hialuronowy pochodzenia niezwierzęcego (NASHA) gwarantuje trwającą dłużej korekcję niż użycie wielu innych preparatów iniekcyjnych. Towarzyszy mu niskie ryzyko wystąpienia immunogeniczności i reakcji nadwrażliwości. Wielocząsteczkowy żel na bazie kwasu hialuronowego został stworzony w celu odtwarzania ubytków objętości tkanek twarzy oraz korygowaniu konturu twarzy. Istnieją przesłanki, że efekt poprawy występujący po użyciu tego żelu jest dłuższy niż w przypadku kolagenu bydlęcego lub ptasiego kwasu hialuronowego.

W wyniku usieciowania, czyli chemicznego łączenia krzyżowego cząsteczek HA uzyskuje się bardziej stabilne molekuly, które uzyskują taką samą biokompatybilność jak naturalny kwas hialuronowy, ale są one nierozpuszczalne

w wodzie i dzięki tej właściwości utrzymują się w tkankach przez pewien czas po wykonaniu iniekcji. Dzięki temu, że zachowują powinowactwo do wody, zwiększają swoją objętość i tworzą trójwymiarową sieć, tzw. żel.

Preparaty kwasu hialuronowego pod względem chemicznym są klasyfikowane jako żele lub hydroksyżele. Sieć żelu połączona jest wiązaniami kowalentnymi, które podobnie jak hydroksyżele zwiększają swoją objętość bardziej pod wpływem wody (95% wagi) niż na skutek kontaktu z rozpuszczalnikami organicznymi. Poza tym, że pochodne kwasu hialuronowego posiadają wysoką biokompatybilność oraz przedłużoną stabilność w obrębie tkanek, mają one szereg innych cech fizykochemicznych, które czynią je atrakcyjnymi wypełniaczami tkanek miękkich. Mają one postać żelu odpornego na odkształcenie, a także unikatowe właściwości dynamicznej lepkości, która zmniejsza się, w miarę wzrostu sił odkształcających. Pod wpływem ciśnienia panującego w trakcie wstrzykiwania, żel przechodzi przez strzykawkę o małej średnicy. W miarę ustępowania siły odkształcającej, jego lepkość zwiększa się, dzięki czemu w miejscu implantacji do tkanek substancja przyjmuje postać gęstego żelu, pozbawionego tendencji do przemieszczania się. Lepkość preparatu zmniejsza się również w miarę wzrostu temperatury, co stanowi kolejną zaletę wstrzykiwanego wypełniacza. Opisane cechy związane z płynnością są uwarunkowane ciężarem cząsteczkowym, a także stężeniem i mogą być różne w zależności od rodzaju pochodnej kwasu hialuronowego.

Pochodne żeli, które stosuje się do wypełniania tkanek, mają postać żeli nierozpuszczalnych w wodzie, natomiast w tkance pozostają one stabilne, ulegają jedynie procesowi powolnej resorpcji. Ich znikanie następuje według wzoru degradacji izowolemicznej. W miarę degradacji pojedynczych cząsteczek kwasu hialuronowego, te, które pozostają, wiążą większe ilości wody, co sprawia, że ogólna objętość pozostałego żelu nie ulega zmianie. Stężenie żelu zmniejsza się, w miarę resorpcji, jednak jego objętość pozostaje duża aż do chwili, gdy ostatnie cząsteczki ulegną degradacji. W kategoriach klinicznych oznacza to, implant, który zachowuje znaczną część swojej wyjściowej objętości aż do chwili, gdy jego ostanie molekule nie ulegną całkowitemu wchłonięciu. Większość badań klinicznych wykazywała początkowe szybkie pogarszanie się uzyskanego efektu korekcji tkanek, a następnie jego stabilizację na pewnym, wolno obniżającym się poziomie, zamiast utrzymywania się na początkowo stałym poziomie, a następnie jego ostrego spadku zgodnie z przewidywanym modelem izowolemicznym.[12]

NASHA (Non-Animal Stabilized Hialuronic Acide) jest stosowany już od 1996 roku w celu korekty wolumetrii, konturu twarzy oraz objętościowego modelowania sylwetki w tym kształtu piersi. Skuteczność i bezpieczeństwo

preparatów na bazie żelu kwasu hialuronowego zostało udowodnione w wielu publikacjach. W Japonii w jednym z tamtejszych ośrodków, stwierdzono, na podstawie 1100 przypadków korekty piersi preparatem NASHA- Macrolane, że przy średniej ilości preparatu podanego na pierś, wynoszącej 35cm³, rezultat utrzymywał się 9-12 miesięcy, natomiast występowanie powikłań było znikome. Nie odnotowano odczynów uczuleniowych, a odsetek infekcji wynosił 0,18 %.

W Unii Europejskiej preparat kwasu hialuronowego NASHA, który służy do objętościowego modelowania sylwetki, został zarejestrowany we wrześniu 2007 pod nazwą Macrolane. Prace na tym produktem trwały już od lat 90. Jest on stosowany do objętościowego modelowania sylwetki (piersi kobiet, łydki, uda, pośladki, męska klatka piersiowa, zewnętrzne narządy płciowe, zniekształcenia bliznowate z niedoborem tkanek. Preparatu Macrolane nie stosuje się w przypadku zabiegów w obrębie twarzy, gdyż jego struktura nie pozwala na takie użycie. Środek Macrolane składa się w 98% z wody i w 2% z kwasu hialuronowego, który jest naturalnym składnikiem organizmu ludzkiego. Zabieg jest całkowicie odwracalny, ponieważ, cząsteczki kwasu hialuronowego ulegają procesom naturalnej przemiany materii. Bardzo istotną kwestią jest diagnostyka raka piersi u kobiet, należy pamiętać o tym, że w przyszłości od 7 do 10% kobiet zachoruje na raka piersi. Z badań przeprowadzonych w Szwecji wynika, że korekcja piersi z preparatem Macrolane nie przeszkadza w diagnostyce raka piersi, poza tym nie pozostawiam zmian w piersiach, które mogłyby w przyszłości naśladować charakterystyczne dla raka cechy w mammografii [13,14].

Naturalnie występujący kwas hialuronowy jest wchłaniany przez organizm w ciągu 24-48 godzin, dlatego poddawany jest procesowi sieciowania, który stabilizuje kwas za pomocą wiązań krzyżowych. Dopiero wtedy nabiera cech implantu skór nego. Produkt Relastyne i Perlane firmy QMed jest otrzymywany na bazie hodowli bakteryjnych *Streptococcus equi* w procesie fermentacji przy pomocy cukru, wytrącany alkoholem, poddawany filtracji i suszony. Łańcuchy HA podlegają następnie stabilizacji chemicznej poprzez wytworzenie trwałych wiązań krzyżowych za pomocą epoksydów, przy czym zmiana ulega mniej niż 1% molekularnej siatki hialuronianu. Materiał ten, już w opakowaniu poddawany jest sterylizacji termicznej i może być przechowywany przez 1,5 roku od momentu wytworzenia. Ponieważ preparat nie powstaje na bazie produktów zwierzęcych, określa się go jako stabilizowany kwas hialuronowy pochodzenia niezwierzęcego (NASHA). Natomiast Hylaform otrzymywany jest z grzebieni kogucich. Oczyszcza się go i wykorzystuje do tworzenia za pomocą metody chemicznej wiązań krzyżowych z ulfonem dwuwinylowym (w reakcji biorą udział grupy hydroksylowe łańcuchów kwasu hialuronowego, tworząc olbrzymią sieć wiązań krzyżowych sulfonylo-bis-etylu). Kolejnym

preparatem jest Juvederm, zbliżony do Relastyne pod względem technologii wytwarzania, która oparta jest na bazie kwasu hialuronowego o niewielkiej ilości wiązań krzyżowych. Uważa się, że homogenna struktura Juvedermu stwarza mniejszą powierzchnię oddziaływującą z enzymami organizmu pacjenta i że dzięki temu degradacja kwasu hialuronowego jest mniejsza. Dzięki czemu tworzy się higroskopijny żel, który ulega stopniowej eliminacji. Cząsteczki preparatu stopniowo się wchłaniają i są zastępowane wodą, podtrzymującą efekt zwiększonej objętości tkanki do chwili całkowitego załamania się struktury molekularnej. Preparaty na bazie kwasu hialuronowego posiadają atest FDA zezwalający na iniekcje podskórne w celu korekcji skóry. Od 1980 roku wykorzystuje się kwas hialuronowy w okulistyce, w zabiegach chirurgicznego usuwania zaćmy w celu zapobieżenia zapadnięciu się rogówki w trakcie zabiegu operacyjnego. Obecnie dostępne są preparaty, które posiadają różną gęstości [12]. Ze względu na bezpieczeństwo materiałów i zabiegów preparaty na bazie kwasu hialuronowego są chętnie wykorzystywane przez lekarzy medycyny estetycznej, ponieważ uznawane są obecnie za najbliższe idealnym wypełniaczom. Mają dużą zaletę- chcąc zachować zamierzony efekt trzeba powtarzać zabiegi. To plus, bo jeśli coś pójdzie nie tak, lub zmieni się zdanie, to wystarczy poczekać do wchłonięcia się preparatu [13,14].

Kwas hialuronowy jest wysokoplastycznym, niestrukturalnym składnikiem skóry właściwej, pod względem budowy chemicznej jest homogenny u wszystkich gatunków zwierząt i we wszystkich tkankach. Naturalny kwas hialuronowy czyli pochodzenia zwierzęcego ulega szybkiej degradacji enzymatycznej, czyli ulega szybkiej resorpcji, ma okres półtrwania 1 do 2 dni, a więc za krótko, aby można go było użyć jako wypełniacza. Jeśli ma być stosowany do celów kosmetycznych to musi być stabilizowany do formy nierozpuszczalnej macierzy hydrożelowej. Z tego względu stosuje się procesy sieciowania kwasu hialuronowego i tworzenia cząsteczek bez konieczności dodawania innych substancji. Na uwagę zasługuje opatentowana technologia stabilizowania kwasu hialuronowego NASHATM, zapewniająca długotrwały efekt estetyczny.

Kwas hialuronowy stosowany do wypełnień pozyskuje się na drodze biotechnologicznej - jest on produkowany przez bakterie, następnie oczyszczany i sieciowany - tak, by stworzył przestrzenną strukturę. Uzyskana stabilizacja, dzięki wiązaniom poprzecznym poszczególnych łańcuchów polimerowych HA nie zagraża jego biokompatybilności. Preparaty na bazie HA mają postać żelu, który wprowadzony w skórę chłonie cząsteczki wody niczym gąbka, dzięki czemu zwiększa swoją objętość i wypycha zmarszczkę, wypełniają ubytek tkanek [15].

„Spoistość jest miarą powinowactwa cząsteczek HA z żelem, które pomaga

zachować jego kształt i strukturę. Wiązania krzyżowe pozwalają chronić HA przed rozpadem w organizmie; Wyższe stężenie usieciowanego HA sprawia, że większość preparatu jest efektywna pod względem klinicznym” [16].

Materiałem wykorzystanym do przeprowadzenia badań jest produkt Relastyne Sub-Q. Jest to przejrzysty, bezbarwny żel zawierający niezwierycy kwas hialuronowy (20 mg/ml) zawieszony w roztworze soli fizjologicznej. Materiał badawczy był dostarczany w szklanych strzykawkach o pojemności 3 ml i wstrzykiwany z użyciem sterylnej kaniuli z tępą końcówką. Badania przeprowadzono w czterech ośrodkach w Kanadzie, rekrutowano dorosłych pacjentów ambulatoryjnych obu płci, którzy ze względów estetycznych wyrażali potrzebę poddania się zabiegowi modelowania konturu twarzy. Pacjenci, którzy brali udział w badaniu, zobowiązali się, że w czasie trwania badania powstrzymają się od innych zabiegów kosmetycznych. Wykluczono pacjentów, którzy w ciągu sześciu wcześniejszych miesięcy poddali się zabiegom powiększającym objętość tkanek lub w ciągu wcześniejszych dwunastu miesięcy przeszli operacje plastyczne twarzy. Nie dopuszczono do badań pacjentów z aktywnymi chorobami skóry, stanami zapalnymi w obszarach, które miały zostać poddane badaniu, alergią, nadwrażliwością na leki przeciwzakrzepowe, osoby w trakcie badania nie mogły przyjmować leków przeciwzakrzepowych i przeciw płytkowych. Do czasu całkowitego zagojenia się okolic iniekcji obowiązywał zakaz przyjmowania leków przeciwkrzepliwych, aspiryny i niesterydowych leków przeciwzapalnych. Protokół został zatwierdzony przez Western Institutional Review Board (Olympia, Wa), oraz Kanadyjskie organy stanowiące prawo. Badanie zostało przeprowadzone zgodnie z postanowieniami Deklaracji Helsińskiej, zaleceniami International Conference of Harmonization odnośnie Dobrej Praktyki Klinicznej i lokalnych regulacji prawnych. Wszyscy pacjenci świadomie podpisali zgodę na zabieg [17].

Przeciwwskazania do stosowania wypełniaczy z kwasem hialuronowym to:

1. okres ciąży i karmienia piersią,
2. zaburzenia krzepnięcia krwi,
3. silna alergia
4. opryszczka [15].

Skórę twarzy poddaną zabiegowi iniekcji dezynfekowano i znieczulano miejscowo ostrzykując roztworem lidokainy z adrenaliną. Do podania materiału w podskórną tkankę tłuszczową, stosowano tępo zakończoną kaniulę. Natomiast, żeby wprowadzić materiał w tkankę tłuszczową na poziomie nadkostnowym, za pomocą skalpela lub ostro zakończonej igły do iniekcji, wykonywano nacięcie skóry o długości 1-2mm. Lekarze wykorzystywali technikę tuneligową, czyli po każdej iniekcji manipulowano kaniulą na różne strony, po całej okolicy

wymagającej powiększenia rozprawdzano małe dawki żelu NASHA. W czasie jednej sesji można było podać maksymalnie 10ml żelu, tylko w trzy obszary brody i oba policzki. Po implantacji skóra była rozmasowywana w celu dopasowania jej do konturu otaczających tkanek. Cztery tygodnie po zabiegu pacjenci pojawili się w klinice pierwszy raz w celu korekcji zabiegu, jeśli nie było to konieczne to miała ona charakter wizyty kontrolnej. Kolejne wizyty kontrolne aranżowano po 3, 6, 9, 12 miesiącach od początku badania. Do każdego centra badawczego przypisany był jeden badacz. Zarówno pacjent, jaki i badacz niezależnie oceniali skuteczność kliniczną zabiegu, za pomocą pięciostopniowej skali Global Aesthetic Improvement. Pacjentom oraz lekarzom zadawano pytanie „Jak określiłbyś stopień poprawy?” Możliwe były odpowiedzi:

- pogorszenie
- bez zmian
- niewielka poprawa
- umiarkowana poprawa
- bardzo duża poprawa

Działania niepożądane były oceniane na podstawie istotności:

- istotne
- nieistotne

Nasilenie działań niepożądanych:

- łagodne
- umiarkowane
- ciężkie

Działania niepożądane w związku z wykonywanym zabiegiem

- być może
- prawdopodobnie związane
- niezwiązane

Grupa pacjentów, na której przeprowadzono badania liczyła 57. Wszystkie te osoby spełniały niezbędne warunki, które umożliwiały uczestnictwo w badaniu. Grupa ta składała się z 55 kobiet i 2 mężczyzn w wieku od 23 do 76 lat. Spośród 57 pacjentów poddanych zabiegom na początku badania, 12-miesięczne badania kontrolne bez większych naruszeń protokołu ukończyło 44.

Według niezależnej oceny badaczy oraz pacjentów zabieg wykazuje dużą skuteczność, szczególnie w czasie pierwszych 6 miesięcy. Poprawa pod względem estetycznym obszarów poddanych zabiegowi, po 1, 3 i 6 miesiącach od zabiegu, według oceny pacjentów występowała odpowiednio u 100%, 96% i 91% uczestników, a według oceny badaczy odpowiednio u 100%, 100% i 96% uczestników. Rezultaty były nadal dobrze widoczne po 9 miesiącach, tak oceniło 68% uczestników, 77% badaczy. Dwanaście miesięcy po zabiegu większość

uczestników 58% i badaczy 52% dostrzegła istnienie pewnego stopnia poprawy.

W czasie 12-miesięcznych badań wystąpiły objawy niepożądane, takie jak:

- lokalne reakcje w miejscu iniekcji (obrzęk, nadwrażliwość, zaczerwienienie, świąd), 37% pacjentów,
- powikłania związane z implantacją materiału (miejscowa ruchomość lub wydostanie się na zewnątrz implantu), 19% pacjentów,
- stwardnienie (grudki, guzki, twarda masa) 26 pacjentów.

Były to działania o łagodnym nasileniu, które zgłaszało 58% pacjentów.

Większość (70%) działań niepożądanych związanych z zabiegiem występowała w dzień zabiegu lub dzień później. Reakcje, które miały miejsce po zabiegu utrzymywały się przeważnie 1 do 2 tygodni. Ból w miejscu iniekcji utrzymywał się przez bardzo krótki okres czasu 2 do 8 dni miał niewielkie nasilenie. Stwardnienie pojawiało się z opóźnieniem i miało niewielkie nasilenie.

Żaden z pacjentów nie zrezygnował z udziału w badaniu, ze względu na działania niepożądane. Nie stwierdzono uczuleń na NASHA ani nietolerowania implantu przez organizm [17].

Reasumując wielocząsteczkowy, stabilizowany żel na bazie kwasu hialuronowego w postaci iniekcji podskórnej lub nadokostnowej daje długotrwałą korekcję estetyczną. Jest on bardzo dobrze tolerowany i czasie badania nie odnotowano większych problemów odnośnie bezpieczeństwa jego stosowania.[18]

Mezoterapia w medycynie estetycznej to jedna z metod współczesnej terapii. Słowa mezoterapia pochodzi od łacińskiego słowa „mezo”- śród. Istotą leczenia za pomocą mezoterapii jest wprowadzenie potrzebnej substancji za pomocą mikroiniekcji do poddanej leczeniu okolicy ciała na odpowiednią głębokość i według indywidualnego zapotrzebowania.

W mezoterapii igłowej stosuje się kilka technik iniekcji:

- śródnaskórkową- najbardziej powierzchowną, bezkrwawą i niebolesną, wykorzystywaną w odmładzaniu skóry,
- skórno-naskórkową- około milimetrowe grudki powstają po wprowadzeniu preparatu na granicę między naskórkiem a skórę właściwą, wykorzystywana w korekcji zmarszczek, szczególnie okolicy podoczodołowej, policzków, szyi, dekoltu, grzbietu dłoni;
- neppage- seria śródnaskórkowych nakłuć pod odpowiednim nachyleniem wprowadzania igły (45⁰), nieco głębiej (3-4mm), używana głównie w leczeniu cellulitu i ostrzykiwania skóry owłosionej głowy.
- punktowe głębokie skórne i podskórne iniekcje stosowane w zabiegach redukcji tkanki tłuszczowej i wypełnienia głębokich zmarszczek.

Substancje, które są stosowane w metodzie mezoterapii igłowej

dobiera się indywidualnie dla każdego pacjenta, wzależności od wskazania i okolicy ciała lub twarzy. Preparaty można ze sobą łączyć tworząc koktajle lub stosować pojedyncze gotowe. W przypadku odmładzania skóry stosuje się nieusieciowany kwas hialuronowy aktywnie nawilżający. Ponadto stosuje się krzemionkę organiczną, mieszanekę składającą się z witamin, koenzymów, aminokwasów, kwasów nukleinowych i soli mineralnych. Preparaty te wspomagają reakcje biochemiczne w organizmie i hamują procesy wolnorodnikowe w komórkach skóry i naskórka. Koktajle sporządza się również z wyciągów roślinnych. Do substancji aktywnych na poziomie komórkowym należy pirogronian sodu oraz proteochondroityna, które podobnie jak kwas hialuronowy silnie wiążą wodę na poziomie śródkomórkowym [19].

Kwas hialuronowy znajduje się w gałce ocznej, cieple szklistym, płynie łzowym i cieczy wodnistej. W okulistyce stosuje się sole kwasu hialuronowego, czyli hialuroniany. Wykorzystywane są w leczeniu zachowawczym jak i operacyjnym.

W leczeniu zachowawczym korzysta się z preparatów kwasu hialuronowego w leczeniu zespołu suchego oka. To schorzenie, jest wywołane przebywaniem w klimatyzowanych pomieszczeniach, nieprawidłowym mruganiem związanym z pracą przy komputerze, stawaniem niektórych leków, zmianami funkcji gruczołów wydzielniczych. Zespół suchego oka powoduje nie tylko uczucie dyskomfortu w postaci swędzenia i pieczenia, ale może również prowadzić do poważnych dolegliwości, takich jak suche zapalenie spojówek i rogówki. Dzięki aplikacji hialuronianu stabilizuje się film łzowy, zmniejsza się tarcie podczas mrugania.

W leczeniu operacyjnym hialuronian stosowany jest w wleczaniu zaćmy. Chroni rogówkę przed wysychaniem oraz odpowiada za prawidłową głębokość przedniej komory oka. Przy operacjach usuwania i wszczepach soczewek pokrywa się hialuronianami soczewkę wewnątrzgałkową, dzięki czemu stwarza się przestrzeń operacyjną i tworzy ochronną poduszkę dla rogówki. Z kolei w chirurgii rogówki (przeszczepach), tworzy wyściółkę dla nowej rogówki, pozwala uniknąć tworzenia się zrostów, umożliwia skuteczniejsze zamknięcie rany.

W leczeniu chirurgicznym jaskry hialuronian jest obecnie niezastąpiony. Jest również użyteczny przy leczeniu urazów oka, pomaga w przywróceniu właściwego ciśnienia, ułatwia tamponadę krwotoków oraz zapobiega zrostom. Hialuronianów używa się też w chirurgii tylnego odcinka oka [6].

Kwas hialuronowy jest stosowany w lecznictwie już od ponad 25 lat. Zainteresowanie jednak wzrosło w ostatnich latach, ponieważ, udowodniono, że działa nie tylko przeciwbólowo ale pozytywnie wpływa na funkcję stawu,

ale wykazując również działanie modyfikujące przebieg choroby.

Zdolność kwasu hialuronowego do wiązania wody jest także źródłem jego wiskoelastycznych właściwości. Termin wiskoelastyczność jest stosowany do płynów, które po części wykazują właściwości cieczy i ciała stałego. Dzięki tej właściwości kwasu hialuronowy chroni delikatną strukturę tkanek przed siłami ciśnienia zewnętrznego. Jest głównym składnikiem płynu maziowego (2-3 mg/ml), syntezowanym przez synowioocyty (komórki maziówki), dlatego kwas hialuronowy stanowi ochronę powierzchni stawowych przed siłami powstającymi w trakcie ruchu.

Dzięki silnym właściwościom higroskopijnym, kwas hialuronowy aplikowany jest w trakcie zabiegów w iniekcjach do stawu, zapewniając odżywianie chrząstki i umożliwiając transport substancji odżywczych.

Lepkość roztworów kwasu hialuronowego jest kolejną, szczególnie ważną jego cechą. Żele kwasu hialuronowego wykazują tak zwaną nienewtonowską lepkość. W tkankach łącznych żel na bazie kwasu hialuronowego tworzy szkielet bardzo dużych agregatów proteoglikanowych (do 30 cząsteczek). Niektóre osiągają porównywalne rozmiary do bakterii. To właśnie agregaty proteoglikanowe są jednymi z podstawowych materiałów budulcowych chrząstki oraz odpowiadają za jej podstawowe cechy charakterystyczne. Badania wykazały, że stężenie kwasu hialuronowego w płynie stawowym ulega obniżeniu w artropatiach, równoległe do uwalniania wolnych rodników nadtlenkowych. Obniża się również poziom endogennego kwasu hialuronowego produkowanego przez synowioocyty. Poprzez zmniejszenie właściwości wiskoelastycznych płynu maziowego następuje zwiększona ekspozycja warstwy powierzchniowej chrząstki na działanie szkodliwych czynników, zarówno mechanicznych (wzrost oporów tarcia) jak i chemicznych (mediatory reakcji zapalnej; prostaglandyny, immunoglobuliny, cytokiny), co w efekcie powoduje nekrozę chondrocytów. Wykazano, że aplikacja egzogennego kwasu hialuronowego do stawu, hamuje rozpad proteoglikanów oraz powoduje ich agregację. Poprzez oddziaływanie na chondroblasty, kwas hialuronowy stymuluje syntezę proteoglikanów i indukuje synowioocyty do produkcji endogennego kwasu hialuronowego. Hamuje migrację i chemotaksję zaktywowanych makrofagów, fagocytozę indukowaną przez agregaty IgG oraz hamuje uwalnianie kwasu arachidonowego i uwalnianie enzymów chondrotoksycznych.

Kolejną ważną cechą jaką charakteryzuje się kwas hialuronowy jest jego działanie przeciwbólowe, funkcja ta polega na osłonie receptorów bólowych i wiązaniu się leku z substancją 4]P oraz na zmniejszaniu syntezy bradykininy oraz PGE2. Poza tym działanie przeciwbólowe kwasu hialuronowego jest wypadkową jego oddziaływania na mechanikę stawu (zwiększenie właściwości

wiskoelastycznych płynu stawowego, stymulacja i agregacja proteoglikanów) jak i działania przeciwwzapalnego modulacja aktywności mediatorów reakcji zapalnej).

Badania wykazały jego efektywność kliniczną i bezpieczeństwo stosowania w ortopedii (stawy: kolanowy, biodrowy, barkowy, łokciowy, skokowy, nadgarstka, skroniowo-żuchwowy, międzypaliczkowe)

Zmniejszenie bólu, po iniekcji dostawowej pochodnych kwasu hialuronowego następuje wolniej, niż po glikokortykosteroidach, w efekcie końcowym uzyskujemy jednak działanie długotrwałe. Iniekcje pochodnych kwasu hialuronowego są wskazane u osób, u których nie uzyskuje się efektu po zastosowaniu terapii nie farmakologicznej oraz po użyciu środków przeciwbólowych. Jak dotąd nie udowodniono jakoby różnice w masie cząsteczkowej preparatów kwasu hialuronowego miały jakikolwiek wpływ na efekty leczenia. Istnieją, co prawda doniesienia o występowaniu ogólnych działań ubocznych po podaniu preparatów kwasu hialuronowego, lecz jest ich niewiele i nie ma wystarczających dowodów na to by można było je wiązać bezpośrednio z podaniem preparatu [20]. Ponadto kwas hialuronowy wykorzystywany jest w trakcie zabiegu artroskopii jak również po zabiegu w formie iniekcji. Artroskopia polega na wprowadzeniu urządzenia zwanego artroskopem do stawu poprzez niewielkie nacięcia w okolicy stawu. Po jego wprowadzeniu, do wnętrza stawu podaje się roztwór soli fizjologicznej, co ułatwia obejrzenie wnętrza stawu. Następnie ocenia się wszystkie struktury wewnątrzstawowe: chrząstki stawowe, błonę maziową, więzadła, mięśnie, łątki. Ta część zabiegu artroskopii bywa nazywana *artroskopią diagnostyczną*. Następnie do stawu można wprowadzić miniaturowe narzędzia chirurgiczne i zastosować procedury lecznicze w obrębie stwierdzonej patologii [21].

Na rynku dostępnych jest wiele preparatów, które występują jako roztwór kwasu hialuronowego przeznaczony do użycia jako substytut płynu stawowego po artroskopii lub płukaniu stawu. Są wprowadzane do jamy stawu natychmiast po zabiegu artroskopii. Te preparaty działają jako tymczasowy substytut dla płynu stawowego utraconego w czasie zabiegu artroskopii, wykonują funkcje smarujące, amortyzujące wstrząsy i filtrujące płyny. Dodatkowo usuwają wszystkie płuczące roztwory pozostawione w jamie stawu podczas zabiegu, zapobiegając powodowanym przez nie zaburzeniom metabolizmu chrząstki stawowej. Podanie preparatu kwasu hialuronowego do jamy stawu powoduje odtworzenie powłoki ochronnej kwasu hialuronowego na powierzchni chrząstki stawowej i błony maziowej. Co więcej, poprzez zwiększenie ruchomości stawu, może pomóc w syntezie endogennego kwasu hialuronowego. Przeprowadzone badania w testach *in vitro* i *in*

vivo wykazały, że egzogeny kwas hialuronowy może sprzyjać gojeniu się rany i bezpośrednio stymulować proces produkcji endogennego kwasu hialuronowego

Hialuronian jest głównym wielkocząsteczkowym składnikiem płynu stawowego, Nadaje on temu płynowi istotne właściwości, które działają jako:

- smar,
- amortyzator wstrząsów, filtr powstrzymujący ruch potencjalnie szkodliwych komórek i cząsteczek w przestrzeni stawowej.

„Badania kliniczne wykazały, że egzogeny kwas hialuronowy:

- w połączeniu z artroskopią jest efektywny w usuwaniu bólu i przynosi poprawę ruchomości stawu u pacjentów z przewlekłymi zaburzeniami;
- ochrania powierzchnię stawu podczas artroskopii i ułatwia ten zabieg;
- zmniejsza ból, poprawia funkcje stawu i obniża poziom prostaglandyn i cytokin w płynie stawowym u pacjentów z przewlekłymi zaburzeniami;
- zmniejsza ból i poprawia funkcje stawu u pacjentów ze zmianami zwyrodnieniowymi i uszkodzeniem stawów;
- jest dobrze tolerowany” [22].

Kwas hialuronowy oprócz białka typu skleroproteidów, które budują włókna kolagenowe i sprężyste, czyli kolagen i elastynę jest częstym składnikiem kremów zmiękczających, uelastyczniających skórę i odżywczych. Znaczący wpływ na elastyczność skóry mają włókna kolagenowe, są istotnym składnikiem skóry właściwej, stanowią około 72% suchej masy. Zbudowane są z niejednorodnego białka o charakterze skleroproteidów. Włókna kolagenowe charakteryzują się dużą ilością aminokwasu – hydroksyproliny.

Kolejnym rodzajem włókien wpływających na elastyczność skóry są włókna elastylowe. Występują one w mniejszej ilości niż włókna kolagenowe. Są one odpowiedzialne za sprężystość skóry, ich rozciągliwość jest znaczna. Kwas hialuronowy wypełnia przestrzeń między włóknami [7].

Ze względu na cechy wiążące się z mechanizmami biologicznymi kwasu hialuronowego, szeroko jest stosowany w przemyśle kosmetycznym. Do kosmetyków nawilżających wykorzystuje się kwas hialuronowy, ponieważ wiąże on ogromne ilości wody. Ponadto w wielu kosmetykach dodawany jest ze względu na swoje właściwości okluzyjne jako naturalny film osłaniający warstwę rogową naskórka. Działa jako substancja spajająca i uczestniczy w tworzeniu barier biologicznych ograniczających rozprzestrzenianie się substancji chemicznych i bakterii. Jest rozkładany przez enzym hialuronidazę.

Dzięki dodawaniu do receptur kosmetycznych kwasu hialuronowego możliwe stało się stworzenie nowej generacji kremów ochronnych i nawilżających, które bezpiecznie można stosować w okresie zimowym [8].

Niestety nawet najmniejsza cząsteczka kwasu hialuronowego, o masie większej niż 100 kDa (0,1 MDa), nie przenika przez barierę skóry. Granicą przepuszczalności warstwy skóry są cząsteczki o masie do 3 kDa! Dlatego też, jakiegokolwiek korzyści, z kosmetycznego zastosowania HA wynikają tylko z jego obecności na powierzchni skóry. Przeprowadzone badania potwierdzają, że najmniejsze cząsteczki kwasu HA pozytywnie wpływają na odbudowę uszkodzonego naskórka (otarta skóra szybciej pokrywa się nabłonkiem) [23].

Działanie nawilżające HA związane jest głównie z silnymi właściwościami higroskopijnymi. HA w naturalny sposób osłania skórę, tworząc na powierzchni film ochronny. Ma doskonałe właściwości łagodzące, skutecznie nawilża przesuszoną skórę, która posiada skłonności do pierzchnięcia. **Dobrze nawilżona warstwa rogowa naskórka staje się bardziej przepuszczalna dla substancji czynnych.**

Roztwór kwasu hialuronowego posiada żelową konsystencję, dlatego też jest uniwersalnym, łatwym do stosowania nośnikiem dla różnych substancji aktywnych rozpuszczalnych w wodzie. Kwas hialuronowy stosowany jest w recepturach kremów, toników, mleczkach, lotionach w szerokim zakresie pH [7].

Kapsułki zawierające kwas hialuronowy są już znane od dawna, i cieszą się szczególnie dużą popularnością na rynku amerykańskim. Co roku Amerykanie spożywają setki tysięcy preparatów hialuronianu w formie kapsułek lub tabletek, uzupełniając w ten sposób ilość kwasu hialuronowego, która jest obecna w typowych produktach żywnościowych pochodzenia zwierzęcego.

Głównym surowcem do otrzymywania produktów hialuronowych, są grzebienie kogucie, sproszkowane lub hydrolizowane chrząstki. W celu otrzymania kwasu hialuronowego do produkcji kapsułek wykorzystuje się fermentację bakteryjną.

Trudno znaleźć w literaturze doniesienia na temat absorpcji HA zawartego w suplementach przez organizm człowieka. Kwas hialuronowy podany doustnie ma niską biodostępność, a tym samym niewielką kliniczną użyteczność. Wynika to z dużej masy cząsteczkowej, rozmiarów, słabej rozpuszczalności w tłuszczach a także szybkiej degradacji w wątrobie. Brak konkretnych informacji stanowi zachętę do ustalenia zjawisk zachodzących kolejno- od podania doustnego do ilości zawartej w tkance docelowej, czyli skórze.

Na razie przeprowadzane są badania na zwierzętach w celu ustalenia biodostępności kwasu hialuronowego po podaniu doustnym. W suplementach diety stosowanych w badaniach, wykorzystuje się wysokocząsteczkowy kwas hialuronowy, zaznaczony izotopami. Badana jest absorpcja hialuronanu do krążenia ogólnego i tkanek. Wyniki badań sugerują, że w niewielkich ilościach

osiągnął on tkanki peryferyjne, w tym stawy i skórę. Tak, więc istnieje pierwsze racjonalne potwierdzenie działania suplementów diety na bazie kwasu hialuronowego. Z całą pewnością będą przeprowadzane dalsze badania na organizmie ludzkim, w celu potwierdzenia tych ustaleń.

Trwają badania nad zwiększeniem biodostępności kwasu hialuronowego zawartego w suplementach diety, dobrym pomysłem, może okazać się połączenie kwasu z fosfolipidami. Posiadają one właściwość tworzenia trwałych połączeń ze związkami o różnej naturze chemicznej, włączając w to również kwas hialuronowy. Doniesienia literaturowe na ten temat są obiecujące, co daje nadzieję, że po badaniach wstępnych przeprowadzonych na szczurach, zostaną zrobione także z udziałem ludzi- oby wyciągnięte wnioski okazały się korzystne [3].

Reasumując kwas hialuronowy jest glikozaminoglikanem, który wraz z kolagenem i elastyną są podstawowymi elementami skóry właściwej.

Wykazuje ujemne działanie elektromagnetyczne i przylacza olbrzymie ilości wody, dzięki czemu liczne łańcuchy kwasu hialuronowego przeplatają się i krzyżują wzajemnie, tworząc w ten sposób roztwory o dużej elastyczności, lepkości, nadające skórze spójność oraz elastyczność.

Kwas hialuronowy działa przeciwwzাপalnie, stabilizując na strukturę tkanek, również skóry. Pobudza regenerację nabłonków, stawów oraz skóry właściwej. Zwiększa migrację substancji pokarmowych z płynu troficznego międzykomórkowego do wnętrza komórek w tkankach. Jego funkcją jest również kontrola poziomu płynu tkankowego, zawartego w macierzy pozakomórkowej, utrzymanie właściwego stanu płynnej tkanki łącznej, kontrolę uwodnienia tkanek i transportu wodnego, supramolekularny montaż proteoglikanów w macierzy pozakomórkowej.

Skład i budowa chemiczna kwasu hialuronowego jest identyczna u wszystkich gatunków zwierząt i ludzi, dlatego nie wywołuje on reakcji immunologicznych typu odrzucania. Jest on rozpoznawany przez organizm jako produkt fizjologiczny. Wypełniacze tkankowe zawierające kwas hialuronowy są bezpieczne i nie wywołują reakcji alergicznych ani odczynów ogólnoustrojowych.

Niepowtarzalny charakter cząsteczek HA oraz jego biogodność pozwala na wykorzystanie go w leczeniu wielu schorzeń [24-29]. Dzięki swoim unikalnym właściwościom jest szeroko stosowany w medycynie i recepturach kosmetycznych.

Kwas hialuronowy jest cząsteczką całkowicie biogodną i nie wykazuje cech alergizujących, występuje we wszystkich organizmach żywych w tej samej formie. Praktyczne zastosowanie wiąże się ściśle z funkcją, jaką pełni, w

organizmie człowieka.³⁰

Literatura:

1. <http://www.rozanski.cal.pl/?p=46>; 17.12.09 godz. 20.12
2. <http://www.phmd.pl/fulltxhtml.php?ICID=873381>; 17.12.09 godz. 20.12
3. K. Żurowska, Kwas hialuronowy natura, zastosowanie i rola w organizmie. „Medycyna Estetyczna i Anti-Aging” 3/2009, 33-36
4. http://biotechnologia.pl/info/kosmetologia/34_artykuly-opracowania/540_pochodne_kwasu_hialuronowego_otrzymywane_w_hodowlach_i_streptococcus_equi_i_.html; 8.04.10 godz. 16.18
5. K. Milas, M.Rinaudo, „Characterization and Properties of Hyaluronic Acid”
6. <http://www.wydawnictwoapteka.pl/files/UserFiles/10%20kwas.pdf>;
7. R. Glinka, „Związki naturalne w kosmetyce”, Warsaw Voice S. A. Wyd. 1, 2003, 140-141
8. R. Glinka, „Receptura kosmetyczna”, MA Oficyna Wydawnicza, Wyd.1, 2003, 184-185
9. G. Duda, „Przeciwutleniacze w żywności” Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 2007, 63-65
10. W. Placek, „Farmakologia skóry i kosmetologia”, Wydawnictwo Lekarskie PZWL 2003, Wyd. 1, 287
11. B. Ascher, Wolumeryczne odmładzanie twarzy z użyciem preparatu kwasu hialuronowego. „Medycyna Estetyczna i Przeciwstarzeniowa” 3/2006, 120-123
12. J. Carruthers, tłumaczenie Andrzej Kaszuba, „Metody wypełniania tkanek miękkich stosowane w kosmetologii” Wydawnictwo Medyczne Urban& Partner Wrocław. Wyd 1. 38-39 i 119-123
13. I. Marycz-Langner, Za i przeciw wypełniaczom. „Dermatologia i uroda” 6/2009, 9-10
14. L. Lembas, A.Sankowski, J. Greese-Lyko, Powiększanie piersi przy użyciu stabilizowanego kwasu hialuronowego. „Medycyna Estetyczna i Anti-Aging” 2/2009, 13-16
15. http://www.poradnikmedyczny.pl/mod/archiwum/8199_kwas_hialuronowy_gwiazda.html; 19.02.10 godz. 22.57
16. P. M. Levy, Porównanie komfortu iniekcji nowej kategorii spoistego wypełniacza na bazie kwasu hialuronowego z dodatkiem lidokainy i iniekcji samego wypełniacza na bazie kwasu hialuronowego.

- „Dermatologia i kosmetologia” 3 wrzesień 2008, 35-39
17. Claudio DeLorenzi, Długoterminowa skuteczność i bezpieczeństwo podskórnych iniekcji wielkocząsteczkowego, stabilizowanego żelu na bazie kwasu hialuronowego o pochodzeniu niezwierzęcym w estetycznym modelowaniu konturu twarzy. „Dermatologia i kosmetologia” czerwiec 2008, s. 32-39
 18. I. Marycz- Langner, Długoterminowa skuteczność i bezpieczeństwo podskórnych iniekcji wielkocząsteczkowego, stabilizowanego żelu na bazie kwasu hialuronowego o pochodzeniu niezwierzęcym w estetycznym modelowaniu konturu twarzy, „Dermatologia i kosmetologia” czerwiec 2009, 32-39
 19. Anita Tarajkowska-Olejnik, Mezoterapia- sposób nie tylko na lepszą skórę. Dermatologia i uroda”, nr 9/2008, s. 8-9
 20. http://www.medycynaSPORTOWA.pl/index.php?go=farmakoterapia&artykul=kwas_hialuronowy 14.01.10 godz. 20.44
 21. <http://fimedica.pl/index.php/artroskopia-co-to-jest-artroskopia-kolana-zabieg-artroskopii/>; 17.12.09 godz. 20.29
 22. <http://www.trbchemedica.pl/index.php?trbchemedica=ortopedia&&site=viscoseal3&&produkt=18>; 17.12.09 godz. 21.03
 23. <http://www.zrobsobiekrem.pl/?225,kwas-hialuronowy-1->
 24. K. De Boulle, Powikłania po użyciu wypełniaczy. „Medycyna estetyczna i przeciwstarzeniowa” 4/2006, s. 181-184
 25. A. Okruszko, Zastosowanie kwasu hialuronowego w korekcji zmarszczek mimicznych. „Medycyna estetyczna i przeciwstarzeniowa” 4/2004, 179-182
 26. E. Pierzchała, Nietypowe zastosowanie kwasu hialuronowego w korekcji estetycznej. „Dermatologia estetyczna” 2/2008, 99-102
 27. http://www.innovia.pl/aktualnosci/egzogenna_n_acetyloglukozamina_zwieksza_produkcje_kwasu_hialuronowego.htm; 19.02.10 godz. 22.24
 28. E. Szpringer, Nowe możliwości terapii stabilizowanym kwasem hialuronowym- doświadczenia własne. „Dermatologia estetyczna” 1/2009, 29-37
 29. N. S. Sadick, Technika „wypychania” kwasu hialuronowego w przypadku bruzdy nosowo-jarzmowej. „Dermatologia i kosmetologia” czerwiec 2008, 33-37
 30. J. Zeyland, D. Lipiński, W. Juzwa, A. Pławski, R. Słomski, Budowa i zastosowanie wybranych glikozoaminoglikanów, Medycyna Wet. 2006, 62 (2)

Rozdział 4

Bezpieczeństwo w nanotechnologii

Aneta Pytlewska, Grzegorz Schroeder

*Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Wydział Chemii, Grunwaldzka 6,
60-780 Poznań*

Otrzymywanie nowych, funkcjonalnych materiałów w oparciu o złożone wieloatomowe, samoorganizujące się układy międzycząsteczkowe to jeden z najnowszych kierunków nauki. Dynamiczny rozwój chemii supramolekularnej, nauki, która stworzyła podstawy i opisała reguły oddziaływań ponadcząsteczkowych doprowadziła do tego, że realnym stało się zarządzanie molekułami na poziomie molekularnym. Układy takie stanowią podstawę nanotechnologii i znajdują zastosowania w otrzymywaniu nowych materiałów o precyzyjnie kontrolowanych własnościach fizycznych, nano- i mikromaszyn wykonujących założoną pracę oraz po sztuczne układy na wzór żywych organizmów zdolne do samoreprodukowania się. Od zarania dziejów światu towarzyszył postęp w różnych dziedzinach nauki. Jednak ten postęp dziejący się często w skali nie widzialnej gołym okiem budzi wiele wątpliwości i niepokoju. Człowiek poznawał otaczające go środowisko i starał się poprawić jakość życia na Ziemi. Obecnie dążymy do tego samego tylko w innej skali. Dzięki istniejącym możliwościom i wiedzy, jaką do tej pory nabył człowiek zrodziła się nowa, dzisiaj jeszcze bardzo młoda dziedzina nauki - nanotechnologia.

Nanotechnologia to termin, za którym kryje się projektowanie, tworzenie oraz korzystanie z materiałów, które mają przynajmniej jeden wymiar, którego naturalną jednostką miary jest nanometr (nm). Ta nowa perspektywa badawczo – rozwojowa, zmierza do sterowania fundamentalną strukturą zachowania materii na poziomie atomów i molekuł. Ze względu na ograniczoną wielkość cząsteczek, można zaprojektować materiały o określonych właściwościach fizycznych, chemicznych czy biologicznych. Nanomateriały są już dzisiaj wykorzystywane w wielu gałęziach przemysłu. Poprawiają jakość produktów i wzbogacają je w wiele niespotykanych dotychczas własności, ułatwiając tym samym styl życia konsumentów.

Jednak nanotechnologia to nie tylko nowe możliwości, ale także wątpliwości wynikające z manipulacji na poziomie cząsteczek. Ta nowa dziedzina technologii

jest przez niektórych naukowców postrzegana jako panaceum ratujące życie a nawet całą planetę. Z kolei nanosceptycy obawiają się, że nad tymi korzyściami przeważać mogą szkody, z których na dzień dzisiejszy nie zdajemy sobie sprawy. Prawda jak zwykle leży po obu stronach. Dlatego bardzo ważne jest kontrolowanie rozwoju nanotechnologii, zapoznanie się z zagrożeniami, jakie ze sobą niesie, przeanalizowanie badań dotyczących jej wpływu na człowieka i środowisko, przegląd obecnie obowiązujących regulacji prawnych i sprawdzenie czy w odpowiedni sposób zabezpieczają one konsumentów przed powstającymi nanoproductami. Można stwierdzić, że odpowiedzialny rozwój nanonauk i nanomateriałów jest kluczem do podjęcia wyzwania związanego z postępem gospodarczym i społecznym na poziomie światowym.

Nanotechnologia jako pojęcie istnieje od niedawna. Po raz pierwszy użył go japoński badacz Norio Taniguchi w 1974 roku. Objaśniał on wówczas możliwości inżynierii materiałów na poziomie nanometrów [1].

Historia nanotechnologii zaczęła się jednak już w roku 1959 od wypowiedzi fizyka-noblisty Richarda Feynmana, że możliwe będzie budowanie obiektów atom po atomie. Feynman przedstawił koncepcję miniaturyzacji, a także możliwości tkwiące w wykorzystaniu technologii, dzięki której uda się operować na poziomie nanometrowym. Ustanowił on wówczas dwie nagrody tak zwane Nagrody Feynmana, z których każda warta była po tysiąc dolarów.

Pierwsza z nich dotyczyła wykonania silnika, który zmieściłby się w sześciu o boku mniejszym niż 1/64 cala. Wypłacenie pierwszej nagrody było dla Feynmana dużym rozczarowaniem, ponieważ już w 1960 roku została ona zdobyta przez McLellana. Zwycięzca nie dokonał jednak przełomu technologicznego, gdyż możliwe było wykonanie tego zadania dzięki możliwościom współczesnej mikroelektroniki.

Druga zaś nagroda przeznaczona była dla osoby, której udałoby się zmniejszyć strony z książki do rozmiaru będącego liniowo zmniejszonym w skali 1/25000. Tak powstała strona, którą udałoby się przeczytać tylko pod mikroskopem elektronowym. W 1985 Thomas Newman z Uniwersytetu Stanford odtworzył w zadanej przez Feynmana skali pierwszy akapit *Opowieści o dwóch miastach* Karola Dickensa. Wykorzystał w tym celu wiązki elektronowe [1].

Lata osiemdziesiąte i dziewięćdziesiąte były okresem gwałtownego rozwoju technik litograficznych oraz produkcji ultracienkich warstw krysztalów (technologie MOCVD, MBE).

W dzisiejszych czasach nanotechnologia to nowa perspektywa badawczo – rozwojowa, która zmierza do sterowania fundamentalną strukturą zachowania materii na poziomie atomów i molekuł. Przedrostek „nano” pochodzi od greckiego słowa „karzeł”. W nauce i technologii oznacza jedną miliardową

część metra. Dzięki ograniczonej wielkości cząsteczek, można zaprojektować materiały o pożądanych właściwościach fizycznych, chemicznych czy biologicznych. Kiedy jeden z wymiarów struktury znajdzie się w przedziale od 1 do 100 nm, czyli zmieści się w zakresie, w którym krańce z jednej strony wyznaczają odległości charakterystyczne dla pojedynczych atomów (10^9 m), z drugiej natomiast te spotykane w ciele stałym (10^7 m), dany materiał może posiadać właściwości, które będą w dużym stopniu odbiegać od właściwości typowych dla pojedynczego atomu czy kryształu. To właśnie, dlatego nanotechnologia jest obiecującym obszarem badań, które mogą prowadzić do wytworzenia materiałów o niespotykanych wcześniej właściwościach [2]. Obecnie nanotechnologia oferuje potencjalne rozwiązania wielu bieżących problemów, poprzez wykorzystanie mniejszych, szybszych, lżejszych i dużo bardziej wydajnych materiałów, podzespołów i systemów. Nanotechnologia ma również wnieść istotny wkład w procesy rozwiązywania problemów globalnych i zmagać się z wyzwaniami ekologicznymi, dzięki opracowaniu produktów oraz procesów, które przyczynią się do oszczędzania zasobów i ograniczenia emisji zanieczyszczeń [3].

Nanotechnologia obok biometryki, energetyki słonecznej i biotechnologii jest dziedziną, która rozwija się najszybciej. Przewodzą w niej Japończycy, Koreańczycy, Amerykanie i Niemcy. W świecie nanotechnologią zajmuje się już, co najmniej milion osób. Rządy państw i firmy prywatne przeznaczają na badania z zakresu nanotechnologii gigantyczne sumy. Jest to dziedzina, która według analityków amerykańskich stanie się w najbliższych latach rdzeniem gospodarki USA. Przewiduje się, iż do roku 2011 światowy rynek osiągnie wartość obrotów biliona dolarów w dziedzinie nanocząsteczek.

Naukowcy z całego świata prowadzą wyścig w projektowaniu i produkcji materiałów, które będą sto razy bardziej wytrzymałe niż najtwardsza stal, mundurów wojskowych lekkich jak piórko, chroniących żołnierzy zarówno przed kulami jak i zagrożeniami biologicznymi i chemicznymi oraz głowic do zapisu i odczytu twardych dysków komputerowych o grubości kilku atomów [4]. Nanokapsułki, które zawierają śladowe ilości leków czy cenne witaminy lub inne składniki przenikające w głąb skóry, są już dziś stosowane w medycynie i kosmetyce. Pacjenci z uszkodzonym rdzeniem kręgowym mogą oczekiwać przywrócenia funkcji neurologicznych. Chorzy na nowotwory czekają na powszechne zastosowanie specjalnych nanocząstek, które w sposób selektywny będą łączyć się i niszczyć tylko komórki rakowe pozostawiając zdrowe w stanie nienaruszonym. Nanotechnologia umożliwi także powstawanie specjalistycznych sprzętów, które będą wykorzystywane do badania żywności, wody czy środowiska naturalnego. Wpłynie ona także na poprawę naszego

bezpieczeństwa dzięki np. nowatorskim systemom wykrywania o wysokiej specyficzności, zapewniającym wczesne ostrzeżenie przed czynnikami biologicznymi lub chemicznymi. To właśnie, dlatego o nanotechnologii mówi się, że jest ona “horyzontalna”, “kluczowa”, lub “umożliwiająca”, ponieważ może przenikać dosłownie wszystkie sektory techniki [3].

Nanotechnologia znalazła zastosowanie w wielu dziedzinach takich jak: elektronika i optyka, technika laserowa, ochrona przed korozją, nanostruktury, ceramika, budownictwo, transport, rolnictwo i przemysł spożywczy, kosmetyka, włókna naturalne, kosmonautyka oraz biomateriały. Jednak główny rynek komercyjnie dostępnych nanomateriałów stanowi przemysł chemiczny. Z rozwojem nanotechnologii wiąże się duże nadzieje, jeśli chodzi o jej zastosowanie w nanomedycynie. Jednym z przykładów może być jej zastosowanie przy produkcji implantów, ponieważ te tradycyjnie stosowane, nie przylegają dobrze do powierzchni np. stawu i często prowadzą do reakcji odrzutu przez organizm. Natomiast, nanorurki, które niwelują nierówności białkowe dzięki swojej średnicy i odpowiedniej objętości wobec tkanki ludzkiej, wykluczają negatywne reakcje organizmu. Do wnętrza nanorurek mogą być wprowadzane pierwiastki np. antyseptyczne srebro, antybiotyki i chemioterapeutyki lub inne leki, które działałyby tylko w miejscu potrzebnym, nie powodując spustoszenia w całym organizmie, jak to obecnie dzieje się przy zastosowaniu np. chemioterapii. Analogicznie w ten sam sposób istnieje możliwość wprowadzania do komórek -DNA- w tak zwanej terapii genowej. Perspektywy, więc w medycynie są fantastyczne. Wyobraźmy sobie, nanołódź, która napędzana glukozą i tlenem pacjenta, krążyłaby w jego krwioobiegu. Zaprogramowana w odpowiedni sposób mogłaby precyzyjnie dotrzeć do chorej tkanki, dokonać specjalistycznych analiz, a następnie przekazać komputerowo dane do lekarza [5].

Wykorzystując nanotechnologie możliwa będzie znacznie lepsza diagnostyka chorób. Będą, bowiem służyć do tego mikrokamery wielkości antybiotyku, które wyposażone w odpowiednie detektory będą przysyłały obrazy, np. śluzówki jelita grubego czy cienkiego, żołądka czy oskrzela.

Kolejnym problemem, z którym zmierzy się nanotechnologia będzie walka z nowotworami złośliwymi. Naukowcy ze Stanów Zjednoczonych skonstruowali nanogenerator wyłapujący komórki rakowe. Obecnie prowadzone są także badania nad wykorzystaniem nanokapsułek do transportu bardzo skutecznych leków przeciwnowotworowych - tak zwanych taksanów. Powodują one zatrzymanie mitoz w komórkach nowotworowych doprowadzając do ich martwicy.

Uszkodzone przez procesy patologiczne tkanki, dzięki nanotechnologii będą „naprawiane”. Pionierem w tym zagadnieniu był Samuel Strupp z Northwestern

University, który zastosował nanowłókna jako rusztowanie do odbudowy kości. Wstrzyknięcie ich w miejsce złamania pozwala na wbudowanie się w oczka siatki osteocytu, co w dalszym procesie prowadzi do wypełnienia ubytku kostnego.

Wykorzystanie nanotechnologii w medycynie może przynieść wiele korzyści oraz pomóc w rozwiązaniu wielu problemów, z którymi borykają się w dzisiejszych czasach specjaliści. Jak twierdzi dr Richard Miller, który jest dyrektorem Mercy Heart Institut Sacramento, stan ciężko chorych będzie można kontrolować na bieżąco. Inteligentne leki zamknięte w nanokapsułkach będą działały wewnątrz organizmu, likwidując ogniska różnych chorób [5].

Różnego rodzaju nanomateriały stosuje się dzisiaj w przemyśle motoryzacyjnym, który rozwija się w bardzo szybkim tempie, stosując najnowsze technologie. Pomagają one w skutecznej ochronie auta przed uciążliwymi zabrudzeniami, zaparowywaniem, a także poprawiają widoczność, ograniczając jednocześnie niekontrolowane rozmywanie się cieczy na szybach. Zastosowanie tego typu nanotechnologii pozwala na zwiększenie naszego bezpieczeństwa. Powstaje wiele środków pielęgnacyjnych dla samochodów, które będą pomagały w utrzymaniu czystości samochodu oraz jego lepszej konserwacji. Nanopowłoka do lakieru gwarantuje znakomite zachowanie połysku oraz redukuje utrzymywanie się brudu na jego powierzchni. Jest ona także odporna na działanie złych warunków atmosferycznych, kwasów, alkoholu, wody i rozpuszczalników. Dodatkowo trwałość lakieru samochodowego jest znacznie wydłużona, a czas i nakład pracy wymagany do czyszczenia pojazdu jest zredukowany do minimum. Produkty stosowane wewnątrz samochodu tworzą ochronne włókna przed kontaktem z wodą, brudem, sokami, kawą, winem czerwonym, tłuszczami itp. Produkt sprawia, że wysuszony brud nie zatrzymuje się na powierzchni i nie powoduje plam, a mokry brud nie zostaje wchłaniany przez włókna. Efekt „easy-to-clean” pozwala na łatwe i skuteczne czyszczenie materiałów przy użyciu samej wody i ściereczki. Nanopowłoka gwarantuje zachowanie barwy, stopnia oddychania i wrażenia „dotyku” pokrytego materiału. Dodatkowymi atutami produktu są bezpieczeństwo i łatwość aplikacji, jak również odporność na czyszczenie chemiczne oraz możliwość wielokrotnego nanoszenia bez uszczerbku dla materiału. Stosowanie produktu poprawia jakość i higienę pokrytej powierzchni [6,] [7].

Zastosowanie nanotechnologii w przemyśle spożywczym i rolnictwie także cieszy się dużym zainteresowaniem. Nanotechnologia w rolnictwie skupia się głównie na działaniach, które mają w dużym stopniu poprawić jakość i wydajność. Będzie to możliwe dzięki odpowiedniemu ułożeniu atomów w nasionach, opracowaniu jeszcze skuteczniejszych chemicznych bodźców wzrostu,

monitorowaniu warunków panujących na farmie przy pomocy elektroniki oraz dalszej automatyzacji pobudzania wzrostu roślin. Znacznie zmniejszy się użycie pestycydów, poprawi się efektywność hodowli roślin i zwierząt, jak również zostaną stworzone nowe bioprzemysłowe produkty. Powstaną inteligentne, bezpieczne pojemniki, które będą wykrywały popsutą żywność lub szkodliwe zanieczyszczenia w niej zawarte. Stosując nanocząsteczki srebra i miedzi do modyfikacji polimerów będących podstawowym surowcem przy produkcji opakowań, przedłużymy ich żywotność oraz bezpieczeństwo przechowywania. Nanocząsteczki srebra, które są już dzisiaj obecne w całej masie plastikowego opakowania, degradują pojawiającą się florę bakteryjną, pleśń i inne rodzaje grzybów. Produkty z zawartością nanocząstek w przyszłości mają wzmacniać lub zmieniać smak składników odżywczych. Wszystko to po to, aby zadowolić gusta każdego konsumenta i potrzeby wynikające ze stanu jego zdrowia [8].

Oprócz wyżej przedstawionych zastosowań, nanotechnologie wykorzystuje się także przy odkażaniu i uzdatnianiu wody, przeciwbakteryjnym zabezpieczeniu odzieży, konserwacji zabytków, dezynfekcji urządzeń pracujących w kontakcie z żywnością (do zastosowań w zakładach mleczarskich, mięsnych, przetwórstwa owoców i warzyw) oraz w kosmetyce. Wodne koloidy nanosrebra i nanomiedzi stosowane są do zabezpieczania materiałów budowlanych, narażonych na rozwój bakterii i grzybów. Nanocząsteczki dodawane są również do paliw płynnych, gdzie ich zadaniem jest zmniejszanie zanieczyszczeń środowiska.

Tworzenie nowych struktur nano – przestrzennych budzi wielkie zainteresowanie. Prowadzone są badania struktur metaloorganicznych (MOF) – nowej klasy materiałów służących katalizie, absorpcji gazów czy budowie sensorów. Zarówno nanorurki jak i inne tego typu materiały są nadzieją wzrastającej liczby producentów na dobry interes [4].

W związku z tym, że nanotechnologia tak gwałtownie ewoluuje i niesie ze sobą ogromne korzyści, które mogą poprawić jakość życia kolejnym pokoleniom, ważne jest rozpoznawanie i rozwiązywanie problemów bezpieczeństwa. Tylko dzięki solidnej podstawie naukowej będzie można uzyskać zaufanie konsumentów oraz handlowców, aby bez obaw korzystać z odkryć i dokonań nanonauki. Nowości z tej dziedziny technologii oprócz tego, że niosą ze sobą wiele dóbr, muszą być wolne od wszelkich zagrożeń. Należy respektować zasady etyczne i egzekwować je zgodnie z obowiązującym prawem. Zasady te zawarte są w Europejskiej Karcie Praw Podstawowych, innych dokumentach europejskich, a także międzynarodowych. Trzeba również wziąć pod uwagę opinię Europejskiej Grupy do Spraw Etyki (EGE), która zajmuje się badaniem etycznych aspektów medycznych zastosowań nanotechnologii. Ważne jest, aby postępowi technologicznemu towarzyszyły badania naukowe,

które analizować będą niebezpieczeństwo zagrażające zdrowiu człowieka i środowisku naturalnemu, w którym żyje. W trakcie realizacji są specjalistyczne badania mające na celu analizę potencjalnych zagrożeń, które badane są także w ramach Projektów Zintegrowanych oraz Sieci doskonałości FP6 w dziedzinie nanotechnologii. Szczególną uwagę należy poświęcić nanocząsteczkom, które mogą zachowywać się w nieoczekiwany sposób, ze względu na swoje nieduże rozmiary. Mogą one wymagać podjęcia specjalnych wyzwań, np. w kategorii ich produkcji, złomowania, obchodzenia się z nimi, przechowywania czy transportu. Należy uwzględnić efekty nanotechnologii przez okres całego ich cyklu życiowego. Są to sprawy bardzo ważne w skali globalnej, dlatego korzystne jest tworzenie pul wiedzy na szczeblu międzynarodowym [3], [9].

O tym, że badania nad bezpieczeństwem nanotechnologii są bardzo ważne świadczy choćby fakt, jak wiele środków finansowych jest zaangażowanych w prace nad jej rozwojem. Szacuje się, że roczne światowe nakłady finansowane tylko z budżetów państwowych wynoszą ponad 6,5 mld USD. Sektor prywatny przeznaczają podobnie duże środki. Największa ilość badań przeprowadzana jest w Stanach Zjednoczonych i Japonii. Oprócz tego Japonia jest przodującym producentem produktów nano, zwłaszcza w obszarze ich wykorzystania do oczyszczania środowiska naturalnego.

W Europie występuje zdecydowanie mniej zorganizowanych grup badawczych nanotechnologii niż w Stanach Zjednoczonych. W ramach Komisji Europejskiej została stworzona ogólnie dostępna platforma informacyjna i kontaktowa w sprawach nanonauki i nanotechnologii. Od stycznia 2007 roku zainicjowano także program dofinansowujący Unii Europejskiej Seventh Framework Programme FP7, w ramach, którego przeznaczono ponad 3,5 mld EUR na badania związane z nanotechnologiami w latach 2007-2013. Analitycy przewidują rozwój nanotechnologii w tempie 30% na rok. Na dzień dzisiejszy szacuje się rynek nanotechnologii na 11 mld USD [1].

Nanocząsteczki mogą występować w różnej postaci. Zaliczamy do tej grupy:

a) Kule, przykładem mogą być fullereny węglowe. Są one zbudowane są z pojedynczych atomów węgla ułożonych w warstwę zwiniętą w kulę. Po odkryciu fullerenów wiązano z nimi duże nadzieje. Uważano, bowiem, iż można je skutecznie wykorzystać jako swojego rodzaju rusztowania, do których możliwe byłoby przyczepienie innych cząstek, np. leków.

b) Rurki jedno i kilkuwarstwowe. Obiekty te tworzą się, ponieważ zrolowanie warstw atomów związane jest z obniżeniem energii układu, co z punktu widzenia stabilności termodynamicznej jest bardzo korzystne. Wyróżniamy nanorurki węglowe i niewęglowe. Nanorurki niewęglowe mogą być zbudowane z różnego rodzaju substancji, np. azotku boru czy z tlenków

metali przejściowych, takich jak np. TiO_2 czy ZnO . To właśnie nanorurki z tych materiałów są obecnie intensywnie badane zwłaszcza w obszarze katalizy. Mogą one mieć istotne znaczenie w procesach oczyszczania wody i powietrza. Istnieją również nanorurki organiczne, które rozpatrywane są zwłaszcza pod względem ich wykorzystania w nanomedycynie.

c) Formy różne, takie jak płatki czy formy „kwiatopodobne”. Zaliczyć możemy do tej grupy na przykład ditlenek tytanu otrzymanego przez meksykańskich naukowców. Stworzony został w taki sposób, że gładka powierzchnia jego cząsteczek tworzyła swego rodzaju płatki, natomiast rdzeń cząsteczek stanowił porowaty materiał.

Dużo szerszym pojęciem jest nanomateriał. Jest to materiał zbudowany z elementów nanometrycznych, którego rozmiary mieszczą się w granicy 0,2-100 nm. Nanomateriały dzielimy na kilka grup:

a) Materiały zerowymiarowe, punktowe. Zaliczamy do nich kropki kwantowe, materiały nanoheterogeniczne, zbudowane w ten sposób, że w osnowie materiału umieszczone są cząstki nanometryczne. Kropka kwantowa to bardzo mała cząstka materii, którą można opisać za pomocą praw fizyki kwantowej i tylko za pomocą jednego wymiaru.

b) Materiały jedno- i dwuwymiarowe, a więc warstwy o grubości nanometrycznej, zbudowane z jednej lub kilku substancji „nano”. Przykładem takiego materiału jest cienka błona ditlenku tytanu, która powstała z pojedynczych kryształów TiO_2 ułożonych obok siebie. Wykazuje on oryginalne właściwości katalityczne w stosunku do licznych związków organicznych, adsorbując je na swojej powierzchni, a następnie rozkładając je do prostszych postaci. Zjawisko to wykorzystywane jest między innymi w oczyszczaniu powietrza oraz wody.

c) Materiały trójwymiarowe (nanokrystaliczne), które zbudowane są z kryształów o rozmiarach nanometrycznych. Materiały te mogą być homo- i heterogeniczne [1].

Materiały w skali „nano” wykazują właściwości, które w tych samych materiałach, lecz w skali makro nie występują. To właśnie dzięki tym wyjątkowym cechom, powstają produkty o właściwościach, których nie można by uzyskać stosując tradycyjne materiały. Dlatego też nanotechnologia spotyka się na świecie z bardzo dużym zainteresowaniem. Nanocząstki i nanomateriały zachowują właściwości fizykochemiczne charakterystyczne dla skali makro. Oprócz tego posiadają dodatkowo zespół oryginalnych cech, co związane jest z rozmiarem cząstek. Ze względu na swoją wielkość podlegają one już nie tylko prawom fizyki klasycznej, ale są dla nich właściwe także zachowania opisywane przez fizykę kwantową. Wykazują cechy, zwłaszcza te elektryczne i optyczne, znacznie odmienne od materiałów w rozmiarach makrometrycznych. Dualizm

charakteru nanocząstek jest jedną z ważniejszych zalet tego rodzaju obiektów. Inną istotną cechą jest rozmiar nanocząsteczek, który pozwala im na przenikanie przez większość barier, również tych na poziomie bioorganicznym. Stworzenie narzędzi, dzięki którym możliwe będzie sterowanie nanoobiettami, pozwoli na wykorzystanie niewielkich wymiarów nanocząstek jako ich charakterystycznej cechy w wielu dziedzinach. Jedną z istotniejszych gałęzi wykorzystania, jest ich zastosowanie w medycynie precyzyjnej. Ważną właściwością charakterystyczną dla nanocząstek jest także znacznie bardziej rozwinięta powierzchnia właściwa w porównaniu do tradycyjnych materiałów. Ciekawym przykładem może być tu powierzchnia właściwa cząsteczek nanopochodnych krzemu zawartych w objętości równej objętości kropli deszczu, która jest w przybliżeniu równa powierzchni dużego boiska piłkarskiego. Silnie rozwinięta powierzchnia właściwa niektórych nanocząstek i materiałów z nich zbudowanych, świadczy między innymi o ich bardzo dobrych właściwościach adsorpcyjnych i przekłada się dalej na ich specjalne zachowanie podczas zastosowania przy wytwarzaniu różnego rodzaju produktów.

Materiały w skali nanometrycznej w porównaniu do konwencjonalnych wykazują następujące właściwości:

- większa twardość (nanokrystaliczny nikiel jest równie twardy jak stal),
- większa wytrzymałość (np. nanokrystaliczny krzem jest dużo bardziej wytrzymały na rozciąganie niż stal); występujący jednocześnie wzrost plastyczności, odwrotnie niż ma to miejsce w materiałach tradycyjnych; w przypadku niektórych nanomateriałów ceramicznych mamy do czynienia ze zjawiskiem tzw. superplastyczności, materiały te mogą ulegają odkształceniom plastycznym nawet do 250%,
- właściwości smarne np. w przypadku materiałów polimerowo-nanometrycznych wykorzystywanych jako części maszyn, nie jest konieczne stosowanie smarów,
- większa biokompatybilność biomateriałów nanometrycznych,
- oryginalne bądź wzmocnione zdolności adsorpcyjne i absorpcyjne (między innymi odnośnie wodoru) oraz wyjątkowe właściwości magnetyczne, które są wykorzystywane do gromadzenia informacji w elektronice i informatyce,
- większa odporność chemiczna (np. azotki metali przejściowych);
- większa hydrofilowość niektórych nanomateriałów, zwana superhydrofilowością; polega ona na zmniejszeniu kąta zwilżania powierzchni materiału przez wodę do około 1o (nanometryczny ditlenek tytanu) [1].

Właściwości danego materiału w zależności od wielkości jego cząstek

można porównać na przykładzie ditlenku tytanu TiO_2 . Ditlenek tytanu w formie makrometrycznej jest stosowany od początku XX w. jako biały pigment. Obecnie nadal jest najlepszym znanym białym pigmentem i jego produkcja stanowi 70% ilości produkowanych pigmentów nieorganicznych na całym świecie. Nanometryczny ditlenek tytanu należy do nanoproductów już skomercjalizowanych i produkowanych w skali przemysłowej. Główne zastosowania nano TiO_2 to kataliza zanieczyszczeń wody i powietrza [1].

Tabela 1. Porównanie cząsteczek ditlenku tytanu w zależności od ich wielkości, źródło www.wiedza.info.pl

Cecha	Ditlenek tytanu	
	skala makro	skala nano
Wielkość ziaren	0,1-0,3 μm	1-100 nm
Powierzchnia właściwa	$\approx 12 m^2/g$	nawet $>300 m^2/g$
Barwa	biała	przezroczysty
Reaktywność chemiczna	bez zmian	
Absorbacja promieniowania UV	średnia	wysoka
Aktywność fotokatalityczna	niska	wysoka
Hydrofilowość	średnia	bardzo wysoka
Zdolność antybakteryjna	niska	wysoka
Główne zastosowanie	pigment	fotokatalizator

Nanotechnologia może okazać się kluczem do rozwiązania obecnych oraz przyszłych problemów, w takich dziedzinach jak medycyna, ochrona środowiska, bezpieczeństwo, produkcja, przemysł spożywczy i wiele innych. Z drugiej strony przeciwnicy rozwoju tej nauki jako główny powód ograniczenia badań czy też zaostrzenia kryteriów wprowadzania na rynek produktów, wskazują brak danych na temat ich negatywnego wpływu na życie człowieka i otaczające go środowisko. Badania nad szkodliwym wpływem nanocząsteczek, są więc podstawą dla rozwoju nanonauki [10].

Powstało bardzo dużo publikacji na temat zagrożeń w sektorze jakim jest nanotechnologia. W wydanej w USA książce pt. „Nanoethics” pojawia się zdanie „Może się bowiem zdarzyć, że zamiast rajy na ziemi bez śmierci, głodu i problemów z drożącą ropą, nanotechnologia stworzy nam piekło chorób, powszechnej inwigilacji lub doprowadzi do zagłady ludności.” Cytat ten jest jedną z pierwszych prób zmierzenia się z tym problemem. „Nanoethics” jest zbiorem esejów napisanych przez etyków, takich jak Fritz Allhoff z Michigan University, jak również twórców nanourządzeń, np. pioniera w tej dziedzinie Roberta R.

Frietasa. Jeden z autorów Bill Joy, który założył Sun Microsystem i stworzył język oprogramowania Java, stwierdził, iż prace w tej dziedzinie powinny zostać przerwane. Uważa on, bowiem, że wszystkie skomplikowane systemy stworzone przez człowieka są z natury niedoskonałe. Nanoetycy i niektórzy naukowcy rozważają czy nanotechnologia nie przyniesie więcej szkód niż pożytku i co bardzo ważne próbują te zagrożenia zidentyfikować i ocenić. Przeprowadzone zostały badania, w których zauważono, że po wnikięciu nanocząsteczek do układu oddechowego myszy, zostały uszkodzone jej płuca, a przyswajanie tlenu w znacznym stopniu zaburzone, co w rezultacie może prowadzić do śmierci. Johan Lehman z National Institute of Standards and Technology stwierdził, że przeciwciała produkowane przez układ odpornościowy skupiają się wokół nanocząsteczek wdychanych przez gryzonia i tworzą grupy molekuł. Powoduje to zablokowanie kanalików oskrzelowych, co w rezultacie prowadzi do uduszenia zwierzęcia. Z kolei niemiecki naukowiec Günter Oberdörster z University of Rochester, zaobserwował podobny problem u ryb, które narażone na działanie nanocząsteczek, cierpią z powodu niedotlenienia mózgu. Należy zdać sobie sprawę z tego, że potencjalne zagrożenia będą spowodowane wielkością cząsteczek, których rozmiary pozwalają im na przekroczenie niemalże każdej bariery. Nanocząsteczki są coraz częściej stosowane przy produkcji opakowań do żywności oraz warstw wyściełających sprzęt kuchenny, więc mogą z łatwością przeniknąć do układu pokarmowego człowieka. Przykładowo firma Samsung wprowadziła na rynek lodówki wyposażone w antybakteryjną powłokę z nanodrobinek srebra, które sprawiają, że żywność przechowywana w środku wolniej się psuje. Waszyngtońska organizacja ekologiczna o nazwie Friends of the Earth sądzi, że tego typu produktów jest na świecie bardzo dużo. Niestety nie ma kompleksowych badań, które świadczą o ich szkodliwości i nie można wycofać ich z rynku. Wyniki wstępnych testów opublikowane na łamach „Environmental Science” wykazały, że nanocząsteczki srebra są tak maleńkie, że bez żadnych problemów mogą pokonać barierę krew-mózg. Tym samym mogą one doprowadzić do uszkodzenia ludzkiego mózgu. Naukowcy zafascynowani możliwościami nanotechnologii, planują wprowadzenie nanocząsteczek do ludzkiego krwioobiegu w celu diagnozowania i leczenia chorób. Może się jednak okazać, że nanomaszyny zamiast pomagać będą odkładać się w tkankach i zaburzać pracę narządów czy wprowadzać toksyny [11]. Niektórzy sądzą, iż nanoprodukty znajdujące się w ludzkim organizmie nie będą pomagały w leczeniu np. nowotworów, a wręcz przeciwnie, że będą zachowywały się podobnie jak komórki rakowe. Dużym niebezpieczeństwem jest także możliwość uszkodzenia nanomaszyny i zaburzenie jej funkcjonowania. Zamiast regeneracji może dojść do degradacji komórek lub błędnego lokalizowania

niebezpieczeństwa. Twierdzi się, że tak małe twory mogą wymknąć się spod kontroli człowieka [9]. Naukowcy z University of California w San Diego (UCSD) oraz pobliskiego Veterans Affairs Medical Healthcare System w La Jolla zakończyli właśnie badania, które wykazały, że magnetyczne nanocząsteczki mogą być szkodliwe dla człowieka. Okazuje się, że tego typu cząstki o średnicy mniejszej niż 10 nanometrów hamują wzrost komórek nerwowych. Poprzednio eksperymenty *in vitro* przeprowadzone w Narodowym Instytucie Standardów i Technologii (NIST) dowiodły, iż nanorurki krótsze niż 200 nanometrów mają szkodliwy wpływ na komórki człowieka, np. fulereny C₆₀, złożone z 60 atomów węgla ułożonych w kształt piłki futbolowej mają spełniać rolę nośników leków, chociaż wiadomo, że mogą one przenosić metale ciężkie i kumulować toksyny występujące między innymi w wodzie, którą pijemy. W zależności od stopnia ich koncentracji, komórki mogą zacząć obumierać [12].

Istotnym aspektem dla społeczności międzynarodowej jest zaawansowanie technik zbrojeniowych. Nic więc dziwnego, że nanotechnologią zaczynają interesować się armie świata. W 2002 roku amerykańskie siły zbrojne utworzyły w Massachusetts Institute of Technology specjalną jednostkę o nazwie Institute for Soldier Nanotechnologies, której zadaniem jest militarne wykorzystanie nanotechnologii. Uczni z tego instytutu pracują nad stworzeniem między innymi ultralekkich mundurów i elementów wyposażenia wojskowego. Nowy sprzęt sprawiłby, że żołnierze staliby się bardziej mobilni i bezpieczniejsi. Naukowcy mają zamiar stworzyć dzięki nanotechnologii materiały o zmieniających się właściwościach, np. mundury, które dostosowywałyby barwę do otoczenia, pozwalając tym samym na bardzo dobry kamuflaż, czy też kamizelki kuloodporne, które będą twardniały w momencie uderzenia pocisku. Nanocząsteczki pozwolą na skonstruowanie śmiertelnej broni. Mocniejsze konwencjonalne ładunki, szybsze pociski, torpedy są już dzisiaj produkowane z wykorzystaniem nanoaluminium. Atomy zwykłego aluminium stanowią zaledwie 0,1% jego objętości, jednak w wersji nano są upakowane bardzo gęsto i wystarcza im tylko 50% tej samej objętości. Więcej atomów prowadzi do większej ilości miejsc, w których może dojść do reakcji chemicznej, np. powodującej wybuch.

Niepokojący staje się fakt, że nowe techniki zbrojeniowe szybko trafią w ręce terrorystów. Posiadanie skutecznych urządzeń do eliminacji i zastraszenia przez osoby i grupy przestępcze, rodzi ogromne zagrożenie. Może prowadzić to do nanoterroryzmu, czyli działań terrorystycznych z wykorzystaniem broni zbudowanej z nanomateriałów, której wykrycie będzie bardzo trudne. Mogą powstawać nowe wirusy na poziomie molekularnym, które będą dużo groźniejsze niż te istniejące. Kolejne ryzyko mogą stanowić nanosensory, które

w znaczny sposób ułatwiałyby dotarcie do poufnych danych oraz zbierania informacji, które byłyby pomocne w podejmowania działań terrorystycznych (np. określanie liczby osób w danym miejscu, położenia jednostek, identyfikacja broni itd.). Posługiwanie się nanonauką może doprowadzić do tworzenia nowej broni masowego rażenia, którą będzie można transportować w ciele człowieka, zwierzęcia czy roślinie za pomocą nanokapsulek. Przeciwdziałanie terroryzmowi jest niesłychanie trudnym problemem, jednak jeszcze trudniejszym może okazać się walka z nanoterroryzmem [9, 11].

Właśnie na te problemy uczeni, organizacje prywatne, międzynarodowe, rządowe i pozarządowe zwróciły uwagę Komisji Europejskiej podczas nieformalnych konsultacji.

W celu oceny ryzyka można korzystać z już istniejących metod, które są od dawna stosowane w zakładach chemicznych. Ażeby efektywnie ocenić negatywny wpływ danej nanocząsteczki należy:

- ocenić zagrożenie – które nanocząsteczki są szkodliwe?
- scharakteryzować zagrożenia – w jakich okolicznościach nanocząsteczki są toksyczne?
- ocenić ekspozycję i narażenie na kontakt z nanocząsteczkami – w jaki sposób ludzie i środowisko naturalne będą korelować z nanocząsteczkami?
- ocenić ryzyko – jednak dopiero po zrealizowaniu powyższych zadań, możemy wyciągnąć wnioski na temat niebezpieczeństwa poszczególnych zastosowań nanotechnologii względem zdrowia i natury.

Komisja Europejska, stawiając czoła oczekiwaniom ze strony towarzystwa naukowego finansuje między innymi następujące projekty badawcze:

- Impart: projekt dotyczy poszerzenia wiedzy na temat wpływu nanocząsteczek na zdrowie człowieka i środowisko.
- NanoDerm: projekt dotyczy badania właściwości skóry jako bariery dla nanocząsteczek i pomiarów aktywności nanocząsteczek oraz reakcji skóry.
- NanoPathology: projekt ma na celu rozwój innowacyjnych metod badania chorobotwórczych właściwości nanocząsteczek.
- Nanosafe: projekt ma na celu ocenę ryzyka, jakie niosą ze sobą nanocząsteczki w procesie produkcji jak i w gotowych produktach.
- Nanosafe2: projekt ma na celu ocenę bezpieczeństwa produkcji i użytkowania nanocząsteczek.
- Nanotransport: projekt ma na celu użycie nanocząsteczek w badaniach toksykologicznych w realnych warunkach testowych.

- Particle-risk: projekt ma na celu rozwój metod służących do oceny zagrożeń ze strony nowych rodzajów nanocząsteczek.
- Polysoa: projekt ma na celu dostarczenie podstawowych informacji na temat oceny ryzyka dla zdrowia, jakie niesie ze sobą nowa kategoria zanieczyszczeń przenoszonych przez powietrze [9].

Obecnie szacuje się, że Narodowa Fundacja Nauki spędza 10-krotnie więcej czasu na badaniach nad nowymi nanomateriałami, niż na badaniach nad wyeliminowaniem ich toksycznego oddziaływania. Tysiące firm pracuje obecnie nad rozwojem magnetycznych nanocząsteczek i zastosowaniem ich w bio- i nanotechnologii. Bardzo popularnym materiałem są nanocząstki tlenku żelaza, o których dotychczas sądzono, że są obojętne dla organizmów żywych. Najnowsze badania wykazały, że mogą być niebezpieczne. Odkryto, że w obecności tego rodzaju nanocząsteczek, jeżeli są one mniejsze niż 10 nm, neurony nie reagują na bodźce chemiczne i zamiast ułatwiać przesyłanie sygnałów, przechodzą w stan uśpienia [11].

Nanotechnologia jest bardzo młodą dziedziną nauki. Nie można obecnie jednoznacznie określić czy jest ona bezpieczna, ponieważ wciąż brakuje szczegółowych badań na jej temat. Obecne metody stosowane do badań nanomateriałów opierają się na tradycyjnych analizach toksyczności produktów chemicznych. Jednak poważny problem stanowią zmieniające się właściwości nanomateriału, które mogą się znacząco różnić już przy niewielkiej zmianie morfologicznej tego samego nanododatku. Nawet zmiana o 1 nm, może całkowicie zmienić właściwości materiału, co w rezultacie będzie wymagało nowej serii analiz. Aczkolwiek określenie toksyczności nanomateriału jedynie w oparciu o badania przeprowadzone na laboratoryjnie wyhodowanych komórkach, jest także niewskazane, ponieważ nanomateriały często w inny sposób zachowują się w izolowanych układach, a inaczej w normalnym środowisku. Pomimo trudności ze zbadaniem oddziaływania nanomateriałów, naukowcy odkryli, że niektóre nanocząsteczki mają negatywny wpływ na organizm ludzki i otaczający go świat.

Ditlenek tytanu w formie nanocząsteczek skutecznie reaguje z zawartymi w powietrzu zanieczyszczeniami chemicznymi. Proces ten prowadzi do powstawania niebezpiecznych dla zdrowia związków chemicznych. Jest to poważny problem, ponieważ ditlenek tytanu w formie nanocząsteczek jest szeroko wykorzystywany w przemyśle. Stosuje się go między innymi przy pokrywaniu zewnętrznych powierzchni budynków. Chodzi tu głównie o elewacje czy szyby, które dzięki obecności tych nanocząsteczek, ulegają samoistnemu czyszczeniu. Początkowo producenci reklamowali swoje produkty także jako doskonale układy oczyszczające powietrze. Okazało się jednak, że część

reagujących związków chemicznych z nanocząstkami ditlenku tytanu zostaje przekształcona w substancje znacznie bardziej zagrażające zdrowiu ludzi, niż ich zawarte w powietrzu prekursorzy.

W celu zbadania tego problemu naukowcy modelowali warunki, jakie panują w otoczeniu szyb zawierających warstwę nanocząstek ditlenku tytanu (tzw. szyby samoczyszczące), oświetlając szybę światłem ultrafioletowym (UV). Promieniowanie UV, generowane przez lampę, czy jako światło słoneczne, aktywuje nanocząstki dwutlenku tytanu, które w kontakcie z zawartym w powietrzu tlenkiem azotu (NO₂) inicjują reakcję przekształcenie NO₂ w kwas azotawy - azotowy (III), HONO - w postaci gazu. W przeprowadzonym eksperymencie, wytwarzane przez warstwę dwutlenku tytanu związki chemiczne były analizowane za pomocą bardzo czułej aparatury - BBCEAS (ang. broadband cavity enhanced absorption spectroscopy). Jak dowiodły badania, aktywowany TiO₂ nie tylko generuje kwas azotawy (środek silnie drażniący układ oddechowy), ale również rodniki tlenowe, hydroksylowe oraz lotne organiczne zanieczyszczenia. Naukowcy twierdzą, iż konieczne jest szybkie i dokładne przebadanie wpływu aktywnych fotochemicznie szyb czy elewacji (w tym również - a może przede wszystkim - farb stosowanych w przestrzeniach zamkniętych) na stan zanieczyszczenia atmosfery, gdyż potencjalne szkody, jakie te powierzchnie mogą wyrządzić środowisku oraz ludziom, będą trudne do naprawienia [13].

Nanorurki są to struktury, które występują w postaci pustych w środku walców. Ścianki nanorurek węglowych zbudowane są ze zwiniętego grafenu – jednoatomowej warstwy grafitu. Najcieńsze nanorurki węglowe to takie o średnicy 1 nm, a których długość może być milion razy większa. Nanorurki węglowe charakteryzują się nieprzeciętną wytrzymałością na rozrywanie. Posiadają niezwykle własności elektryczne i znakomicie przewodzą ciepło. Patrząc na nanorurki węglowe pod kątem chemii kwantowej zbudowane są one jedynie z wiązań sp². Wiązania te są mocniejsze od wiązań sp³ tworzących diament, co sprawia, że nanorurki posiadają większą wytrzymałość. Nanorurki samoczynnie zlepiają się w włókna za pomocą oddziaływań Van der Waalsa. Pod dużym ciśnieniem można przekształcić część wiązań sp² w sp³, tworząc z nich niezwykle trwałe materiały takie jak ADNR czyli alotropową odmianę węgla. Jest to najtrwalszy i najmniej ściśliwy materiał znany obecnie na świecie. Ze względu na swoje właściwości nanorurki węglowe są bardzo chętnie wykorzystywane w przemyśle.

Obecnie prowadzi się wiele badań związanych z bezpieczeństwem wykorzystywania nanorurek. Okazuje się, że niektóre formy nanorurek mogą uszkadzać nasz układ oddechowy, a nawet prowadzić do powstania nowotworu

zwanego międzybłoniakiem opłucnej. Naukowcy zaczęli interesować się wpływem nanorurek na organizm ludzki, ponieważ są one strukturalnie podobne do azbestu, który powoduje pylice i wiele nowotworów płuc. Uczeni z Uniwersytetu w Edynburgu pod przewodnictwem prof. Kennetha Donaldsona badali zdolność kilku rodzajów materiałów do wywoływania specyficznej odpowiedzi organizmu sygnalizującej powolny rozwój międzybłoniaka opłucnej (łac. mesothelioma). Grupa badanych substancji obejmowała włókna azbestowe o różnej długości, krótkie i długie nanorurki, a także węgiel aktywny. Próbkę poszczególnych materiałów wszczepiano do jamy brzusznej myszy, analizując później rozwój odpowiedzi organizmu. Dzięki temu można było określić prawdopodobieństwo powstania w późniejszym etapie nowotworu. Wyniki badań nie pozostawiają złudzeń: długie i cienkie nanorurki, podobnie jak podłużne formy azbestu, mają kształt, który niezwykle sprzyja powstawaniu groźnych dla zdrowia przewlekłych stanów zapalnych. Ich podłużny kształt sprawia, że dostają się do płuca i powodują tam mikrouszkodzenia. Wiele pytań dotyczących nanorurek wciąż pozostaje jednak bez odpowiedzi. Nie zbadano na przykład, czy materiał ten ma w ogóle zdolność unoszenia się w powietrzu, nie została też określona jego zdolność do penetracji płuc. Wstrzykiwanie do jamy brzusznej miało, bowiem na celu jedynie zbadanie, czy chemiczne właściwości węglowego tworzywa są w stanie spowodować patologiczne zmiany w tkance. Na szczęście, naukowcy dostarczają też informacji pozytywnych związanych z nanorurkami węglowymi. Krótkie oraz skręcone nanorurki węglowe nie zachowują się jak azbest, z kolei mając świadomość możliwych zagrożeń wywołanych przez długie, wąskie nanorurki, możemy pracować nad sposobami ich kontrolowania. To dobra, a nie zła wiadomość, ponieważ dzięki temu posiadamy informacje, że wykonane z nich produkty mogą być bezpieczne. Jednocześnie zastrzega się, że analiza nie objęła wszelkich możliwych szkód, które mogłyby zostać spowodowane przez nieostrożne obchodzenie się z tym materiałem [14].

Istnieje bardzo mało publikacji, które informują o niebezpiecznym działaniu cząsteczek nanosrebra, wręcz przeciwnie przedstawiany jest jako produkt bezpieczny dla otoczenia. Gram srebra rozdrobiony do skali nano ma powierzchnię czynną liczoną w setkach metrów kwadratowych i wykazuje ogromny potencjał biobójczy. Co najważniejsze, jest to działanie długotrwałe, tak długie jak czas pozostawania nanocząsteczki w miejscu przeznaczenia. Po odkryciach możliwości uzyskiwania nanocząstek srebra rozpoczął się wysyp wszelkiego rodzaju środków biobójczych, impregnatów, farb, lakierów, płynów do mycia powierzchni, szamponów do dywanów, bandaży, opatrunków, sprzętów i protez medycznych, wykładzin podłogowych i ściennych, wnętrza lodówek

i odkurzaczy, filtrów, szczoteczek do zębów, bidonów, butelek i smoczków dla dzieci, past do zębów, mydeł, dezodorantów, kremów czy polimerowych opakowań ze srebrem.

Pojawiły się jednak opinie, iż tak szerokie zastosowanie nanosrebra, może mieć poważne następstwa. Paul Westerhoffi Troy i M. Benn z Arizona State University wykazali, że zwykłe pranie może uwalniać z impregnowanej srebrem tkaniny znaczące ilości cząsteczek srebra. Wraz ze ściekami przedostają się one do zbiorników wodnych, gdzie mogą szkodzić zwierzętom, a być może także ludziom. Bakteriobójcze nanocząsteczki srebra występują między innymi w skarpetkach, dlatego zostały one wykorzystane do eksperymentu. Badacze zakupili 6 par takich skarpet i moczyli je w wodzie destylowanej o temperaturze pokojowej, następnie potrząsali i mierzyli poziom jonów i nanocząsteczek srebra w wodzie. W rezultacie okazało się niektóre technologie wiążą srebro z tkaninami lepiej, zaś inne gorzej. Z jednych skarpetek całe srebro znikало po kilku praniach, z innych - w ogóle się nie uwalniało. To wypłukane z tkanin srebro trafia do ścieków, a następnie do zbiorników wodnych. Obecność jonów srebra może szkodzić całemu ekosystemom w nich istniejących, na przykład uszkadzać skrzela ryb. Na razie nie jest jasne czy i na ile szkodliwe jest srebro w postaci nanocząsteczek [15].

Ze względu na szereg wątpliwości związanych z bezpieczeństwem stosowania nanomateriałów i dalszego rozwoju nanotechnologii należy podjąć odpowiednie działania, które zabezpieczą naszą planetę przed jej szkodliwym działaniem.

Rozwój nanotechnologii to jeden z ważniejszych trendów rozwoju nauki i technologii w skali globalnej. Obecnie najwięcej inicjatyw w tej dziedzinie podejmowanych jest w USA, Japonii i Unii Europejskiej, charakteryzują się one porównywalnym poziomem inwestycji rządowych przeznaczonych na ten cel. W styczniu 2000 roku w USA powstał pierwszy spójny narodowy program rozwoju nanotechnologii. Uruchomiono wówczas przy udziale niezbędnych agencji federalnych, sektora prywatnego i uczelni – Narodową Inicjatywę na Rzecz Nanotechnologii. Wydarzenie to spowodowało, że także inne kraje rozpoczęły pracę nad strategią rozwoju nanotechnologii. Przypuszcza się, że już w ok. 30 krajach opracowuje się narodowe strategie rozwoju nanonauki i nanotechnologii. Unia Europejska wyznaczyła kierunki działań, które mają na celu utrzymanie i wzmocnienie zaangażowania w zakresie nanonauk i nanotechnologii w krajach Europy. Powstało wiele dokumentów na ten temat, między innymi: *Nanotechnology and Nanoscience, Action Plan for Europe 2005-2009* oraz *Towards European Strategy for Nanotechnology*. Do najważniejszych programów unijnych, które wspierają rozwój nanotechnologii należą programy

ramowe, szczególnie Szósty i Siódmy Program Ramowy. W programach tych wyznaczono priorytet tematyczny: „Nanonauki i nanotechnologie, materiały, nowe technologie produkcyjne”. Podobne programy opracowuje się również w krajach Europy Wschodniej. Jeśli chodzi o Azję, gotowymi strategiami rozwoju mogą pochwalić się Chiny, a także Korea Południowa. Tego typu inicjatywy podjęła również Ameryka Północna oraz Australia [16].

Gwałtowny rozwój nanotechnologii, która oferuje znaczący potencjał poprawy jakości życia i konkurencyjności przemysłu na świecie, nie powinien ulegać opóźnieniom czy zakłóceniom. Nie możemy jednak pozostawić go przypadkowi ze względu na związane z nim globalne zagrożenia. To właśnie, dlatego odpowiedzialny rozwój nanotechnologii obejmuje wspieranie podstawowych odkryć, badań oraz innych działań mających na celu zrozumienie potencjalnego ryzyka związanego z produkcją i zastosowaniem nanomateriałów. Ocena ryzyka związanego z zastosowaniem nanoproduktów stała się tematem, któremu należy poświęcić coraz większą uwagę. Do tej pory powstało wiele publikacji na temat zagrożeń dla środowiska i zdrowia człowieka, związanych z produkcją, zastosowaniem, dystrybucją oraz sprzedażą. Stany Zjednoczone oraz Komisja Europejska wprowadzają strategie, które pozwolą na zwiększenie bezpieczeństwa zarówno ludzi jak i środowiska naturalnego. Wszelkie działania o charakterze interdyscyplinarnym, transdyscyplinarnym czy integracyjnym są bardzo potrzebne ze względu na charakter nanotechnologii. Do budowania nanostruktur wykorzystuje się między innymi metody fizyczne, chemiczne, biologiczne oraz z zakresu inżynierii materiałowej. Zastosowania techniczne nanotechnologii w tak szerokim zakresie będą miały ogromny wpływ na zdrowie, bezpieczeństwo obywateli, rozwój nowych źródeł energii oraz ochronę środowiska i zasobów naturalnych.

Ilość i zakres międzynarodowych projektów badawczych i rozwojowych w dziedzinie nanotechnologii będzie się systematycznie zwiększać. Świadczy o tym prawie 3-krotny wzrost budżetu w 7. Programie Ramowym Unii Europejskiej. Doszło do zawarcia wielu znaczących umów, między innymi: Unia Europejska z amerykańską

National Science Foundation, stanu Nowy York (USA) z Quebec (Kanada), Rosji z Chinami. Szczególny nacisk kładziony jest na poprawę komunikacji, tworzenie mechanizmów wymiany osób i pomysłów, rozwój partnerstwa badawczo – rozwojowego i zwiększania efektywności ekonomicznej. Powstaje światowa sieć nanotechnologii. Planuje się stworzenie globalnej strategii, która będzie obejmowała wszystkie istniejące programy poszczególnych krajów, społeczności naukowych i organizacji międzynarodowych.

Wszystkie strategie i programy rozwoju nanotechnologii, opracowywane i

wdrażane w poszczególnych krajach, mimo różnic dotyczących przede wszystkim szczegółowych kierunków prac i perspektywy czasowej osiągnięcia założonych celów, mają pewne elementy wspólne, uznane za istotne w większości krajów. Głównie są to:

- tworzenie sieci ukierunkowanych na wspólne budowanie i wykorzystanie aparatury badawczej i testowej przez instytuty badawcze, uczelnie i przemysł,
- tworzenie najwyższej klasy ośrodków badawczych, pełniących rolę kreatorów badań i innowacji technicznych,
- opracowanie standardów dla nanotechnologii,
- promowanie interdyscyplinarnych analiz i badań,
- wzmacnianie współpracy międzynarodowej,
- przyciąganie młodych talentów.

Ze względu na stosowanie nanotechnologii w wielu dziedzinach przemysłu i braku wyczerpujących informacji dotyczących konsekwencji społecznych i zdrowotnych korzystania z nanotechnologii, podejmuje się działania, które mają na celu przygotowanie stosownych zapisów normujących rozwój tej dziedziny.

Kongres Stanów Zjednoczonych uchwalił ustawę zwaną *Nanotechnology Research and Development Act*, która stanowi podstawę prawną koordynacji działań mających na celu rozwój nanotechnologii. Ustawa ta określa formalne ramy dyskusji nad nanotechnologią i jej wpływem na społeczeństwo. Ponadto powołano instytucje o charakterze ogólnokrajowym, których działalność jest koordynowana przez rząd, jak np.: *The National Nanotechnology Coordination Office* i *Environmental Protection Agency*. Celem tych instytucji jest udzielanie wszelkich informacji społeczeństwu o potencjalnych zagrożeniach, wynikających ze stosowania nanotechnologii oraz koordynowanie prac instytucji naukowo-badawczych i działań sektora przemysłowego.

Obok inicjatyw koordynowanych przez rząd powstały w USA także społeczne organizacje, np.: *The Center for Responsible Nanotechnology*, których zadaniem jest monitorowanie zastosowań nanotechnologii. W Stanach Zjednoczonych jedną z ważniejszych jest agencja federalna o nazwie National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). Prowadzi ona badania, na podstawie, których dostarcza wytyczne, mające uchronić społeczeństwo przed konsekwencjami związanymi ze złym wykorzystaniem nanotechnologii. NIOSH zajmuje się głównie zabezpieczaniem pracowników mających styczność z nanocząsteczkami, wynalazców produktów, producentów, placówek ochrony zdrowia, naukowców oraz konsumentów przed negatywnym wpływem nanotechnologii. Oferuje wyznaczanie nowych zasad pracy z nanomateriałami

zgodnie z najlepszą wiedzą naukową. Publikuje nowe ustalenia i zalecenia, które są związane z ciągłym postępem w tej jakże szybko rozwijającej się technologii. NOISH współpracuje z partnerami z całego świata w celu opracowania internetowej Nanotechnology Information Library (NIL). Celem NIL jest niesienie pomocy dla pracowników służby zdrowia, zakładów przemysłowych, grup pracowników i naukowców, a także organizowanie i udostępnianie informacji na temat nanomateriałów, w tym także bezpieczeństwa i higieny pracy związanych z ich właściwościami. W tej internetowej bibliotece będzie można znaleźć wszelkie niezbędne informacje dotyczące nanotechnologii, tak, aby każdy mógł bezpiecznie korzystać z jej dóbr [17].

W Unii Europejskiej, decyzją Komisji Europejskiej z dnia 3 marca 2004 r., powołano komitety naukowe, których zadaniem jest zapewnienie bezpieczeństwa konsumentów, ochrona zdrowia publicznego i środowiska. Określenie potencjalnego ryzyka związanego, między innymi z nanotechnologią jest celem działania *Komitetu Naukowego ds. Pojawiających się i Nowo Rozpoznawalnych Zagrożeń dla Zdrowia*. Etyczne aspekty zastosowań nanotechnologii bada *Europejska Grupa ds. Etyki*. W Polsce dotychczas nie istnieją uregulowania prawne, dotyczące bezpiecznego wykorzystania nanotechnologii. Prowadzone w tym zakresie prace powinny być skorelowane z działaniami unijnymi oraz uwzględniać potrzeby i warunki polskie. W celu minimalizacji zagrożeń wynikających z wykorzystania nanotechnologii należy:

- Kontynuować badania wpływu nanotechnologii na człowieka i środowisko naturalne,
- Prowadzić dialog społeczny na temat nanotechnologii,
- Zwiększyć wiedzę społeczeństwa o korzyściach i zagrożeniach nanotechnologii,
- Powołać organizacje, mające na celu rozpoznawanie ryzyka związanego z zastosowaniem nanotechnologii,
- Rozwinąć współpracę międzynarodową, mającą na celu wypracowanie jednolitych uregulowań prawnych, określających zasady prowadzenia badań nad nanotechnologią i sposoby wykorzystywania norm i baz danych.

Wszelkie działania w zakresie uregulowań dotyczących zastosowania nanotechnologii, ze szczególnym uwzględnieniem kwestii etyki, powinny być prowadzone z udziałem zarówno środowiska naukowego, przedstawicieli przemysłu, jak i społeczeństwa.

Działania Komisji do Rady Parlamentu Europejskiego i Europejskiego Komitetu Ekonomiczno-Społecznego Nanonauka i Nanotechnologia: Plan działań dla Europy na lata 2005-2009. Pierwsze sprawozdanie z realizacji za

lata 2005-2007 (punkt 6) opisuje te zadania w następujący sposób:

**ZDROWIE PUBLICZNE, BEZPIECZEŃSTWO,
OCHRONA ŚRODOWISKA I KONSUMENTÓW**

Nanonauka i Nanotechnologia [NiN] oferują wiele korzystnych zastosowań, jednak potencjalny wpływ pewnych „nanomateriałów” i „nanoproduktów” na środowisko i zdrowie ludzkie nie jest jeszcze w pełni znany. Głównym celem prac Komisji w dziedzinie zdrowia, bezpieczeństwa i ochrony środowiska jest umożliwienie bezpiecznego rozwoju i wykorzystania NiN oraz zapewnienie społeczeństwu możliwości skorzystania z wynikających z nich innowacji przy zachowaniu ochrony przed niekorzystnymi skutkami. W tym celu wykorzystuje się różne podejścia, regulacyjne i inne:

- zbadanie, czy obecne ramy prawne zapewniają wystarczającą ochronę, czy też potrzebne są zmiany lub nowe przepisy;*
- udoskonalenie podstaw wiedzy poprzez badania, komitety naukowe, wymianę informacji i współpracę, także na poziomie międzynarodowym;*
- angażowanie społeczeństwa poprzez dialog zainteresowanych stron, dobrowolne inicjatywy itd.*

Przegląd ram regulacyjnych

Komisja kończy właśnie przegląd obecnie obowiązujących przepisów w celu określenia, czy wymagane są nowe działania regulacyjne mające za zadanie zabezpieczenie przed ryzykiem związanym ze stosowaniem nanomateriałów. Wstępne wyniki wskazują, że istniejące przepisy zasadniczo uwzględniają kwestie zdrowia i wpływu na środowisko. Na podstawie wyników badań naukowych w określonych dziedzinach mogą jednak zostać zaproponowane zmiany w przepisach. Dokonując przeglądu Komisja weźmie pod uwagę sprawozdania państw członkowskich dotyczące luk w prawodawstwie.

Jednakże podstawowym środkiem ochrony zdrowia, bezpieczeństwa i środowiska pozostaje poprawa stosowania obecnie obowiązujących przepisów. Dlatego organy krajowe i Komisja muszą przede wszystkim sprawdzić, czy niezbędne jest uaktualnienie obecnie obowiązujących tekstów, na przykład przepisów wykonawczych, norm i wytycznych technicznych, w szczególności w odniesieniu do oceny ryzyka. Do tego czasu, biorąc pod uwagę nieprzerwany napływ nowych danych, stosowane będą indywidualnie dotychczasowe metody. W odpowiednich przypadkach należy zastosować istniejące mechanizmy prawne w odniesieniu do progów, zatwierdzania substancji i składników, kwalifikowania niebezpiecznych odpadów, zaostrzania procedur oceny zgodności, ograniczeń w zakresie wprowadzania substancji chemicznych i preparatów do obrotu i ich wykorzystania itd.

Szczególną uwagę należy zwrócić na różne mechanizmy zezwalające

organom i agencjom odpowiedzialnym za stosowanie przepisów prawa na interwencję poprzez wykorzystanie środków takich jak klauzule ochronne i systemy ostrzegania na wypadek stwierdzenia ryzyka związanego z produktami wprowadzonymi już do obrotu. Organy będą musiały również zapewnić, aby w zaproszeniach do składania wniosków w ramach 7PR uwzględniono priorytety regulacyjne oraz, aby wyniki badań zostały poddane kontroli pod kątem ich użyteczności prawnej.

Ograniczenie braków wiedzy

Od 2005 r. panuje powszechne przekonanie o konieczności zdobycia wiedzy naukowej na temat bezpieczeństwa produkowanych nanomateriałów. Określono priorytety na poziomie krajowym, unijnym i międzynarodowym i podjęto szereg inicjatyw związanych z:

- danymi dotyczącymi potencjalnych zagrożeń dla ludzi i środowiska oraz metodami ich pozyskania;*
- danymi dotyczącymi narażenia przez cały cykl życia nanomateriałów lub produktów je zawierających oraz metodami oceny narażenia;*
- metodami pomiarów i klasyfikacji nanomateriałów, materiałami referencyjnymi, pobieraniem próbek i metodami analitycznymi w związku z narażeniem.*

Na prośbę Komisji Komitet Naukowy ds. Pojawiających się i Nowo Rozpoznanych Zagrożeń dla Zdrowia (SCENIHR) po przeprowadzeniu konsultacji publicznych przyjął w dniu 10 marca 2006 r. opinię w sprawie oceny ryzyka w związku z nanotechniką. Zdaniem SCENIHR istniejące metody toksykologiczne i ekotoksykologiczne są odpowiednie dla oceny wielu zagrożeń związanych z nanocząsteczkami, jednak mogą okazać się niewystarczające dla oceny wszystkich zagrożeń. Z powodu tego braku pewności obecnie stosowane procedury oceny ryzyka powinny zostać dostosowane do nanocząsteczek. Potwierdzono istnienie braków wiedzy w dziedzinach takich jak klasyfikacja, wykrywanie i pomiary nanocząsteczek, ich los i utrzymywanie się w organizmach ludzi i w środowisku oraz we wszystkich dziedzinach toksykologii i ekotoksykologii związanych z nanotechnologią. Kwestie te należy rozwiązać, aby umożliwić przeprowadzenie satysfakcjonującej oceny zagrożenia dla ludzi i ekosystemów.

Dlatego Komisja poprosiła SCENIHR o dokonanie bardziej szczegółowej analizy obecnie stosowanej metodyki oceny ryzyka określonej w instrukcjach technicznych dotyczących substancji chemicznych. Opinia komitetu została przyjęta w dniach 21-22 czerwca 2007 r. po przeprowadzeniu konsultacji publicznych. SCENIHR stwierdził, że obecna metodyka jest na ogół w stanie zidentyfikować zagrożenia związane z wykorzystaniem nanocząsteczek,

jednak niezbędne będą zmiany w istniejących instrukcjach. Określono wymagające poprawienia kwestie w instrukcjach technicznych i metodyce oraz zaproponowano stopniową strategię oceny ryzyka w przypadku nanomateriałów. W odniesieniu do kosmetyków Komisja poprosiła Komitet Naukowy ds. Produktów Konsumenckich o dokonanie przeglądu i w stosownych przypadkach dostosowanie wytycznych w sprawie badania składników oraz o dokonanie oceny bezpieczeństwa nanocząsteczek używanych jako składnik kosmetyków. W dniu 19 czerwca 2007 r. komitet zatwierdził opinię przeznaczoną do konsultacji publicznych, stwierdzając że w świetle najnowszych informacji konieczne jest dokonanie przeglądu bezpieczeństwa nanomateriałów używanych w filtrach przeciwśłonecznych. Podkreślono możliwy wpływ zmian fizjologicznych skóry i działań mechanicznych na przenikanie przez skórę.

Badania dotyczące bezpieczeństwa

Wsparcie finansowe Komisji dla NiN (sekcja 1) wyraźnie obejmuje badania dotyczące bezpieczeństwa. Ogólny cel to wsparcie jak najwcześniejszej naukowej oceny potencjalnych zagrożeń dla zdrowia, bezpieczeństwa i środowiska związanych z materiałami i produktami nanotechnicznymi, tak aby uzupełnić braki wiedzy i stworzyć podstawę pozwalającą na spełnienie wymogów prawnych. Jeżeli zajdzie taka potrzeba, badania będą mogły przyczynić się do opracowania nowych wymogów dotyczących bezpiecznego, odpowiedzialnego i zrównoważonego rozwoju NiN. Tematy pierwszej serii zaproszeń do składania wniosków 7PR obejmują łatwe w obsłudze urządzenia przenośne, wpływ zaprojektowanych nanocząsteczek na zdrowie i środowisko oraz krytyczny przegląd danych, bazę danych z komentarzem na temat wpływu nanocząsteczek, koordynację badań nad wpływem materiałów i produktów nanotechnicznych oraz alternatywne strategie oceny toksykologicznej nanocząsteczek wykorzystywanych w diagnostyce medycznej.

Natomiast JRC koncentruje się na opracowaniu i harmonizacji metod klasyfikacji i badań toksyczności wyprodukowanych nanomateriałów (np. pomiary rozmiarów cząsteczek, badania in vitro reprezentatywnego zbioru nanomateriałów na krytycznych liniach komórkowych), powiązanych badaniach materiałów referencyjnych i dozimetrii, badaniach dotyczących zastosowania metod modelowania matematycznego w celu oceny właściwości nanocząsteczek, w tym ich toksyczności, oraz na rozwoju baz danych.

W kontekście EPT dotyczącej zrównoważonej chemii (SusChem) stworzono szereg dokumentów, takich jak kodeks postępowania w dziedzinie nanotechnologii, wytyczne dotyczące bezpiecznej produkcji i działań związanych z nanocząsteczkami w zakładach pracy oraz szczegółowe informacje dotyczące klasyfikacji nanomateriałów. Podczas konferencji dotyczącej bezpieczeństwa w

zakresie nanotechniki (Nanosafety Hub), zorganizowanej w Brukseli w marcu 2007 r. przez EPT zajmującą się bezpieczeństwem przemysłowym (ETPIS), omówiono postęp w dziedzinie technologii monitorowania toksyczności nanocząsteczek oraz kwestie bezpieczeństwa pracy i środowiska naturalnego w powiązaniu z nanomateriałami. W tym kontekście należy zauważyć dobrowolne działania przedstawicieli przemysłu, takie jak publikacja wytycznych dotyczących bezpiecznej produkcji nanomateriałów i operowania nimi w zakładach pracy.

Współpraca międzynarodowa w dziedzinach zdrowia i środowiska naturalnego

Szereg kwestii związanych z bezpieczeństwem wymaga współpracy międzynarodowej, jak np. opracowanie wspólnej nomenklatury, norm i metod badawczych w celu zapewnienia porównywalności danych na całym świecie oraz międzynarodowej harmonizacji metod wykorzystywanych w celach regulacyjnych. Głównym forum koordynacji działań na poziomie międzynarodowym jest grupa robocza OECD poświęcona wyprodukowanym nanomateriałom. Grupa działa według programu roboczego, w którym określono sześć projektów szczegółowych, zajmujących się między innymi kwestiami braków wiedzy w odniesieniu do wpływu na zdrowie i środowisko, bazami danych, systemami badawczymi, wytycznymi, metodyką oceny ryzyka oraz wymianą informacji dotyczących dobrowolnych projektów i podejścia do kwestii regulacyjnych. Komisja przy wsparciu komitetów naukowych i innych organów europejskich będzie w dalszym ciągu przyczyniać się do tych działań międzynarodowych. Ważny element stanowią również działania ISO/TC 29 mające na celu stworzenie standardowych metod i nomenklatury, w które zaangażowane są już Komisja i państwa członkowskie.

Finansowanie w ramach 7PR mogą otrzymać zespoły naukowców z prawie wszystkich państw świata. Przeprowadzono intensywne dyskusje z różnymi agencjami federalnymi USA w odniesieniu do możliwości stworzenia skoordynowanego zaproszenia obejmującego prace badawcze prowadzone po obu stronach Atlantyku. Dlatego z zadowoleniem należy przyjąć fakt, że amerykańskie agencje EPA, NSF i DoE wspólnie zachęcają naukowców amerykańskich do współpracy z zespołami europejskimi. Zalecenie, aby naukowcy europejscy współpracowali z amerykańskimi, stanowiło część pierwszego zaproszenia do składania wniosków w ramach 7PR.

Komisja Europejska, amerykańska agencja ochrony środowiska (Environmental Protection Agency) i Woodrow Wilson International Centre for Scholars (międzynarodowe centrum naukowców im. Woodrowa Wilsona) zorganizowały w październiku 2006 r. warsztaty poświęcone ocenie cyklu życia

produktów nanotechnicznych” [18].

Komisja Europejska stwierdza, że postępowi technicznemu muszą towarzyszyć naukowe analizy i oceny potencjalnych zagrożeń dla zdrowia i środowiska. Głównym założeniem europejskiej polityki w zakresie nanotechnologii stało się „zintegrowane, bezpieczne i odpowiedzialne podejście”. W komunikacie „Nanonauka i nanotechnologie: Plan działań dla Europy na lata 2005-2009” [13], stwierdzono, że wszelkie zastosowania i wykorzystania nanonauki i nanotechnologii muszą zapewniać wysoki poziom ochrony zdrowia publicznego, bezpieczeństwa, konsumentów i pracowników oraz środowiska. Komisja zarządziła w związku z tym przegląd regulacyjny prawodawstwa UE w odpowiednich sektorach. Jednak obejmuje to wyłącznie nanomateriały, które są obecnie produkowane lub wprowadzane do obrotu. Komunikat nie dotyczy nanomateriałów ani nanocząstek występujących naturalnie lub powstających w sposób niezamierzony, np. w wyniku spalania.

Akty prawodawstwa mające istotne znaczenie dla kwestii zdrowia, bezpieczeństwa i ochrony środowiska w kontekście nanomateriałów można przyporządkować do kilku kategorii aktów dotyczących:

- chemikaliów,
- ochrony pracowników,
- ochrony produktów,
- ochrony środowiska.

Szczególnym wyzwaniem pozostaje wprowadzanie prawodawstwa i stosowanie przewidzianych w nim instrumentów regulacyjnych. Dokumenty przyjęte w kontekście obowiązującego prawodawstwa na potrzeby jego wdrażania, głównie jeśli chodzi o ocenę ryzyka, wymagają przeglądu w celu zagwarantowania ich skuteczności w przeciwdziałaniu zagrożeniom. Również właściwe organy i agencje będą musiały zwrócić szczególną uwagę na zagrożenia związane z nanomateriałami w sytuacjach, w których produkty podlegają kontroli na etapie produkcji i przed ich wprowadzeniem do obrotu. Dla odpowiedniego opracowywania, modyfikowania, a zwłaszcza wdrażania prawodawstwa, konieczne jest rozwijanie jego podstaw naukowych. Dlatego też w niniejszym komunikacie zwraca się uwagę zarówno na tworzenie, wdrażanie prawodawstwa, jak i na uzupełnianie braków wiedzy. W tym kontekście ważny jest także kodeks postępowania dotyczący odpowiedzialnego prowadzenia badań w dziedzinie nanonauk i nanotechnologii. Kodeks postępowania jest uzupełnieniem prawodawstwa i stanowi dla państw członkowskich, pracodawców, podmiotów finansujących badania, naukowców oraz, bardziej ogólnie, wszystkich osób i organizacji społeczeństwa obywatelskiego prowadzących badania w dziedzinie nanonauk i nanotechnologii lub zainteresowanych takimi badaniami wytyczne.

Celem ich jest przyjęcie odpowiedzialnego i otwartego podejścia do badań w dziedzinie nanonauk i nanotechnologii we Wspólnocie [14].

Nanomateriały wprowadzane są na rynek zgodnie z rozporządzeniami REACH. Stanowią one ogólny akt prawny mający zastosowanie do produkcji, wdrażania do obrotu, a także wykorzystywania poszczególnych substancji oraz substancji wchodzących w skład preparatów lub wyrobów. Podstawą REACH jest zasada, zgodnie z którą do producentów, importerów, jak również dalszych użytkowników należy zagwarantowanie, iż substancje które produkują, wprowadzają do obrotu lub stosują, nie wpływają w sposób szkodliwy na zdrowie człowieka czy środowisko.

REACH nie zawiera przepisów, które bezpośrednio dotyczą nanomateriałów, ale zakres definicji „substancji” zawartej w tym rozporządzeniu obejmuje także nanomateriały. REACH nakazuje producentom oraz importerom złożenie dokumentów rejestracyjnych w odniesieniu do substancji produkowanych lub przywożonych przez te podmioty w ilościach równych lub przekraczających 1 tonę rocznie. Przy ilościach równych lub przekraczających 10 ton rocznie podmiot rejestrujący jest zobowiązany do przedstawienia raportu bezpieczeństwa chemicznego. Co więcej, jeśli jest to uznane za konieczne dla oceny substancji, Europejska Agencja Chemikaliów może zażądać informacji na temat danej substancji, niezależnie od minimalnych wymogów informacyjnych ustanowionych w REACH. Jeżeli dana substancja chemiczna, która istnieje już na rynku w postaci masowej, jest wprowadzana do obrotu w formie nanomateriału, wymagana jest aktualizacja dokumentów rejestracyjnych z uwzględnieniem szczególnych właściwości tej substancji w formie nanomateriału. Obowiązkiem jest także wzięcie pod uwagę w tych dokumentach dodatkowych informacji na temat substancji, w tym także tych dotyczących odrębnej klasyfikacji i oznaczenia tej substancji w formie nanomateriału. Należy także uwzględnić informacje związane z negatywnym działaniem danego nanomateriału. Dlatego wszelkie wiadomości na temat środków jakie należy podjąć w celu zmniejszenia ryzyka złego działania nanomateriału oraz warunków na temat jego zastosowania, będą musiały być przekazane podmiotom tworzącym łańcuch dostaw.

Z uwagi na pewne szczególne właściwości i zagrożenia związane z nanomateriałami mogą być wymagane dodatkowe testy lub informacje. Wyznaczenie konkretnych zagrożeń związanych z nanosubstancjami może wymagać zmiany obecnych wytycznych dotyczących przeprowadzania testów. Do czasu sformułowania wytycznych odnoszących się konkretnie do testowania nanomateriałów, wszelkie testy będą musiały być przeprowadzane według dotychczasowych metod.

Odnosząc się do substancji wzbudzających szczególny niepokój,

wymagane jest zezwolenie na ich stosowanie i wprowadzanie do obrotu. Procedura wdrażania ograniczeń prowadzi do podejmowania odpowiednich środków zabezpieczających społeczeństwo przed zagrożeniem związanym z zastosowaniem nanomateriału, jego dalszą produkcją oraz wprowadzeniem na rynek. Systemy, które pozwalają na otrzymanie odpowiednich zezwoleń, a co za tym idzie umożliwiają wprowadzenie konkretnego nanomateriału na rynek, obowiązują niezależnie od ilości wytwarzanych lub wprowadzanych do obrotu ilości. Zadaniem Komisji jest skrupulatne czuwanie nad wdrażaniem rozporządzeń REACH w odniesieniu do nanomateriałów. Na podstawie informacji dotyczących produkcji i sprzedaży bądź na podstawie nowej wiedzy w zakresie np. właściwości toksykologicznych lub fizykochemicznych może być konieczna zmiana dotychczasowych przepisów, np. wskaźników ilościowych lub wymogów informacyjnych. Dane uzyskane w kontekście rozporządzeń REACH będą służyły jako wkład do opracowywania nowych czy zmiany obecnie obowiązujących aktów regulacyjnych, np. w zakresie ochrony pracowników, produktów kosmetycznych, a także ochrony środowiska. Rozporządzenia REACH stanowią uzupełnienie prawodawstwa dotyczącego produktów (np. ogólnego bezpieczeństwa produktów) w zakresie nieobejmującym aspektów ochrony środowiska [19].

Nakłada się na pracodawców szereg obowiązków, które mają na celu zapewnienie bezpieczeństwa i ochrony dla zdrowia pracowników. Dyrektywa 89/391/EWG, która wyznacza te obowiązki pracodawcom ma zastosowanie do wszystkich substancji i działań obejmujących produkcję oraz zastosowanie chemikaliów na wszystkich jej poziomach. Nieistotna jest w tym przypadku liczba zaangażowanych pracowników, ilość produkowanych materiałów czy rodzaj stosowanych technologii. Dyrektywa ma pełne zastosowanie do nanomateriałów. Pracodawcy mają obowiązek przeprowadzić ocenę ryzyka i w razie stwierdzenia zagrożenia podjąć środki, dzięki którym zostaną one wyeliminowane.

Zgodnie z art. 11 i 12 dyrektywy ramowej 89/391/EWG planowanie i wprowadzanie nowych technologii musi być konsultowane z pracownikami lub ich przedstawicielami w zakresie wpływającym na warunki pracy. Dyrektywa określa z góry możliwość przyjmowania poszczególnych dyrektyw określających bardziej szczegółowe przepisy dotyczące sprecyzowanych aspektów bezpieczeństwa i zdrowia. Przyjęte zostały dyrektywy dotyczące narażenia na działanie czynników rakotwórczych lub mutagenów podczas pracy. Obrano również dyrektywy obejmujące zagrożenia związane ze środkami chemicznymi w miejscu pracy. Dotyczą one użytkowania sprzętu roboczego przez pracowników w trakcie wykonywania swoich obowiązków, korzystania z

wyposażenia ochronnego oraz bezpieczeństwa i ochrony zdrowia pracowników zatrudnionych na stanowiskach pracy, na których może wystąpić zagrożenie wybuchem. Wspomniane dyrektywy wprowadzają wymogi minimalne, a zatem władze krajowe mogą ustalić bardziej rygorystyczne ustalenia [19].

Prawodawstwo dotyczące produktów zawiera wymogi dotyczące konkretnych produktów, takich jak: produkty lecznicze, środki ochrony roślin, produkty kosmetyczne, dodatki do żywności, dodatki paszowe itp. Produkty przeznaczone dla konsumentów, które nie podlegają szczegółowym przepisom, muszą spełniać wymogi dyrektywy w sprawie ogólnego bezpieczeństwa produktów. Ogólnie akty regulacyjne w tych dziedzinach zawierają przepisy dotyczące zdrowia i bezpieczeństwa. Nanomateriały znajdujące się w takich produktach muszą spełniać kryteria substancji zgodnie z rozporządzeniem REACH i podlegać ocenie na mocy tego rozporządzenia pod kątem ich oddziaływania na środowisko. Wszystkie akty prawodawstwa w dziedzinie produktów mówią o obowiązku przeprowadzania oceny ryzyka i podjęcia działań, które zminimalizują zagrożenie. Obowiązek ten odnosi się także do nanomateriałów. Jeżeli dany produkt nie podlega kontroli oraz zgłoszeniu, zanim zostanie wprowadzony do obrotu, wówczas ocena ryzyka i zarządzanie ryzykiem w odniesieniu do danego nanomateriału podlegać będzie weryfikacji przez władze. Wprowadzenie odpowiednich procedur spowoduje wdrożenie przepisów wykonawczych bądź wiążących decyzje administracyjne, które egzekwować będą także warunki pojawienia się tych produktów na rynku. Bardzo ważnym aspektem jest obowiązek przeglądu, zmiany lub uchylecia zezwoleń w razie pojawienia się danych wskazujących, że którykolwiek z obowiązujących wymogów nie jest spełniony, jak również wtedy, kiedy postęp wiedzy naukowej i technicznej tego wymaga. Podobnie posiadacz zezwolenia lub świadectwa ma obowiązek niezwłocznie przekazywać właściwemu organowi lub podmiotowi wszelkie nowe informacje na temat zagrożeń. Produkty, które mogą być wprowadzane do obrotu bez uprzedniego spełnienia obowiązujących wymogów proceduralnych takich jak np. produkty kosmetyczne, produkty konsumpcyjne, które są objęte zakresem dyrektywy o ogólnym bezpieczeństwie, kontrolowane są na poziomie nadzoru rynkowego. Dlatego też w celu zwiększenia poziomu ochrony zaproponowano zmiany w aktach regulacyjnych dotyczących produktów kosmetycznych wprowadzanych na rynek, bez uprzedniej kontroli. Głównym tego powodem było szerokie zastosowanie nanosubstancji w kosmetykach. Wymogi dotyczące oceny ryzyka zostaną wkrótce bardziej sprecyzowane. Ponadto producenci przy zgłaszaniu wprowadzanych produktów, obowiązkowo muszą określić czy zawierają one nanomateriały [19].

Akty regulacyjne dotyczące ochrony środowiska, skupiają się głównie

na zapobieganiu zanieczyszczeniom i ich kontroli (IPPC), jak również kontroli niebezpieczeństwa poważnych awarii związanych z substancjami niebezpiecznymi (SevesoII). Dyrektywa IPPC obejmuje swoim zakresem ok. 52 000 instalacji przemysłowych w całej Unii Europejskiej. Zgodnie z jej przepisami instalacje te muszą działać w oparciu o pozwolenia określające graniczne wielkości emisji na podstawie stosowania najlepszych dostępnych technik. Dyrektywę IPPC można by zastosować do kontroli oddziaływania nanomateriałów na środowisko. Seveso II ma zastosowanie do zakładów, gdzie konkretne substancje niebezpieczne lub substancje należące do określonych kategorii klasyfikacyjnych, są obecne w ilościach przekraczających wyznaczone poziomy. Dyrektywa ta nakłada na podmioty prowadzące zakłady ogólny obowiązek podjęcia wszelkich koniecznych środków, których celem jest zapobieganie poważnym awariom oraz ograniczenie skutków takich awarii. Jeśli zostanie stwierdzone, że określone nanomateriały mogą prowadzić do powstania poważnych zagrożeń, w kontekście wspomnianej dyrektywy przypisane zostaną do określonych kategorii wraz z odpowiadającymi im poziomami niebezpieczeństwa. Nanomateriały mogłyby zostać włączone do wykazu substancji priorytetowych w zależności od ich niebezpiecznych właściwości. Dyrektywa 2006/12/WE dotycząca odpadów, wyznacza ogólne ramy i zobowiązuje państwa członkowskie do dopilnowania, aby przetwarzanie odpadów nie miało negatywnego wpływu na zdrowie i środowisko. Określa również, które odpady są niebezpieczne i zawiera bardziej rygorystyczne przepisy dotyczące takich odpadów. Za odpady niebezpieczne są uznawane odpady wykazujące ściśle określone tam właściwości. Odpady, które zawierają nanomateriały mogą być klasyfikowane jako niebezpieczne, tylko wtedy gdy dany nanomateriał wykazuje właściwości, które mogą zagrażać zdrowiu i życiu. Przyjęte zostały akty prawne dotyczące konkretnych rodzajów odpadów lub procesów ich przetwarzania, takich jak np. spalanie i składowanie. Obecnie obowiązujące prawo w Unii Europejskiej dotyczące odpadów obejmuje ogólne wymogi ochrony zdrowia i środowiska w kontekście gospodarki odpadami. Znajdują się tam również wymogi określające sposób postępowania ze szczególnymi rodzajami odpadów, które mogą zawierać nanomateriały. Jednak nie dotyczy to bezpośrednio zagrożeń stwarzanych przez nanomateriały. Jeżeli zostanie stwierdzona potrzeba stworzenia bardziej szczegółowych przepisów, konieczne będzie zaproponowanie lub wdrożenie odpowiednich działań w ramach istniejących aktów prawnych. Państwa członkowskie mogą podejmować działania dla wdrożenia obowiązujących przepisów w ramach polityki krajowej [19].

Nanotechnologia stanowi nowy poziom inżynierii, dzięki któremu możliwe

będzie uzyskanie fantastycznych rezultatów w dziedzinie energii, produkcji produktów konsumenckich, jak również w wielu innych sektorach. Umożliwia ona rozwój nanomedycyny dzięki umieszczanym w organizmie czujnikom oraz medycyny zdolnej do przekraczania bariery krew-mozg. Powstające nowe nanogeneratory mogą wykorzystywać środowisko naturalne lub ruch ciała do wytwarzania energii. Za jej sprawą zwiększy się znacznie liczba nowoczesnych produktów takich jak na przykład: okna energooszczędne, kremy do opalania z wysokimi filtrami ochronnymi, odporna na uderzenia karoseria, czujniki różnych toksyn środowiskowych, sterylne powierzchnie itp.

Jednak wszystkie te założenia mogą skończyć się fiaskiem, jeśli nie zapewnimy odpowiedniego bezpieczeństwa produktów przed ich wprowadzeniem na rynek. Można tu przytoczyć hasło REACH: „brak danych, brak obrotu”. Okazuje się, że nanotechnologia oprócz wielu korzyści niesie ze sobą także pojawienie się nowych, nieprecyzyjnie określonych zagadnień oraz trudne do zbadania zagrożenia toksykologiczne, w zetknięciu, z którymi nasza dzisiejsza wiedza może okazać się niewystarczająca. Stwierdzono, bowiem, że nanorurki węglowe powodują dokładnie ten sam rodzaj szkód, co azbest. Antybakteryjne, nanosrebro, stosowane w skarpetkach, przenika do ścieków, powodując wiele szkód w ekosystemach wodnych. Skoro wiemy, że nanocząsteczki są w stanie pokonać barierę krew-mózg, jak możemy dopuścić do obrotu na przykład kremy do opalania. Jeżeli nie możemy zagwarantować, w żaden sposób, że nie mają one złego wpływu na nasze zdrowie.

Ponadto wyjaśnienia wymaga fakt, że różne badania toksykologiczne wykonywane na tym samym nanomateriale dają odmienne wyniki.

Nanotechnologia wkracza na obszary, o których niewiele wiadomo. Stare modele mechaniki, odnoszące się do większych obiektów i ich zachowania, nie mają tu w całości zastosowania, ponieważ charakter nanocząsteczek jest zupełnie inny, podobnie jak ich właściwości. Dlatego bardzo ważne jest opracowanie nowych metod analitycznych, które pozwolą na wyeliminowanie toksycznego działania nanocząsteczek. Ważnym aspektem jest także wprowadzenie nowych rozporządzeń regulujących dla nanocząsteczek, które w odpowiedni sposób kontrolowałyby produkcję, wdrażanie do obrotu i zastosowania nanomateriałów [20].

Ta nowa technologia może nam pomóc w wielu dziedzinach, ale tylko pod warunkiem, że będziemy dokonywać świadomych wyborów i w odpowiedni sposób kierować jej rozwojem.

Słuszne jest stwierdzenie, że nanotechnologia niesie ze sobą ogromne perspektywy na przyszłość. Pomimo tego, że jest zaliczana do stosunkowo młodych technologii już dzisiaj wiadomo, że jej wykorzystanie może w

bardzo dużym stopniu poprawić jakość życia na Ziemi. Jednak bardzo ważnym aspektem jest eliminowanie wszelkich zagrożeń związanych z tym nowoczesnym kierunkiem technologicznym. Nie można, bowiem jednoznacznie stwierdzić, że nanotechnologia jest bezpieczną dziedziną nauki, ponieważ brakuje obecnie badań na temat jej wpływu na człowieka i środowisko naturalne. Nie istnieją obecnie środki techniczne do monitorowania środowiska, co do wpływu, nanocząsteczek. Brakuje także przepisów na szczeblach lokalnych i międzynarodowych regulujących bezpieczne zastosowanie, nanomateriałów, poprzez ich rejestrację i ocenę. Jednak przypuszcza się, że jej szybki rozwój w najbliższych latach doprowadzi do zwiększenia ilości specjalistycznych badań, które pozwolą na ograniczenie jej negatywnego oddziaływania i pozwolą na pełne wykorzystanie możliwości, jakie się z nią wiążą.

Tematyka nanotechnologii w literaturze naukowej [20-39] jest szeroko omawiana. Należy jednak podkreślić, że w większość prac przedstawiających osiągnięcia naukowe, znaczące dla rozwoju tej dziedziny nauki, nie zawiera żadnych informacji o skutkach, jakie mogą te nowe nano-materiały powodować w środowisku naturalnym i jak mogą wpływać na życie i zdrowienie ludzi.

Literatura:

1. M. Szymczak, „Nanotechnologia – zagadnienia podstawowe” (www.wiedzainfo.pl/wyklady/703)
2. R. W. Kelsall, I.W. Hamley, M. Geoghegan, „Nanotechnologie” Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2008
3. Komisja Wspólnot Europejskich „Ku europejskiej strategii dla nanotechnologii”, Bruksela dnia 12.05.2004, (COM (2004) 338), 1-28
4. Z. Jazukiewicz „Mocne wejście karła”, Przegląd Techniczny, 8, 16, 2009
5. W. Jędrzejczyk, „Nanotechnologia w medycynie” (www.gazetalekarska.pl)
6. Z. Makles „Nanomateriały - nowe możliwości, nowe zagrożenia” (www.ciop.pl/15019)
7. B. Jurkowski „Nanotechnologia i Nanomateriały” (www.dmf.put.poznan.pl)
8. G. Miller, S. Kinnear „Nanotechnologia w żywności – nowe zagrożenia”, Nexus 64 2009
9. J. Tomczak, „Zagrożenia wyływające z nanotechnologii”, Wrocław 2006, str. 1-6 (www.nanonet.pl)
10. Komisja Wspólnot Europejskich „Nanonauka i nanotechnologie: Plan działań dla Europy na lata 2005-2009”, Bruksela dnia 07.06.2005

- (COM (2005) 243), str. 1-13
11. „Nanoetyka”, 20.08.2009, (www.nanopravo.pl)
 12. M. Błoński, „Niebezpieczna skala nano”, 16.04. 2007. (www.kopalniawiedzy.pl)
 13. „Nieekologiczny dwutlenek tytanu na budynkach”, 15.08.2009, (www.nanonet.pl)
 14. W. Grzeszkowiak, „Nanorurki niczym azbest”, 21.05.2008, (www.kopalniawiedzy.pl)
 15. A. Marczewski, „Nanocząsteczki srebra mogą zagrażać środowisku”, 14.04.2008, (www.nanonet.pl)
 16. „Nanonauka i Nanotechnologia” Narodowa Strategia dla Polski - Raport, Warszawa 2008
 17. Nanotechnology Safety Resources (www.safenano.org)
 18. Komisja Wspólnot Europejskich „Nanonauka i nanotechnologia: Plan działań dla Europy na lata 2005-2009. Pierwsze sprawozdanie z realizacji za lata 2005-2007”, Bruksela dnia 06.09.2007 (KOM (2007) 505), str. 9-11
 19. Komisja Wspólnot Europejskich „Komunikat Komisji do Parlamentu Europejskiego, Rady i Europejskiego Komitetu Ekonomiczno – Społecznego; „Aspekty regulacyjne nanomateriałów”, Bruksela dnia 17.06.2008
 20. C. Schlyter „Sprawozdanie w sprawie aspektów regulacyjnych nanomateriałów” (2008/ 2208 (INI))
 21. J. Takeda, Y. Kawazoe, K. Ohno, M. Tanaka, Nano- and Micromaterials, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2008
 22. A.K. Bandyopadhyay, Nano Materials, New AGE International (P) Limited, New Delhi 2008
 23. G.B. Sergeev, Nanochemistry, Elsevier, Amsterdam 2006
 24. C. Br’échignac, P. Houdy, M. Lahmani, Nanomaterials and Nanochemistry, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2007
 25. J. W. Steed, D. R. Turner, K. J. Wallace, Core Concepts in Supramolecular Chemistry and Nanochemistry, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester 2007
 26. C. Br’échignac, P. Houdy, M. Lahmani, Nanomaterials and Nanochemistry, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2007
 27. Y. Gogotsi, Carbon Nanomaterials, Taylor and Francis Group, LLC 2006
 28. J. B.-H. Tok, Nano and Microsensors for Chemical and Biological Terrorism Surveillance, Royal Society of Chemistry, Thomas Graham

- House, Cambridge 2008
29. T. Pradeep, Nano, The ESSentials, Understanding Nanoscience and Nanotechnology, Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited, New Delhi, 2007
 30. M. Reza Mozafari, Nanomaterials and Nanosystems for Biomedical Applications, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2007
 31. V. P. Torchilin, Nanoparticulates Drug Carriers, Imperial College Press, Singapore 2006
 32. Z.Tang, P. Sheng, Nanoscale Phenomena, Basic Science to Device Applications, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2008
 33. E. Roduner, Nanoscopic Materials, Size-dependent Phenomena, Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Cambridge 2006
 34. M. Kohler, W. Fritzsche, Nanotechnology, An Introduction to Nanostructuring Techniques, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim 2007
 35. G. L. Hornyak, Nanotechnology, Health and Environmental Risks, Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton 2008
 36. P. Boisseau, P. Houdy, M. Lahmani, Nanoscience Nanobiotechnology and Nanobiology, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2007
 37. M. Ratner, D. Ratner, Nanotechnology: A Gentle Introduction to the Next Big Idea, Hall Professional Technical Reference, 2002
 38. M. M. de Villiers, P. Aramwit, G. S. Kwon, Nanotechnology in Drug Delivery, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009
 39. C. A. Grimes, I G. K. Mor, TiO₂ Nanotube Arrays, Synthesis, Properties, and Applications, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009
 40. A. Mazurkiewicz, Nanonauki i nanotechnologie, Stan i perspektywy rozwoju, Instytut Technologii Eksploatacji- PIB, Radom 2007

Rozdział 5

Mocznik i jego zastosowanie w preparatach kosmetycznych

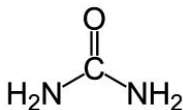
Daria Baran, Grażyna Bartkowiak, Grzegorz Schroeder
*Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Wydział Chemii, Grunwaldzka 6,
60-780 Poznań*

1. Wstęp

Suchość skóry (*xerosis*) jest jedną z najczęstszych dolegliwości, na którą cierpią szczególnie osoby w wieku powyżej 30 lat, chociaż spotyka się ją nawet u dzieci. Przyczyny suchości skóry nie są w pełni poznane; wymienia się często czynniki środowiskowe, np. niską wilgotność otoczenia (suche powietrze), jak i czynniki patologiczne, np. zmniejszone wydzielanie *sebum* (wydzieliny gruczołów łojowych, która chroni skórę przed wysychaniem). Najczęściej mamy do czynienia z synergistycznym działaniem obu rodzajów czynników, wpływających na warstwę epidermalną czyli naskórkową skóry [1].

Objawami suchej skóry są: szorstkość, chropawość lub płatkowata, łuszcząca się powierzchnia, utrata elastyczności i często swędzenie. Nasilają się one w surowych warunkach atmosferycznych, zimą podczas mrozu, silnego wiatru czy obniżonej wilgotności powietrza.

Powszechnie stosowanymi środkami do pielęgnacji ciała są preparaty o działaniu nawilżającym (ang. *moisturizers*), środki zapobiegające suchości skóry lub zwalczające ją. Mają one na celu poprawę stanu nawodnienia skóry a także zwalczanie przyczyn suchości i odnowę funkcji skóry jako bariery (działanie terapeutyczne). Obecnie większość dostępnych na rynku preparatów kosmetycznych zawiera składniki nawilżające, wśród których wiodącą rolę odgrywa **mocznik**.



Mocznik jest związkiem organicznym, produkowanym przemysłowo na ogromną skalę ze względu na jego liczne zastosowania w syntezie polimerów i w rolnictwie. Sprawia to, że jest on łatwo dostępnym i niedrogim surowcem dla produkcji preparatów kosmetycznych.

2. Rola mocznika w organizmie

Mocznik (karbamid, diamid kwasu węglowego) $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ jest związkiem, występującym naturalnie w organizmach żywych jako produkt przemiany materii substancji białkowych. Jego średnia zawartość w osoczu krwi waha się w granicach 2,5-7,5 mmol/l. Cykl przemian biochemicznych, prowadzący do powstania mocznika w organizmie nazywa się cyklem mocznikowym albo ornitynowym (gdyż bierze w nim udział między innymi aminokwas ornityna). Cykl ten prowadzi do usuwania z ustroju nadmiaru azotu, pochodzącego z aminokwasów. Mocznik wydalany jest z organizmu głównie z moczem (z którego został po raz pierwszy został wyizolowany w 1773 roku przez aptekarza G. F. Rouelle'a) i w niewielkiej ilości z potem.

Poziom mocznika w surowicy krwi (norma 15-40 m/dl) należy – wraz z kreatyniną - do najważniejszych parametrów dla oceny prawidłowości funkcjonowania nerek [2] i znajduje się w zakresie podstawowych badań laboratoryjnych w placówkach służby zdrowia. Na jego poziom we krwi mają wpływ: stopień nawodnienia organizmu, dieta bogata w białko i stosowane leki.

Skóra ludzka zawiera około 1% mocznika, który wchodzi w skład naturalnego czynnika nawilżającego skórę (NMF – *Natural Moisturizing Factor*) i jest odpowiedzialny za nawodnienie warstwy rogowej naskórka.

3. Specyfikacja techniczna mocznika

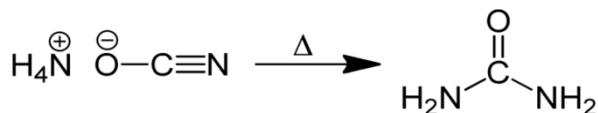
Mocznik w składzie wymienianym na opakowaniach istnieje pod nazwą INCI- „Urea”. Ten biały, krystaliczny i bezzapachowy proszek na potrzeby kosmetyki jest produkowany w laboratoriach. Ponieważ szybko ulega hydrolizie, zalecana jest jego stabilizacja kwasem mlekowym. Łatwo rozpuszcza się w wodzie i alkoholu. W tabeli 1 podano najważniejsze dane dotyczące mocznika.

Tabela 1. Charakterystyka mocznika

Nazwa wg INCI	Urea
Numer CAS	57-13-6
Synonimy	Karbamid, Karbonylodiamid
Rozpuszczalność	w wodzie i alkoholu
Pochodzenie kosmetyczne	syntetyczne
pH (10% roztwór)	9,2 ÷ 9, 5
Postać	biały, krystaliczny proszek
Zapach	lekki amoniaku
Ciężar właściwy	1,34 g/cm ³
Stabilność	szybko ulega hydrolizie; stabilizacja kwasem mlekowym
Przechowywanie	w szczelnie zamkniętych pojemnikach w temperaturze pokojowej pomiędzy 15 a 25 °C

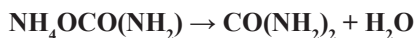
4. Synteza mocznika

Mocznik sztucznie otrzymany został po raz pierwszy przez Friedricha Wohlera w 1828 roku. Związek ten był pierwszym związkiem organicznym, otrzymanym z całkowicie nieorganicznych substratów - w wyniku ogrzewania cyjanianu amonu:



Mocznik produkuje się głównie w zakładach azotowych ze względu na powiązanie z syntezą amoniaku (dwutlenek węgla z mycia gazów po konwersji i amoniak). W Polsce największymi producentami mocznika są Zakłady Azotowe Puławy, Zakłady Chemiczne Police i Zakłady Azotowe Kędzierzyn.

Największe znaczenie przemysłowe ma synteza mocznika z amoniaku i ditlenku węgla, zachodząca dwuetapowo według równań:



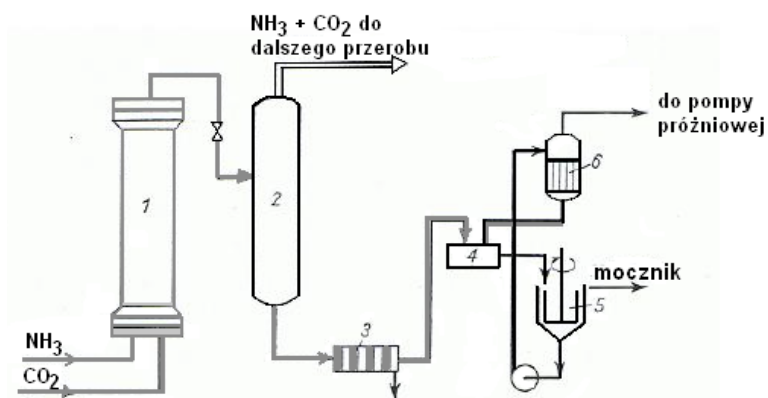
W pierwszej fazie tworzy się karbaminian amonowy, który następnie traci wodę, przechodząc w mocznik.

Reakcje te prowadzi się w fazie ciekłej, pod ciśnieniem 150-300 atmosfer w zakresie temperatur 170-220°C. Ponieważ reakcja tworzenia się karbaminianu amonu jest odwracalna, stosuje się nadmiar, najczęściej 3-4 krotny, amoniaku w stosunku do CO₂, osiągając przereagowanie ditlenku węgla rzędu 80%. Nieprzereagowane substraty poddaje się recyrkulacji lub kieruje się do ubocznej produkcji soli amonowych, tj. węglanu amonu, siarczanu amonu i azotanu amonu.

Problemem technologicznym tej syntezy jest szybka korozja reaktorów. Aby przedłużyć ich żywotność, w reaktorach do syntezy mocznika stosuje się wykładziny ze srebra, ołowiu lub cyrkonu względnie specjalne stałe antykorozyjne, które dodatkowo pasywuje się tlenem.

Rysunek 1 przedstawia schemat syntezy mocznika bez zawracania amoniaku i ditlenku węgla. Reakcja przebiega w temperaturze ok. 180°C pod ciśnieniem około 200 atm. Ciekłą mieszaninę poreakcyjną, zawierającą karbaminian amonu, który nie uległ przemianie w mocznik, po rozprężeniu poddaje się rozkładowi. Z karbaminianu powstaje ditlenek węgla i amoniak, które to gazy przerabia się na sole amonowe. Roztwór mocznika poddaje się filtracji, a następnie krystalizacji. Kryształy mocznika odwirowuje się i suszy. Roztwór pokryształacyjny odparowuje się pod próżnią, a uzyskany osad poddaje się

ponownie krystalizacji [3].



Rysunek 1. Schemat syntezy mocznika bez recyrkulacji amoniaku i ditlenku węgla:
 1-reaktor, 2 – kolumna rozkładu nieprzereagowanego karbaminianu, 3 – prasa filtracyjna, 4 – krystalizator mocznika, 5 – wirówka, 6- wyparka próżniowa. [3]

5. Zastosowania mocznika

Mocznik znajduje zastosowanie w licznych dziedzinach gospodarki i życia codziennego. Duże ilości mocznika zużywa się w rolnictwie jako wysokoprocenowy nawóz azotowy, a także jako dodatek do paszy dla bydła. Poważną część produkcji mocznika stanowi półprodukt do wytwarzania katalizatorów, tworzyw sztucznych, klejów, materiałów samoprzylepnych, wypełniaczy, żywic i lakierów oraz substrat do syntezy farmaceutyków, m.in. barbituranów. Jest on również stosowany jako odczynnik analityczny. Ze względu na zdolność wiązania wody i działanie złuszczone znalazł zastosowanie w kosmetyce.

Zestawienie zastosowań mocznika w produktach kosmetycznych [4,5] zawiera tabela 2.

Tabela 2. Zastosowania mocznika w produktach kosmetycznych

Kremy do cery suchej, wrażliwej i alergicznej
Preparaty łagodzące podrażnienia posłoneczne, filtry przeciwsłoneczne
Szampony i odżywki do włosów
Mydła w płynie i żele myjące
Farby do włosów i odbarwiacze (dekoloryzatory)
Środki do czyszczenia zębów
Dezodoranty
Detergenty, środki czyszczące

Produktami, wpływającymi na poziom wody w skórze są kosmetyki nawilżające (ang. *moisturizers*) i emolienty. Służą one do pielęgnacji skóry i jej ochrony przed szkodliwymi czynnikami zewnętrznymi. Rolą tych pierwszych jest aktywne podwyższanie zawartości wody w skórze, podczas gdy emolienty mają za zadanie utrzymywać wodę w skórze przez utworzenie na jej powierzchni filmu okluzyjnego, który więzi wodę w górnej części warstwy rogowej naskórka (*stratum corneum*).[6]

Mocznik, podobnie jak kwas mlekowy, gliceryna czy kwas hialuronowy, należy do humektantów, czyli takich środków nawilżających, które mają zdolność wiązania wody w *stratum corneum*. Zestawienie humektantów, stosowanych najczęściej w środkach kosmetycznych podano w tabeli 3.

Tabela 3. Humektanty w kosmetykach nawilżających [7]

Chlorek sodu
Gliceryna
Glikol polietylenowy
Glikol propylenowy
Kwas hialuronowy
Kwas polihydroksykarbonowy
Kwas pirolidonokarbonowy
Mleczan sodu/ kwas mlekowy
Mocznik
Sorbitol

Mocznik, oprócz zdolności wiązania wody, ma także działanie farmakologiczne i terapeutyczne. W lecznictwie stosuje się go, chociaż w tej chwili coraz rzadziej, jako lek moczopędny o tzw. niskim progu nerkowym, łatwo wchłaniający się z przewodu pokarmowego, ale nieco drażniący dla żołądka i jelit [8]. Mocznik podawany dożylnie stosuje się jako diuretyk w obrzęku mózgu, po zabiegach chirurgicznych i rozległych urazach, w niewydolności mięśnia sercowego oraz w oligurii (skąpomoczu), wywołanej oparzeniami. Preparaty farmaceutyczne zawierające mocznik do stosowania doustnego i dożylnego zostały wyparte przez inne leki z powodu niekorzystnych efektów ubocznych, ale w razie braku innych środków są jeszcze niekiedy stosowane. Natomiast w preparatach kosmetycznych, aplikowanych na skórę mocznik nadal jest niezastąpiony, a prowadzone badania wykazały jego dobrą tolerancję i nieszkodliwość [9]. Stosowany jest on także do receptury aptecznej w zakażeniach bakteriami i pierwotniakami [10]. Działanie terapeutyczne mocznika, stosowanego na powierzchnię skóry, zestawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Aktywność farmakologiczna mocznika, aplikowanego na skórę

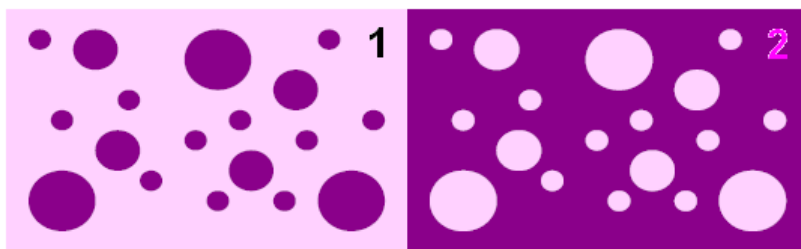
Redukcja proliferacji epidermalnej (rozrostu naskórka)
Wpływ na właściwości mechaniczne stratum corneum
Aktywność przeciwdrobnoustrojowa
Wzmacniacz penetracji/promotor wchłaniania
Usuwanie łusek (deskwamator)

Mechanizm nawilżającego działania mocznika nie jest w pełni poznany. Wykazano jednak, że w porównaniu z naturalnymi ekstraktami roślinnymi *Imperata cylindrica* i składnikami NMF, mocznik dodany do hydrożelu wywiera intensywniejszy efekt nawilżania skóry [11]. Badania farmakokinetyczne wykazały, że penetruje on głęboko w warstwę rogową naskórka, osiągając jej dolną część po 30 minutach. Mocznik, który trafia do krwiobiegu, nie jest metabolizowany, ale zostaje wydalony w niezmienionym stanie przez nerki.

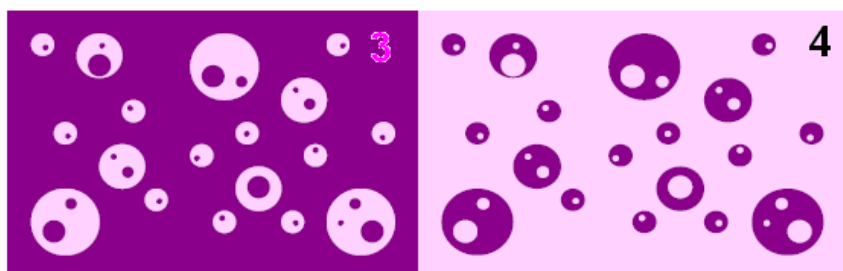
6. Postać preparatów z mocznikiem a szybkość wchłaniania

Mocznik to jeden z lepszych składników nawilżających i lekko złuszczających stosowanych w kosmetyce. Szybkość jego penetracji jest uzależniona w dużej mierze od fazy, do jakiej został wprowadzony.

W emulsjach O/W (olej/woda) w której faza zewnętrzną jest woda, działanie to jest bardzo szybkie. W systemach odwrotnych (W/O, woda/olej) jego uwalnianie z preparatu następuje znacznie wolniej, co powoduje wydłużenie jego działania. Mocznik zdecydowanie najbardziej efektywnie może być wykorzystywany, jeśli wprowadzany jest do wewnętrznej fazy wodnej emulsji wielokrotnej typu W/O/W. w systemach tych wykazuje on bowiem najlepszy efekt penetracyjny [12].



Rysunek 2. Schemat emulsji O/W (olej/woda) 1 i W/O (woda/olej) 2; część jasna –wodna, część ciemna olejowa [12]



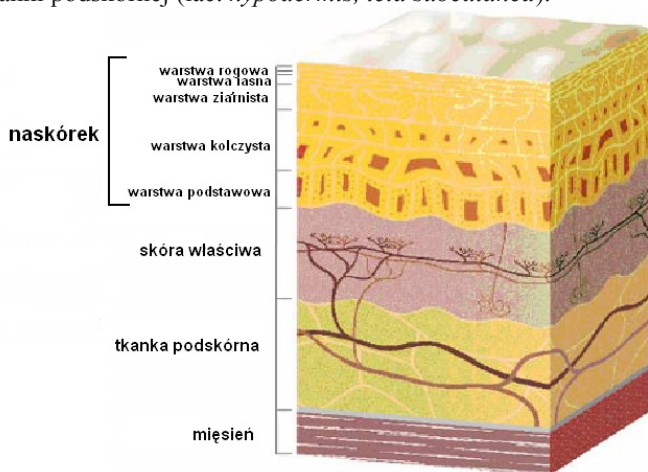
Rysunek 3. Schemat emulsji W/O/W (woda/olej/woda) 3 i O/W/O (olej/woda/olej) 4 - część jasna –wodna, część ciemna – olejowa [12]

Działanie mocznika dotyczy głównie naskórkowej części skóry, a zwłaszcza jej najbardziej zewnętrznej, górnej warstwy, zwanej warstwą rogową (patrz – 7. Budowa skóry).

7. Budowa skóry

Skóra składa się z;

- naskórka (łac. *epidermis*), na powierzchni którego jest warstwa rogowa (*stratum corneum*)
- skóry właściwej (łac. *cutis vera*), w której są przydatki skóry (gruczoły potowe, łojowe, mieszki włosowe) i sieć naczyń krwionośnych;
- tkanki podskórnej (łac. *hypodermis, tela subcutanea*).



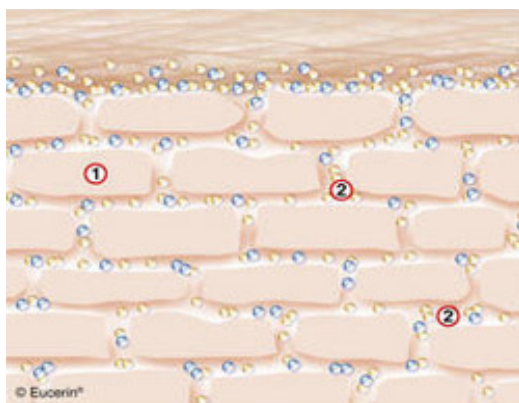
Rysunek 4. Budowa skóry z uwzględnieniem warstw naskórka [15]

Schemat budowy skóry z uwzględnieniem pięciu warstw naskórka przedstawia Rysunek 4.

Mocznik jako składnik kosmetyków działa głównie w warstwie rogowej naskórka, dlatego zostanie ona omówiona nieco szerzej.

7.1. Warstwa rogowa

Warstwa rogowa (*stratum corneum*) jest najbardziej zewnętrzną warstwą skóry, która nieustannie ulega złuszczeniu. Jest to warstwa naskórka zbudowana jest z części zbitej (*pars compacta*) z 15 do 20 ściśle połączonych warstw komórek oraz części rozłącznej (*pars disjunctiva*), która ulega złuszczeniu. Komórki warstwy rogowej (korneocyty) połączone ze sobą macierzą zawierającą lipidy. Budowa warstwy rogowej przypomina mur [13] (Rys. 5), w którym ceglami są korneocyty, a zaprawę wiążącą stanowią lipidy.



Rysunek 5. Schematyczne przedstawienie warstwy rogowej naskórka - model muru: 1. zrogowiałe komórki (korneocyty), 2. Lipidy. [14]

Głównymi składnikami warstwy rogowej naskórka są:

Keratyna – 58%;

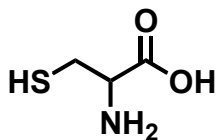
NMF (*Natural Moisturizing Factor*) – 30%;

Lipidy– 11%

7.2. Keratyna

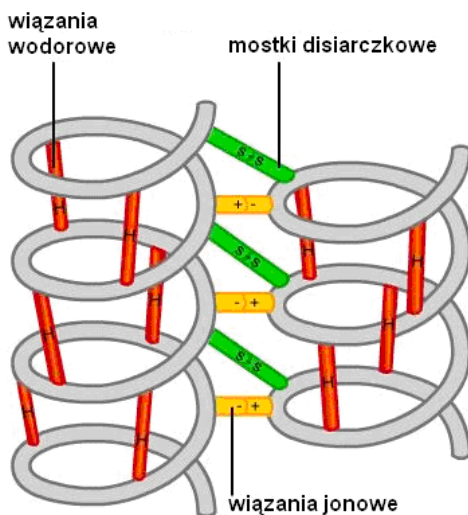
Keratyna (Rys. 6) jest substancją czynną pochodzenia naturalnego, znajdującą się w zrogowiałym naskórku, paznokciach i włosach. Jest to białko

włókienkowe czyli fibrylarne, składające się z długich łańcuchów peptydowych. Jego głównym składnikiem jest aminokwas cysteina (17%),



cysteina (Cys)

która umożliwia tworzenie się wiązań disiarczkowych S—S, co utrzymuje spójność keratyny [15]. Drugim aminokwasem siarkowym, obecnym w białkach keratyny jest metionina (0,5%). Możemy wyróżnić keratynę miękką i twardą; ta druga występuje głównie w wytworach skóry u zwierząt: piórach, wełnie, rogach, pazurach, kopytach. Duża zawartość aminokwasów siarkowych w tych skupiskach keratyny powoduje nieprzyjemny zapach podczas ich spalania.



Rysunek 6. Struktura molekularna keratyn [15]

7.3. Naturalny Czynn timer Nawilżający NMF (Natural Moisturizing Factor)

Naturalny Czynn timer Nawilżający NMF (Natural Moisturizing Factor) odpowiada za odpowiednie nawilżenie skóry (warstwy rogowej i płaszcza hydrolipidowego), nadaje jej właściwości higroskopijne i hydrofilne. Powstaje on w procesie rogowacenia keratynocytów oraz z potu i łju; zawiera kwas

pirydonokarboksyłowy, inne kwasy organiczne, aminokwasy, sole mineralne, mocznik.

Skład procentowy NMF prezentuje tabela 5 [16]:

Tabela 5. Skład procentowy NMF

Składnik	Zawartość (%)
wolne aminokwasy – Gly, Ser, Pro, Glu	40
kwasy pirolidynokarboksyłowy	12
mleczan sodu	12
Cukry	8,5
mocznik	7
chlorki	6
sód	5
potas	4
amoniak, kwas moczowy, glukozamina, kreatyna	1,5
wapń	1,5
magnez	1,5
fosforany	0,5
cytryniany i mrówczany	0,5

NMF może być wypłukiwany z warstwy rogowej przez wodę, rozpuszczalniki i detergenty [17].

7.4. Lipidy

Lipidy czyli tłuszczoce są ważnymi regulatorami przepuszczalności skóry. Różne regiony skóry ludzkiej charakteryzują się różną zawartością lipidów, zarówno pod względem typu składników, jak i ich udziału procentowego. Większość lipidów warstwy rogowej skóry ludzkiej stanowią lipidy neutralne (60-80%) i sfingolipidy (15-35%) [18]. Wśród polarnych należy wymienić fosfolipidy, których ilość jest jednak zaniedbywalna. Na sfingolipidy składają się głównie ceramidy (ponad 80%) i znacznie mniejsze ilości glikosfingolipidów. Sfingolipidy (zawierające alkohole wielkocząsteczkowe, głównie sfingozynę) stanowią główny rezerwuar długołańcuchowych, nasyconych kwasów tłuszczowych. Od stosunku ilościowego lipidów neutralnych do sfingolipidów zależy przepuszczalność skóry. Wysoka zawartość neutralnych a niska sfingolipidów świadczy o doskonałej barierze lipidowej. Bariera ta spełnia dwie podstawowe funkcje:

- chroni ustrój przed inwazją mikroorganizmów i wnikiem substancji

niepożądanych, jak alergeny i chemikalia;

- minimalizuje utratę wody przez naskórek (tzw. utratę transepidermalną, zwaną w skrócie TEWL, z ang. *TransEpidermal Water Loss*).

Usunięcie komórek warstwy rogowej, a wraz z nimi lipidów sprawia, że skóra staje się przepuszczalna dla substancji toksycznych oraz podatna na utratę wody (TEWL).

8. Działanie mocznika w zależności od jego stężenia w preparacie

Efekty działania mocznika zależą od jego stężenia w kosmetyku i zależnie od zastosowania stosuje się różne zawartości mocznika w preparacie.

Mocznik w stężeniu 2% aktywuje podziały komórek warstwy ziarnistej skóry, przyspiesza gojenie ran, działa silnie regeneracyjnie. Skóra po użyciu takiego kosmetyku jest miękka i gładka, a podrażnienia zostają złagodzone.

Zastosowanie: kremy do rąk i płyny po/do golenia, balsamy do ciała.

Mocznik w stężeniu 5-10 % jest higroskopijny (pochłania wodę i ułatwia jej wiązanie przez keratynę. Jest on *humektantem* (zwiększa zawartość wody w warstwie rogowej naskórka, dzięki czemu skóra staje się elastyczna i jędrna). Właściwości higroskopijne mocznika zapobiegają wysychaniu preparatu, który go zawiera.

Mocznik działa również jako *emolient* -wygładza skórę i zwiększa zawartość wody pośrednio, tworząc na powierzchni skóry film ochronny, który zatrzymuje wodę w górnej warstwie *stratum corneum*. Dokładny mechanizm działania mocznika jako humaktanta i emolienta nie jest jeszcze poznany.

Zastosowanie: kremy głęboko nawilżające, kremy do stóp przesuszonych.

Mocznik w stężeniu powyżej 10% działa przeciwbakteryjne i przeciwświądowo, co wykorzystuje się w leczeniu cery trądzikowej, ma też wpływ regulujący na proces rogowacenia naskórka, jest łagodnie złuszczający.

Zastosowanie: toniki przeciwtrądzikowe, mleczka do ciała, kremy na przesuszone i nieładne miejsca- łokcie, kolana, zrogowaciale i popękane pięty.

Mocznik stosowany w wyższych stężeniach, powyżej 40-50% ma działanie keratolityczne – powoduje złuszczenie naskórka. Przyjmuje się, że spowodowane jest to rozrywaniem wiązań wodorowych w keratynie [19], co nasila proces jej denaturacji, a następnie solubilizację. Preparaty z wysoką zawartością mocznika, około 50% zalecane są przez dermatologów do leczenia skóry łuszczącej się, atopowego zapalenia skóry, łuszczycy, rogowacenia mieszkowego oraz dla cukrzyków. Stosowane są również w leczeniu łupieżu i rozstępów.

Zastosowanie: kremy/maski do stóp, kremy złuszczające, balsamy do

skóry głowy i ciała.

Przykłady dostępnych na rynku produktów kosmetycznych [20,21] z mocznikiem podano w tabeli 6.

Tabela 6. Kosmetyki, zawierające mocznik

Stężenie mocznika	Produkt kosmetyczny
do 10%	LIRENE – krem do stóp przesuszonych ZIAJA – krem do stóp głęboko nawilżający Emulsja specjalna Emolium GARNIER, Intensywna Pielęgnacja Nawilżająca ZIAJA – krem do stóp na pękającą skórę pięt
powyżej 10%	XERIAL 10 – mleczko do ciała Krem CERKODERM 15
około 50%	XERIAL 50 EXTREME – KREM XERIAL P – BALSAM DO SKÓRY GŁOWY i CIAŁA

9. Efekty uboczne kosmetyków z mocznikiem

Mocznik, jako związek występujący naturalnie w skórze i płynach ustrojowych organizmu, jest uznawany generalnie za nieszkodliwy i niealergizujący, a zatem godny polecenia składnik preparatów kosmetycznych. Należy jednak pamiętać, że jest on wzmacniaczem penetracyjnym, ułatwiającym wchłanianie przez skórę, a to oznacza, że narusza on naturalną barierę lipidową, przez co umożliwia łatwiejsze przenikanie również dodatków do kosmetyków, takich jak surfaktanty, barwniki, środki zapachowe czy konserwanty, a te mogą być powodem uczulenia [22]. Mocznik jako promotor wchłaniania może powodować także przenikanie przez skórę substancji szkodliwych w miejscu pracy [23], np. rozpuszczalników, pestycydów, smarów czy chemikaliów.

Działanie mocznika na skórę zależy również od zawartości innych substancji czynnych, które mogą działać synergistycznie, korzystnie lub niekorzystnie. Lodén [24] i współpracownicy wykazali, że kremy nawilżające dla pacjentów z atopowym zapaleniem skóry, zawierające 4% mocznika i 4% chlorku sodu jako substancje aktywne powodowały przy dłuższym stosowaniu pewne sensacje skórne u 60% pacjentów. Znacznie łagodniej działał krem o zawartości 5% mocznika bez dodatku NaCl.

Innym problemem może stać się przyzwyczajenie skóry do silnych środków nawilżających – skóra „uzależnia się” od dużej ilości składników wspomagających; zaprzestanie stosowania grozi podrażnieniami i nadmiernym wysuszeniem oraz brakiem odporności na czynniki zewnętrzne.

Niekorzystne efekty może powodować również pewna niestabilność mocznika w kosmetykach i skłonność, choć w niewielkim stopniu, do hydrolizy (do cyjanianu amonu). Degradacja ta, acz nieznaczna, może skutkować zapachem amoniaku i zmianą pH preparatu na alkaliczne. Efektem tym przeciwdziała się, stosując stabilizatory kwasowe, np. kwas mlekowy, a te z kolei mogą powodować podrażnienia skóry [25].

10. Oznaczanie mocznika w kosmetykach

W związku z licznymi zastosowaniami mocznika w różnych mediach i dziedzinach życia opracowano też różnorodne metody jego oznaczania. Można wśród nich wymienić metody potencjometryczne [26,27], amperometryczne [28], fluorymetryczne [29], enzymatyczne [30,31] kolorymetryczne [32] i spektrofotometryczne [33].

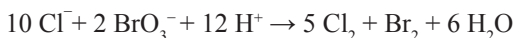
W kosmetykach i maściach oznacza się mocznik sam albo stosuje się współoznaczanie wraz z innymi składnikami tych preparatów, najczęściej z użyciem metod chromatograficznych. Jedną z metod oficjalnych, nadal stosowanych w wielu krajach [34] i dopuszczonych normami, jest tradycyjna i długotrwała metoda Kjeldahla. Oznaczenie mocznika tą metodą w jednej próbce zajmuje około trzech godzin [35], dlatego stale poszukuje się szybszych i bardziej niezawodnych metod analityki tego składnika.

Dallet [36] i współpracownicy zaproponowali metodę wspólnego oznaczania mocznika, allantoiny i piroglutaminianu lizyny (lizydonu) w próbkach kosmetycznych przy użyciu chromatografii interakcji hydrofilowej. Mocznik w kosmetykach występuje często w skojarzeniu z allantoiną, która dodawana jest jako środek łagodzący podrażnienia i działający keratynodispersyjnie w leczeniu łuszczycy (*psoriasis*). Inny częstym dodatkiem jest sól sodowa kwasu piroglutaminowego, dobry nawilżacz, naturalny składnik NMF, który można łączyć z aminokwasami, np. argininą czy lizyną [37]. Wszystkie te czynniki hydrofilowe można oznaczać chromatograficznie w wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), ale z użyciem normalnej fazy (NPC - ang. *normal-phase conditions*) jest to trudne, gdyż nie rozpuszczają się one w typowych niewodnych fazach ruchomych. Dobrym wyjściem jest użycie polarnych faz stacjonarnych, jak fazy diolowe lub aminowe i elucji mieszaninami wodno-organicznymi jako fazą ruchomą. Ta metoda została nazwana przez Alperta HILIC [38] – chromatografią oddziaływań hydrofilowych (ang. *Hydrophilic Interaction Chromatography*) i znalazła zastosowanie do rozdziału analitów pochodzenia biologicznego, jak białka, peptydy, aminokwasy czy cukry. Polega ona na zastosowaniu wysokich stężeń początkowych modyfikatorów organicznych aby ułatwić oddziaływanie hydrofilowe pomiędzy analitem a

hydrofilową fazą stacjonarną. Do rozdzielania i oznaczania mocznika wspólnie z allantoiną i lizydonem użyto kolumny polihydroksyetylowej (*Polyhydroxyethyl column A, 200x4,6 mm I.D.; PolyLC, Columbia, MD, USA*) w warunkach elucji izokratycznej. Wykazano przydatność tej metody jako szybkiej, powtarzalnej, czułej i mało pracochłonnej do analizy złożonych mieszanin, również dla celów diagnostyki. Średnie czasy retencji wynosiły dla mocznika 5,33 min ($\pm 0,10$), dla allantoiny 5,92 min ($\pm 0,09$) i dla lizydonu 7,01 min ($\pm 0,12$).

Inną kolumnę HILIC zastosowali Doi [39] i współpracownicy do współoznaczania mocznika, allantoiny i diazolidynylomocznika (DU, ang. *diazolidinyl urea*), używanego często jako konserwant kosmetyków, który rozkłada się z uwolnieniem formaldehydu. W tym wypadku wypełnienie kolumny stanowiła krzemionka, modyfikowana triazolem (*COSMOS HILIC triazol-bonded silica column, Nacalai tesque, Kyoto, Japan*), a fazą ruchomą była mieszanina acetonitryl-woda 90:10. Układ ten zapewniał dobre rozdzielanie mieszaniny, a detektor UV i krzywa kalibracji umożliwiły pomiar ilościowy. Ustalono optymalną wartość pH dla pomiaru, która wynosiła 4.

Bojic et al. [27] zaproponowały nową spektrofotometryczną metodę oznaczania zawartości mocznika w próbkach kosmetycznych i dermatologicznych po ekstrakcji wodą próbki kremu, rozpuszczonej w chloroformie. Wykorzystano tu reakcję utleniania oranżu metylowego za pomocą chloru i bromu, wywiązujących się podczas działania kwasem solnym na bromian potasu:



Oranż metylowy ulega w tej reakcji odbarwieniu, przy czym zmienia się jego absorpcja w zakresie UV/Vis, a zmiana ta jest najbardziej widoczna przy długości fali 505 nm. Dodanie mocznika inhibituje tę reakcję, co skutkuje spadkiem absorpcji proporcjonalnie do stężenia mocznika. Umożliwia to dość szybki, czuły i niekosztowny pomiar ilości mocznika w badanej próbce. Odzysk mocznika z próbki do fazy wodnej jest prawie 100%-owy.

11. Podsumowanie

Mocznik, który jest jednym z wielkotonażowych produktów przemysłu chemicznego w Polsce, wytwarzany masowo dla potrzeb rolnictwa (jako nawóz syпки lub roztwór wodny, tzw. RSM, roztwór saletrzano-mocznikowy) i przemysłu (m. in. do produkcji melaminy oraz AdBlue, preparatu, umożliwiającego selektywną redukcję katalityczną tlenków azotu w spalinach silników wysokoprężnych na wodę i azot), znajduje zastosowanie również w produkcji kosmetyków pielęgnacyjnych i leczniczych. Z powodu źle kojarzącej się nazwy często nie jest wymieniany w składzie preparatu kosmetycznego albo występuje pod nazwą „urea”. Jednak jego cenne właściwości jako

środka nawilżającego, łagodzącego i keratolitycznego, prawie zupełny brak niekorzystnych efektów ubocznych, dostępność oraz niska cena stawiają go w grupie niezwykle wartościowych surowców kosmetycznych.

Literatura:

1. C. Rosado, P. Pinto, L. Monteiro Rodriguez; Assessment of moisturizers and barrier function restoration using dynamic methods; *Skin Research and Technology* 2009; **15**: 77 – 83. Doi: 10.1111/j.1600-0846.2008.00331.x
2. http://futuramed.pl/aid104_gid80_mocznik_kreatynina dostęp 23.06.2010
3. J. Kępiński „Technologia Chemiczna Nieorganiczna” wydanie III Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 1975, str.414-418
4. D. Häntschel, G. Sauer mann, H. Steinhart, U. Hoppe, J. Ennen; Urea analysis of extracts from stratum corneum and the role of urea-supplemented cosmetics *J. Cosmet. Sci.* 1998, **49**, 155-163
5. K. Bohnsack, Urea - ein effektiver und sicherer Wirkstoff in Dermatologie und Kosmetik; *Skin Care Forum* 1995, **11**, 7-9; <http://www.scf.online.com>
6. Gabard B; Testing the efficacy of moisturizers; w: Berardesca PE, Maibach HI (Eds); Bioengineering and the skin: water and the stratum corneum; CRC Press, Boca Raton, 147-167, 1994
7. P. Elsner, W. Wigger-Alberti; Skin-conditioning products in occupational dermatology; *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 2003, **76**, 351-354
8. <http://www.pharma-cosmetic.com.pl/index.php?strona,doc,pol,glozna,0,0,276,1,0> dostęp 27.06.2010
9. <http://www.biochemiaurody.com/slownik/urea.html> dostęp 27.06.2010
10. <http://www.pharma-cosmetic.com.pl/PDF/Urea.pdf> dostęp 27.06.2010
11. V. R. Leite e Silva, M. A. Schulman, C. Ferelli, J. M. Gimenis, G. W. Ruas, A. R. Baby, M. V. R. Velasco, M. E. Taquenda, T. M. Kaneko; Hydrating effects of moisturizer active compounds incorporated into hydrogels: *in vivo* assessment and comparison between devices; *J. Cosmetic Dermatology*; 2009, **8**(1), 32-39
12. X. Petsitis, K. Kipper, Kosmetyka ozdobna i pielęgnacja twarzy. Wiedza o produktach kosmetycznych i ich prawidłowym stosowaniu, MedPharm Polska, Wrocław 2007
13. http://www.poradnikmedyczny.pl/mod/archiwum/4288_transdermalne_systemy_terapeutyczne dostęp 03 maj 2010

14. <http://www.eucerin.com/pl/o-skorze/skora-i-jej-komorki/warstwa-rogowo-stratum-corneum/> dostęp 28.06.2010
15. W. Malinka „Zarys chemii kosmetycznej”, Volumed, Wrocław 1999, str. 235-239
16. S. Verdier-Sévrain, F. Bonté; Skin hydration: a review on its molecular mechanisms; *J. Cosmetic Dermatology* 2007, **6**, 75-82
17. <http://www.laboratoriumurody.pl/forum/budowa-i-funkcjescory,1058.html> dostęp 03 maj 2010
18. M. A. Lampe, A. L. Burlingame, J. Whitney, M. L. Williams, B. E. Brown, E. Roitman, P. M. Elias; Human stratum corneum lipids: characterization and regional variations; *J. Lipid Res.* 1983, **24**, 120-130
19. M. Molski; „Chemia piękna”; Wydawnictwo Naukowe PWN Warszawa 2009, wyd. II (I w PWN) str. 137
20. <http://www.wizaz.pl/Pielegnacja/Trendy/Mocznik> dostęp 03 maj 2010
21. http://www.stylistka.pl/mocznik-w-kosmetyce_ dostęp 03 maj 2010
22. <http://www.beautymagonline.com/pages/sensitisers.htm> (Adverse effects of cosmetic ingredients); dostęp 28.06.2010
23. W. Wohlrab, Bedeutung von Harnstoff In der externen Therapie; *Hautarzt* 1989, **40**, 35-41
24. M. Lodén, A.-C. Andersson, M. Lindberg; The effect of two urea-containing creams on dry, eczematous skin in atopic patients. II. Adverse effects; *J. Dermatol. Treatm.* 1999, **10** (3), 171-175
25. <http://www.freepatentsonline.com/4672078.html>; (Urea stabilized with a lactone in various pharmaceutical and cosmetic preparations; US Patent 4672078); dostęp 28.06.2010
26. D. P. A. Correia, J. M. C. S. Magalhaes, A. A. S. C. Machado; Array of potentiometric sensors for simultaneous analysis of urea and potassium; *Talanta*, 2005, **67**, 773
27. A. S. Sullari, A. H. Usilan; Preparation of a potentiometric immobilized urease electrode and urea determination in serum; *Talanta* 2002, **57**, 1039-1044
28. G. G. Guilbault, M. S. Leo; Amperometric determination of urea using an NADH-dependent coupled enzyme; *Talanta* 1994, **41**, 1029-1033
29. Y. Iida, M. Ikeda, M. Aoto, I. Sato; Fluorometric determination of urea in alcoholic beverages by using an acid urease column-FIA system; *Talanta* 2004, **64**, 1278
30. T. Krawczynski, M. Trojanowicz, A. Lewenstam; Enzymatic flow injection determination of urea in blood serum using potentiometric gas

- semnsor with internal nonactin based ISE; *Talanta* 1994, **41**, 1229-1236
31. G. G. Guilbault; M. Tarp; A specific enzyme electrode for urea; *Anal. Chim. Acta* 1974, **73**(2), 355-365
 32. R. N. Beale, D. Croft; A sensitive method for the colorimetric determination of urea, *J. Clin. Path.* 1961, **14**, 418-424
 33. R. K. Goo, H. Kanai, V. Inouye, H. Wakatsuki; Spectrophotometric determination of urea in urine stains on foods and containers; *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1980, **63**, 985-987
 34. „*Pharmacopoeia of the SRJ V*”, 2001, Federal Office of Health, Belgrade, 1053
 35. J. Bojic, B. Radovanovic, J. Dimitrijevic; Spectrophotometric determination of urea In dermatologic formulations and cosmetics; *Anal. Sci.* 2008, **24**, 769-774
 36. Ph. Dallet, L. Labat, E. Kummer, J. P. Dubost; Determiation of urea, allantoin and lysine pyroglutamate in cosmetic samples by hydrophilic interaction chromatography; *J. Chromatogr. B* 2000, **742**, 447-452
 37. F. **Zanotti**; Arginine and lysine pyroglutamates as moisturizers.; *Prod. Chim. Aerosol* **1982**, **2**, 25–28
 38. A. J. Alpert, Hydrophilic-interaction chromatography for the separation of peptides, nucleic acids and other polar compounds; *J. Chromatogr. A*, 1990, **499**, 177-196
 39. T. Doi, K. Kajimura, S. Takatori, N. Fukui, S. Taguchi, S. Iwagami; Simultaneous measurement of diazolidinyl urea, urea ,and allantoin in cosmetic samples by hydrophilic interaction chromatography; *J. Chromatogr. B* 2009, **877**,1005-1010

Rozdział 6

Zastosowanie alg w kosmetyce

Katarzyna Król, Karolina Klimaszka, Bogusława Łęska
Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Wydział Chemii, Grunwaldzka 6,
60-780 Poznań

1. Algi - Informacje ogólne

Światowy, rosnący trend prowadzenia zdrowego, ekologicznego trybu życia dotyczy wielu dziedzin, także przemysłu kosmetycznego. Zmusza to do poszukiwania nowych substancji naturalnych, które mogą być zastosowane w recepturach preparatów kosmetycznych i pełnić w nich różnorodne funkcje. Nieustannie aktywnymi fabrykami szerokiej gamy użytecznych związków chemicznych są rośliny. Produkują one naturalne substancje bakteriobójcze, przeciwzapalne, łagodzące, chroniące przed promieniowaniem ultrafioletowym, czy wolnymi rodnikami, a także odżywiające i nawilżające naszą skórę. Niezmiernie bogatym, a zarazem mało poznanym źródłem składników kosmetyków mogą być glony.

Algi (łac. algae, gr. phykos) to organizmy jednokomórkowe (mikroalgi) i wielokomórkowe (makroalgi), które żyją i rozmnażają się w środowisku wodnym, zarówno morskim, jak i słodkowodnym we wszystkich strefach klimatycznych. Mikroalgi tworzą swobodnie pływający plankton roślinny wielkości kilku milimetrów, natomiast makroalgi wyglądem przypominają trawę lub liście, osiągając rozmiary nawet do kilku metrów, porastają kamienie i skały na dnie oceanu.

W systemie Paschera glony dzieli się na 9 gromad:

Eugleniny (*Euglenophyta*)

Są to organizmy jednokomórkowe, nie posiadające błony komórkowej, których przedstawicielem jest euglena zielona (*Euglena viridis*)

Tobolki (*Pyrrophyta*)

Zielenice (*Chlorophyta*) – np. sałata morska (*Ulva lactucea*)

Brunatnice (*Phaeophyta*) np. morskczyn pęcherzykowaty (*Fucus vesiculosus*)

Krasnorosty (*Rhodophyta*) np. chrząstnica kędzierzawa (*Chondrus crispus*)

Sinice (*Cyanobacteria*)

Glaukofity (*Glaukophyta*)

Chryzofity (*Chrysophyta*)

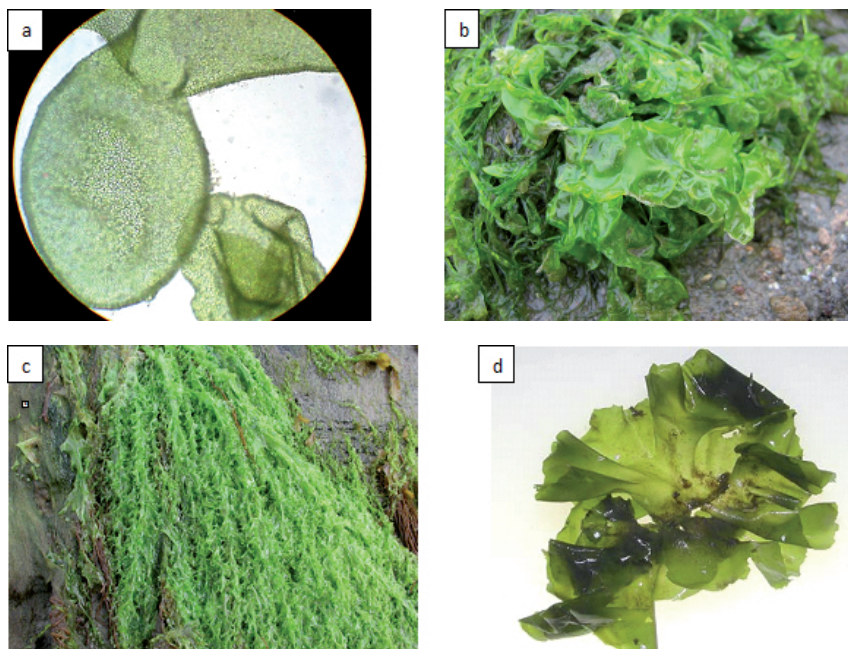
Rumienice (*Charophyta*)

Głony to organizmy samożywne, mogące rozwijać się praktycznie w każdym środowisku, dlatego znalazły zastosowanie w wielu dziedzinach ludzkiego życia. Ze względu na duże wartości odżywcze stosowane są w przemyśle spożywczym i dietetyce jako suplementacja codziennej diety. W dziedzinie biotechnologii prowadzone są badania nad zastosowaniem alg jako źródła alternatywnego biopaliwa, glony stosuje się również w procesie oczyszczania ścieków. Jednak największe zastosowanie tych organizmów spotyka się w przemyśle kosmetycznym.^[1,2]

Producentem znacznej ilości biomasy są zielone, morskie algi z rodzaju *Ulva*, które ze względu na swoje właściwości i skład chemiczny budzą zainteresowanie. Omawiane glony należą do rodziny zielenic, są organizmami morskimi, jednorocznymi, o kosmopolitycznym zasięgu. Mogą występować wtórnie w wodach śródlądowych, także w Polsce. Wszystkie gatunki z rodzaju *Ulva* mają zdolność do tworzenia, tzw. mat makroglonowych, czyli zgrupowań plech unoszących się swobodnie na powierzchni wody. Plechy te zbudowane są tylko z dwóch warstw komórek, ale charakteryzują się niezwykłą wytrzymałością.^[3]

Głony *Ulva* mają tendencję do akumulowania związków chemicznych ze środowiska, stąd ich zawartość może zmieniać się w czasie. Zależy ona między innymi od: temperatury, składu pierwiastków chemicznych, zasolenia i zanieczyszczenia wody, miejsca wzrostu, czasu zbiorów i sposobu przetwarzania, np. czasu ekstrakcji i użytego do niej rozpuszczalnika. Zmiana stężenia minerałów, lipidów, białek czy cukrów następuje także zależnie od pory roku i jest procesem naturalnym. Wahaniami zawartości poszczególnych związków chemicznych nie przeszkadzają jednak w wykorzystywaniu tych organizmów w różnych dziedzinach życia.

Na Dalekim Wschodzie od wieków algi *Ulva* pełnią funkcję pożywienia i są surowcem do produkcji leków. Dziś na całym świecie zielenice te stosowane są w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym, a także w biotechnologii, mikrobiologii, produkcji biogazu i nawozów. Te niepozorne organizmy są obecnie obiektem zainteresowań branży kosmetycznej ze względu na swój bogaty skład i unikalne właściwości.



Rysunek 1. Glony z rodzaju *Ulva* a) plecha glonu w powiększeniu 250x^[4]; b) *Ulva Lactuca*^[3]; c) *Ulva Linz*^[6]; d) *Ulva Lobata*^[7];

Za stosowaniem substancji pochodzących z glonów z rodzaju *Ulva* jako składnika kosmetyków przemawia szereg argumentów. Są to organizmy zdolne do szybkiego wzrostu, a więc łatwe w hodowli i pozyskiwaniu. Pożądane związki chemiczne można otrzymać w bardzo prosty sposób, np. poprzez ekstrakcję gorącą wodą lub metanolem. Wszystko to sprawia, że jest to tani surowiec.

2. Działanie alg w preparatach kosmetycznych

Najbardziej wartościowe dla produkcji kosmetyków są algi, które rosną w najczystszych wodach, u wybrzeży Japonii, Hawajów i Bretanii. Niewielkie zanieczyszczenie tych wód świadczy o wysokiej jakości preparatu. Coraz częściej jednak firmy same zajmują się ich pozyskiwaniem, prowadząc hodowle w laboratoriach, dzięki czemu mają pewność, że jest to produkt o najwyższej jakości. Najważniejszymi algami w preparatach kosmetycznych są *Laminaria digitata*, *Fucus vesiculosus* oraz *Ulva lactuca*, równie często wykorzystuje się *Lithothamnion calcareum* i *Chondrus crispus*. Algi dostarczają skórze wielu substancji odżywczych, takich jak witaminy, aminokwasy, proteiny,

węglowodany oraz lipidy. Substancje te nawilżają, spowalniają procesy starzenia, stymulują przemianę materii, poprawiają jędrność i elastyczność skóry zapewniając jej prawidłowe funkcjonowanie.

Ulva lactuca (Rys. 1b), czyli sałata morską jest glonem należącym do gromady zielenic. Najważniejszym jej składnikiem z punktu widzenia kosmologii jest białko – aosaina, które zawiera w swoim składzie te same aminokwasy (glicyna, prolina, lizyna) co ludzka elastyna, posiada właściwości stymulujące syntezę kolagenu oraz zdolność blokowania elastazy (enzymu rozkładającego elastynę). Inne substancje aktywne to pierwiastki (żelazo i magnez) oraz witaminy A, B, C i E. Szczególnie wykorzystywana jest do pielęgnacji starzejącej się skóry.^[8]

Laminaria digitata (Rys. 2) czyli listownica palczasta to brązowa alga, której liście osiągają rozmiary do 2 metrów. W jej skład wchodzi mikro- i makroelementy (jod, wapń, magnez), związki mineralne i witaminy. Nienasycone kwasy tłuszczowe, witamina E i beta-karoten odżywiają skórę, natomiast wysoka zawartość jodu oddziałuje na procesy przemian metabolicznych.^[9]



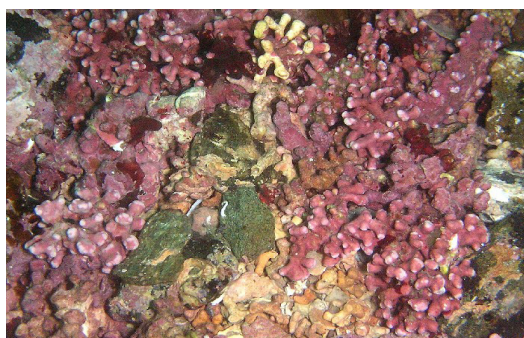
Rysunek 2. *Laminaria digitata*^[9]

Fucus vesiculosus (morszczyzn pęcherzykowaty) (Rys. 3) należy do brunatnic i występuje w Morzu Bałtyckim, Północnym oraz w północnej części Oceanu Atlantyckiego. Wodorost ten tworzy brunatno-oliwkowa plecha z pęcherzykami powietrza. Zawiera takie związki jak: kwas alginowy, mannitol, jod, brom, żelazo, witaminy. W kosmologii wykorzystywane są jego właściwości drenujące i oczyszczające. Zapobiega tworzeniu się wolnych rodników.^[10]



Rysunek 3. *Fucus vesiculosus*^[10]

Lithothamnion calcareum (skalinek ostrogowaty) (Rys. 4) należy do rodziny czerwonych alg. W kosmetykach wzmacnia działanie uwodnionego krzemianu glinu. W skład tego glonu wchodzi wapń i węglan magnezu oraz liczne składniki aktywne. Wykorzystywany jest w preparatach kosmetycznych w kompleksach z innymi gatunkami alg oraz używany w stemplach do masażu ciała.^[9]



Rysunek 4. *Lithothamnion calcareum*^[9]

Chondrus crispus (chrząstnica kędzierzawa) (Rys. 5) to alga z rodziny krasnorostów spotykana w północnej części Atlantyku. Z chrząstnicy otrzymuje się karagen, który w kosmetykach używany jest jako stabilizator emulsji i substancja żelująca. W skład algi wchodzi białka, polisacharydy, mikro- i makroelementy oraz witaminy. Wykazuje zmiękczające i regenerujące działanie na skórę.^[9]



Rysunek 5. *Chondrus crispus*^[9]

W preparatach kosmetycznych obok makroalg wykorzystuje się również mikroalgi, a dokładniej ich ekstrakty. Jako przykład można podać lipidowy ekstrakt z algi *Skeletonoma costatum*. Badania potwierdziły, iż ekstrakt lipidowy spowalnia powstawanie zmarszczek redukując procesy starzenia się skóry, a także zapobiega powstawaniu cellulitu. Natomiast działanie ekstraktu z mikroalgi *Phaeodactylum tricomutum* polega na aktywacji komórek skóry – proteasomów, które odpowiedzialne są za rozkład nieprawidłowo zbudowanych białek. W ten sposób przyczyniają się do zapobiegania negatywnym skutkom gromadzenia tych białek w skórze.^[11]

Algi wykorzystywane są prawie we wszystkich typach preparatów kosmetycznych. Znajdują się w składzie kremów, mleczek, toników, maseczek, szamponów, odżywek do włosów, żeli do mycia ciała i mydeł. Spełniają w nich kilka ważnych funkcji takich jak zagęszczanie i stabilizowanie preparatu, posiadają właściwości kondycjonujące i poprawiają rozsmarowywalność kosmetyku. Wpływają na prawidłowe funkcjonowanie skóry. Oprócz działania nawilżającego, odżywczego i regenerującego, stymulują przemianę materii przyczyniając się do zwalczania cellulitu. Wykazują również działanie antyoksydacyjne, detoksykacyjne i wyszczuplające.^[12]

3. Pozyskiwanie alg do produkcji kosmetyków

Zanim glony zostaną wykorzystane w kosmetykach muszą być odpowiednio przetworzone. Pierwszym etapem jest suszenie materiału. Jeszcze niedawno proces suszenia odbywał się na słońcu, jednak okazało się, że w ten sposób algi pozbawione zostają swoich cennych właściwości. Obecnie stosuje się metodę opartą na suszeniu sublimacyjnym, czyli procesie polegającym na zmianie stanu

skupienia stałego w gazowy z pominięciem fazy ciekłej. Liofilizacja odbywa się w temperaturze poniżej 0° C przy obniżonym ciśnieniu. Najpierw surowiec poddaje się zamrożeniu w temp. -50° C lub wykorzystuje się do tego celu ciekły azot o temp. -196° C. Preparat umieszcza się w próżni, gdzie następuje odparowanie wody. Ostatni etap to suszenie w temp. 40 – 50° C. Algi niemal całkowicie zachowują swoje własności. Kolejnym etapem w procesie przetwarzania wodorostów jest mikronizacja. Maksymalne rozdrobnienie materiału umożliwia bardziej skuteczne działanie związków aktywnych. Produktem ubocznym procesu mikronizacji jest tzw. alginat, który po połączeniu z wodą tworzy żel. W kosmetykach stosowany jako substancja zagęszczająca i stabilizująca emulsje typu O/W. Może stanowić również bazę maseczek algowych, jako że wykazuje działanie nawilżające i regenerujące. Algi poddaje się również procesom ekstrakcji wodnej lub lipidowej. Ekstrakty wodne zawierają rozpuszczalne w wodzie substancje aktywne: proteiny i polisacharydy. Te aktywują obecne w skórze białka, prowadząc do zmniejszenia tkanki tłuszczowej. Wyciągi te stosowane są w kremach nawilżających. Ekstrakty lipidowe zawierają fosfolipidy, glikolipidy, wolne kwasy tłuszczowe, witaminy, steroidy oraz glicerol. Z fosfolipidów można uzyskać liposomy, co umożliwia wnikanie do głębszych warstw naskórka cennych substancji nawilżających i regenerujących. Proces enzymatycznej degradacji agaru umożliwia otrzymanie oligosacharydów znajdujących zastosowanie w preparatach do pielęgnacji włosów.^[13, 14]

4. Związki chemiczne zawarte w glonach

Algi, warte są szczególnej uwagi ze względu na unikalne właściwości oraz szeroką gamę związków chemicznych, które zawierają. Oprócz wielu cennych pierwiastków takich jak magnez, wapń, potas, jod i sód, zawierają aminokwasy, peptydy, węglowodany (mono i polisacharydy), witaminy, karotenoidy, kwasy tłuszczowe oraz terpeny i fenole. Związki te posiadają zbawienne działanie na skórę. Ich ilość zmienia się zależnie od sezonu i warunków środowiskowych, jednak wariacje te nie są czynnikiem uniemożliwiającym ich wykorzystywanie. Bogaty skład czyni te morskie organizmy odpowiednim surowcem do produkcji kosmetyków.

4.1. Aminokwasy i białka

Aminokwasy typu α zbudowane są z atomu węgla połączonego z wodorem, grupą aminową, karboksylową i charakterystycznym dla danego związku łańcuchem bocznym (oznaczanym jako R). W naturze występują wyłącznie izomery L, niemal wszystkie z nich mają konfigurację absolutną S. W wyniku połączenia aminokwasów za pomocą wiązania peptydowego (amidowego)

powstają białka.^[15]

Głony z rodzaju *Ulva* zawierają aminokwasy zarówno w formie wolnej i związanej, są to przede wszystkim: kwas glutaminowy, alanina, seryna, leucyna, kwas asparaginowy, treonina, choć odnotowano obecność wszystkich występujących naturalnie aminokwasów. Łącznie ich zawartość stanowi ponad 7 mg w 1 g suchego materiału roślinnego.^[16,17,18] Aminokwasy i białka to naturalny budulec ludzkiej skóry, stąd ich obecność w kosmetykach jest wysoce pożądana. Działają nawilżająco, odżywiają, a także zobojętniają ładunki statyczne na powierzchni skóry. Białka blokują działanie elastazy, enzymu rozkładającego elastynę, oraz pobudzają syntezę kolagenu. Pomagają one utrzymać skórę w dobrej kondycji i na dłużej zachować młody wygląd, dlatego też stosowane są głównie w kosmetykach przeznaczonych do pielęgnacji cery dojrzałej.^[19]

W algach znajdują się aminokwasy, które wchodzą w skład naturalnego czynnika nawilżającego NMF (natural moisturizing factor), są to: alanina, aspargina, glicyna, lizyna i seryna. Dzięki temu wykazują właściwości nawilżające i regulujące nawodnienie naskórka.

Interesującym składnikiem pozyskiwanym z algi *Ulva lactuca* (ulwa sałatowa) jest białko – aosaina. Białko to zawiera te same aminokwasy co ludzka elastyna, czyli prolinę, lizynę i glicynę, dlatego mogłoby być traktowane jako analog elastyny. Jednak istotną różnicą w budowie aosainy jest brak charakterystycznej dla elastyny struktury przestrzennej, która warunkuje pełne właściwości tego białka. Elastyna bowiem jest białkiem strukturalnym występującym w skórze i nadającym jej sprężystość, jędrność i elastyczność.

4.2. Kwasy tłuszczowe

Kwasy tłuszczowe zbudowane są z długiego łańcucha węglowodorowego zakończonego grupą karboksylową. Kwasy, mające tylko pojedyncze wiązania, nazywane są nasyconymi, natomiast charakteryzujące się jednym lub większą ilością wiązań podwójnych to kwasy nienasycone. Wiązania podwójne w kwasach wielonienasyconych są oddzielone przynajmniej jedną grupą metylenową. Kwasy występujące w układach biologicznym mają zwykle parzystą liczbę atomów węgla i wiązania podwójne o konfiguracji *cis*.^[15]

Ze względu na dużą ilość znanych kwasów tłuszczowych i mnogość ich struktur, powszechnym jest stosowanie i posługiwanie się skrótami obrazującymi ich budowę. I tak, na przykład symbol 16:0 oznacza kwas zbudowany z szesnastu atomów węgla, w którym wszystkie wiązania są nasycone, 16:1 opisuje kwas zawierający szesnaście atomów węgla z jednym wiązaniem podwójnym. 16:3(n-2) to kwas mający szesnaście atomów węgla, zawierający trzy wiązania podwójne – jedno z nich znajduje się pomiędzy 14 a 15 atomem węgla, następane

przy atomach o niższych numerach, każde oddzielone jedną grupą metylenową. Poza tym oznacza się położenie wiązania podwójnego przy pomocy symbolu Δ : *cis*- Δ^6 oznacza wiązanie podwójne o izomerii *cis* pomiędzy szóstym i siódmym atomem węgla, *trans*- Δ^3 wiązanie podwójne *trans* między atomami trzecim i czwartym. Numerowanie węgli zaczynamy oczywiście od atomu węgla grupy karboksylowej.^[15]

W glonach z rodzaju *Ulva* kwasy tłuszczowe stanowią 10-20 mg na 1 g suchej masy. Są to między innymi kwasy oznaczane symbolami: 14:0, 15:1, 16:0, 16:1, 16:3(n-3), 16:3(n-3), 16:4(n-3), 17:0, 18:0, 18:1(n-7), 18:1(n-9), 18:2(n-6), 18:3(n-3), 18:3(n-6), 18:4(n-3), 20:3(n-6), 20:4(n-3), 20:4(n-6), 20:5(n-3), 20:5(n-6). Na szczególną uwagę spośród wymienionych związków zasługują jednak wielonienasycone kwasy tłuszczowe zbudowane z 16, 18 i 20 atomów węgla w cząsteczce, stanowią one do 60% wszystkich kwasów tłuszczowych pozyskanych z tych glonów. Zielone algi charakteryzują się wyższą zawartością tych substancji w porównaniu z algami czerwonymi lub brązowymi.^[18,20]

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe charakteryzują się wysoką aktywnością biologiczną i szerokim spektrum działania. Biorą udział w odbudowie i utrzymywaniu naskórka w dobrym stanie, co zapewnia organizmowi skuteczną ochronę przed szkodliwym wpływem czynników zewnętrznych. Pomagają zapobiegać rozwojowi drobnoustrojów na skórze, działają przeciwzapalnie, antyalergiczenie i łagodzą podrażnienia. Są substancjami odżywczymi, zmiękcżającymi oraz uzupełniają lipidy włosów i górnych warstw skóry. Kwasy te są podstawowym składnikiem fazy tłuszczowej emulsji, poprzez zmianę ich zawartości można regulować konsystencję preparatów kosmetycznych, a także nadawać im połowy połysk.^[19,21]

4.3. Witaminy

Witaminy to związki organiczne o zróżnicowanej budowie. Organizm potrzebuje witamin w niewielkich ilościach, ale są one niezbędne do jego prawidłowego funkcjonowania. Efekt działania witamin zawartych w preparatach kosmetycznych zależy między innymi od podłoża w jakim się znajdują (faza wodna lub tłuszczowa), pH roztworu oraz czasu i sposobu przechowywania, gdyż są to z reguły związki nietrwałe i łatwo ulegają utlenieniu tlenem z powietrza. Działanie witamin na skórę ma charakter miejscowy.^[19]

Ze względu na zawartość witamin z grupy B (B1, B2, B5, B6, B12) algi posiadają zdolność regeneracji warstwy rogowej naskórka.

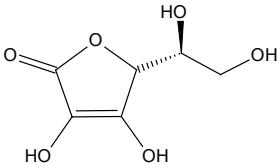
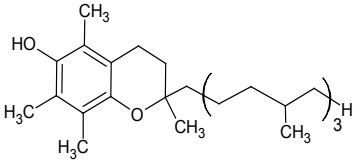
Ulva zawiera najwięcej witaminy C spośród wszystkich zbadanych pod tym kątem alg, można z niej pozyskać również witaminę E w postaci różnych jej izomerów. Witaminy te, wykazują działanie antyrodnikowe, wzmacniają ściany

naczyń krwionośnych oraz aktywizują procesy zachodzące w skórze. [18]

Tabela 1. Wybrane kwasy tłuszczowe występujące w glonach *Ulva* [15,21,22]

Nazwa substancji		Wzór sumaryczny i oznaczenie skrótowe	Funkcja pełniona w kosmetykach
Potoczna	Systematyczna		
Kwas linolowy	kwask oktadeka-9,12-dienowy	$C_{17}H_{31}COOH$; <i>cis</i> - Δ^9, Δ^{12} -oktadekadienowy	zmiękczająca, odżywiająca skórę i włosy, antystatyczna, oczyszczająca, środek powierzchniowoczynny
Kwas linolenowy	kwask oktadeka-9,12,15-trienowy	$C_{17}H_{29}COOH$; <i>cis</i> - $\Delta^9, \Delta^{12}, \Delta^{15}$ -oktadekatrienowy	
Kwas stearidonowy	kwask oktadeka-6,9,12,15-tetraenowy	$C_{17}H_{27}COOH$; <i>cis</i> - $\Delta^6, \Delta^9, \Delta^{12}, \Delta^{15}$ -oktadekatetraenowy	zmiękczająca, natłuszczająca
Kwas arachidonowy	kwask ejkoza-5,8,11,14-tetraenowy	$C_{19}H_{31}COOH$; <i>cis</i> - $\Delta^5, \Delta^8, \Delta^{11}, \Delta^{14}$ -ejkozatetraenowy	zmiękczająca, natłuszczająca
Kwas timnodonowy	kwask ejkoza-5,8,11,14,17-pentaenowy	$C_{19}H_{29}COOH$; <i>cis</i> - $\Delta^5, \Delta^8, \Delta^{11}, \Delta^{14}, \Delta^{17}$ -ejkozapentaenowy	zmiękczająca, odżywiająca skórę, leczy choroby skórne, np. łuszczycę

Tabela 2. Witaminy C i E – budowa i funkcja pełniona w preparatach kosmetycznych [15,21]

Nazwa substancji	Struktura	Funkcja pełniona w kosmetykach
witamina C (kwask askorbinowy)		antyoksydacyjna, wybielająca, wzmacniająca ściany naczyń krwionośnych, wpływa na prawidłowy rozwój tkanki łącznej (w tym kolagenu)
witamina E (tokoferol)		nawilżająca, odżywiająca skórę, promienioochronna, poprawiająca sprężystość, chroniąca wrażliwe składniki preparatu, hamująca procesy starzenia się skóry

W kosmetykach witaminy C i E pełnią funkcje odżywcze, chronią przed wolnymi rodnikami, wzmacniają ściany naczyń krwionośnych, zabezpieczają przed szkodliwymi czynnikami zewnętrznymi, między innymi promieniowaniem słonecznym oraz stymulują zachodzące w skórze procesy metaboliczne. Wszystkie te właściwości sprawiają, że witaminy zapobiegają przedwczesnemu starzeniu się skóry. Dodane do preparatu zapobiegają utlenianiu, jęlczeniu, a także utrzymują stałe pH.^[19,21]

Zasadniczą różnicą dotyczącą tych związków jest rozpuszczalność: kwas askorbinowy rozpuszcza się w wodzie, natomiast tokoferol rozpuszcza się w tłuszczach. Mimo to, te dwie substancje działają synergistycznie, tzn. zniszczona przez wolne rodniki witamina C jest regenerowana przez enzymy, następnie na granicy faz woda-olej wyłapuje ona wolny elektron z witaminy E, która również odzyskuje swoją aktywność. W ten sposób skóra może być nieustannie chroniona przed szkodliwym wpływem wolnych rodników.^[19]

4.4. Barwniki

W każdym organizmie samożywym występują związki umożliwiające przeprowadzenie procesu wytwarzania niezbędnych do jego życia substancji. Służą do tego barwniki, będące złożonymi związkami organicznymi o zróżnicowanej budowie, zawierające układ sprzężonych wiązań podwójnych.

Tabela 3. Barwniki, które zawiera plecha glonów z rodzaju *Ulva*^[21,23]

Nazwa substancji	Barwa	Funkcja pełniona w kosmetykach
chlorofil a chlorofil b	zielona	barwnik kosmetyczny, wybitnie kojąca, dezynfekcyjna
β -karoten	pomarańczowa	barwnik kosmetyczny, przeciwutleniająca, odżywiająca, opalająca, dobrze wpływa na keratynizację naskórka
ksantofile	żółta	przeciwutleniająca

Glony z rodzaju *Ulva* są organizmami fotosyntetyzującymi, dlatego też w ich komórkach występują związki chemiczne odpowiedzialne za wytwarzanie substancji odżywczych. Ich oczywistą funkcją pełnioną w preparatach kosmetycznych jest nadawanie im trwałej barwy, której odcień zależy od stężenia substancji oraz środowiska. Warto zaznaczyć, że barwniki te nie rozpuszczają się w wodzie. Chlorofile dobrze rozpuszczają się w alkoholach, natomiast karoten w tłuszczach i olejach. Należy więc zadbać, aby zostały umieszczone w odpowiednim podłożu. Oprócz tego omawiane substancje są antyutleniaczami,

dezynfekują, koją lub nadają skórze opalony kolor o lekko pomarańczowym odcieniu.^[19,21]

Karotenoidy to przede wszystkim pigmenty stosowane do produkcji kosmetyków kolorowych (szminek, cieni do powiek, lakierów do paznokci) nadając im odpowiednie barwy: fukoksantyna – brązowa, zeaksantyna – żółta, kanataksantyna – pomarańczowa, astaksantyna – różowa. Inne substancje barwiące plechę alg to fikoerytryna o barwie czerwonej występująca w krasnorostach, fikocyjanina (niebieska) barwiąca sinice oraz chlorofil odpowiedzialny za zielony odcień zielenic.

4.5. Cukry

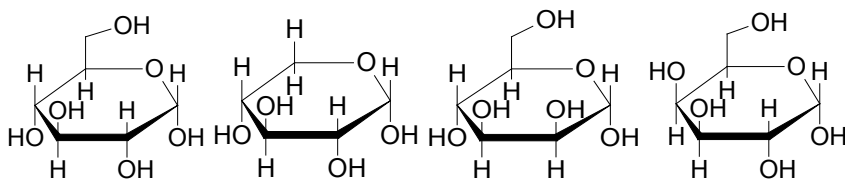
Zawartość cukrów w glonach z rodzaju *Ulva* to ponad 25% suchego materiału roślinnego i około 60% wszystkich substancji czynnych występujących w tych organizmach.^[24]

Tabela 4. Podział cukrów wyizolowanych z glonów *Ulva*^[21]

Nazwa substancji		Funkcja pełniona w kosmetykach
monosacharydy	glukoza	nawilżająca, utrzymująca wilgoć
	ramnoza	nawilżająca
	ksyloza	nawilżająca, utrzymująca wilgoć
	galaktoza	nawilżająca, odżywiająca skórę
	mannoza	nawilżająca
skrobia		regulująca lepkość, utrzymująca wilgoć, przeciwzbrylająca, wiążąca,
celuloza		regulująca lepkość, utrzymująca wilgoć, przeciwzbrylająca, wchłaniająca, zwiększająca objętość, środek zmętniający
karageniany		silnie nawilżająca, osłonowa, ochronna
agary		kryjąca, zwiększająca przyczepność, zwiększająca poślizg
kwas alginianowy, alginiany		nawilżająca, ochronna, regulująca konsystencję
kwasy uronowe		nawilżająca, utrzymująca wilgoć, odżywcza, antystatyczna, buforująca, chelatująca, błonotwórcza

4.5. Monosacharydy

Cukry proste reprezentowane są między innymi przez glukozę, ramnozę, ksylozę, a także w mniejszych ilościach galaktozę oraz mannozę. Wszystkie te substancje wykazują właściwości higroskopijne, zwiększają zawartość wody w skórze i zapobiegają jej utracie. Działają one poprzez tworzenie na powierzchni skóry hydrofilowego filmu i dostarczaniu wody do głębszych warstw naskórka. Poprzez działanie odżywiające utrzymują skórę w dobrej kondycji. [16,19,21]



α -D-glukopiranoza α -D-ksylopiranoza α -D-mannopiranoza α -D-galaktopiranoza
Rysunek 6. Przykłady monosacharydów występujących w algach *Ulva*. Cukry przedstawiono w formie pierścieni piranozowych.

4.5.1. Celuloza i skrobia

Celuloza i skrobia to wielkocząsteczkowe polisacharydy złożone wyłącznie z D-glukopiranozy i pełniące w organizmach żywych funkcje budulcowe i zapasowe. W celulozie poszczególne jednostki połączone są wiązaniami glikozydowymi β -(1 \rightarrow 4), a stopień polimeryzacji szacuje się na 10-15 tysięcy. Skrobia natomiast składa się z: rozpuszczalnej w wodzie amylopektyny o rozgałęzionych łańcuchach zawierających w swej budowie wiązania α -(1 \rightarrow 4) oraz α -(1 \rightarrow 6) oraz nierozpuszczalnej amylozy o liniowej budowie z wiązaniami α -(1 \rightarrow 4) łączącymi jednostki D-glukozowe (od 100 do 300 pierścieni). [25]

Wymienione polimery pełnią w kosmetykach wiele funkcji. Zapewniają spójność oraz zwiększenie objętości preparatu, utrzymują jego wilgoć, wchłaniają dobrze rozpuszczone lub zdyspergowane substancje, zapobiegają zlepianiu się kosmetyku w bryłę. Dzięki zmianie zawartości tych polimerów można regulować lepkość oraz przezroczystość i przeświecalność produktu. [21]

4.5.2. Karageniany, agary, alginiany

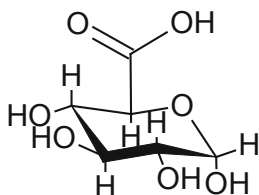
Karageniany to mieszanina anionowych polisacharydów. Są to związki, które mają zdolność pęcznienia w roztworze wodnym i dzięki temu mogą tworzyć żele. W związku z tym w kosmetykach są stosowane głównie jako środki żelująco-zagęszczające. Inne pełnione przez te polimery funkcje to nawilżanie i ochrona skóry. [19]

Agary to polisacharydy, które gęstnieją pod wpływem wody dając galaretowatą masę. Z tego względu wykorzystywane są np. do produkcji beztłuszczowych kremów czy maseczek. Poprawiają rozsmarowywalność preparatów, a także zwiększają jego przyczepność.^[19,21]

Alginiany natomiast nadają kosmetykom odpowiednią konsystencję i zapewniają skórze zdrowy wygląd.^[19]

4.5.3. Kwasy uronowe

Kwasy uronowe to pochodne monosacharydów, w których terminalna pierwszorzędowa grupa hydroksylowa została utleniona z otrzymaniem grupy karboksylowej, natomiast grupa aldehydowa tego cukru nie uległa żadnym przemianom. Są to związki obecne w wielu polisacharydach występujących w organizmach żywych, również w glonach.^[25] W algach z rodzaju *Ulva* stanowią one około 29 mg na 1g suchej masy. Głównym przedstawicielem tej grupy związków pochodzących z omawianych glonów stanowi kwas glukuronowy i jego pochodne, np. siarczan.^[24] Kwasy uronowe dodane do preparatów kosmetycznych są przede wszystkim silnym czynnikiem nawilżającym i utrzymującym wilgoć. Działają one odżywczo i antystatycznie, stabilizują pH. Dzięki ich zastosowaniu można uzyskać na skórze, włosach lub paznokciach ciągły film ułatwiający działanie składników czynnych.^[21]



Rysunek 7. Kwas α -D-glukuronowy^[25]

Alkohole cukrowe wykazują działanie nawilżające, regenerujące i przeciwświądowe, chronią przed czynnikami atmosferycznymi. Hamują rozwój bakterii patogennych na skórze, regulują wydzielanie gruczołów łojowych. Mannitol i sorbitol stosuje się w kosmetykach do pielęgnacji cery tłustej, trądzikowej, w preparatach do włosów przetłuszczających się, a także jako wypełniacz produktów. Kwas hialuronowy osłania skórę tworząc film na jej powierzchni. Działanie nawilżające kwasu hialuronowego związane jest z bardzo silnymi właściwościami higroskopijnymi. Ma doskonałe właściwości łągoadzące, skutecznie nawilża i wygładza przesuszoną skórę ze skłonnościami

do pierzchnięcia, a także poprawia elastyczność i ujędrnia. Do polisacharydów występujących w algach zalicza się również siarczan chondriotyny, który ma działanie silnie nawilżające, laminarynę i fukoidynę posiadające zdolność wiązania mikro i makroelementów oraz kwas alginowy, agar i karagen. Trzy ostatnie spełniają funkcje przede wszystkim związane z regulacją konsystencji preparatów kosmetycznych, tj. służą jako stabilizatory emulsji, posiadają właściwości żelujące, ułatwiają i poprawiają rozsmarowywalność, jak również zapobiegają wysychaniu kosmetyków.^[26, 27]

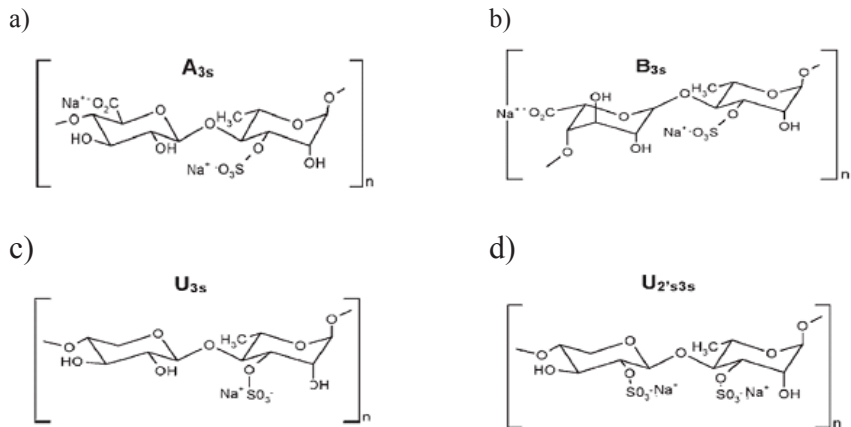
4.6. Ulwany^[28, 29]

Głony z rodzaju *Ulva* są odnawialnym i łatwo dostępnym źródłem przydatnych człowiekowi polimerów. Organizmy te produkują między innymi celulozę, ksyloglukan oraz pochodne kwasu glukuronowego. Bardzo interesującą grupą związków chemicznych występujących w tym rodzaju glonów są także pochodzące ze ścian komórkowych i rozpuszczalne w wodzie anionowe polisacharydy zawierające grupę siarczanową. Obecnie związki te nazywane są ulwanami. Nazwa pochodzi od używanej dawniej nazwy *ulvin* bądź *ulvacin* i została po raz pierwszy użyta do opisania rozpuszczalnych w wodzie frakcji polisacharydów siarczanowych pochodzących z tego typu organizmów morskich. Ulwany stanowią 8-29% suchej masy glonu, stężenie zależy od sposobu oczyszczania oraz ekstrakcji. Najprościej można je uzyskać poprzez ekstrakcję gorącym roztworem wodnym z dodatkiem dwuwartościowych jonów chelatujących, takich jak jony szczawianowe, a następnie odzyskanie ich za pomocą alkoholu lub czwartorzędowych soli amonowych.

Głównymi składnikami tych wyjątkowych związków są między innymi glukoza, ksyloza i ramnoza oraz kwasy uronowe: glukuronowy oraz iduronowy. Zawierają także grupy siarczanowe i małe ilości mannozy, arabinozy i galaktozy. Nie można wyznaczyć dokładnego składu, ponieważ zawartość kompozycji cukrów może się zmieniać. Najprawdopodobniej na ilość poszczególnych jednostek cukrowych oraz właściwości ulwanów wpływają znacznie warunki środowiskowe i ekologiczne, jednak relacja ta nie została jeszcze jednoznacznie określona. Badania wykazały natomiast, że najczęściej terminalnie związane to ramnoza oraz ksyloza. Jednak określenie dokładnej sekwencji jednostek w łańcuchu polisacharydowym jest bardzo trudne, ze względu na odporność wiązań aldobiourodonowych na hydrolizę, i nie została dotąd przedstawiona. Najczęściej występujące fragmenty disacharydowe zostały przedstawione na rysunku.

Ich właściwości, zarówno chemiczne jak i fizyczne, kierują zainteresowania na praktyczne zastosowanie tych kompleksów. Dodane do kosmetyków są

substancjami o działaniu silnie nawilżającym oraz ograniczają wpływ czynników działających na skórę szkodliwie. Poza tym są źródłem wielu cennych związków chemicznych wykorzystywanych w przemyśle kosmetycznym, które zostały wcześniej omówione, np. glukozy, rzadko występującej w naturze ramnozy czy kwasów uronowych. Są też bardzo ważnym elementem specyficznego dla alg z rodzaju *Ulva* mechanizmu tworzenia żeli.

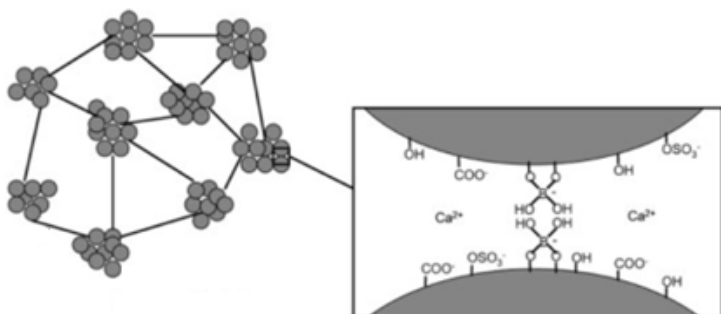


Rysunek 8.^[17] Najczęściej występujące disacharydy budujące ulwany. a) kwas ulvanobiuronowy A_{3S} b) kwas ulvanobiuronowy B_{3S} c) ulvanobioza U_{3S} d) ulvanobioza U_{2'S3S}

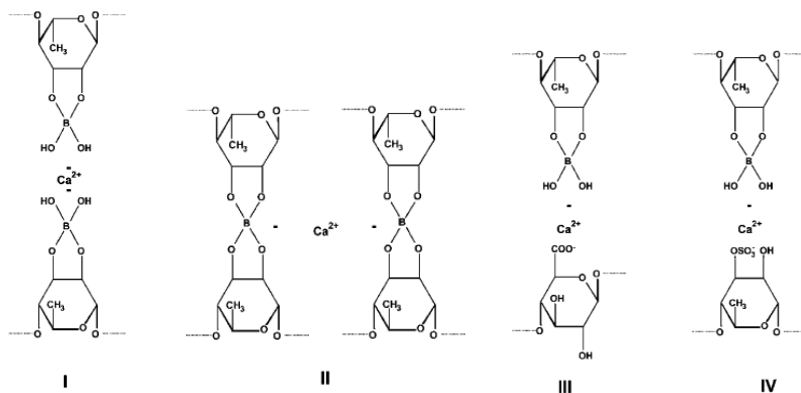
4.6.1. Tworzenie żelu przez ulwany^[28, 29]

Bardzo interesującą cechą ulwanów jest ich zdolność do tworzenia trwałych żeli o zwartej, sztywnej strukturze. Mechanizm tego procesu nie jest dokładnie poznany, istnieje jednak hipoteza próbująca go wyjaśnić.

Jak już wspomniano, ulwany są polisacharydami o złożonej strukturze zawierającymi grupy siarczanowe i karboksylowe. Dzięki temu są łatwo rozpuszczalne w wodzie. W obecności kwasu borowego oraz dwuwartościowego kationu tworzą one struktury sferyczne, co mimo obecności polarnych grup czyni je hydrofobowymi. Struktury te tworzą asocjaty przypominające budową owoc maliny, które łączą się poprzez włókna. Średnica elementów wynosi około 10 nm, natomiast tworzone przez nie agregaty mają wymiary pomiędzy 500 a 1200 nm. Przypuszcza się, że liniowe struktury łączące zgrupowania to łańcuchy białek, glukuronian lub ulwany, które nie utworzyły form sferycznych.



Rysunek 9. Struktura tworzona przez ulwany w roztworze wodnym w obecności kwasu borowego i kationu dwuwartościowego oraz proponowane połączenie poszczególnych fragmentów.^[28]



Rysunek 10. Rola kwasu borowego i jonów wapnia w mechanizmie tworzenia żelu^[29]

Połączenia pomiędzy włóknami i strukturami kulistymi oraz pomiędzy dwiema sferami to różnorodne oddziaływania jonowe. Możliwe warianty to:

- a) Estry boranowe tworzą diole w formie cis i oddziałują z niesiarczanowymi pochodnymi ramnozy tworząc sieć. Obecny pomiędzy dwoma takimi kompleksami jon wapnia tworzy mostek i stabilizuje strukturę (Rys. 10 I). Bezpośrednie wiązanie poprzeczne pomiędzy dwiema resztami boranowymi jest mało prawdopodobne (Rys. 10 II). Żel utworzony przez ulwany jest termo odwracalny, natomiast wiązania tworzone

przez reszty estrowe wewnątrz łańcucha są słabe i poddane działaniu wysokiej temperatury uległyby całkowitemu zniszczeniu.

- b) Obecne w ulvanach grupy siarczanowe i karboksylowe dzięki swojemu ładunkowi koordynują jony wapniowe.

Wiadomo, że do uformowania przez ulwany żelu niezbędny jest kwas borowy oraz kation dwuwartościowy. Wybór kwasu borowego nie jest przypadkiem. W formie estrowej dostarcza on dodatkowych grup hydroksylowych, które wyeksponowane na powierzchni sferycznych struktur utworzonych przez polisacharydy, zwiększają ładunek i sprzyjają oddziaływaniom jonowym. W przypadku jonu, jego wybór nie jest już tak selektywny. Najlepsze efekty uzyskano przy zastosowaniu jonów wapnia (II), ale żel może być również utworzony w obecności innych dwudodatnich jonów, np. miedzi, cynku lub manganu. Nie otrzymano żelu stosując jon magnezu (II). Optymalne warunki formowania struktury żelowej to stężenia kwasu borowego oraz kationów wapniowych odpowiednio: 15-33 i 7 mM, oraz pH wynoszące 7,5. W związku z tymi wymaganiami najlepsze predyspozycje do produkcji żeli mają ulwany pochodzące z glonu *Ulva armoricana*. Wyższe stężenie jonów oraz podwyższone lub obniżone pH wpływa niekorzystnie na omawiany proces.

Mechanizm tworzenia żeli przez ulwany mimo, iż nie do końca wyjaśniony, z całą pewnością jest unikatowy w porównaniu z mechanizmami dla innych polisacharydów tworzących hydrozele. Powstała forma jest również bardziej trwała i stabilna. Takie wyjątkowe właściwości pozwalają na wykorzystanie tej formy do produkcji kosmetyków. Mogą one stanowić podstawę takich produktów jak: maseczki, galaretki, żele myjące, płyny zagęszczone, czy kremy beztłuszczowe. Ponadto warunki tworzenia żeli pozwalają kontrolować ich postać poprzez zmianę odczynu, temperatury lub stężenia kationu. W przyszłości mogą być użyte do stworzenia kosmetyków, które będą zdolne do uwolnienia uwięzionych w ich wewnętrznej strukturze cząsteczek o korzystnych dla skóry właściwościach.

5. Analiza chemiczna alg

Przeprowadzenie badań analizy składu alg pozwoliło na ocenę zawartości minerałów, polisacharydów oraz przeciwutleniaczy w algach. Skład pierwiastkowy oznaczono za pomocą analizatora jonów z osobną kolumną i eluentem dla kationów i osobną dla anionów.

Algi zawierają w swoim składzie znaczne ilości jonów magnezu, sodu, wapnia i potasu.^[29] Zawartość polisacharydów oceniano przy pomocy wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Badanie wykazało, że największa ilość polisacharydów znajduje się w aldze *Sargassum ringgoldianum*

z rodzaju brunatnic. Algi z rodzaju Sargassaceae zawierają wielkocząsteczkowe polisacharydy (ok. 800kDa) zbudowane z kwasu alginowego i fukoidanów. Oceniano również lepkość za pomocą wiskozymetru oscylacyjnego i zawartość związków fenolowych. Największą lepkością charakteryzują się *Sargassum ringgoldianum* (10.2), *S. patens*(6.3), oraz *Ulva pertusa* (4.6). Lepkość pozostałych gatunków wynosiła ok. 2.0 i mniej. W algach *Ecklonia stolonifera* i *E. kurome* wykryto największą ilość związków fenolowych, a także chlorotaniny o silnym działaniu antyutleniającym. Wykazywały one największą aktywność przeciwrodnikową. Zmierzono również absorbancję w zakresie promieniowania UV. Większość glonów wykazuje maksimum absorbancji przy długości fali $\lambda=280$ nm co wskazuje na obecność związków fenolowych. [30, 31].

Tabela 5. Zawartość wybranych jonów w algach ($\mu\text{mol/ml}$). Algi zawierają w swoim składzie znaczne ilości jonów magnezu, sodu, wapnia i potasu^[29]

Nazwa	NH ₄ ⁺	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	H ₂ PO ₄ ⁻	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻
Phaeophyceae Laminariaceae								
<i>Ecklonia stolonifera</i>	1,7	40,6	27,1	3,0	1,7	0,5	35,3	3,0
<i>E. kurome</i>	2,0	44,5	27,6	3,6	2,0	0,4	40,5	3,6
Sargassaceae								
<i>S.ringgoldianum</i> subsp. coreanum	-	45,3	69,2	7,8	4,1	4,4	104,8	2,5
<i>S. macrocarpum</i>	0,8	27,7	39,8	5,6	2,3	3,9	63,1	1,4
<i>S. siliquastrum</i>	0,7	33,3	33,1	4,7	1,9	4,0	60,6	1,9
<i>S. confusum</i>	0,8	26,1	32,5	4,3	1,5	1,1	51,3	1,2
<i>S. patens</i>	0,7	16,8	15,1	6,2	1,3	-	20,4	0,5
<i>S. piluliferum</i>	0,7	25,9	16,9	4,1	1,5	3,0	36,1	4,2
Chlorophyceae Ulvaceae								
<i>Ulva pertusa</i>	0,7	16,7	20,4	16,2	1,7	-	9,4	3,1
<i>Enteromorpha intetinalis</i>	6,4	12,4	17,6	8,8	1,39	3,1	9,5	2,9
Cladophoraceae								
<i>Chaetomorpha moniligera</i>	0,6	10,0	13,6	1,3	0,9		14,3	0,2
Codiaceae								
<i>Codium fragile</i>	1,1	52,5	5,9	6,6	1,8	-	61,8	4,0

6. Podsumowanie

Glony z rodzaju *Ulva* są często występującymi na całym świecie organizmami morskimi. Badając ich skład oraz właściwości można stwierdzić, że nadają się do wykorzystania w wielu dziedzinach gospodarki. Ze względu na kompozycję węglowodanów, kwasów tłuszczowych czy tworzonego przez ulwany żel, warto

wykorzystywać ekstrakty z tych alg w preparatach kosmetycznych. Uzyskane z nich substancje działają między innymi nawilżająco, odżywczo, chronią skórę przed szkodliwymi czynnikami zewnętrznymi, hamują przedwczesne starzenie się skóry. Jest to surowiec tani, a także ze względu na naturalne pochodzenie marketingowo atrakcyjny. Należy być jednak ostrożnym i dbać o jakość tego surowca, ponieważ glony z rodzaju *Ulva* mają tendencję do akumulowania substancji obecnych w ich środowisku, np. metali ciężkich, które mogą być niebezpieczne dla zdrowia. Mimo to korzyści płynące ze stosowania omawianych alg są niezmiernie szerokie, powinniśmy więc nauczyć się wykorzystywać ten naturalny surowiec o bogatym składzie.

Algi są źródłem wielu niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania skóry substancji, takich jak odżywcze kwasy tłuszczowe, nawilżające polisacharydy, wzmacniające peptydy czy regenerujące witaminy. Dlatego często wykorzystywane są do produkcji preparatów kosmetycznych. Cieszą się również dużym zainteresowaniem wśród konsumentów, gdyż kojarzą się z naturalnością, czystością, bogactwem środowiska morskiego, ze zdrowiem. Każda firma kosmetyczna na rynku posiada w swojej ofercie serię kosmetyków z algami, co świadczy o wartości tego surowca i zapotrzebowaniu wśród klientów. Istnieją firmy, które produkują preparaty o składzie opierającym się wyłącznie na ekstraktach z alg. Kosmetyki te stosowane są w tzw. zabiegach *thalasso* w profesjonalnej pielęgnacji ciała w salonach SPA. Zabiegi „morskie” korzystnie wpływają na skórę poprzez pobudzenie krążenia krwi i limfy, zlikwidowanie zanieczyszczeń i usunięcie toksyn, co powoduje lepsze przenikanie substancji do warstw naskórka, ale także wywierają działanie odprężające i relaksacyjne, gdyż nieodłącznym elementem *thalasso* jest filozofia holistyczna. W kosmetykach z algami szczególnie ważne jest nawilżenie skóry, ale również opóźnienie procesów starzenia poprzez likwidowanie wolnych rodników tlenowych i wzmocnienie bariery hydrolipidowej naskórka. Korzystne działanie wykazują podczas stosowania do pielęgnacji cer problemowych (trądzik pospolity, trądzik różowaty). W obu przypadkach mają działanie łagodzące i uspokajające na skórę. Istotne są właściwości antycellulitowe alg, najlepszy wpływ na tkankę tłuszczową wywierają mikronizowane algi, które działają wyszczuplająco i detoksykująco. Działanie aplikowanych na skórę preparatów z algami wspomagają suplementy diety oraz herbaty ziołowe z algami. Wyróżnić można kurację wyszczuplającą zawierającą ekstrakt z algi brunatnej, kurację oczyszczającą – detox (wyciąg z *Fucus Vesiculosus*), jak również kurację nawilżającą (z ekstraktem z *Odontella Aurita*).

Algi zaopatrują skórę w niezbędne minerały i witaminy, dostarczają protein, węglowodanów i nienasyconych kwasów tłuszczowych potrzebnych do

prawidłowego funkcjonowania skóry, posiadają właściwości antyoksydacyjne, regeneracyjne i dotleniające, co sprawia, że są one bardzo cennym i pożądanym składnikiem kosmetyków.

Literatura:

1. E. Kowalska-Wochna, „Algi uroda z morza. Leki zielone”, *Panacea* 4 (21) 2007
2. R. Glinka, M. Glinka, „Receptura kosmetyczna z elementami kosmetologii”, Oficyna wydawnicza MA, Łódź 2008
3. Strona internetowa: www.enteromorpha.prv.pl
4. Strona internetowa: www.edu-graphics.com
5. Strona internetowa: www.korseby.net
6. Strona internetowa: www.seaweedsokalaska.com
7. Strona internetowa: www.solpugid.com
8. Strona internetowa: www.ecospa.pl/algii-aosa-ulva-lactuca-mikronizowane-p-164.html
9. Strona internetowa: www.biosila.pl;
www.mabitec.de/produkte.php?&prodID=97;
www.puteauxplongee.com/bio/qfiles.php?taxonref=1;
www.cybercolloids.net/library/carrageenan/intro.php
10. Strona internetowa: www.ecospa.pl/algii-fucus-mikronizowane-p-110.html [8];
www.globalherbalsupplies.com/herb_information/bladderwrack.htm
11. Strona internetowa: www.beauty-forum.com.pl/fileadmin/all/beautyforum/PL/archiwum/2008/07_2008/18-21_Algi_Sila_z_morza_BF7.pdf
12. Strona internetowa: www.doz.pl/czytelnia/a356-Algi_morskie
13. Strona internetowa: www.innovia.pl/surowce/metody_pozyskiwania_i_przetwarzania_alg_morskich.htm
14. E. Kowalska-Wochna, „Uroda i zdrowie z morskim rodowodem”, *Cabines*, 33/2009
15. J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer; „*Biochemia*”; Warszawa 2005
16. A. Robic, C. Rondeau-Mouro, J.-F. Sassi, Y. Lerat, M. Lahaye; “Structure and interactions of ulvan in the cell wall of the marine green algae *Ulva rotundata* (Ulvales, Chlorophyceae)”; *Carbohydrate Polymers* 77 (2009) 206–216
17. M. Aguilera-Morales, M. Casas-Valdeza, S. Carrillo-Dominguez, B. Gonzalez-Acosta, F. Perez-Gilb; “*Chemical composition and microbiological assays of marine algae Enteromorpha spp. as a*

- potential food source*"; Journal of Food Composition and Analysis 18 (2005) 79–88
18. J. Ortiz, N. Romero, P. Robert, J. Araya, J. Lopez-Hernández, C. Bozzo, E. Navarrete, A. Osorio, A. Rios; "*Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds Ulva lactuca and Durvillaea Antarctica*"; Food Chemistry 99 (2006) 98–104
 19. Alicja Marzec, „Chemia kosmetyków: surowce, półprodukty, preparatyka wyrobów”; Toruń 2005
 20. X. Li, X. Fan, L. Han, Q. Lou; "*Fatty acids of some algae from the Bohai Sea*"; Phytochemistry 59 (2002) 157–161
 21. Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej, Decyzja Komisji z dnia 9 lutego 2006 r. zmieniająca decyzję 96/335/WE ustanawiającą wykaz i powszechne nazewnictwo składników stosowanych w produktach kosmetycznych
 22. Strona internetowa: www.chemexper.com
 23. A. Csikkel-Szolnokia, M. Báthorib, G. Blunden; "*Determination of elements in algae by different atomic spectroscopic methods*"; Microchemical Journal 67 (2000) 39–42
 24. O. A. Al-Amoudi, H. H. Mutawie, A. V. Patel, G. d Blunden; "*Chemical composition and antioxidant activities of Jeddah cornice algae*"; Saudi Journal of Biological Sciences 16 (2009) 23–29
 25. A. Wiśniewski, J. Madaj, „*Podstawy chemii cukrów*”, Poznań-Gdańsk 1997
 26. M.C. Martini, „*Kosmetologia i farmakologia skóry*”, PZWL, Warszawa 2007
 27. E. Kowalska-Wochna, „*Uroda i zdrowie z morskim rodowodem*”, Cabines, 33/2009
 28. A. Robic, C. Gaillard, J.-F. Sassi, Y. Lerat, M. Lahaye; "*Ultrastructure of Ulvan: A Polysaccharide from Green Seaweeds*"; Biopolymers 91 (8), (2009) 652–664
 29. M. Lahaye, A. Robic; „*Structure and Functional Properties of Ulvan, a Polysaccharide from Green Seaweeds*"; Biomacromolecules 8 (6), (2007) 1765–1774
 30. T. Kuda, T. Ikemori, "*Minerals, polysaccharides and antioxidant properties of aqueous solutions obtained from macroalgal beach-casts in the Noto Peninsula, Ishikawa, Japan*"; Food chemistry 112 (2009) 575–581
 31. Strona internetowa: www.innovia.pl/aktualnosci/zawartosc_mineralow__polisacharydow__oraz_przeciwutleniaczy_w_algach.htm

Rozdział 7

Tautomeria, właściwości kwasowo-zasadowe i kompleksotwórcze pochodnych pirazyn

Anita Stefańska, Paweł Niedziałkowski, Dorota Zarzeczańska,
Tadeusz Ossowski
*Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, ul. Sobieskiego 18/19,
80-952 Gdańsk*

Wprowadzenie

W ostatnich latach, z powodu możliwości praktycznego wykorzystania pirazyn, związki te stały się interesującym obiektem badań wielu ośrodków naukowych. Szczególnie ważną cechą pochodnych pirazyn jest ich zdolność do tworzenia związków kompleksów. Liczne połączenia koordynacyjne pirazyny wykazują interesujące właściwości optyczne, o potencjalnym zastosowaniu jako materiały wykorzystywane w optyce nieliniowej [1]. Kompleksy pirazyny z irydem natomiast znalazły zastosowanie w wysoce skutecznych nadajnikach elektroluminescencyjnych (EL) w diodach OLED [2]. Połączenia z rutenem wykorzystuje się w lekach przeciw-przerzutowych [3], jako potencjalne łączniki do DNA [4] oraz jako modulatory reakcji immunologicznych [5].

W walce przeciw chorobom, powstają coraz to nowsze struktury chemiczne, projektuje się i testuje nowo powstałe komponenty. Uwagę przykuwają głównie właściwości biologiczne pochodnych pirazyny, ze względu na ich szkielet budowy, który może być stosowany jako farmakofoer w projektowaniu nowych potencjalnych leków. Fascynacja chemią pirazyn owocuje coraz to nowymi związkami, które mają w przyszłości doprowadzić do polepszenia komfortu życia człowieka.

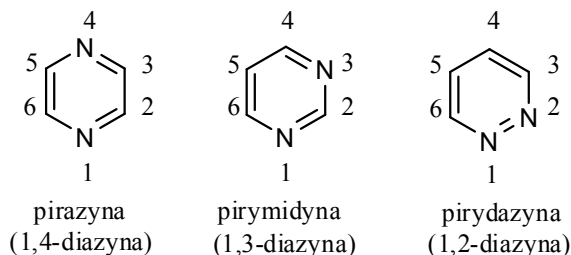
Liczne doniesienia o właściwościach biologicznych tej grupy związków, doprowadziły do powstania klasy pochodnych pirazyno-acetonitrylu, należących do tak zwanej grupy C-H i N-H kwasów. Wstępne badania literaturowe wykazały szerokie spektrum aktywności farmakologicznej tych związków. Ponadto, wykazano, iż ulegają one przekształceniu tautomerycznym, co ma istotny wpływ na właściwości fizykochemiczne tychże pochodnych. Występowanie tautomerii prowadzi do zróżnicowania postaci produktów i

w sposób zasadniczy może ukierunkowywać ich reaktywność. Dlatego też planując wykorzystanie określonej substancji chemicznej należy rozważyć jej przekształcenia tautomeryczne oraz właściwości fizykochemiczne, takie jak właściwości kwasowo-zasadowe czy zdolności kompleksotwórcze. Doniesienia literaturowe na temat wyżej wspomnianych pochodnych pirazyno-acetonitrylu są bardzo ubogie, toteż w powyższym artykule skupiono się na przedstawieniu właściwości powyższej grupy związków.

1.1. Diazyny –właściwości ogólne

Pierścień diazyn stanowi część budulcową ważnych naturalnych i syntetycznych związków, np. nukleotydów. Jest to powód, dla którego proste diazyny: pirazyna, pirymidyna i pirydazyna przykuwają swoją atrakcyjnością uwagę chemików.

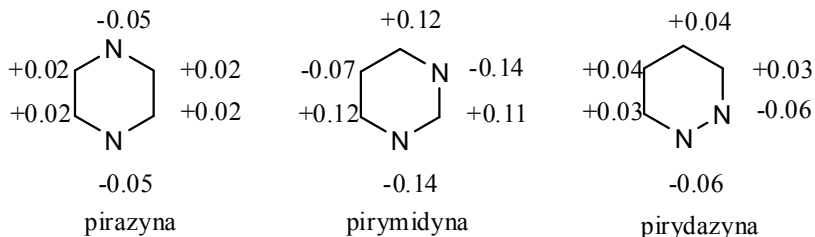
Diazyny są grupą organicznych związków heterocyklicznych, z których najpospolitszymi są: pirazyna, pirymidyna oraz pirydazyna (Rys. 1). Są one bezbarwnymi, trwałymi substancjami stałymi. Wzajemne ułożenie dwóch atomów azotu w pierścieniu wpływa znacząco na ich właściwości, takie jak aromatyczność, polarność, czy kwasowość.



Rysunek 1. Diazyny - budowa i kolejność numerowania atomów węgla i azotu w cząsteczce.

Rozkład gęstości elektronowej w omawianych diazynach jest typowy – duży nadmiar ładunku na atomach azotu i deficyt na atomach węgla, zwłaszcza znajdujących się w pozycjach α i γ względem atomów azotu. Efekt ten wzmacnia się, gdy atom węgla oddziałuje mezomerycznie z kilkoma atomami azotu, na przykład na węglu C2, C4, C6. W pirymidynie ładunki nadmiarowe elektronów π przedstawione na rysunku 2, zostały obliczone metodą *ab initio* [6]. Na podstawie rozkładu gęstości ładunków stwierdzono, że polarność rośnie. W następującym szeregu: pirazyna ($\mu=0$ D), pirymidyna ($\mu=2.10$ D), pirydazyna ($\mu=3.95$ D). Tak, więc pirazyna w porównaniu z pozostałymi dwiema diazynami

jest niepolarna. Mimo to, rozpuszcza się nie tylko w rozpuszczalnikach niepolarnych, takich jak eter, ale również w rozpuszczalnikach polarnych (np. woda, etanol). Rozpuszczalność swą zawdzięcza obecności dwóch wolnych par elektronowych na atomach azotu, które rozłożone są w sposób symetryczny.



Rysunek 2. Rozkład ładunku elektrycznego w diazynach [7].

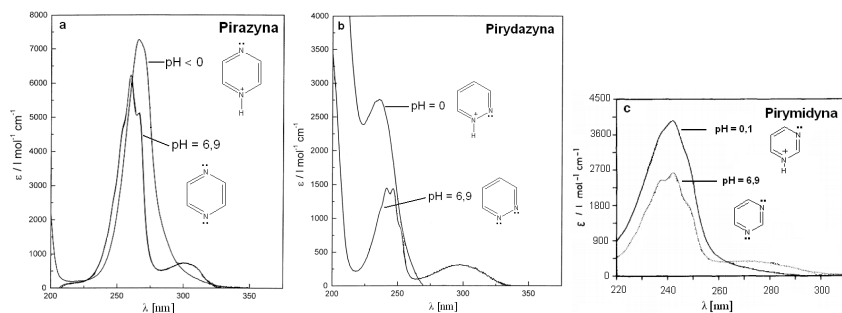
We wszystkich atomach wchodzących w skład pierścienia występuje hybrydyzacja sp^2 . Związki zachowują się zgodnie z regułą Hückla, która przewiduje, że liczba elektronów π w pierścieniu jest równa $4n+2$ (gdzie $n=0,1,2,3,\dots$). Wszystkie trzy związki są płaskimi cząsteczkami cyklicznymi o układzie sprzężonych wiązań podwójnych.

Wzajemne ułożenie atomów azotu w pierścieniu wpływa również na zasadowość diazyn. Obrazują to wartości pK_{a1} , które wynoszą: 0,65 dla pirazyny, 1,31 dla pirymidyny oraz 2,33 dla pirydazyna. Najbardziej zasadowy charakter ma pirydazyna, a najmniej pirazyna. Ponadto, obserwuje się znaczne różnice w temperaturach wrzenia i topnienia tych związków (Tabela 1). Najwyższą temperaturą wrzenia charakteryzuje się pirydazyna. Tłumaczy się to jej wysokim momentem dipolowym, czego konsekwencją jest asocjacja cząsteczek. Najwyższą temperaturę topnienia osiąga natomiast pirazyna. Powodem tego jest jej symetryczność, która sprzyja wysokiemu stopniowi upakowania cząsteczek w kryształach.

Tabela 1. Momenty dipolowe, wartości pK_a , temperatury topnienia i wrzenia diazyn [8].

	pirazyna	pirydazyna	pirymidyna
Moment Dipolowy [D]	0	3,95	2,10
pK_{a1}	0,65	2,33	1,31
pK_{a2}	-0,62	-	-6,9
Temp. wrzenia [°C]	116	208	123
Temp. topnienia [°C]	55	-8	22

Elektronowe widma absorpcyjne wspomnianych diazyn wykazują dwa pasma absorpcyjne. Pierwsze pasmo leży w zakresie 240-260 nm i odpowiada przejściom $\pi \rightarrow \pi^*$, kolejne pasmo w zakresie 270-340 nm odpowiada przejściom $n \rightarrow \pi^*$. Częstości tych pasm zbliżone są do częstości w widmach benzenu i pirydyny [9]. W wyniku protonowania diazyn, wygaszeniu ulega pasmo z zakresu długofalowego, natomiast znacznie zwiększa się intensywność pasma krótkofalowego ($\pi \rightarrow \pi^*$), przy czym jego położenie praktycznie nie ulega zmianie (Rys. 3).



Rysunek 3. Widma spektroskopowe UV-VIS a) pirazyny w $pH = 6,9$ i $pH < 0$; b) pirydazyna w $pH = 6,9$ i $pH = 0$ oraz c) pirymidyny w $pH = 6,9$ i $pH = 0,1$ w wodzie.

W widmach w podczerwieni trzech diazyn obserwuje się przede wszystkim, drgania walencyjne wiązań C-H w zakresie $3095-3045\text{ cm}^{-1}$ oraz wiązania C=C i C=N pierścienia w zakresie $1617-1283\text{ cm}^{-1}$ [10].

1.2. Związki pirazyny występujące w środowisku naturalnym

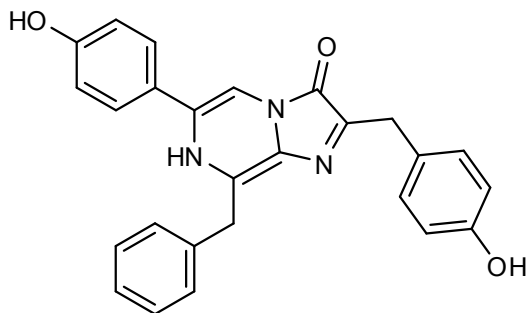
Pirazyny są ważną częścią składową smaku. Zwłaszcza alkoksy- i alkilopirazyny są znane ze swych charakterystycznych właściwości smakowych [11]. Pochodne pirazyny zostały zidentyfikowane w podgrzewanej żywności, szczególnie w chlebie [12], w produktach pochodzenia mięsnego [13], pieczonych ziemniakach [14], czy kawie [15]. Związki te powstają w wyniku reakcji Maillarda (redukcja aminokwasów i cukrów) [16]. Typowymi produktami wyżej wspomnianej reakcji są alkilopirazyny. Obecność pochodnych pirazyny stwierdzono, nie tylko w przetwarzanej żywności, ale również w świeżych, surowych warzywach, takich jak pomidory, zielony groszek, szparagi czy szpinak [17].

Odkrycie pochodnych pirazyny w produktach spożywczych spowodowało, że stały się one bardzo znaczące dla przemysłu spożywczego, głównie

poходne pirazyny zawierające takie grupy funkcyjne jak acetylowe-, alkilowe-, alkoksylowe- i grupy siarkowe. Liczne alkilowe i metoksylowe pochodne pirazyny wykazują silne właściwości zapachowe i są ważnymi składnikami przypraw stosowanych w różnych produktach spożywczych, ze względu na brak ich toksyczności.

Obecność związków pirazyny zanotowano także, w produktach przemian metabolicznych niektórych mikroorganizmów, przykładem jest bakteria *Bacillus subtilis*, wytwarzająca pochodne pirazyny w wyniku fermentacji ziaren soi. Wspomniane związki zidentyfikowano również w niektórych organizmach żywych. Tecele wraz z współpracownikami wyizolował pochodne pirazyny z głowy mięsożernych australijskich mrówek *Rhytidoponera metallica* [18].

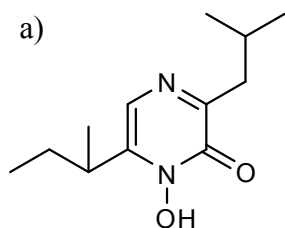
Interesującą grupą związków zawierających szkielet pirazyny są barwniki azynowe, jak na przykład fenazyne, produkowana przez bakterie *Pseudomonas aureofaciens* [19], czy czerwony barwnik pulcherrina, wyizolowany z *Candida pulcherrima* [20]. Należy podkreślić, że szkielet pirazyny występuje również w niektórych rodzajach lucyferyny, pigmentach zdolnych do emitowania światła, obecnych w organizmach żywych zdolnych do bioluminescencji. Na uwagę zasługuje również kolentrazyna [21] (Rys. 4), która występuje u promienic, kałamarnic, parzydełkowców i widłonogów – wchodzi ona w skład białka o nazwie aekworina. Reakcja luminescencji aekworiny jest inicjowana wyłącznie przez jony Ca^{2+} . Shimomura jako pierwszy wyodrębnił aekworinę z meduzy, *Aequorea victoria*. W roku 1962 odkrył i opisał aekworinę oraz obecne w niej zielone białko fluoryzującego GFP [22]. Aekworina jest rodzajem białka wskaźnikowego, które wykorzystywane jest do określania stężenia kationów wapnia w sarkoplazmie mięśnia sercowego [23].



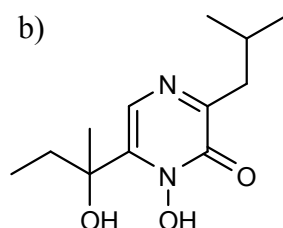
Rysunek 4. Wzór strukturalny kolentrazyny.

1.2.1. Pochodne pirazyny czynne biologicznie - naturalne i syntetyczne

Biologiczna aktywność pochodnych pirazyny stanowi obiekt zainteresowań wielu grup badawczych. Jej aktywność obejmuje szerokie spektrum działania. Ważną grupą naturalnie występujących pochodnych pirazyny są pochodne wykazujące właściwości antybiotyków. W 1943r. wyizolowano z kultury szczepu *Aspergillus flavus* kwas aspergillowy (Rys. 5a) i kwas hydroksyaspergillowy (Rys. 5b), wykazujące silne działanie przeciwbakteryjne [24].



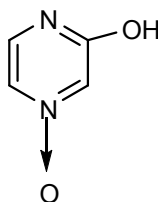
kwas aspergillowy



kwas hydroksyaspergillowy

Rysunek 5. a) Kwas aspergillowy i b) kwas hydroksyaspergillowy.

Terao wraz z współpracownikami [25] wyizolował emimycynę (Rys. 5), która również wykazuje silne właściwości antybiotyczne. Charakteryzuje ją mała toksyczność, pod względem chemicznym stanowi 1-N-tlenek-3-hydroksypirazynę.

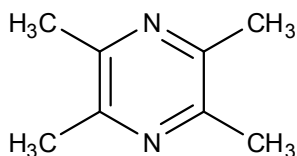


Rysunek 5. Wzór strukturalny emimycyny.

Odkrycie naturalnych antybiotyków, pochodnych pirazyny, spowodowało znaczny wzrost zainteresowania tym układem pierścieniowym. Zaczęto intensywnie poszukiwać syntetycznych związków pirazyny, wykazujących aktywność biologiczną. Udokumentowana aktywność farmakologiczna wspomnianych pochodnych jest obecnie bardzo zróżnicowana i obejmuje

związki o wielokierunkowym działaniu. Zainteresowanie układem pirazynowym doprowadziło do powstania dużej grupy syntetycznych pochodnych pirazyny powszechnie stosowanych w medycynie leków. Poniżej przedstawiono wybrane i najbardziej popularne leki zawierające w swojej strukturze pierścień pirazyny:

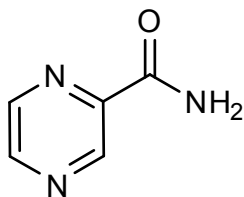
W terapii schorzeń układu sercowo-naczyniowego powszechnie stosuje się, zwłaszcza w Chinach, tetrametylpirazynę (Rys. 6). Została ona wyizolowana w 1957 r. z rośliny *Ligusticum wallichii* (rodzina Apiaceae) [26]. Podziemne części rośliny są tradycyjnym lekiem ziołolecznictwa chińskiego, stosowanym między innymi w celu poprawy krążenia w terapii choroby niedokrwiennej serca i objawów niedokrwienia mózgu, takich jak zawroty głowy, a także w schorzeniach układu sercowo-naczyniowego.



Rysunek 6. Wzór strukturalny tetrametylpirazyny.

Tetrametylpirazyna, inaczej nazywana ligustrazyną, jest związkiem powodującym silny rozkurcz naczyń krwionośnych płuc, zwłaszcza w warunkach niedotlenienia. Ligustrazyna wykazuje działanie hipotensyjne i bezpośrednio rozkurcza mięśniówkę naczyń krwionośnych na skutek blokowania kanałów wapniowych. Ponadto wykazano, że posiada ochronny wpływ dla neuronów, prawdopodobnie oparty na aktywności przeciwzapalnych [27].

Innym związkiem, będącym pochodną pirazyny, stosowanym w medycynie, o działaniu przeciwgruźliczym jest pirazynamid, w skrócie nazywany PZA (Rys. 7).

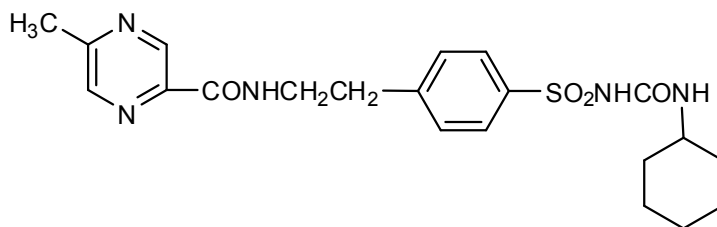


Rysunek 7. Wzór strukturalny PZA.

PZA znalazł zastosowanie w chemioterapii gruźlicy, odgrywa on ważną

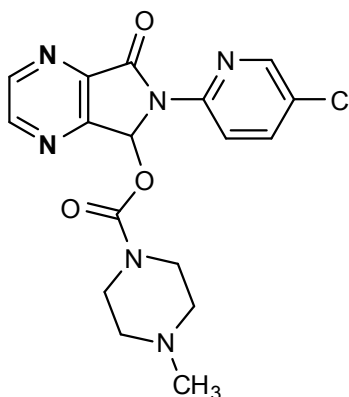
rolę pierwszej fazy leczenia gruźlicy, ponieważ wykazuje szczególnie silne działanie przeciwpłatkowe ze względu na specyficzne warunki występujące w początkowym etapie rozwoju choroby. Zalicza się on do najstarszych środków z grupy leków zastępczych. Jest on stosowany klinicznie od 1950r [28].

Glipizid (Glukotrol) (Rys. 8) natomiast wykazuje działanie hipoglikemizujące. Jest doustnym lekiem o działaniu antydiabetycznym. Pomaga kontrolować poziom cukru we krwi, obniża jego poziom o 46% [29]. Stosowany jest w drugim typie cukrzycy.



Rysunek 8. Wzór strukturalny glipizidu.

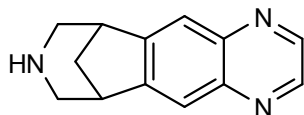
Zopiklon (Rys. 9) będący pochodną pirazyny to związek o działaniu uspokajającym i przeciwdrgawkowym. Wykazuje działanie nasenne, uspokajające, przeciwdrgawkowe i miorelaksacyjne [30].



Rysunek 9. Wzór strukturalny zopiklonu.

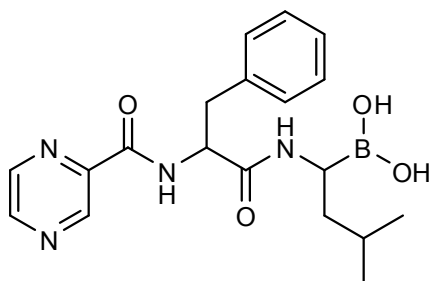
Wareniklina (Rys. 10) natomiast stosowana jest w leczeniu uzależnienia nikotynowego. Występuje w leku o nazwie Champix. Wspomniana substancja

aktywna działa na dwa sposoby: zachowuje się tak jak nikotyna (częściowy agonista), co pomaga zwalczyć objawy głodu nikotynowego, lecz działa także przeciwnie do nikotyny (antagonista), zajmując jej miejsce [31].



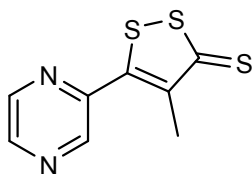
Rysunek 10. Wzór strukturalny Wareniklina

Bortezomib (Rys. 11) zawierający w swojej budowie strukturalnej fragment pirazyny to substancja czynna o działaniu przeciwnowotworowym [32]. Stosuje się go w leczeniu pacjentów z postępującym szpiczakiem mnogim.



Rysunek 11. Wzór strukturalny Bortezomibu.

Innym lekiem wykazującym działanie antyrakowe, przeciwnowotworowe jest Oltipraz (Rys. 12). Związek ten stymuluje wytwarzanie przez ludzki organizm enzymu S-transferazę glutanonu (GST). GST neutralizuje substancje rakotwórcze, takie jak benzen, co zapobiega uszkodzeniom DNA [33]:



Rysunek 12. Wzór strukturalny Oltipraz.

Zainteresowanie chemią pirazyny wciąż jest aktualne i nadal poszukuje się, co raz to nowszych, aktywnych farmakologicznie związków w tej grupie pochodnych.

1.3. Właściwości biologiczne C-H/N-H kwasów

C-H i N-H kwasy są grupą nie-karboksylowych kwasów organicznych, których struktura chemiczna jest zupełnie inna niż w przypadku potencjalnie stosowanych w farmakologii leków. Ich nietypowy charakter kwasowy wynika z faktu, że związki te nie zawierają w swojej strukturze, karboksylowej i enolowej grupy, które ulegałyby dysocjacji, tak jak jest to w przypadku znanych niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ). Analiza strukturalna omawianej klasy związków wykazała, że istnieją one w równowadze tautomerycznej. Jest to przykład tautomerii prototropowej, typu: pirazynylo-pirazyliidenowego [34].

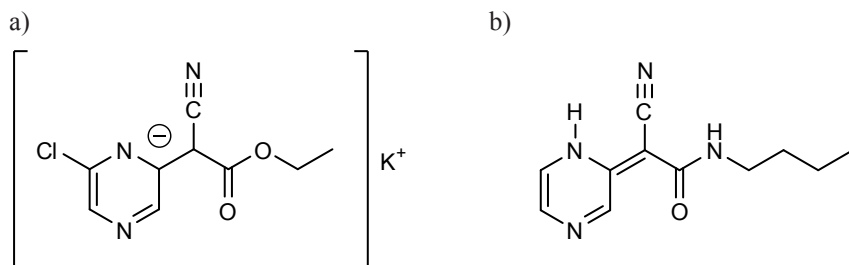
Heterocykliczne związki zawierające w swojej strukturze wspomnianą aktywną grupę metylenową są znane z tego, że posiadają właściwości przeciwzapalne. Pierwsze doniesienia o tego typu właściwościach farmakologicznych zanotowano już w 1968 roku w pracy Podmore [35]. Od tego czasu datuje się wzrost zainteresowania heterocyklicznymi układami zawierającymi wyżej wspomnianą aktywną grupę.

Wstępne badania prowadzone nad właściwościami biologicznymi pochodnych pirazyn C-H i N-H kwasów dowiodły, że posiadają one wyraźne właściwości przeciwbólowe i przeciwzapalne. Z punktu widzenia zastosowań medycznych, działanie takich związków polega na hamowaniu syntezy cyklooksygenazy, enzymu przekształcającego kwas arachidonowy, do prostaglandyn G_2/H_2 , prekursora tromboksyny A_2 [36]. Prostaglandyny powstają wskutek pobudzenia nerwowego i regulują procesy fizjologiczne. Ich zadanie polega na zmniejszaniu m.in. wytwarzania kwasu żołądkowego, jak również uczestniczą w procesach zapalnych i przyczyniają się do powstawania bólu i gorączki.

Odkrycie aktywności biologicznej w grupie C-H/N-H kwasów, doprowadziło do systematycznych poszukiwań potencjalnych leków, wewnątrz omawianej klasy pochodnych. Mimo dużej liczby już istniejących związków z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ), nadal ważnym obiektem zainteresowań cieszą się poszukiwania, coraz to nowszych substancji o właściwościach farmakologicznych.

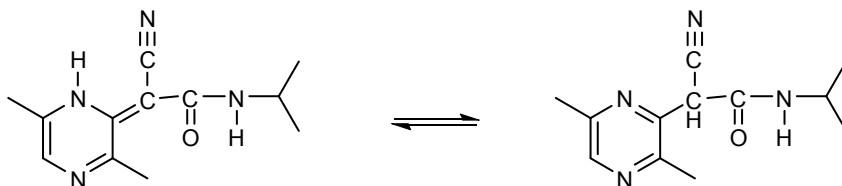
Kolejne prace nad pochodnymi pirazyny C-H i N-H kwasów zaowocowały doniesieniami, dotyczącymi szerszego zakresu aktywności biologicznej w tej grupie związków. W roku 1987 odkryto, że pochodne pirazyny posiadają także

właściwości uspokajające i przeciwdrgawkowe [37]. Na szczególną uwagę zasługują prace Petruszewicza i współpracowników[38], które dowiodły, że liczne pochodne C-H i N-H kwasów posiadają właściwości przeciwzakrzepowe. Przeprowadzone badania wykazały, że właściwości soli potasowej (6-chloropirazyn-2-ylo)cyjanooctanu etylu oraz N-butylocyjano-(1H-pirazyn-2-ylideno)acetamidu, związków zaprezentowanych na rysunku 13 wskazują wysokie właściwości przeciwzakrzepowe.



Rysunek 13. Wzory strukturalne pochodnych C-H/N-H kwasów o właściwościach przeciwzakrzepowych: a) sól potasowa (6-chloropirazyn-2-ylo)cyjanooctanu etylu i b) N-butylocyjano-(1H-pirazyn-2-ylideno)acetamidu.

Wspomniane aktywności związków porównywalne są z aktywnością kwasu acetylosalicylowego (aspiryna), należącego do grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ). Ważnym odkryciem, zasługującym na uwagę jest fakt, że aktywność związku zaprezentowanego na rysunku 14 N-izopropylcyjano-(3,6-dimetylopirazyn-2-ylideno)acetamidu, istniejącego w równowadze tautomerycznej, porównywalna jest z aktywnością leku o nazwie ticlopidine (ticlid), stosowanego w profilaktyce groźnych ataków niedokrwistości (zawał serca, udar mózgu) [39].



Rysunek 14. Tautomeria prototropowa N-izopropylcyjano-(3,6-dimetylopirazyn-2-ylideno)acetamidu.

Dodatkowo, badania pochodnych pirazyny C-H i N-H kwasach wykazały ich niską toksyczność oraz brak mutagennego wpływu związków na chromosomy ludzkich limfocytów. Z uwagi na niską toksyczność powyższych związków, mogą one stanowić szkielet do budowy nowych potencjalnych leków.

1.4. Właściwości kompleksotwórcze pirazyny

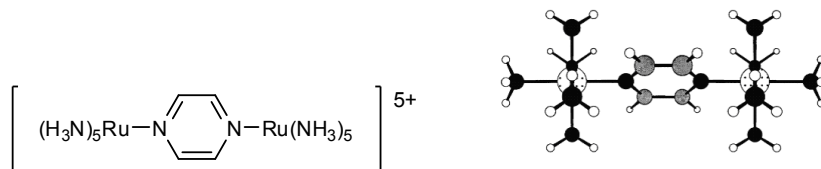
Pirazyna posiada w swej strukturze dwa atomy azotu o właściwościach donorowych, umiejscowione w pozycji *para* w pierścieniu. Stąd też może ona pełnić rolę liganda w koordynacji jonów metali. Za pomocą badań krystalograficznych ustalono, że pierścień pirazyny może tworzyć kompleksy jedno- [40] i dwurdzeniowe [41]. Dzięki obecności dwóch atomów azotu w pozycji *para*, pierścień pirazyny często pełni rolę liganda mostkującego. Głównie dzięki temu, że jest ona dobrym π akceptorowym ligandem, zwłaszcza, że jego orbital LUMO ma relatywnie niską energię π^* . Dzięki tym właściwościom, pirazyny i jej podstawione pochodne mogą tworzyć kompleksy o złożonych strukturach. Z danych literaturowych wiadomo, że istnieją oligomeryczne i polimeryczne kompleksy o nieskończenie długich łańcuchach oraz struktury pofałdowanych kartek [42]. Znane są także kompleksy pirazyn tworzące formy wzajemnie przenikających się struktur [43], a także architektury plastrów miodu [44].

W ostatnich latach dużym zainteresowaniem cieszy się chemia związków kompleksowych, z powodu rosnącej potrzeby tworzenia nowych półprzewodników o potencjalnym zastosowaniu jako funkcjonalne materiały w takiej dziedzinie jak kataliza, przewodnictwo czy właściwości magnetyczne i fotochemiczne. Główne zainteresowanie w tym obszarze, dotyczą zwłaszcza 2- i 3-wymiarowych kompleksów polimerowych, które są atrakcyjne z punktu widzenia ich potencjalnych zastosowań. Przykładem takiego typu kompleksów są połączenia halogenków metali z aminami organicznymi. Na uwagę zasługują kompleksy CuCl_2 -pyz oraz Cu_2Cl_2 -pyz (gdzie pyz –pirazyna). Struktura obu związków, ustalona na podstawie badań rentgenograficznych, podobna jest do wcześniej opisanych w literaturze kompleksów pirazyny typu: CuXMepyz ($\text{X}=\text{Cl}$, Br) i $\text{Cu}_2\text{X}_2\text{Mepyz}$ ($\text{X}=\text{Br}$, I) [45]. Struktura krystaliczna kompleksu CuCl -pyz zbudowana jest z łańcuchów CuCl równoległych do osi *a*, które połączone są ligandami-pirazyny, tworząc równoległe warstwy, jak przedstawiono na rysunku 15a. W strukturze drugiego związku widoczne są podwójne łańcuchy, które są połączone z ligandami pirazyny, tworząc również równoległe warstwy.



Rysunek 15. Struktura krystaliczna a) $CuCl$ -pyz i b) Cu_2Cl_2 -pyz.

Drugim ważnym rodzajem kompleksów, są kompleksy, w których pierścień pirazyny stanowi mostek, łączący dwa te same bądź różne jony metalu. Pierwsze badania tego typu kompleksów sięgają późnych lat 60-tych. Pionierami w tej dziedzinie badań byli Taube i Creuze, którzy jako pierwsi w roku 1969 otrzymali oni kompleks, w którym mostkujący pierścień pirazyny łączył dwa metale rutenu o różnej wartościowości, Ru (II) i Ru (III) [46]. Uzyskany przez nich związek został nazwany jonem Creuz-Tauba (Rys. 16).



Rysunek 16. a) Struktura jonu Creuz-Tauba [46]; b) geometria kompleksu optymalizowana metodą MP2 [47].

Istotną cechą takiego kompleksu bimetalicznego jest łatwy transport elektronów przez mostek pirazyny. W kompleksach dwukleszczowych ligand (pirazyna), pełni rolę mostka, zawierającego zdelokalizowane elektrony π , umożliwiające przenoszenie ładunku, między ligandem a metalem centralnym (MLCT), oraz między dwoma centralnymi metalami tzw. MMCT (który jest trudny do zaobserwowania w widmach elektronowych w postaci indywidualnego pasma. Głównie występuje w związkach, w których metal występuje na dwóch różnych stopniach utleniania). Potencjalne zastosowanie wewnątrzcząsteczkowego transferu elektronów, może doprowadzić chemików do produkcji molekularnych przewodników. Wśród bimetalicznych kompleksów z mostkiem pirazyny wyróżnia się kompleksy kationowe, neutralne, symetryczne oraz niesymetryczne, tzw. „mixed-valence complexes”.

Dużo uwagi poświęcono również kompleksom pirazyny z metalami na zerowym stopniu utlenienia, głównie karbonyłkom metali przejściowych takich jak W, Cr, Mo, Rh, Ru, Ir przeważnie ze względu na ich fotochemiczne właściwości. W kompleksach tych następuje nisko energetyczne przeniesienie ładunku z metalu na ligand (MLCT). W widmach absorpcyjnych tych kompleksów wyraźnie oddzielone są dwa pasma absorpcyjne, pasmo pola ligandów (LF) i pasmo przeniesienia ładunku z metalu na ligand (MLCT). Pozwala to analizować, każde z pasm osobno. Lees ze współpracownikami prowadzili badania nad kompleksami dwurdzeniowymi typu $(\text{CO})_5\text{MpyzM}'(\text{CO})_5$, gdzie $\text{M} = \text{Cr}, \text{Mo}, \text{W}$ [48], gdzie $\text{M} = \text{M}'$ oraz $\text{M} \neq \text{M}'$. Za pomocą spektroskopii IR autorzy dowiedli, że częstości drgań rozciągających grup $\text{C}=\text{O}$ w dwurdzeniowych kompleksach są zbliżone do częstości drgań dla wcześniej opisanych w literaturze kompleksów jednordzeniowych typu $\text{M}(\text{CO})_5\text{pyz}$ [49]. Fakt ten potwierdza, że we wszystkich kompleksach dwurdzeniowych, lokalna symetria C_{4v} grupy $\text{M}(\text{CO})_5$ jest zachowana i jest identyczna jak w kompleksach jednordzeniowych. W tabeli 2 zamieszczone zostały omawiane pasma drgań, natomiast tabela 3 przedstawia maksima absorpcji pasm LF i MLCT dla omawianych kompleksów, zarejestrowane w benzenie i izooktanie.

Tabela 2. Pasma drgań rozciągających grup karbonylowych kompleksów dwurdzeniowych (w nujolu) oraz dla porównania kompleksu jednordzeniowego $\text{W}(\text{CO})_5(\text{pyz})$.

Kompleks M, M'	$\nu_{\text{C}=\text{O}}$ [cm^{-1}]				
	A_1^2	B_2	E	A_1^1	
Cr, Cr	2070	1965	1942	1920	1895
Cr, Mo	2070	1965	1945	1920	1895
Mo, Mo	2075	1965	1950	1922	1895
Mo, W	2075	1965	1945	1920	1892
W, W	2075	1960	1940	1915	1892
W, Cr	2070	1963	1940	1917	1895
$\text{W}(\text{CO})_5(\text{pyz})$ [125]	2066	1987	---	1928	1890

Pasmo MLCT jest bardzo wrażliwe na zmiany rozpuszczalnika i tym samym położenie jego maksimum ulega przesunięciu, w odróżnieniu od pasma LF (Tabela 3). Efekty te obserwujemy na rysunku 17 przedstawiającym widma kompleksu $(\text{CO})_5\text{WpyzW}(\text{CO})_5$ w benzenie, mieszaninie benzenu i Izooktan

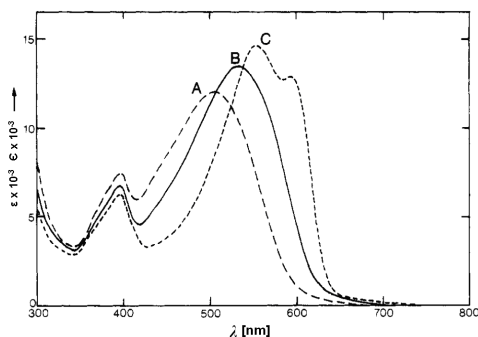
(1:10 v/v) i izooktanie.

Tabela 3. Maksima absorpcji głównych pasm kompleksów homo- i heterojądrowych zarejestrowane w benzenie (izooktan) w temperaturze 298 K.

Kompleks M, M'	λ_{\max} [nm]	
	LF	MLCT
Cr, Cr	408 (408)	516 (572)
Cr, Mo	395 (400)	504 (562)
Mo, Mo	388 (388)	484 (536)
Mo, W	392 (392)	498 (544, 573)
W, W	397 (397)	510 (552, 595)
W, Cr	399 (399)	514 (548 ^b , 586)
W(CO) ₅ (pyz)[114]	398	c

^b zaobserwowane jako ramie boczne/garb

c - nakryte z pasmem LF

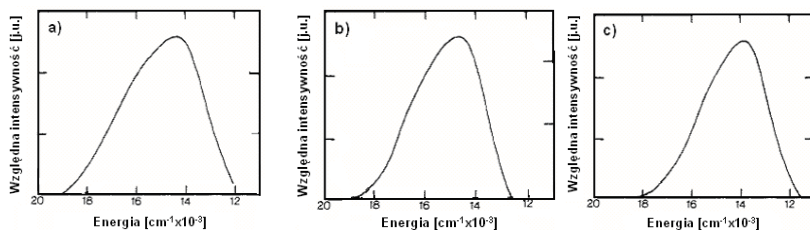


Rysunek 17. Widma absorpcyjne kompleksu W(CO)₅pyz w 298 K w A) benzenie, B) benzen:izooktan (1:10 v/v) i C) izooktan.

Dla wszystkich omawianych kompleksów Lees ze współpracownikami zaobserwował istnienie szerokiego, pasma emisji w regionie 550-800 nm [50]. Przykładowe widma zaprezentowane zostały na rysunku 18. Na podstawie widm fluorescencyjnych kompleksów pirazyny, można zauważyć, że widma te występują przy większych długościach fali oraz charakteryzują się znacznie większą intensywnością w niż widma wolnej pirazyny. Maksima emisji wraz z wydajnościami kwantowymi dla wszystkich dwurdzeniowych kompleksów zostały zebrane w tabeli 4.

Tabela 4. Maksyma emisji dla kompleksów $(CO)_5MpyzM(CO)_5$ w benzenie wyznaczone w 283K, wraz z wydajnościami kwantowymi obliczonymi względem emisji $Ru(bpy)_3^{2+}$, $\lambda_{wzb} = 400$ nm.

Kompleks	λ_{max} [nm]	Pół szerokość [$cm^{-1} \times 10^3$]	$10^4 \times \Phi$
Cr, Cr	702	3,7	0,6
Cr, Mo	687	3,9	1,4
Mo, Mo	675	3,8	3,9
Mo, W	712	2,9	4,6
W, W	722	3,5	5,0
W, Cr	707	3,5	1,5



Rysunek 18. Widma emisyjne dla: a) $(CO)_5Cr(py)Cr(CO)_5$, b) $(CO)_5Mo(py)Mo(CO)_5$ i c) $(CO)_5W(py)W(CO)_5$ w benzenie w 283 K, $\lambda_{wzb} = 400$ nm.

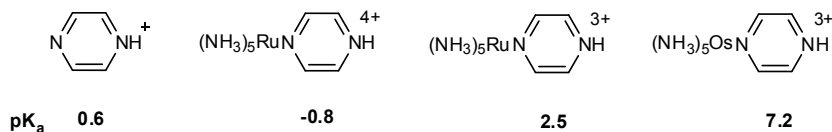
Kolejne, liczne prace poświęcone zrozumieniu roli centralnego metalu w związkach koordynacyjnych doprowadziły do powstania grupy kompleksów zwanych kompleksami typu „push-pull”. W tego typu kompleksach, fragment organometaliczny może działać jako donator lub akceptor elektronów, zależności od natury liganda łączącego. Podstawowe warunki, jakie muszą spełnić wspomniane kompleksy, to symetryczność i niejonowość (neutralne). Kompleksy typu „push-pull” traktowane są jako organometaliczne odpowiedniki klasycznych aromatycznych chromoforów, o zastosowaniu w drugorzędowej nieliniowej optyce [51].

Diagonetti [52] wraz z współpracownikami prowadził badania mające na celu sprawdzić rolę metalu centralnego na trwałość i właściwości kompleksów, w których mostkiem łączącym był pierścień pirazyny. Badaniom poddano serię związków jednordzeniowych kompleksów typu $[cis-(CO)_2ClM(py)z]$, gdzie $M = Rh, Ir$ i $[fac-(CO)_3Cl_2M(py)z]$, gdzie $M = Ru, Os$ oraz kompleksów dwurdzeniowych typu: $[cis-(CO)_2ClM(py)z]cis-M(CO)_2Cl$ ($M = Rh, Ir$) i $[fac-(CO)_3Cl_2M(py)z]fac-M(CO)_3Cl_2$ ($M = Ru, Os$). Otrzymane wyniki badań wskazują, że w omawianej grupie związków, ze względu na dwurdzeniową naturę pirazyny, wyizolowanie monomerycznych kompleksów było dość trudne, ze

względem ich szybkie i łatwe formowanie dimerycznych kompleksów. Ponadto badania te wykazały, że jednordzeniowe kompleksy typu $[cis-M(CO)_2Cl(py)]$, gdzie $M = Rh, Ir$, są nietrwałe w porównaniu z jednordzeniowymi kompleksami $[fac-M(CO)_3Cl_2(py)]$, gdzie $M = Ru, Os$. Jednordzeniowe kompleksy Rh i Ir ulegają szybkiej dysocjacji z utworzeniem kompleksu dwurdzeniowego. W badanej grupie związków, pirazyna jest słabo związana w kompleksach z jonami metali rutenu i irydu na I stopniu utlenienia, natomiast silniejsze połączenia tworzy z jonami $Ru(II)$ i $Os(II)$. Wynika to z faktu, że karbonylki $Ru(II)$ charakteryzują się lepszymi właściwościami elektronoakceptorowymi w porównaniu z karbonylkami $Rh(I)$ czy $Ir(I)$. Widma UV-vis kompleksów pirazyny wskazują obecność pasm MLCT przy wysokich (dla Rh i Ir) i bardzo wysokich (Ru i Os) energiach, potwierdzających, że fragment karbonylku metalu nie zachowuje się jak donor elektronów w procesie $M \rightarrow \pi^*(py)$ jak miało to miejsce w przypadku kompleksów karbonylkowych $W(0)$ z pirazyną [53], lecz jak grupy akceptorowe, co obserwujemy w systemach „push-pull”.

Porównując widma UV-VIS wykonane dla kompleksów jedno- i dwurdzeniowych rodzaju, autorzy zauważyli, że widma te nie różnią się między sobą. Oba związki posiadają maksimum absorpcji przy 335 nm. Temu pasmu przypisuje się przejścia MLCT, $Rh \rightarrow \pi^*(py)$. Podobnie w widmach elektronowych kompleksu jedno- i dwurdzeniowego irydu w acetonitrylu, nie zanotowano różnic. Dla wspomnianych związków zaobserwowano obecność dwóch maksimów absorpcji przy 314 nm i 355 nm (MLCT, $Ir \rightarrow \pi^*(py)$) [54]. Brak różnic w widmach UV-VIS obu kompleksów rodzaju oraz obu kompleksach irydu sugeruje, że przyłączenie drugiego metalu, odpowiednio rodzaju ($4d^8 Rh(I)$) i irydu ($5d^8 Ir(I)$) do jednordzeniowego kompleksu, nie powoduje zakłóceń w orbitalu π^* pirazyny. Dla kompleksów Ru i Os , nie zaobserwowano znaczących pasm w widmach UV-VIS, powyżej 300 nm, przeciwnie niż miało to miejsce w pokrewnych kompleksach typu $nd^6 M(0) [M(CO)_5py]$ i $[M(CO)_5py M(CO)_5]$, opisanych wyżej [47]. Struktury jedno- i dwurdzeniowych kompleksów $Ru(II)$ i $Os(II)$ zostały potwierdzone spektroskopią IR.

Udział pierścienia pirazyny w kompleksowaniu metali wpływa na jej zasadowość. Pentaamino kompleks rutenu (III) obniża zasadowość pirazyny, natomiast ten sam kompleks z rutenem na II stopniu utlenienia podwyższa zasadowość pirazyny trzykrotnie. Ponadto, kompleksy pirazyny z osmem (II) są znacznie bardziej zasadowe niż kompleksy tego samego typu z jonami rutenu (II). Wpływ kompleksowania na zasadowość pirazyny ilustruje poniższy rysunek (Rys. 19) [55].



Rysunek 19. Wpływ kompleksowania na zasadowość pirazyny [56].

Związki kompleksowe/koordynacyjne pirazyny stanowią temat, który wciąż cieszy się ogromnym zainteresowaniem naukowców, ze względu na ogromne i ważne zastosowanie jej kompleksów. Jak już wcześniej wspomniałam kompleksy pirazyny z irydem znalazły zastosowanie w wysoce skutecznych nadajnikach elektroluminescencyjnych (EL) w diodach OLED. Połączenia pirazyny atomem rutenu wykorzystuje się w rozwoju leków przeciw-przerzutowych, jako potencjalne łączniki/łączenia do DNA oraz jako modulatory reakcji immunologicznych.

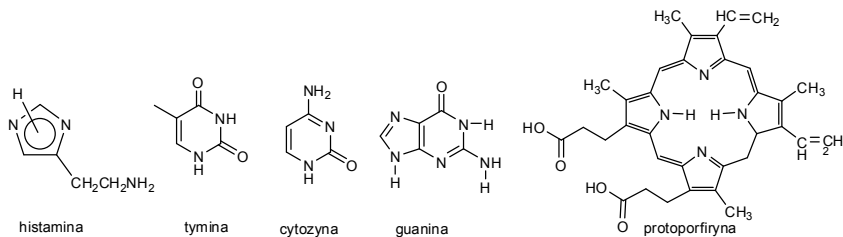
1.5. Tautomeria prototropowa - znaczenie i występowanie

Tautomeria to szczególny przypadek izomerii, która odgrywa bardzo istotną rolę w nowoczesnej chemii organicznej, biochemii, chemii medycznej, farmakologii, biologii molekularnej i w samym życiu. Określenie tautomeria odnosi się do związków istniejących w równowadze między dwiema lub większą ilością labilnych form izomerycznych zwanych tautomeriami. Nazwę „tautomeria” przypisuje się Laaremu, który jako pierwszy użył jej w roku 1885, w dokumencie „über die Möglichkeit mehrerer Structürformeln für dieselbe chemische Verbindung” [57] opisując zmienną, mobilną równowagę między dwoma związkami, zawierającymi słabo związane atomy wodoru.

Tautomery przechodzą jedne na drugie na skutek spontanicznej reakcji wewnątrzcząsteczkowej bez jakiegokolwiek udziału innych cząsteczek, choć często na tę równowagę ma wpływ środowisko - zwłaszcza temperatura, pH i stężenie. Tautomery mogą powstać w wyniku migracji jednego lub większej liczby podwójnych wiązań, atomów lub grup atomów. W celu zrozumienia mechanizmów wielu reakcji chemicznych i procesów biochemicznych, obejmujących zwłaszcza oddziaływań z proteinami, enzymami i receptorami, konieczne jest zrozumienie zjawiska tautomerii. Tautomeria może także być pomocna w komputerowym projektowaniu leków. Chociaż, omawiane zjawisko jest trudnym zagadnieniem do badań, gdyż wzajemne konwersje tautomeryczne są zwykle bardzo szybkim procesem, to różnorodność znaczeń i zastosowań tautomerii ciągle zachęca badaczy do podejmowania pracy nad tym zjawiskiem. Burzliwy rozwój badań nad zjawiskiem tautomerii zaowocował licznymi

doniesieniami o różnych przykładach, a co za tym idzie, typach tautomerii. Z czasem różnym typom interkonwersji zaczęto nadawać odpowiednie nazwy: tautomeria łańcuchowo-pierścieniowa [58], walencyjna [59], kationotropowa i anionotropowa [60]. Przy czym należy pamiętać, iż poszczególny przypadek tautomerii może należeć do kilku różnych typów.

W chemii organicznej najczęściej spotykanym rodzajem tautomerii jest tautomeria prototropowa, w skrócie zwana prototropią. Ten typ tautomerii związany jest z przejściem atomu wodoru. Jest on zazwyczaj dostarczony przez grupy OH, SH, NH albo CH, mające charakter kwasowy i jest przemieszczany na atomy posiadające właściwości zasadowe (O, S, N albo C). Tautomeria prototropowa, zachodzi w bardzo ważnych procesach biologicznych min. oddychaniu komórkowym, pompach protonowych (transportie przez membrany), biokatalizie i w mutacjach materiału genetycznego. Proces ten przebiega również w naturalnych produktach takich jak bioaminy np. histamina, aminokwasy takie jak histydyna, arginina, zasady pirymidynowe (cystozyna, tymina, uracyl), zasady purynowe (adenina i guanina) i porfiryny (Rys. 20). Przykłady związków pochodzenia naturalnego, wykazujące tautomerię prototropową zamieszczone zostały na rysunku 20.



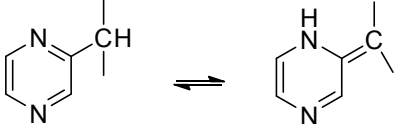
Rysunek 20. Przykłady naturalnie występujących związków wykazujących tautomerię prototropową.

Protonowa tautomeria należy do jednych z podstawowych zagadnień dotyczących mutacji, replikacji kwasów nukleinowych, aktywności enzymatycznej prawidłowego funkcjonowania organizmów żywych zastosowania analogów zasad kwasów nukleinowych w medycynie jako leków antywirusowych i przeciw nowotworowych.

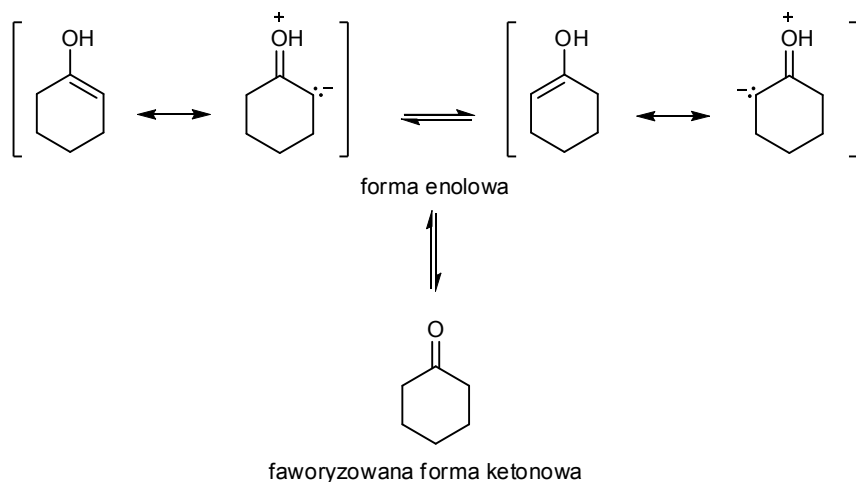
Wpływ tautomerii na przebieg procesów biologiczno-chemicznych jest trudny do określenia, gdyż nie zawsze wiadomo, która z form tautomerycznych jest odpowiedzialna za aktywności biologiczne. Problem pojawia się, gdy do wyboru mamy bardziej trwałą, tautomer i mniej stabilny tautomer, ale posiadający specyficzne, szczególne właściwości kwasowo-zasadowe, elektrofiolowo-

nukleofilowe, redoks bądź geometrię cząsteczki (budowę przestrzenną). Badania przeprowadzone nad wieloma ważnymi biologicznie przemianami wskazały, że mniej stabilny energetycznie tautomer jest dość często produktem pośrednim i to on dyktuje mechanizm reakcji oraz postać produktu końcowego. W zależności od tego, jakie grupy funkcyjne są protonodonorami i protonoakceptorami, wyróżnia się kilka typów tautomerii prototropowej m. in. tautomeria keto-enolowa, imino-enaminowa, amido-iminolowa itp. W tabeli 5 przedstawione zostały przykłady tautomerii prototropowej oraz ich równowag.

Tabela 5. Przykłady równowag tautomerii prototropowej.

Nazwa/rodzaj tautomerii prototropowej	Równowaga
Keto-enolowa	$\begin{array}{c} \quad \\ \text{HC}-\text{C}=\text{O} \\ \quad \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \quad \\ \text{C}=\text{C}-\text{OH} \\ \quad \end{array}$
Tiono-enetiolowa	$\begin{array}{c} \quad \\ \text{HC}-\text{C}=\text{S} \\ \quad \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \quad \\ \text{C}=\text{C}-\text{SH} \\ \quad \end{array}$
Tiol-tionowa	$\begin{array}{c} \\ \text{HS}-\text{C}=\text{O} \\ \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \\ \text{S}=\text{C}-\text{OH} \\ \end{array}$
Amido-iminolowa	$\begin{array}{c} \quad \\ \text{HN}-\text{C}=\text{O} \\ \quad \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \quad \\ -\text{N}=\text{C}-\text{OH} \\ \quad \end{array}$
Imino-enaminowa	$\begin{array}{c} \quad \\ \text{HC}-\text{C}=\text{NH} \\ \quad \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \quad \\ \text{C}=\text{C}-\text{NH}_2 \\ \quad \end{array}$
Amino-iminowa	$\begin{array}{c} \quad \\ \text{HN}-\text{C}=\text{N}- \\ \quad \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \quad \\ -\text{N}=\text{C}-\text{NH} \\ \quad \end{array}$
Latam-lactim	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{C}- \\ \quad \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{HN}=\text{C}-\text{C}- \\ \quad \end{array}$
Nitroso-oksymowa	$\begin{array}{c} \\ \text{HC}-\text{N}=\text{O} \\ \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \quad \\ \text{C}=\text{N}-\text{OH} \\ \quad \end{array}$
Nitro-aci-nitro	$\begin{array}{c} \quad \\ \text{HC}-\text{N}^+=\text{O} \\ \quad \quad \\ \quad \quad \quad \text{O}^- \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \quad \\ \text{C}=\text{N}^+-\text{OH} \\ \quad \quad \\ \quad \quad \quad \text{O}^- \end{array}$
Pirazynylo-pirazyliDENOWA	

Tautomeria keto-enolowa jest jedną z najbardziej poznanych tautomerii protropowych dotycząca związków karbonylowych. Ulegają one procesowi enolizacji w trakcie, którego atom wodoru przeskakuje z atomu węgla na atom tlenu, na skutek, czego grupa karbonylowa zostaje przekształcona w grupę hydroksylową i tworzy się podwójne wiązanie węgiel-węgiel [61]. Najczęściej keto tautomery są bardziej stabilne niż ich enolowe odpowiedniki, jak na przykład w cykloheksanonie (Rys. 21), jednakże stabilizacja struktury poprzez wiązanie wodorowe (np. w acetyloacetonie) oraz całkowita delokalizacja elektronu np. w fenolu, może spowodować, że faworyzowany będzie tautomer enolowy. (Rys. 22).

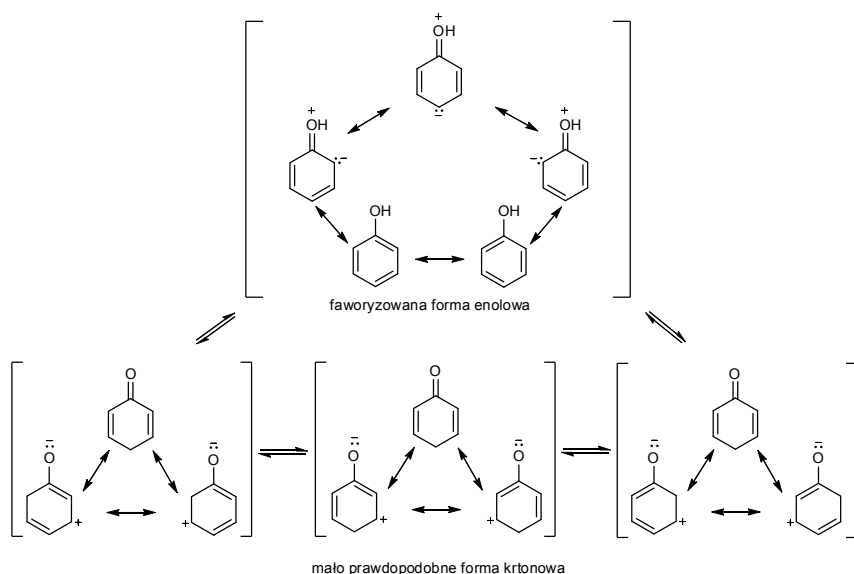


Rysunek 21. Równowaga tautomeryczna i struktury rezonansowe cykloheksanolu.

Często spotykanym przykładem tautomerii protropowej jest również równowaga aminowo-iminowa, w trakcie, której następuje przeskok atomu wodoru z atomu azotu na drugi atom azotu. Ten typ tautomerii obecny jest w histaminie [62] (Rys. 23).

Histamina występuje naturalnie w ludzkim organizmie, pełni funkcję mediatora procesów zapalnych, neuroprzekaźnika oraz pobudza wydzielanie soku żołądkowego. Związek ten występuje w organizmie w równowadze tautomerycznej zaprezentowanej na rysunku 23. W organizmie ludzkim występują oba tautomery, przy czym tautomer I jest ilościowo więcej. Jest on formą aktywną, natomiast tautomer II jest biologicznie nieczynny. Przekształcenia tautomeryczne substancji chemicznej mają zasadnicze znaczenie w przypadku

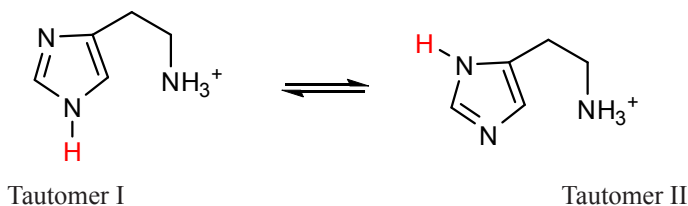
leków, gdzie tautomeria może decydować o działaniu dawki terapeutycznej i o jej trwałości. Z powyższych powodów zagadnieniu tautomerii poświęcono w literaturze szczególną uwagę, starając się zrozumieć jej przyczyny, przebieg i konsekwencje. Tautomeria aminowo-iminowa występuje również w antybiotyku, formycynie A, która jest cytotoksycznym (toksyczna dla komórek) analogiem adenozy. Znaczące zmiany w stabilności amino- i iminowej formy formycyny A, decydują o jej aktywności biologicznej. Badania przeprowadzone przez Cesara i Greene'a [68] wykazały, że wyżej wymieniony związek istnieje w równowadze tautomerycznej, w której występują dwie formy aminowe, oraz jedna forma iminowa (Rys. 24). Dominującymi formami tautomerycznymi są formy aminowe, gdzie 73% stanowi forma aminowa **2**, zaś 26% natomiast aminowa **3**, natomiast forma iminowa **4** stanowi zaledwie 1%. Taka mieszanina tautomerów omawianego antybiotyku, ma istotne znaczenie dla jej biologicznej aktywności.



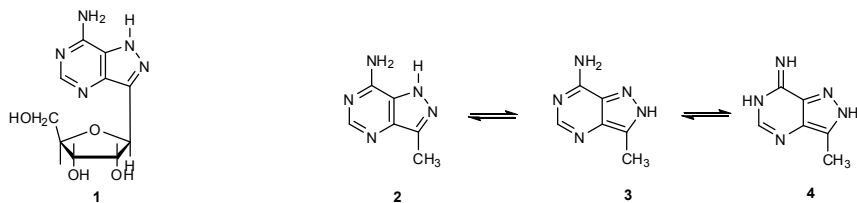
Rysunek 22. Równowaga tautomeryczna w strukturach fenolu.

Tautomeria odgrywa ważną rolę także w wyjaśnieniu pewnych aspektów spontanicznej mutacji w materiale genetycznym. Tłumaczy się je występowaniem tautomerii w zasadach azotowych, wchodzących w skład zasad nukleinowych. Liczne badania poświęcono zagadnieniu mutacji materiału genetycznego, ich

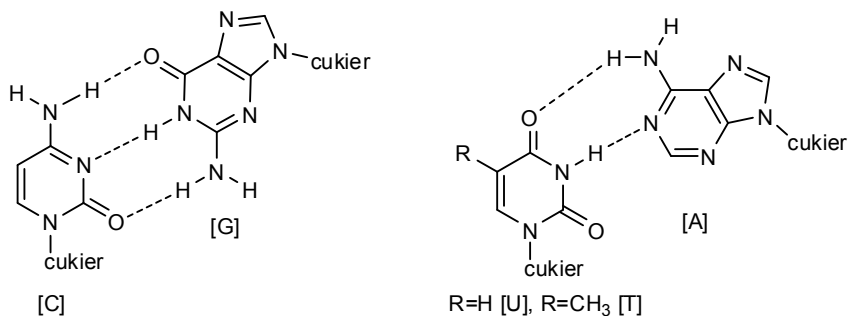
przyczyn, częstości występowania oraz mechanizmów naprawczych [64]. Kwasy nukleinowe są podstawowym nośnikiem informacji genetycznej, zawierają one długie łańcuchy cukrowo-fosforanowe, w których każdy fragment cukrowy połączony jest z heterocykliczną zasadą azotową. W strukturze podwójnej helisy DNA, dwie cząsteczki kwasu nukleinowego połączone są wiązaniami wodorowymi, w której cytozyna (C) jest zawsze związana z guaniną (G), natomiast tymina (T) lub uracyl (U) wiąże się z adeniną (A) (Rys. 25). Sposób połączenia obu łańcuchów w helisę określony jest przez tautomeryczne formy zasad biorących udział w wiązaniach wodorowych:



Rysunek 23. Równowaga tautomeryczna histaminy w ustroju.



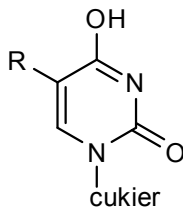
Rysunek 24. Formy tautomeryczne formycyny A.



Rysunek 25. Komplementarność zasad w parach C – G (cytozyna – guanina) i T (U) – A

(tymina (uracyl) – adenina).

Jeżeli na skutek zmian właściwości środowiska, uracyl lub tymina wystąpią w innej formie tautomerycznej, np.:



to wtedy możliwe staje się utworzenie wiązań wodorowych z guaniną, a tym samym zajęcie miejsca cytozyny w łańcuchu kwasu nukleinowego. Taki „błąd” w replikacji DNA będzie powodował spontaniczną mutację, która jest podstawowym elementem ewolucji. Zależność ta ma bardzo istotne konsekwencje, gdyż podczas replikacji podwójny łańcuch polinukleotydowy ulega rozdziałowi. W trakcie tego procesu jedna z zasad może przejść w jedną z rzadko występujących form tautomerycznych, zmieniając przy tym sekwencje DNA. Efektem tego będą dwa łańcuchy polinukleotydowe, które nie są identyczne, taki błąd może doprowadzić do mutacji.

Proces wewnątrzcząsteczkowego przeniesienia protonu często radykalnie zmienia chemiczne (a co za tym idzie i biologiczne) właściwości cząsteczek. Proces ten może być także przyczyną korzystnych zmian z punktu widzenia ewolucji.

Literatura:

1. F. Q. Liu, R. X. Li, Y. Y. Deng, W.H. Li, N. X. Ding, G. Y. Liu, *J. Organomet. Chem.*, **694** (2009) 3653
2. G. Zhang, H. Guo, Y. Chuai, D. Zou, *Materials Lett.*, **59** (2005) 3002
3. B. Serli, E. Iengo, T. Gianferrara, E. Zangrando, E. Alessio, *Met. Drug.*, **8** (2001) 9
4. R. L. Williams, N. H. Toft, B. Winkel, K. J. Brewer, *Inorg. Chem.*, **42** (2003) 4394
5. M.G. Sauaia, R.G. de Lima, A.C. Tedesco, R.S. da Silva, *J. Am. Chem. Soc.*, **125** (2003) 14718
6. A. F. Pożarskij, *Chim. Giet. Sojed.*, (1979) 1155
7. A. T. Balaban, D. C. Oniciu, A. R. Katritzky, *Chem. Rev.*, **104** (2004) 2777
8. F. Peral, E. Gallego, *Spectrochimica Acta Part A*, **59** (2003) 1223
9. H. C. Brown, D. H. McDaniel, *J. Am. Chem. Soc.*, **77** (1955) 3752

10. V. Schettino, G. Sbrana, R. Righini, *Chem. Phys. Lett.*, **13** (1872) 284
11. D. T. Stanton, P. C. Jurs, *Anal. Chem.*, **61** (1989) 1328
12. E. J. Mulders, M. C. Ten Noever De Brouwn, S. Van Straiten, *J. Food Res. Technol.*, **150** (1973) 306
13. A. E. Wassermann, *J. Agric. Food Chem.*, **20** (1972) 737
14. R.G. Buttery, R. M. Seifert, D.G. Guadagni, L.C. Ling, *J. Agric. Food Chem.*, **29** (1971) 969
15. H. A Bondarovich, P. Friedel, V. Krampl, J. A. Renner, F. W. Shephard, M. A. Gianturco, *J. Agr. Food Chem.*, **15** (1967) 1093
16. S.K. Grandhee, V. M. Monnier, *J. Biol. Chem.* **266** (1991) 11649
17. K. E. Murray, F. Whitfield, *J. Sci. Food Agric.*, **26** (1975) 937
18. B. Teclé, C. M. Sun, J. J. Brophy, R.F Toia, *J. Chem. Ecol.*, **13** (1987) 1811
19. A. J. Kluyver, *J. Bacteriol.*, **72** (1956) 406
20. J. C. MacDonald, *Biochem. J.*, **96** (1965) 533
21. Y. Imai, T. Shibata, S. Maki, H. Niwa, M. Ohashi, T. Hirano, *J.Photochem. Photobiol. A: Chemistry*, **146** (2001) 95
22. O. Shimomura, *Biol. Bull.*, **189** (1995) 1
23. **A. Takahashi, P. Camacho, J. D. Lechleiter, B. Herman**, *Physiol. Rev.* **79** (1999) 1089
24. A. E. O. Menzel, O. Wintersteiner, G. Rake, *J. Bact.*, **46** (1943) 109
25. M. Terao, *J. Antibiotics, Ser. A* **16** (1963) 182
26. C.-C. Liang, C.-Y. Hong, C.-F. Chen, T.-H. Tai, *J. Chromatography B*, **724** (1999) 303
27. T. K. Kao, Y. C. Ou, J.S. Kuo, W.Y. Chen, S.L. Liao, C.W. Wu, C.J. Chen, N.N. Ling, Y.H. Zhang, W.H. Peng, *Neurochem. Int.*, **48** (2006) 166
28. L. E. Seitz, W. J. Suling, R. C. Reynolds, *J. Med. Chem.*, **45** (2002) 5604
29. J. S. Skyler, *J. Med. Chem.*, **47** (2004) 4113
30. Z. Subhan, I. Hindmarch, *Neuropsychobiol.*, **12** (1984) 244
31. K. B. Mihalak, F.I. Caroll, C.W. Luetje, *Mol. Pharmacol.* **70** (2006) 801
32. S.T. Nawrocki, J. S. Carew, M. S. Pino, R. A Highshaw, K. Dunner Jr., P. Huang, J. L. Abbruzzese, D. J. McConkey, *Cancer Res.*, **65** (2005) 11658
33. M. K. Kwak, N. Wakabayashi, T.W. Kensler, *Mutat. Res.*, **555** (2004) 133
34. B. Pilarski, H. Foks, K. Ośmiałowski, R. Kaliszan, *Monatsh. Chem.* **15** (1984) 179

35. W. D. Podmore, *J. Med. Chem.*, **11** (1986) 731
36. W. A. van der Donk, A.-L. Tsai, R. J. Kulmacz, *Biochemistry*, **41** (2002) **15451**
37. A. R. Katritzky, K. Nakopoulou, J. Thomson, F. Saczewski, B. Pilarski, *J. Chem. Eng. Data*, **32** (1987) 479
38. J. Petruszewicz, R. Gami-Yilinkou, B. Pilarki, R. Kaliszan., *Pharmac. Toxic.*, **70** (1992) 448
39. J. Petruszewicz, D. Siluk. R. Kaliszan, H. Foks, E. Nowakowska, *Acta Pol. Pharm.-Drug Res.*, **56** (1999) 463
40. M. Sun, S. Zhang, Y. Fang, Z. Yang, D. Wu, B. Dong, H. Xu, *J. Phys. Chem. C*, **113** (2009) 19328
41. J. S. Haynes, J. R. Sams, R. C. Thompson, *Inorg. Chem.*, **25** (1986) 3740
42. T. Otieno, S. J. Rettig, R. C. Thompson, J. Trotter, *J. Can. J. Chem.*, **67** (1989) 1964
43. L. Carlucci, G. Ciani, D. M. Proserpio, A. Sironi, *J. Am. Chem. Soc.*, **117** (1995) 4562
44. L. R. MacGillivray, S. Subramanian, M. J. Zaworotko, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, (1994) 1325
45. B. Roßenbeck, W. S. Sheldrick, *Z. Naturforsch., Teil B*, **55** (2000) 467
46. C. Creuz, H. Taube, *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, (1969) 3938
47. J. Hardesty, Sor Koon Goh, D. S. Marynick, *J. Mol. Struct. (Theochem)* **588** (2002) 223
48. A. J. Lees, *J. Am. Chem. Soc.*, **104** (1982) 2038
49. H. Paneell, M. Guadalupe de la Paz Saenz Gonzalez, H. Leano, R. Iglesias, *Inorg. Chem.*, **17** (1978) 1093
50. A. J. Lees, J. M. Fobare, E. F. Mattimore, *Inorg. Chem.*, **23** (1984) 2709
51. C. Kreutz, P. C. Ford, T. J. Meyer, *Inorg. Chem.*, **45** (2006) 7059.
52. C. Dragonetti, M. Pizzotti, D. Roberto, S. Galli, *Inorg. Chim. Acta*, **330** (2002) 128
53. M. M. Zulu, A. J. Lees, *Inorg. Chem.* **27** (1988) 3325.
54. G. L. Geoffroy, H. Isci, J. Litrenti, W. R. Mason, *Inorg. Chem.*, **16** (1977) 1950.
55. C. Creutz, P. C. Ford, T. J. Meyer, *Inorg. Chem.*, **45** (2006) 7059
56. E. Hort, P. E. Spoerri, *J. Am. Chem. Soc.*, **70** (1948) 1657
57. Laar, *Ber.* **18** (1885) 649
58. P. R. Jones, *Chem. Rev.*, **63** (1963) 461
59. D. Kiriya, H-C. Chang, K. Nakamura, D. Tanaka, K. Yoneda, S. Kitagawa, *Chem. Mater.*, **21** (2009) 1980

60. E. D. Raczyńska, W. Konińska, B. Ośmiałowski, R. Gawinecki, *Chem. Rev.*, **105** (2005) 3561
61. K. D. Grande, S. M. Rosenfeld, *J. Org. Chem.*, **45** (1980) 1626
62. F. J. Ramírez, I. Tuñón, J. A. Collado, E. Silla, *J. Am. Chem. Soc.*, **125** (2003) 2328
63. G. P. Cesar, J. J. Greene, *J. Med. Chem.*, **17** (1974) 1122
64. R. Katritzky, M. Karelson, *J. Am. Chem. Soc.*, **113** (1991) 1561

Rozdział 8

Elektrostatyczna samoorganizacja

Szymon Jasiocki, Grzegorz Schroeder
*Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Wydział Chemii, Grunwaldzka 6,
60-780 Poznań*

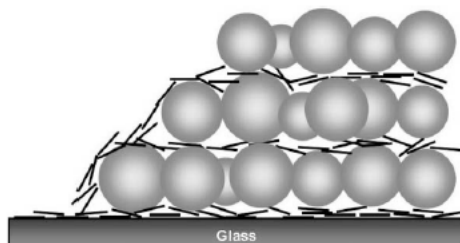
1. Wstęp

Supramolekularne struktury tworzą złożone układy, o różnorodnej architekturze i funkcjonalności. Są to formacje cząsteczek połączonych ze sobą poprzez oddziaływania niekowalencyjne. Samorzutna asocjacja małych elementów (*ang. building blocks*) w większe struktury jest nazywana samoorganizacją (*ang. self-assembly*). Natura stała się inspiracją do tworzenia syntetycznych układów o zamierzonych właściwościach. Szczególną grupę tego typu materiałów stanowią układy samoorganizujące się tworzone poprzez elektrostatyczne przyciąganie ładunków przeciwnych (*ang. electrostatic self-assembly*).

Elektrostatyczne oddziaływania pomiędzy przeciwnie naładowanymi cząsteczkami odgrywają podstawową rolę podczas wytwarzania wielowarstwowych cienkich filmów (*ang. multilayerd thin films*) na powierzchni.

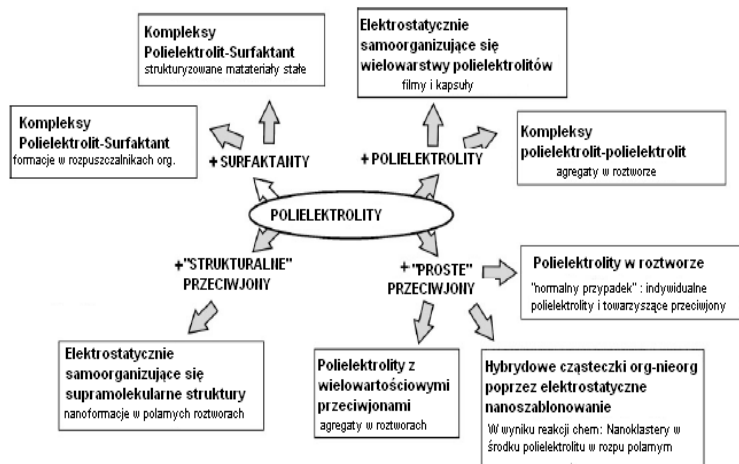
Dziedzina ta rozwija się dynamicznie, od początku lat 90-tych ubiegłego wieku, kiedy to Decher i Hong przedstawili prace dotyczące wielowarstwowych cienkich filmów złożonych z przeciwnie naładowanych polielektrolitów naniesionych na powierzchnię [1-3]. Należy jednak wspomnieć, że pierwszym doniesieniem dotyczącym wielowarstwowych cienkich filmów utworzonych przez kolejne osadzanie przeciwnie naładowanych cząstek koloidalnych była praca Ilera z 1966 (rys. 1) [4]. Wskazał on wtedy na możliwość tworzenia podobnych filmów przez wielokrotnie naładowane jony, rozpuszczalne w wodzie polimery czy białka.

Technika ta nazywana jest elektrostatyczną samoorganizacją (ESA). Odnośnie wielowarstwowych filmów wytwarzanych warstwa po warstwie używana jest również nazwa ELSA (*ang. Electrostatic Layer-by-layer Self-Assembly*).



Rysunek 1. Schemat wielowarstwowego filmu na szkle: sfery symbolizują koloidalną krzemionkę, przecieki koloidalnego minerału boehmitu [4].

Elektrostatyczna samoorganizacja zachodzi nie tylko na powierzchni stałego podłoża, ale także w roztworze [5] i na granicy faz woda powietrze [6]. Różnorodność struktur tworzonych przez polielektrolyty w zależności od występujących cząsteczek oraz warunków otoczenia można sklasyfikować następująco:



Rysunek 2. Różnorodność struktur tworzonych przez polielektrolyty w zależności od reagentów [5].

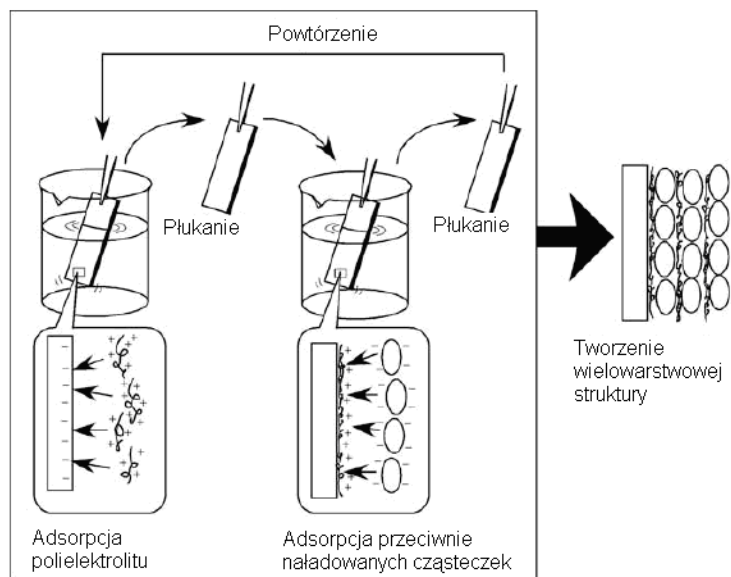
2. Metody otrzymywania wielowarstwowch cienkich filmów

2.1 Proces wytwarzania wielowarstwowch cienkich filmów metodą ESA

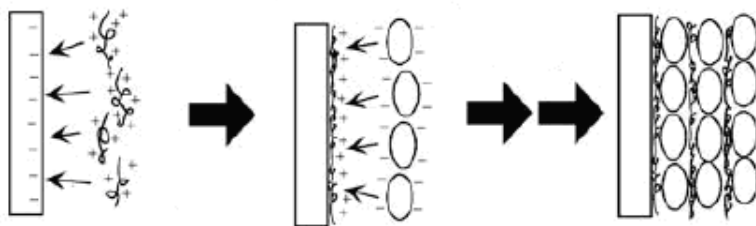
Technika wytwarzania cienkich filmów na powierzchni złożonych z przeciwnie naładowanych cząsteczek naprzemian warstwa po warstwie (*ang.*

alternate layer-by-layer assembly; LbL) jest bardzo prosta (rys. 3). W metodzie tej wykorzystuje się stały nośnik posiadający ładunek na powierzchni (metal, krzem, szkło). W tym przypadku powierzchnia substratu (tak nazywane jest stałe podłoże, na którym adsorbowane są nanoszone cząsteczki) jest naładowana ujemnie. Po zanurzeniu substratu w wodnym roztworze polikationów (np. PDDA – poli(chlorek diallilodimetyloamoni)) następuje ich adsorpcja na powierzchni poprzez elektrostatyczne przyciąganie. Warunkiem zajścia procesu jest adsorpcja nadmiaru dodatnio naładowanego polimeru. Wskutek tego początkowo ujemny ładunek powierzchni substratu zostaje nie tylko zneutralizowany, ale wytworzony zostaje powierzchniowy ładunek dodatni (rysunek 4). Następnie substrat zostaje zanurzony w wodnym roztworze polianionów (np. Na-PSS – polistyrenosulfonian sodu) gdzie następuje ich adsorpcja i ponowne odwrócenie ładunku. W ten sposób zamyka się cykl naprzemiennej adsorpcji, który można wielokrotnie powtarzać.

Warto podkreślić, że w metodzie tej zastosowanie znajduje szerokie spektrum substancji posiadających ładunek oraz rozpuszczalnych w wodzie. Są to między innymi konwencjonalne polimery, biopolimery takie jak białka czy kwasy nukleinowe, naładowane cząstki koloidalne oraz wiele innych.

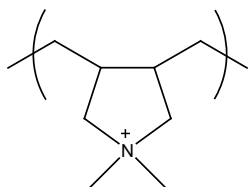


Rysunek 3. Schemat ilustrujący proces nanoszenia kolejnych warstw w metodzie LbL elektrostatycznej samoorganizacji [7].

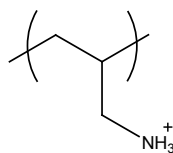


Rysunek 4. Schemat wyjaśniający zasadę wytwarzania cienkich filmów za pomocą metody warstwa po warstwie wykorzystującej elektrostatyczną samoorganizację [7].

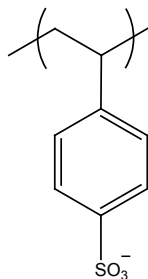
Istnieje wiele metod tworzenia samoorganizujących się wielowarstwowych cienkich filmów. Są one zebrane i omówione w pracach przeglądowych [8]. W procesie elektrostatycznej samoorganizacji wykorzystuje się rozmaite związki chemiczne, warunkiem jest posiadanie przez nie ładunku elektrycznego. Do najczęściej używanych należą polielektrolity. Coraz częściej używane są inne koloidalne nanocząsteczki metali, związki makrocykliczne oraz wszelkie cząsteczki organiczne o różnych właściwościach, zmodyfikowane grupami jonowymi i w końcu biopolimery.



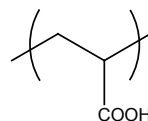
PDDA - poli(chlorek diallilodimetyloamoni)



PAH - poli(chlorowodorek alliloaminy)



PSS - poli(styrenosulfonian sodu)

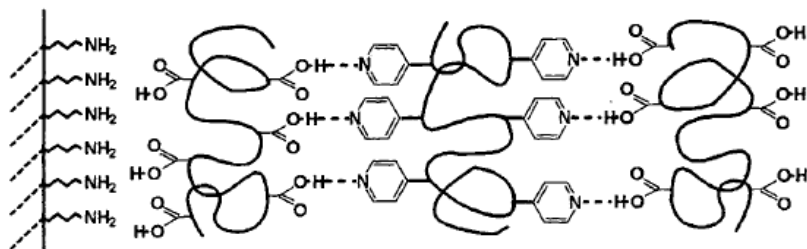


PAA - kwas poliakrylowy

Rysunek 5. Przykładowe polielektrolity wykorzystywane w ESA.

2.2 Inne metody otrzymywania wielowarstwowych cienkich filmów

Oprócz oddziaływań elektrostatycznych, do otrzymywania samoorganizujących się warstw, stosuje się także cząsteczki zdolne do tworzenia wiązań wodorowych. Wykorzystuje się je w układach: poliwinylpirydynie - PVP lub polikwasie akrylowym - PAA [9,10]. Właściwości fizykochemiczne takich układów różnią się od elektrostatycznie wytwarzanych wielowarstw. Warstwy te są wrażliwe na warunki otoczenia, przez co są łatwo usuwalne z powierzchni [11].

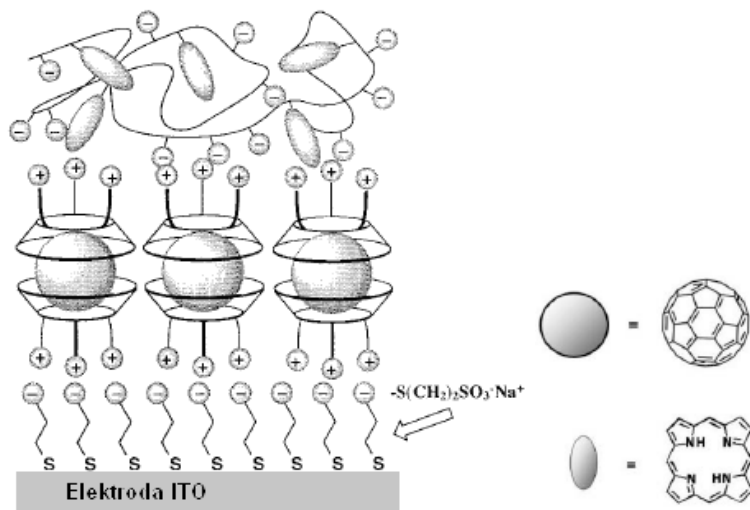


Rysunek 6. Wielowarstwowy cienki film samoorganizujący się przez wiązania wodorowe PAA i PVP [9].

Inną metodą wytwarzania wielowarstwowych cienkich filmów są reakcje krok po kroku (*ang. step-by-step*). Prowadzą do utworzenia stabilnych struktur z wiązaniami kowalencyjnymi [12,13] lub koordynacyjnymi [14] z dużą wydajnością.

Kolejnym rodzajem oddziaływań prowadzącym do powstania wielowarstwowych cienkich filmów jest rozpoznanie molekularne pomiędzy cząsteczkami gospodarza i cząsteczkami gościa (*ang. host and guest*). Zastosowanie znajduje tutaj szeroki asortyment związków organicznych, w tym również biomolekuł. Przykładem może być wielowarstwowy film złożony z nanocząsteczek złota sfunkcjonalizowanych β -cyklodekstryną (gospodarz) i dendrymerów zakończonych grupami adamantyłowymi (gość) [15].

W metodach wytwarzania samoorganizujących się warstw wykorzystuje się różne rodzaje cząsteczek (*ang. building blocks*), co pozwala uzyskiwać wielowarstwowe filmy o zaprojektowanych właściwościach. Układ przedstawiony na rys. 13 jest zdolny do generowania fotoprądu dzięki warstwom porfiryńowym absorbującym kwanty promieniowania poprzez fullereny, które umożliwiają jego przepływ do elektrody z wydajnością kwantową 21% [16].



Rysunek 7. Schemat samoorganizacji LbL zawierającej kompleksy inkluzyjne, które tworzą cząsteczki kaliksarenów i fullerenów [16].

3. Właściwości wielowarstwowych cienkich filmów.

Materiały wytwarzane techniką ESA cieszą się dużym zainteresowaniem dzięki swoim unikalnym właściwościom i potencjalnym zastosowaniom. Dużo uwagi poświęcono zrozumieniu natury tych układów, właściwości wynikających z występujących oddziaływań, warunków procesu, pH, siły jonowej czy rozpuszczalnika [17-20].

Tabela 1. Rodzaje oddziaływań i ich charakter w różnych metodach samoorganizacji [21]

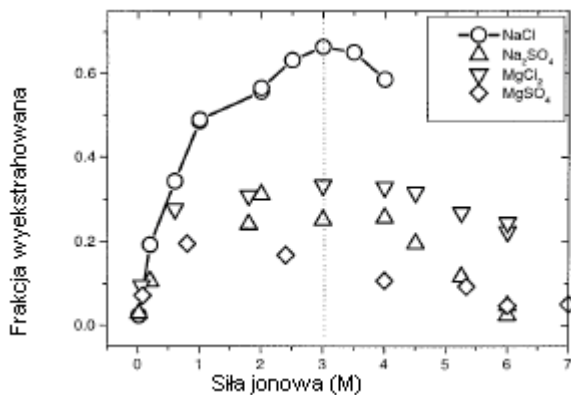
Rodzaj oddziaływania	Siła oddziaływań [kJ mol ⁻¹]	Odległość oddziaływania	Charakter oddziaływań
Van deer Waalsa	51	krótka	nieselektywny, niekierunkowy
Wiązanie wodorowe	5-65	krótka	selektywny, kierunkowy
Wiązanie koordynacyjne	50-200	krótka	kierunkowy
Dopasowanie molekularne	10-100	krótka	bardzo selektywny
Amfifilowe	5-50	krótka	nieselektywny
Jonowe	50-250 ^a	długa	nieselektywny
Kowalencyjne	350	krótka	nieodwracalny

a - zależy od rozpuszczalnika, dane dla mediów organicznych

Elektrostatyczna samoorganizacja wydaje się nie mieć ograniczeń, co ilości warstw tworzących cienki film [20].

Właściwości rozpuszczalnika (budowa cząsteczki) oraz skład mieszanin rozpuszczalników wpływają na właściwości roztworu polielektrolitu (przewodność, lepkość), które z kolei determinują proces powstawania i właściwości wielowarstwowych filmów (grubość, chropowatość) [22].

Jedną z komplikacji w tworzeniu się wielowarstwowych cienkich filmów złożonych z polimerów jonowych i małych naładowanych cząsteczek organicznych jest możliwość ekstrakcji tych drugich z powierzchni do roztworu polimeru jonowego, konkurującej z procesem adsorpcji polimeru na powierzchni. Kluczowe znaczenie mają tu stężenia substancji oraz siła jonowa roztworu. Przy małej wartości siły jonowej sztywność polimeru ogranicza wiązanie małych cząsteczek. Z drugiej strony duża wartość siły jonowej powoduje kompleksowanie przez polimer jonów nieorganicznych w roztworze, redukując tym samym oddziaływania elektrostatyczne z cząsteczkami docelowymi [23]. Sytuację eksperymentu, w którym z powierzchni substratu z naniesionym wielowarstwowym filmem polimer-barwnik ekstrahowano barwnik w roztworze polimeru o różnej sile jonowej, przedstawia rysunek 8.



Rysunek 8. Wpływ siły jonowej na kompleksowanie barwnika przez polimer polistyrenosulfonian zilustrowany jako frakcja barwnika (Ingrain Blue 1) zmierzona za pomocą spektroskopii UV-Vis w funkcji siły jonowej soli dodanej do roztworu polimeru [23]. Maksimum ekstrakcji barwnika występuje przy środkowych wartościach siły jonowej dla każdej soli.

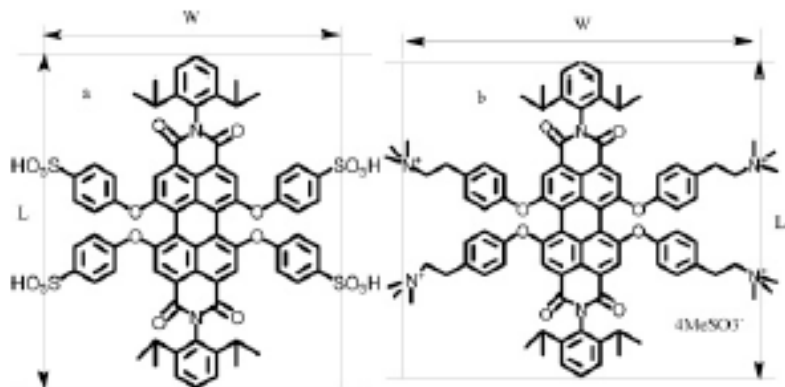
Indywidualne warstwy są optycznie i krystalograficznie nierozróżnialne. Spowodowane jest to prawdopodobnie ich znacznym wzajemnym przenikaniem

się. Filmy LbL wykazują anizotropię kierunkową, która wynika z występowania w dużym stopniu pętli i ułożonym prostopadłym do płaszczyzny filmu łańcuchom polimerowym [24]. Niektórzy autorzy proponują, aby wielowarstwowe filmy rozważać jako mieszaninę na poziomie cząsteczkowym posiadającą jednowymiarową periodyczność rzędu 500\AA [25].

Ujemne zmiany entalpii oraz entropii w procesie elektrostatycznej samoorganizacji kationów na powierzchni tlenku krzemu wskazują na obniżenie energii przy równoczesnym wzroście uporządkowania układu [26].

3.1 Oddziaływania w cienkowarstwowych filmach LBL

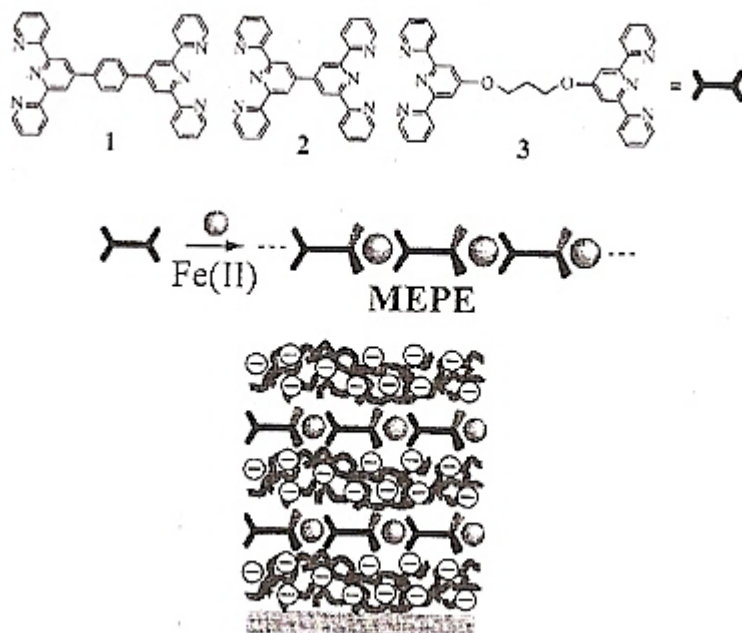
Podstawowym rodzajem oddziaływań w elektrostatycznie samoorganizujących się układach jest przyciąganie się przeciwnie naładowanych zjonizowanych grup funkcyjnych. Mogą występować także inne oddziaływania dodatkowo stabilizujące ich strukturę. Jest to istotne zwłaszcza dla układów, w których nie zastosowano polielektrolitów, a jedynie cząsteczki zawierające kilka naładowanych grup funkcyjnych. Do takich oddziaływań należą oddziaływania π - π np. dla grup perylenowych [27,28].



Rysunek 9. Struktura barwników na bazie perylenodiimidów (PDI) wykazujących oddziaływania π - π [27].

Interesującym przykładem polielektrolitu w ELSA może być supramolekularny układ zawierający skoordynowane przez cząsteczki organiczne jony metali przejściowych [29]. W pracy tej zastosowano między innymi jony Fe^{2+} (kationy innych metali, także kinetycznie labilnych, tworzą trwale struktury – nie obserwuje się wymiany jonów) oraz ligandy bis-terpirydynowe tworzące

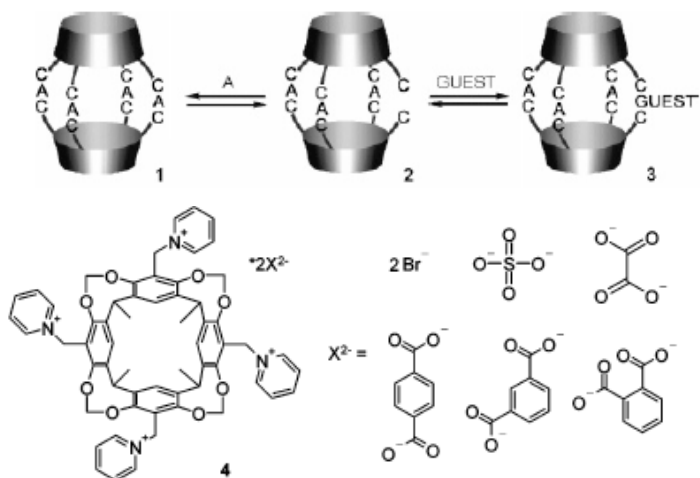
układy o koordynacji oktaedrycznej wokół tych jonów.



Rysunek 10. Formowanie się liniowych metalosupramolekularnych polielektrolitów, (MEPE), z jonów Fe^{2+} i jednostek bis-terpirydynowych, które wraz z przeciwnie naładowanymi polimerami jonowymi tworzą cienkie filmy [29].

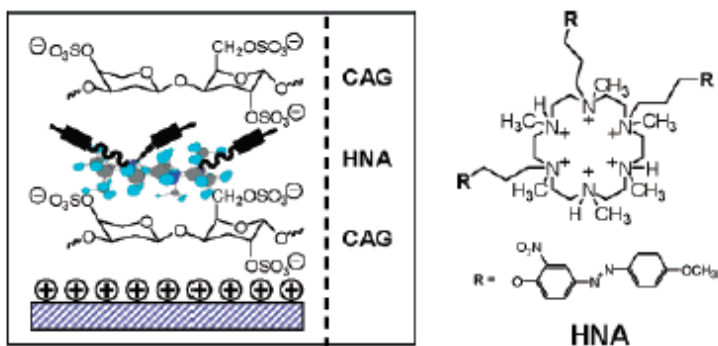
4. Zastosowania elektrostatycznie samoorganizujących się wielowarstwowych cienkich filmów

Metoda elektrostatycznej samoorganizacji swoją popularność zawdzięcza zarówno prostocie wykonania supramolekularnych materiałów jak i niemal nieograniczonemu zakresowi grup funkcyjnych, które można wprowadzić do układu [17]. Innym przykładem supramolekularnego modelowania złożonych układów są kapsuły. Utworzone przez elektrostatyczne oddziaływania pomiędzy dodatnio naładowanymi grupami pirydyniowymi cząsteczek kawitandu tworzących półsfery z podwójnie ujemnie naładowanymi cząsteczkami łączącymi je w kapsułę [30]. W tym wypadku występuje tu równowaga, zależna od stężenia, pomiędzy kapsułą (2+4) a hemi kapsułą (2+3) (*ang. hemicapsules*), która posiada zdolności kompleksotwórcze (Rys. 7).



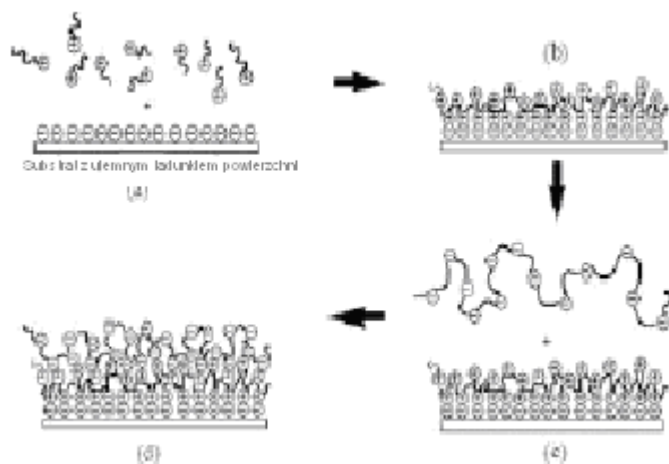
Rysunek 11. Równowaga pomiędzy kapsułą, hemi kapsułą i kompleksem gość-gospodarz. Struktura kawitandu oraz podwójnie naładowanych anionów [30].

Interesującym przypadkiem jest otrzymanie określonej orientacji grup chromoforowych w wyniku zastosowania azakoronowego multikationu. W zastosowaniach elektronicznych i optycznych odpowiednia orientacja cząsteczek jest kluczowa. W przypadku ESA kontrola ułożenia cząsteczek chromoforu jest możliwa. Orientacja cząsteczek chromoforu została określona przy pomocy widm spolaryzowanego promieniowania UV-Vis [31].



Rysunek 12. Ilustracja filmu złożonego z multikationu typu aza-koronowego sfunkcjonalizowanego grupami chromoforowymi (HNA) i anionowego polielektrolitu *t*-karagenianu (CAG) [31]

Technika jonowej samoorganizacji wykorzystywana jest również do wytwarzania jednorodnych cienkich filmów o strukturze niecentrosymetrycznej (polimerów sfunkcjonalizowanych cząsteczkami barwnika), mających zastosowanie w nieliniowej optyce [32]. Przykładem modyfikacji powierzchni przy pomocy techniki ESA są membrany o kontrolowanej przepuszczalności. Podstawą membrany może być kopolimer poliakrylonitrylu i kwasu akrylowego [P(AN-co-AA)], warstwy jonowe tworzą czwartorzędowe sole amoniowe, np. chlorek cetylotrimetyloamoniowy (CTAC), oraz kwas poliakrylowy (PAA) [33].



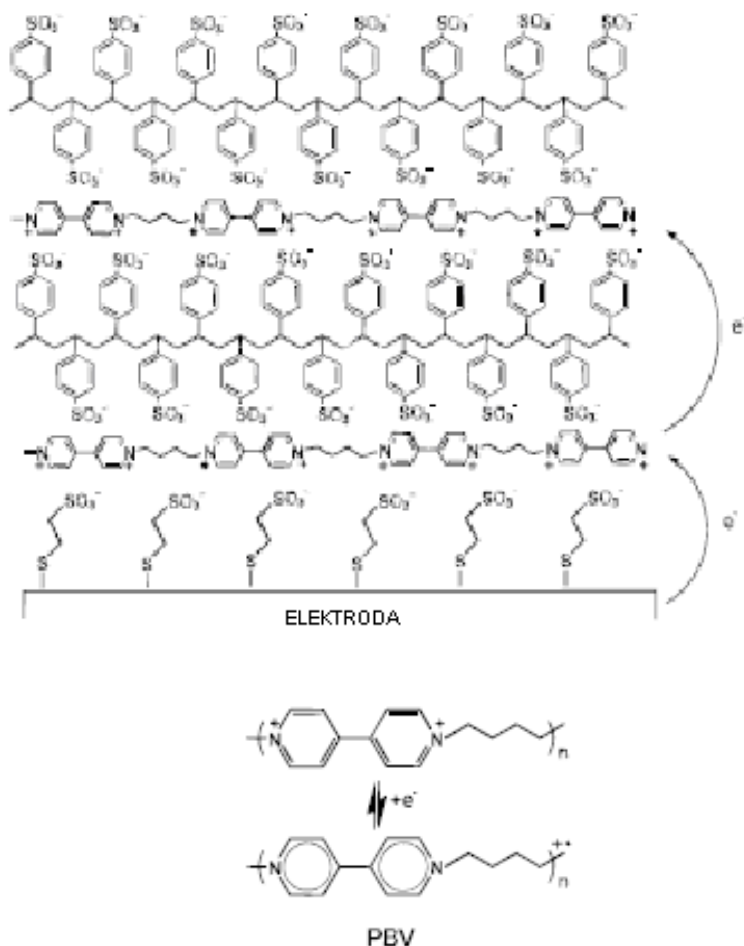
Rysunek 13. Proces wytwarzania filmu metodą ESA na polimerowej membranie obdarzonej ujemnym ładunkiem [33].

Technika ESA daje możliwość inkorporacji w wielowarstwowe struktury układów o zaprojektowanej funkcjonalności. Jednym z przykładów mogą być elektrochemicznie aktywne polimery osadzane na powierzchni elektrod [25].

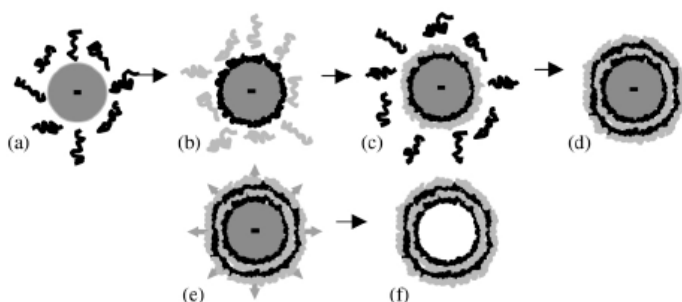
Przedstawiona na rysunku 13 struktura jest w rzeczywistości mniej zorganizowana, występuje znaczne wzajemne przenikanie się indywidualnych warstw. Całkowite odizolowanie aktywnych elektrochemicznie jednostek wymaga, co najmniej 4 par polijonowych.

Kolejne pole zastosowań ESA jest wynikiem wykorzystania, zamiast płaskich jak dotąd powierzchni substratu, sferycznych cząstek koloidalnych. Zastosowanie znajduje tutaj szerokie spektrum różnorodnych komponentów strukturalnych (biopolimery, nieorganiczne nanocząsteczki, wielokrotnie naładowane jony, itd.). Metoda wytwarzania takich filmów jest analogiczna do

wytwarzania cienkich filmów na płaskiej powierzchni, co przedstawia rys. 15. Następnym etapem jest usunięcie rdzenia (*ang. core removal*), który stanowi koloidalną cząsteczkę. Powstająca w ten sposób pusta kapsuła (*ang. hollow capsule*) jest zamkniętym sferycznie wielowarstwowym cienkim filmem [18].



Rysunek 14. Hipotetyczna struktura wielowarstwowej struktury PBV/PSS ilustrująca przeskok elektronu pomiędzy jednostkami [25].



Rysunek 15. Depozycja na ujemnie naładowanej koloidalnej cząstce polikationów (a,c) oraz polianionów (b,d) prowadzi do uzyskania na tej cząstce cienkiego, wielowarstwowego filmu. Następnie usunięcie substratu (e) prowadzi do utworzenia pustej w środku powłoki (f) [18].

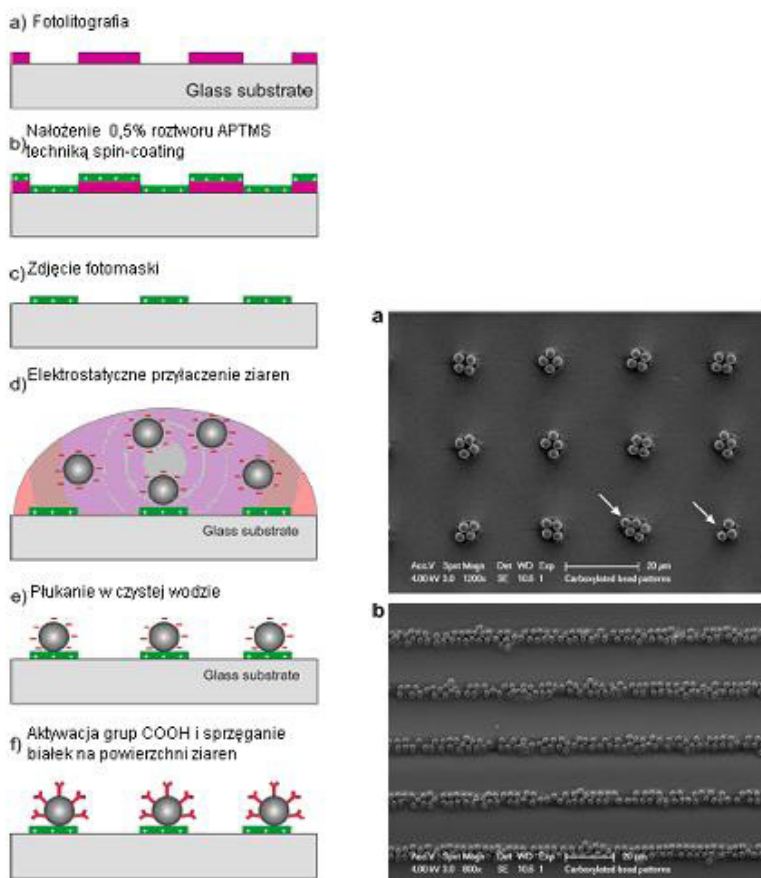
Innym polem zastosowań elektrostatycznej samoorganizacji są biomedyczne nanourządzenia [34] takie jak proteinowe mikroszeregi (*ang. bead-based microarrays*) wytwarzane przy pomocy techniki ESA [35]. Na szklanym substracie za pomocą fotolitografii w procesie mikrowzornictwa (*ang. micropatterning*) tworzy się obszary dodatnio naładowanego aminopropylotrietoksylanu (APTES) (rys. 15). Następnie ziarenka kwasów karboksylowych (średnica 1-2,8 μm) samoorganizują się na powierzchni APTES. W końcu grupy karboksylowe na powierzchni ziarenek aktywowane związkami karbodiimidowymi tworzą wiązania amidowe z odpowiednimi białkami.

Technika ESA znalazła również zastosowanie w wytwarzaniu powłok RGD na porowatych implantach zwiększając tym samym ich zdolność do wiązania się z substancją kostną [36].

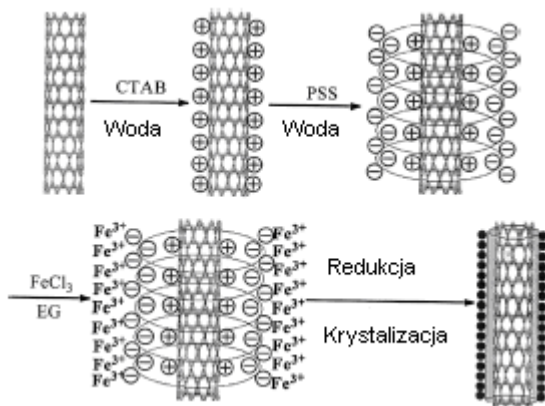
Elektrostatyczna samoorganizacja jest wykorzystywana do otrzymywania katenanów w wyniku cyklizacji łańcucha, poprzez elektrostatyczne oddziaływanie jonowe, końców łańcucha z przeciwnie naładowaną dijonową cząsteczką. Proces ten poprzedza wytworzenie wiązania kowalencyjnego [37].

Liczne zastosowania w nanotechnologii prognozowane są dla magnetycznych nanokompozytów opartych na nanorurkach węglowych (*ang. Carbon Nanotubes –CNTs*). Przykładem może być modyfikowanie CNTs nanocząstkami Fe_3O_4 za pomocą ESA [38]. Początkowo naładowane cząsteczki bromku cetylotrimetyloamoniowego (CTAB) zostały związane chemicznie do powierzchni nanorurki (rys. 16) by następnie elektrostatycznie związać makro jonowe cząsteczki polistyrenosulfonianu (PSS). Potencjalnie takie układy mogą znaleźć zastosowanie jako. pamięci magnetyczne. Analogicznie można otrzymać CNTs pokryte nanocząsteczkami platyny zaadsorbowanymi na

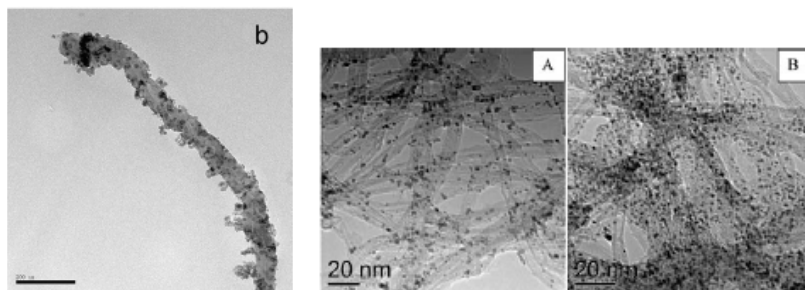
dotąd dodatkowo naładowanym polichlorowodorku alliloaminy - PAH, które posiadają wysoką aktywność w kierunku reakcji redukcji tlenu [39]. Aktywność ta jest przypisywana dużej powierzchni Pt-CNTs czynnej elektrochemicznie. Strukturalna integralność CNTs oraz jednorodność dyspersji Pt-NPs dzięki zastosowaniu ESA dają możliwość wytwarzania opartych na CNTs nanoelektrokatalizatorach o dużym potencjale zastosowania w komórkach paliwowych.



Rysunek 16. Schemat ilustrujący proces mikrowzornictwa karboksylowanych ziarenek na templacie APTES przy wykorzystaniu ESA (po lewej). Skaningowe mikrografie elektroniczne przedstawiające karboksylowane ziarenka elektrostatycznie samoorganizujące się na kropkach (a) i paskach (b) APTES (po prawej) [35].

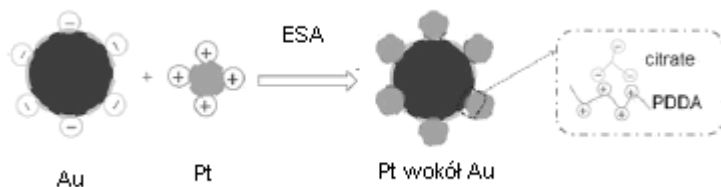


Rysunek 17. Schemat reprezentujący samoorganizację nanocząstek Fe_3O_4 na CNTs [38].



Rysunek 18. Obraz uzyskany za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM) na którym widoczne są nanocząstki Fe_3O_4 przyczepione do zewnętrznej warstwy CNT pokrytej filmem PSS-CTAB (pasek skali 200 nm, po lewej) [38]. Obrazy TEM dla (A) Pt/COOH-CNTs oraz (B) Pt/PAH-CNTs (po prawej) [39].

W ostatnim czasie zainteresowaniem cieszą się nanokompozyty zawierające metale o katalitycznych właściwościach takich jak pallad i platyna. Drogą elektrostatycznej samoorganizacji udało się zsyntezować z dodatnio naładowanych nanocząsteczek (*ang. nanoparticles NPs*) Pt w roztworze PDDA oraz ujemnie naładowanych NPs Au w roztworze cytrynianu sodu nanokompozyty Pt wokół Au o wysokiej aktywności w kierunku utleniania kwasu mrówkowego [40], potencjalnego źródła energii.

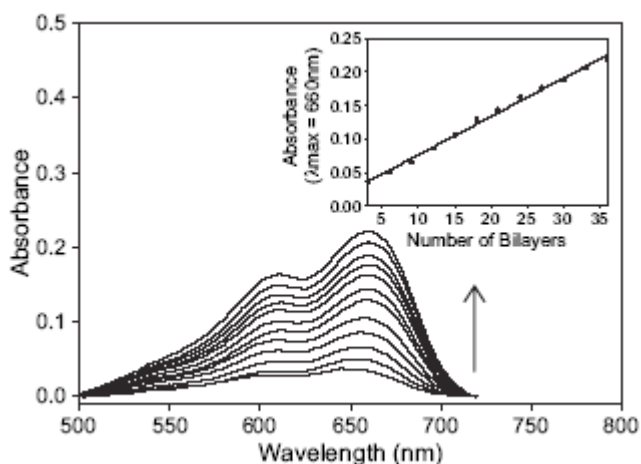


Rysunek 19. Schemat syntezy nanokompozytu Pt/Au poprzez ESA [40].

5. Metody badań samoorganizujących się wielowarstwowych cienkich filmów.

5.1 Pomiary absorpcji UV-Vis

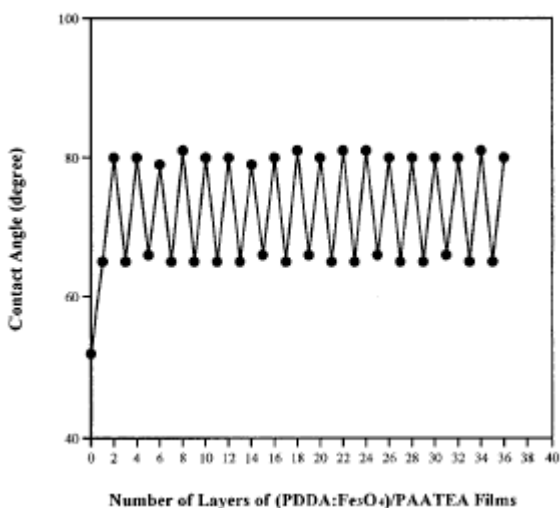
Spektroskopia w zakresie UV-Vis jest pomocna przy badaniu układów zawierających grupy funkcyjne absorbujące w tym zakresie promieniowania elektromagnetycznego. Zmiana wartości absorpcji w tym przypadku powinna być proporcjonalna do ilości absorbującej substancji, a więc do grubości cienkiego filmu. Jest to, więc narzędzie szybkiej kontroli prawidłowego przebiegu procesu.



Rysunek 20. Widma absorpcji UV-Vis wielowarstwowych cienkich filmów złożonych z PDDA i anionowego barwnika SQ po kolejnych deponycjach. Wewnętrzny wykres ilustruje wzrost absorpcji w funkcji kolejnych cykli deponycji [41].

5.2. Pomiar kąta kontaktu (*ang. contact angle*)

Zdolność zwilżania przez ciała stałe jest uwarunkowana przez strukturę jego najbardziej zewnętrznej powierzchni (kilka Å)[42]. Stąd pomiary goniometryczne kąta kontaktu są pomocne przy ocenie jakościowej zaadsorbowanej materii na powierzchni w metodzie elektrostatycznej samoorganizacji (rys. 9). Uzyskane wartości na przemian 65° (PAATEA – sól kwasu poliamidowego – prekursor poliimidów) i 80° dla PDDA (polichlorek dimetylodiwinyloamoniowy) potwierdzają konsekwentne tworzenie się warstw tych związków na powierzchni [43].

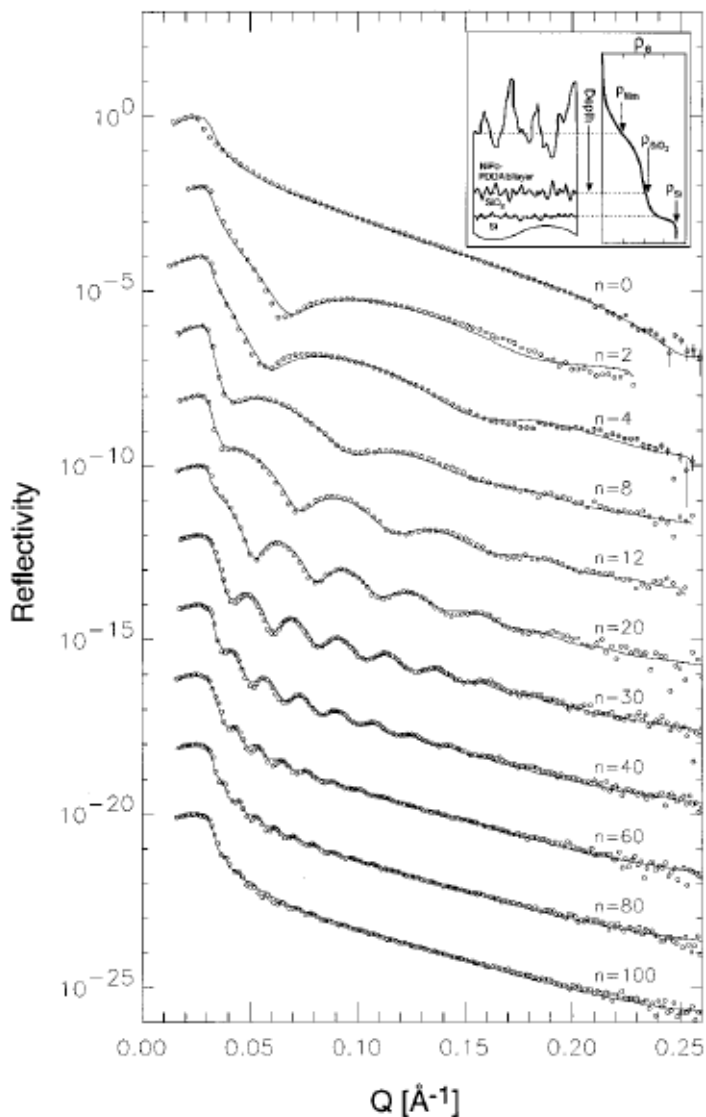


Rysunek 21. Wartość kąta kontaktu na powierzchni wielowarstwowych filmów (PDDA:Fe₃O₄)/PAATEA w funkcji liczby warstw [43].

5.3. Reflektometria promieni X (*ang. X-ray reflectometry*) i elipsometria

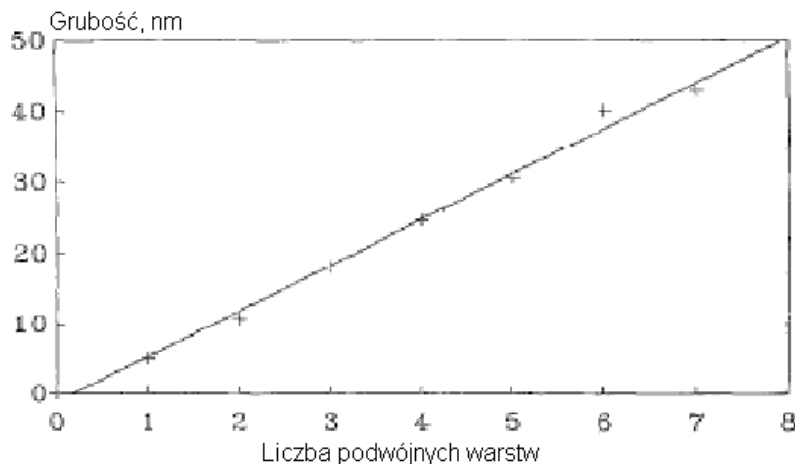
Metody reflektometryczne i elipsometryczne opierają się na oddziaływaniu badanej substancji z promieniowaniem X.

Technika reflektometrii rentgenowskiej polega na pomiarze intensywności wiązki promieniowania X odbitej lustrzanie przez płaszczyzny granic faz w próbce w stosunku do intensywności wiązki promieniowania X padającej na próbkę. Technika ta pozwala dokładnie określić takie parametry jak gęstość, grubość oraz chropowatość ultracienkich filmów [44].



Rysunek 23. Profile odbicia (\circ) dla substratu krzemowego zakończonym naturalnym tlenkiem ($n = 0$) oraz kolejną liczbą warstw PDDA-NiPc (sól tetrasodowa kompleksu niklu i kwasu ftalocyjaninotetrasulfonowego) oraz profile obliczone za pomocą modelu (ramka) zaznaczone linią ciągłą. [45].

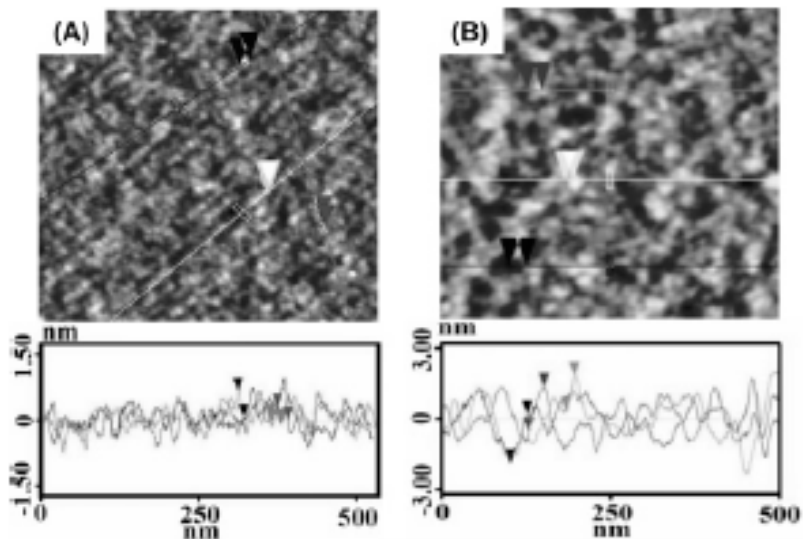
Elipsometria jest techniką wykorzystywaną do pomiaru stałych optycznych (współczynnik załamania) cienkich filmów, warstw powierzchni poprzez określenie elipsy polaryzacji odbitego promieniowania. Pozwala to dalej określić grubość badanego materiału [46].



Rysunek 25. Wykres ilustrujący zależność grubości filmu od liczby podwójnych warstw (PSS-PAH) na podstawie danych elipsometrycznych. Współczynnik załamania (indeks refrakcji) filmu jest stały dla każdej grubości filmu i wynosi 1.50 ± 0.05 [47].

5.4. Mikroskopia sił atomowych (ang. Atomic Force Microscopy) AFM

Mikroskopia sił atomowych jest metodą opartą na oddziaływaniu ostrza pomiarowego z badaną powierzchnią (siły elektrostatyczne, magnetyczne itd.). Przesuwanie ostrza nad powierzchnią prowadzi do uzyskania mapy oddziaływań na danym polu skanowania. AFM pozwala uzyskać informacje o morfologii powierzchni. Rysunek 24 ilustruje obraz powierzchni uzyskany tą metodą. Jaśniejsze obszary wskazują na wyżej położone regiony, natomiast ciemniejsze obszary prezentują niżej położone regiony.



Rysunek 24. Topograficzne obrazy AFM i odpowiednie przekroje (A) monowarstwy HNA i (B) dwuwarstwy HNA/CAG z CAG na powierzchni Si [31].

6. Podsumowanie

Elektrostatyczna samoorganizacja w ciągu dwóch ostatnich dekad stała się powszechną techniką wytwarzania supramolekularnych materiałów o coraz większym potencjale zastosowania w nauce i w przemyśle. Prostota i niewysoki koszt oraz szeroki zakres stosowania czyni tą metodę niezwykle atrakcyjną. Postępujące badania w tej dziedzinie pozwalają na coraz lepszą kontrolę procesu wytwarzania i uzyskiwanie określonych właściwości wielowarstwowych filmów, kapsuł lub innych materiałów.

Podziękowanie

Praca finansowana ze środków na naukę w latach 2009-2012 jako projekt badawczy N 204 028636.

Literatura:

1. "Buildup of ultrathin multilayer films by a self-assembly process: I. Consecutive adsorption of anionic and cationic bipolar amphiphiles on charged surfaces" G. Decher, J. D. Hong, *Makromol. Chem. Macromol. Symp.*, 1991, **46**, 321

2. "Buildup of Ultrathin Multilayer Films by a Self-Assembly Process: II. Consecutive Adsorption of Anionic and Cationic Bipolar Amphiphiles and Polyelectrolytes on Charged Surfaces" G. Decher, J. D. Hong, *Ber. Bunsen-Ges. Phys. Chem.*, 1991, **95**, 1430
3. "Buildup of ultrathin multilayer films by a self-assembly process: III. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic polyelectrolytes on charged surfaces" G. Decher, J. D. Hong, J. Schmitt, *Thin Solid Films*, 1992, **210**, 831
4. "Multilayers of colloidal particles" R. K. Iler, *J. Colloid Interface Sci.*, 1966, **21**, 569
5. "Electrostatic Self-Assembly as a Route to Supramolecular Structures" F. Gröhn, *Macromol. Chem. Phys.*, 2008, **209**, 2295
6. „Electrostatic Binding among Equilibrating 2-D and 3-D Self-Assemblies“ F. M. Menger, L. Shi, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 6672
7. K. Ariga, T. Kunitake, "Supramolecular Chemistry – Fundamentals and Applications", Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2006
8. "Layer-by-layer assembly: from conventional to unconventional methods" X. Zhang, H. Chen, H. Zhang, *Chem. Commun.*, 2007, 1395
9. „A new approach for the fabrication of an alternating multilayer film of poly(4-vinylpyridine) and poly(acrylic acid) based on hydrogen bonding“ L. Wang, Z. Wang, X. Zhang, J. Shen, *Macromol. Rapid Commun.*, 1997, **18**, 509
10. „Investigation into an Alternating Film of Poly(4-Vinylpyridine) and Poly(acrylic acid) Based on Hydrogen Bonding“ L. Wang, Y. Fu, Z. Wang, Y. Fan, X. Zhang, *Langmuir*, 1999, **15**, 1360
11. "Hydrogen-bonded layer-by-layer polymer films" E. Kharlampieva, S. A. Sukhishvili, *J. Macromol Sci., Part C: Polymer Rev.*, 2006, **46**, 377
12. "Assembly of covalently-coupled disulfide multilayers on gold" P. Kohli, K. K. Taylor, J. J. Harris, G. J. Blanchard, *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, **120**, 11962
13. "Assembly of ultrathin polymer multilayer films by click chemistry" G. K. Such, J. F. Quinn, A. Quinn, E. Tjijto, F. Caruso, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 9318
14. "Inorganic analogues of Langmuir-Blodgett films: Adsorption of ordered zirconium 1,10-decanebisphosphonate multilayers on silicon surfaces" H. Lee, L. J. Kepley, H. G. Hong, T. E. Mallouk, *J. Am. Chem. Soc.*, 1988, **110**, 618
15. „Supramolecular layer-by-layer assembly: Alternating adsorptions of guest-and host-functionalized molecules and particles using

- multivalent supramolecular interactions” O. Crespo-Biel, B. Dordi, D. N. Reihoundt, J. Huskens, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 7594
16. „Efficient photocurrent generation in novel self-assembled multilayers comprised of [60]fullerene-cationic homooxacalix[3]arene inclusion complex and anionic porphyrin polymer[2]” A. Ikeda, T. Hatano, S. Shinkai, T. Akiyama, S. Yamada, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 4855
 17. “Recent explorations in electrostatic multilayer thin film assembly” P. T. Hammond, *Curr. Opin. Coll. Interface Sci.*, 2000, **4**, 430
 18. “Self-assembled polyelectrolyte multilayers” M. Schönhoff, *Curr. Opin. Coll. Interface Sci.*, 2003, **8**, 86
 19. „Recent developmenyts in the properties and applications of polyelectrolyte multilayers” J. A. Jaber, J. B. Schlenoff, *Curr. Opin. Coll. Interface Sci.*, 2006, **11**, 324
 20. “Supramolecular Polymers”, edited by A. Ciferri, 2005 Taylor & Francis Group
 21. “Ionic Self-assembly: Facile synthesis of supramolecular materials” C. F. J. Faul, M. Antonietti, *Adv. Mater.*, 2003, **15**, 673
 22. „Influences of Solution Property and Charge Density on the Self-Assembly Behavior of Water-Insoluble Polyelectrolyte Sulfonated Poly(sulphone) Sodium Salts” P. Zhang, J. Qian, Q. An, B. Du, X. Liu, Q. Zhao, *Langmuir*, 2008, **24**, 2110
 23. „Nonmonotonic Effect of Ionic Strenght on Surface Dye Extraction during Dye-Polyelectrolyte Multilayer Formation” M. R. Linfood, M. Auch, H. Möhwald, *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, **120**, 178
 24. „Determination of optical constans of molecular films assembled via alternate polyion adsorption“ J. J. Ramsden, Y. M. Lvov, G. Decher, *Thin Solid Films*, 1995, **254**, 246
 25. „Multilayer Assemblies of Redox Polyelectrolytes“ D. Laurent, J. B. Schlenoff, *Langmuir*, 1997, **13**, 1552
 26. “Zeta-potentials and enthalpy changes in the process of electrostatic self-assembly of cations on silica surface” L. Peng, W. Qisui, L. Xi, Z. Chaocan, *Powder Technol.*, 2009, **193**, 46
 27. „Molecular Layer-by-Layer Self-Assembly of Water-Soluble Perylene Diimides through π - π and Electrostatic Interactions” T. Tang, J. Qu, K. Müllen, S. E. Webber, *Langmuir*, 2006, **22**, 26
 28. „Electrostatic Self-assebly of Ordered Perylene-Diimide/ Polyelectrolyte Nanofibres in Fluidic Devices: from Nematic Domains to Macroscopic Alignment“ T. A. Everett, D. A. Higgins, *Langmuir*, 2009, **25**, 13045

29. „Metallosupramolecular Chemistry in Two Dimensions“ M. Schütte, C. Stolle, D. G. Kurth, *Supramolecular Chemistry*, 2003, **15**, 549
30. „Self- Assembled Hemicapsules with Inherent Functionalities: Modeling of a Supramolecular Electrostatic Self-Assembly“ G. V. Oshovsky, D. N. Reinhoudt, W. Verboom, *J. Org. Chem.*, 2006, **71**, 7441
31. “Electrostatic Self-Assembly of a Macrocyclic Amphiphile for Inducing the Flat Orientation of Chromophores” S. K. Kumar, J. K. Park, J. D. Hong, *Langmuir*, 2007, **23**, 5093
32. “Novel Polymer Dyes for Nonlinear Optical Applications Using Ionic Self-Assembled Monolayer Technology” K. M. Lenahan, Y. X. Wang, Y. Liu, R. O. Claus, J. R. Helfin, D. Marciu, C. Figura, *Adv. Mater.*, 1998, **11**, 853
33. „Multilayer Composite Surfaces Prepared by an Electrostatic Self-Assembly Technique with Quaternary Ammonium Salt and Poly(acrylic acid) on Poly(acrylonitrile-co-acrylic acid) Membranes” T. Kobayashi, H. Fu, Q. Cui, H. Wang, *J. Appl. Polym. Sci.*, 2008, **110**, 3234
34. “Supramolecular assembly of photofunctional dendrimers for biomedical nanodevices” W. Jang, N. Nishiyama, K. Kataoka, *Supramolecular Chemistry*, 2007, **19**, 309
35. “Bead-based single micro-array realized through electrostatic self-assembly of carboxylated beads” V. Sivagnanam, A. Sayah, M. A. M. Gijs, *Microelectronic Engineering*, 2008, **85**, 1355
36. “*In vivo* evaluation of bone-binding ability of RGD-coated porous implant using layer-by-layer electrostatic self-assembly” G. L. Yang, F. M. He, X. F. Yang, X. X. Wang, S. F. Zhao, *J. Biomed. Mater. Res.*, 2009, **90A**, 175
37. “Effective Synthesis of Polymer Catenanes by Cooperative Electrostatic/Hydrogen-Bonding Self-Assembly and Covalent Fixation” K. Ishikawa, T. Yamamoto, M. Asakawa, Y. Tezuka, *Macromolecules*, 2010, **43**, 168
38. “Electrostatic self-assembly of Fe₃O₄ nanoparticles on nanotubes” Y. Liu, W. Jiang, S. Li, F. Li, *Applied Surface Science*, 2009, **255**, 7999
39. “Carbon nanotubes decorated with Pt nanoparticles *via* electrostatic self-assembly: a highly active oxygen reduction electrocatalyst” S. Zhang, Y. Shao, G. Yin, Y. Lin, *J. Mater. Chem.*, 2010, **20**, 2816
40. „Electrostatic Self-Assembly of a Pt-aroundAu Nanocomposite with High Activity towards Formic Acid Oxidation“ S. Zhang, Y. Shao, G. Yin, Y. Lin, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2010, **49**, 2211
41. “Electrostatic layer-by-layer self-assembly of anionic squarylium and

- cationic polyelectrolyte” S. H. Kim, C. H. Ahn, S. Y. Park, C. J. Shin, H. J. Suh, *Dyes and Pigments*, 2006, **69**, 108
42. “Multilayer films prepared by the spontaneous self-assembly of symmetrical and unsymmetrical dialkyl sulfides from solution onto gold substrates: Structure, properties and reactivity of constituent functional groups” E. B. Troughton, C. D. Bain, G. M. Whitesides, R. G. Nuzzo, D. F. L. Allara, M. D. Porter, *Langmuir*, 1988, **4**, 365
43. “Molecular Self-Assembly of TiO₂/Polymer Nanocomposite Films” Y. Liu, A. Wang, R. Claus, *Appl. Phys. Lett.*, 1997, **71**, 2265
44. “Studies of density and surface roughness of ultrathin amorphous carbon films with regards to thickness with X-ray reflectometry and spectroscopic ellipsometry” S. Logothetidis, G. Stergioudis, *Appl. Phys. Lett.*, 1997, **71**, 2463
45. “X-ray Reflectivity Study of Self-Assembled Thin Films of Macrocycles and Macromolecules” M. Lütt, M. R. Fitzsimmons, D. Li, *J. Phys. Chem. B*, 1998, **102**, 400
46. “Ellipsometry and its applications to surface examination” W. El J. Neal, R. W. Fane, *J. Phys. E: Sci. Instrum.*, 1973, **6**, 409
47. “Ellipsometry and X-ray reflectometry characterization of self-assembly process of polystyrenesulfonate and polyallylamine” A. Tronin, Y. Lvov, C. Nicolini, *Colloid Polym. Sci.*, 1994, **272**, 1317

Rozdział 9

Nanorurki węglowe

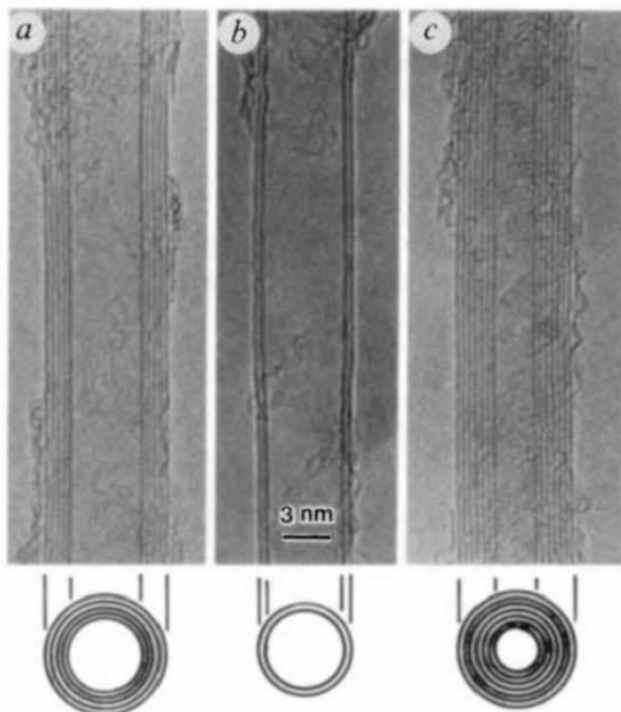
Michał Cegłowski

*Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Wydział Chemii, Grunwaldzka 6,
60-780 Poznań*

Wstęp

Zarządzanie pojedynczymi atomami lub cząstkami na poziomie molekularnym, jest jednym z priorytetowych celów nanotechnologii. Odkrycie w 1985 roku fulerenów, których średnica to około 1 nm, wywołało ogromne zainteresowanie całego świata nauki. Fulereny, stały się kolejną odmianą alotropową węgla znaną człowiekowi. Zbudowane są z parzystej liczby atomów węgla, które tworzą sprzężony układ pierścieni składających się z pięciu lub sześciu atomów węgla. Najpopularniejszy fuleren, czyli cząsteczka o wzorze sumarycznym C_{60} swoim wyglądem przypomina piłkę futbolową. Do pozostałych, znanych od wieków form alotropowych węgla, zalicza się grafit, diament oraz węgiel amorficzny (główny składnik sadzy). Grafit składa się z powiązanych ze sobą siłami Van der Waalsa płaszczyzn grafenowych, czyli płaszczyzn zbudowanych z atomów węgla o hybrydyzacji sp^2 , które tworzą sieć połączonych ze sobą bokami pierścieni sześciocłonowych (wygląd płaszczyzn grafenowych przyrównuje się do wyglądu plastrów miodu w ulach). Diament z kolei składa się z atomów węgla o hybrydyzacji sp^3 , które powiązane są ze sobą wiązaniami kowalencyjnymi i jednakowej długości wynoszącej 154 pm. Oznacza to, że każdy atom węgla w takiej sieci otoczony jest czterema innymi atomami, których środki ciężkości wyznaczają czworościan foremny. Węgiel amorficzny nie posiada żadnej struktury krystalicznej, powstaje najczęściej podczas termicznego rozkładu substancji organicznych.

Zaledwie 6 lat po odkryciu fulerenów, Sumio Iijima opublikował w Nature pracę [1], w której opisał syntezę nanorurek węglowych w warunkach zbliżonych do dotychczasowo stosowanych podczas otrzymywania fulerenów w metodzie elektrołukowej. Uzyskany przez niego materiał węglowy (rysunek 1) określił jako grafitowe igły o średnicy od 4 do 30 nm i długości do 1 μm .



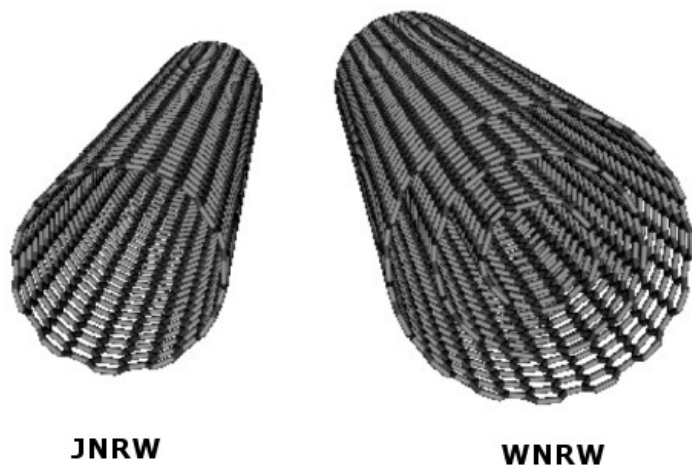
Rysunek 1. Zdjęcia z mikroskopu elektronowego nanorurek węglowych otrzymanych przez Iijimę [1].

Nanorurki węglowe, podobnie jak fulereny, w bardzo krótkim czasie stały się głównym tematem prac badawczych wielu naukowców na całym świecie. Okazało się, że ich właściwości fizyczne, takie jak odporność mechaniczna, czy przewodność elektryczna są lepsze, niż jakichkolwiek innych znanych materiałów. Ponadto możliwość ich funkcjonalizacji chemicznej, dzięki częściowemu utlenieniu powierzchni do grup karboksylowych, a następnie prowadzeniu dalszych reakcji na tychże grupach, pozwala na swobodne przyłączanie ich do innych związków, czy powierzchni.

Budowa i właściwości fizyczne nanorurek węglowych

Nanorurki węglowe składają się ze zwiniętych płaszczyzn grafenowych, co oznacza, iż atomy węgla w nanorurce, nieposiadającej defektów strukturalnych, wykazują hybrydyzację sp^2 . W zależności od zastosowanej metody syntezy, możliwe jest otrzymanie zarówno jednościennych nanorurek węglowych

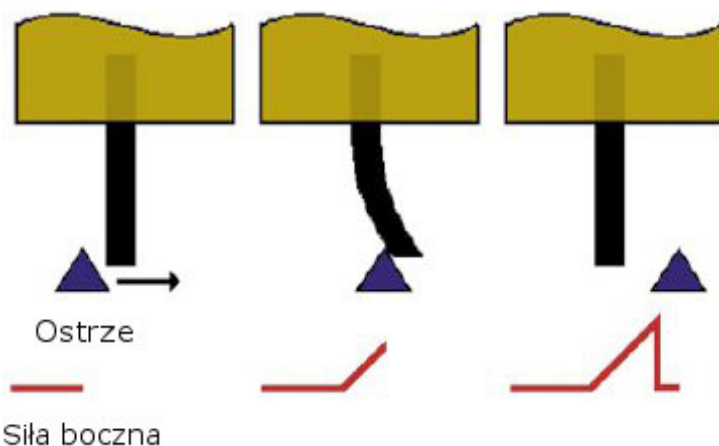
(JNRW, ang. *SWCNT* – *single walled carbon nanotube*) oraz wielościennych nanorurek węglowych (WNRW, ang. *MWCNT* – *multi-walled carbon nanotube*). Zewnętrzna średnica JNRW wynosi od ułamka do kilku nanometrów, natomiast w przypadku WNRW jest dość mocno zależna od ilości warstw, jednak zazwyczaj mieści się w przedziale od kilku do kilkunastu nanometrów. Długość nanorurek węglowych również w bardzo dużej mierze zależy od wybranej metody syntezy, gdyż możliwe jest otrzymanie nanorurek o długości zarówno kilku mikrometrów, jak i kilkunastu centymetrów [2].



Rysunek 2. Schematyczne struktury JNRW oraz WNRW [3].

Nanorurki węglowe wykazują niezwykle dużą odporność mechaniczną, której miarą dla danego materiału jest wytrzymałość na rozciąganie oraz moduł Younga. Xie i współpracownicy [4] przeprowadzali pomiary wymienionych parametrów dla wiązek nanorurek węglowych o długości 2 mm, składających się z około dziesięciu tysięcy pojedynczych WNRW. Wiązki nanorurek po umieszczeniu w specjalnym urządzeniu poddano rozciąganiu wzdłuż ich osi, jednocześnie mierząc wartość przyłożonej siły, wartość wydłużenia wiązki oraz moduł Younga. W celu zbadania jaka część nanorurek w danej wiązce uległa rozerwaniu, wraz ze zwiększaniem przyłożonej siły mierzono przewodność elektryczną, która jest bezpośrednio zależna od ilości nanorurek w wiązce. Obliczono, iż średnia wartość modułu Younga wynosiła ok. 0,45 TPa, natomiast wytrzymałość na rozciąganie wynosiła ok. 3,6 GPa.

Wong i współpracownicy [5] badali moduł Younga dla pojedynczej wielościennej nanorurki węglowej. WNRW o średnicy 32,9 nm przymocowali jednym końcem do kryształu MoS_2 , natomiast drugi koniec poddano pomiarom przy użyciu AFM (ang. *atomic force microscope* – mikroskop sił atomowych). Wyznaczony dzięki tej metodzie moduł Younga dla omówionej pojedynczej nanorurki wynosił 1,26 TPa. W celu uśrednienia tej wartości przeprowadzono eksperymenty dla WNRW o różnych średnicach (od 26 do 76 nm). Obliczony średni moduł Younga dla wielościennej nanorurki węglowej (niezależny od średnicy) wyniósł $1,28 \pm 0,59$ TPa.

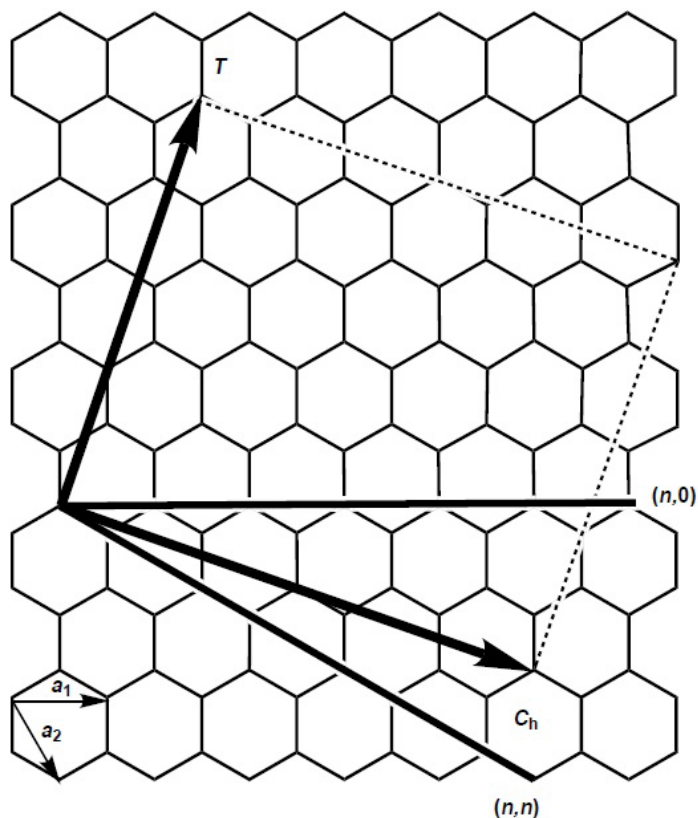


Rysunek 3. Schemat badania nanorurki węglowej przy użyciu AFM [5]. Końcówka mikroskopu porusza się zgodnie z kierunkiem strzałki. Czerwona linia obrazuje mierzoną siłę, przed kontaktem z nanorurką (wartość 0), w trakcie jej odkształcania oraz po odminięciu nanorurki.

Mimo znacznej różnicy wyznaczonego modułu Younga w opisanych pracach, należy mieć na uwadze, iż wyznaczone wartości są o wiele większe niż dla stali, dla której wartość ta wynosi zazwyczaj ok. 210 GPa. Oznacza to, iż zastosowanie nanorurek jako składnika np. materiałów kompozytowych w znacznym stopniu podwyższy ich wytrzymałość mechaniczną, natomiast nie wpłynie w znaczący sposób na wzrost masy, gdyż gęstość nanorurek to zaledwie $1,33 - 1,40 \text{ g/cm}^3$ [6], podczas gdy gęstość stali to $7,86 \text{ g/cm}^3$.

Właściwości elektronowe nanorurek węglowych w bardzo dużym stopniu zależą od ich struktury. W uproszczeniu, strukturę JNRW można uzyskać poprzez zwijanie płaszczyzny grafenowej wzdłuż odpowiedniego wektora.

Obliczenie właściwości elektronowych dla otrzymanej w ten sposób struktury można wykonać przy założeniu obecności orbitalu $p(\pi)$ na każdym atomie węgla. Okazuje się jednak, iż wektor zwijania może być różny, co oznacza, że struktura i właściwości elektronowe uzyskanych w ten sposób nanorurek nie będą identyczne.

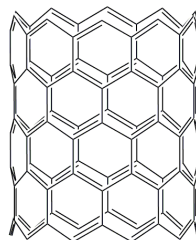
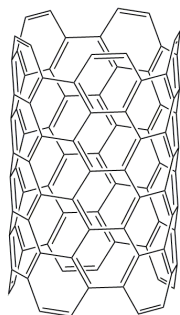


Rysunek 4. Schemat płaszczyzny grafenowej zawierający wektory sieci krystalicznej a_1 i a_2 oraz wektor zwijania c_h . Przypadki graniczne nanorurek „zygzakowatych” $(n, 0)$ oraz „fotelowych” (n, n) przedstawiono liniami przerywanymi. Oś nanorurek oznaczono wektorem T [44].

Na rysunku 4 przedstawiono schemat płaszczyzny grafenowej wraz z wektorem c_h , który opisany jest wzorem:

$$c_h = a_1 + m_2 = (n, m)$$

gdzie: a_1 i a_2 to wektory sieci krystalicznej grafitu, natomiast n i m to liczby całkowite. Charakter metaliczny lub półprzewodnikowy przewodnictwa nanorurek zależy tylko od parametrów (n, m) [8-12]. Obliczenia pasm elektronowych wskazują, że JNRW „zygzakowate” $(n, 0)$ powinny wykazywać dwójaki charakter w zależności od n : jeżeli $n/3$ jest liczbą całkowitą powinny wykazywać charakter metaliczny, w przeciwnym wypadku będą zachowywać się jak półprzewodniki. Gdy wektor c_h obraca się z $(n, 0)$ w kierunku (n, m) warunek charakteru metalicznego spełniony jest, gdy wartość $(2n + m)/3$ jest liczbą całkowitą, w przeciwnym wypadku JNRW mają charakter półprzewodnikowy. W przypadku, gdy wektor c_h obróci się o kąt 30° w stosunku do $(n, 0)$, powstałe w ten sposób nanorurki „fotelowe” (n, n) powinny wykazywać charakter metaliczny przewodnictwa [7].



Nanorurki "fotelowe" (5,5)

Nanorurki "zygzakowate" (10,0)

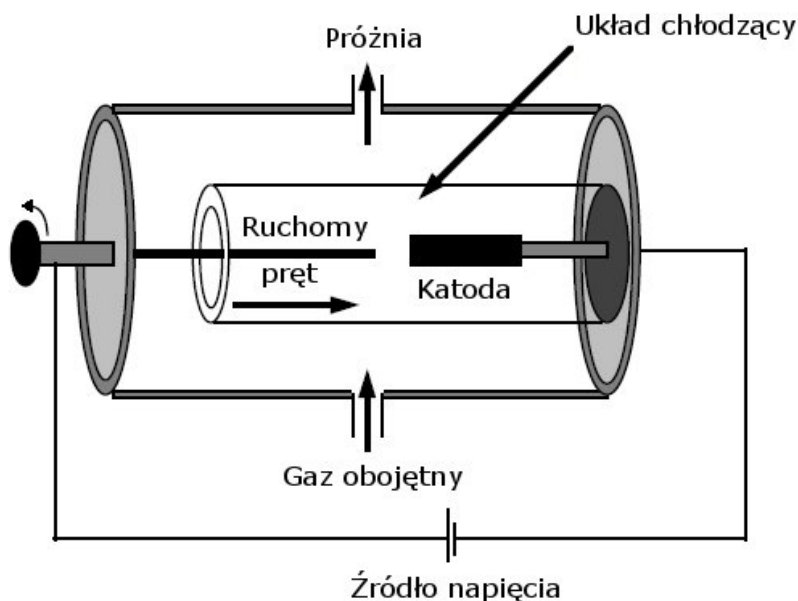
Rysunek 5. Modele jednościennych nanorurek węglowych.

Otrzymywanie nanorurek węglowych

Metoda elektrołukowa, laserowa oraz pirolizy katalitycznej są to trzy najpopularniejsze sposoby służące do otrzymywania nanorurek węglowych [13]. Dwie pierwsze wykorzystują substraty węglowe w formie stałej, które następnie ulegają odparowaniu i rozkładowi w wysokich temperaturach. Metody te, mimo powstawania wielu produktów ubocznych, są wykorzystywane w celu uzyskania nanorurek węglowych wysokiej jakości. Metoda pirolizy katalitycznej najczęściej wykorzystuje gazowe węglowodory (lub inne organiczne związki)

jako źródła atomów węgla oraz wymaga wprowadzenia do układu reakcyjnego katalizatorów metalicznych.

W metodzie elektrołukowej wykorzystuje się reaktor składający się z elektrod grafitowych, do których podłączone jest źródło energii elektrycznej o natężeniu 60 – 100 A, natomiast różnice napięcia między elektrodami utrzymuje się na poziomie ok. 25 V. Anoda w opisywanym układzie jest źródłem materiału węglowego, co oznacza, iż podczas procesu wytwarzania nanorurek ulega skróceniu, natomiast katoda powiększa dzięki osiadaniu na niej depozytu katodowego. Wymagana jest więc ciągła regulacja odległości obydwu elektrod od siebie, co osiąga się najczęściej dzięki regulacji położenia anody. W reaktorze jest ponadto stale utrzymywana atmosfera gazu obojętnego (najczęściej helu) i ciśnienie ok. 500 Tr [14].

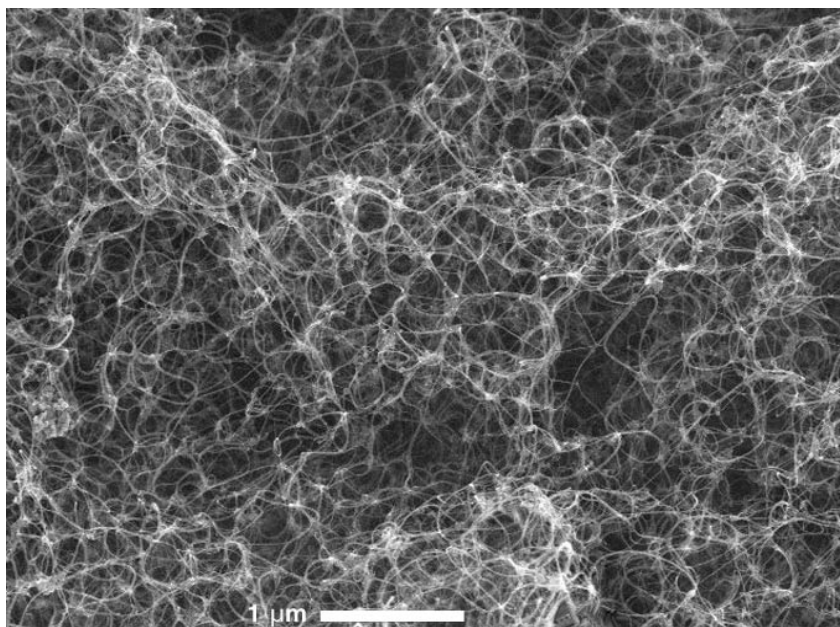


Rysunek 6. Schemat aparatury wykorzystywanej w metodzie elektrołukowej [16].

Journet i współpracownicy [15] donieśli o opracowaniu szybkiego i wydajnego sposobu otrzymywania dużych ilości JNRW w metodzie elektrołukowej. Katodą był pręt grafitowy o średnicy 16 mm i długości 40 mm, natomiast anodę stanowił wypełniony pyłem grafitowym zmieszany

z katalizatorem metalicznym pręt grafitowy o średnicy 6 mm i długości 100 mm. Reaktor pracował w atmosferze helu o ciśnieniu 600 mbar, natomiast natężenie prądu utrzymywane było na poziomie 100 A, a skok napięcia między elektrodami wynosił 30 V. Synteza JNRW trwała zaledwie 2 minuty, w czasie której uzyskano ok. 2 gramy depozytu katodowego. W trakcie prób z różnymi katalizatorami, okazało się, że najlepsze rezultaty daje mieszanka niklu i itru, która umożliwiła uzyskanie nanorurek z wydajnością 70-90%.

Drugą niezwykle użyteczną metodą otrzymywanie nanorurek jest metoda laserowa. Polega ona na odparowywaniu atomów węgla z powierzchni grafitu przy użyciu promieni lasera podczas intensywnego przepływu gazu obojętnego (helu lub argonu) [17, 18]. Próbkę grafitu, jest umieszczana w kwarcowej rurze wewnątrz pieca, który ogrzewa ją do temperatury ok. 1200°C. Następnie przez rurę przepuszcza się strumień gazu obojętnego i rozpoczyna oświetlanie próbki promieniem lasera, którego promień przemiata powierzchnię grafitu. Uzyskane w ten sposób produkty sublimacji zostają porwane przez przepływający gaz, aby ulec kondensacji na chłodzonym wodą, miedzianym kondensersze.



Rysunek 7. Zdjęcie wykonane techniką SEM przedstawiające depozyt katodowy otrzymany przez Journeta i jego współpracowników [15].

Podczas pierwszych eksperymentów z wykorzystaniem metody laserowej, w których źródłem węgla był czysty grafit, jako jedyny produkt uzyskiwano WNRW [17]. Zbudowane były maksymalnie z 24 płaszczyzn grafitowych, a ich długość sięgała 300 nm. W metodzie tej wydajność i jakość uzyskanych nanorurek zależała głównie od temperatury pieca. W 1200°C uzyskiwano nanorurki bez defektów, przy 900°C liczba defektów rosła, natomiast poniżej temperatury 200°C nanorurki nie tworzyły się [16].

W przypadku wprowadzenia do materiału węglowego niewielkich ilości metali przejściowych, obserwuje się tworzenie JNRW. Niestety, w trakcie procesu powierzchnia przemiatanego promieniami lasera materiału, wskutek sublimacji węgla, staje się coraz bogatsza w atomy metalu, co powoduje spadek wydajności tworzenia nanorurek. Yudasaka i współpracownicy [19] zaproponowali interesujący sposób na rozwiązanie tego problemu. Umieścili obok siebie dwie próbki, jedną ze sproszkowanego grafitu, a drugą ze stopu metali przejściowych. Następnie obie powierzchnie jednocześnie przemiatali promieniami lasera. Uzyskane w omawianym procesie JNRW tworzą wiązki o długości kilkuset μm , w których skład wchodzi 100 do 500 pojedynczych nanorurek. Wydajność procesu w dużej mierze zależy od użytego katalizatora, z reguły największą wydajność uzyskuje się dla niklu, kobaltu, bądź ich stopu [18].

Synteza nanorurek węglowych dzięki zastosowaniu metody pirolizy katalitycznej (metody CVD ang. *chemical vapor deposition*) polega na ogrzewaniu katalizatora w reaktorze, a następnie przepuszczaniu gazowych węglowodorów nad jego powierzchnią. Katalizatorem najczęściej są atomy metali przejściowych naniesione na materiał o dużej powierzchni właściwej [13]. Inną odmianą tej metody jest wprowadzanie do ogrzewanego reaktora zarówno gazowych węglowodorów oraz katalizatora. Przykładem takiej syntezy jest uzyskiwanie nanorurek w wyniku pirolizy mieszaniny ksyleny i ferrocenu $\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_5)_2$.

Modyfikację tej metody zaprezentowali Unrau i Axelbaum [20]. Do płomienia palnika o temperaturze ok. 1300 K wprowadzali wraz z paliwem ferrocen i ortokrzemian tetraetylu w różnych stosunkach molowych żelaza do krzemu otrzymując w wyniku pirolizy JNRW. Porównując wyniki z wcześniejszymi badaniami, stwierdzili, iż zawartość krzemu ma kluczowy wpływ na wydajność powstających w procesie nanorurek. Najlepszą, gdyż aż 90% wydajność, została uzyskana dla katalizatora o proporcjach 2:1 odpowiednio żelaza do krzemu. Zarówno zmniejszanie, jak i zwiększanie stosunku żelaza do krzemu powodowało natychmiastowy spadek wydajności (przy stosunku 9:1 żelaza do krzemu wynosiła ona zaledwie 25%). Ponadto ustalono niewielki wpływ

zawartości krzemu na długość powstających nanorurek. (uzyskiwano nanorurki o długości ok. 2 μm).

Zhao i współpracownicy [21] przedstawili metodę syntezy WNRW z zastosowaniem pirolizy etanolu. Reakcję przeprowadzali w piecu rurowym, na katalizatorze umieszczonym w ceramicznej łódeczce w temperaturze 800°C. Katalizatorem było żelazo wprowadzone na mezoporowate sita molekularne otrzymane z krzemianu sodu. Następnie do układu reakcyjnego w ciągu 30 minut wprowadzono azot wymieszany z parami etanolu. Po oczyszczeniu materiału węglowego, okazało się, iż otrzymano WNRW, których średnica zewnętrzna wynosiła 16,9 nm. Poza otrzymywaniem czystych nanorurek węglowych, możliwe jest uzyskanie nanorurek zawierających w swojej strukturze poza węglem, także inne pierwiastki. Atomy te (najczęściej boru lub azotu) zajmują w strukturze nanorurek miejsce węgla, co znacząco wpływa na właściwości elektronowe takiego materiału. Kaleńczuk wraz z Borowiak-Palen i współpracownikami [22] zaprezentowali metodę otrzymywania JNRW zawierających średnio 15% boru w swojej strukturze. Uzyskane wcześniej JNRW o średnicy 1,25 nm zmieszali w stosunku 5:1 z tlenkiem boru, a następnie uzyskaną mieszaninę umieścili w piecu oporowym. Reakcje przeprowadzono przez 4 godziny w atmosferze amoniaku przy ciśnieniu zredukowanym do 10^{-5} mbar i temperaturze 1150°C. W uzyskanym materiale potwierdzono obecność atomów boru o hybrydyzacji sp^2 .

Oczyszczanie nanorurek węglowych

Nanorurki węglowe uzyskane przy pomocy opisanych metod, poza wysoką zawartością czystych nanorurek, składają się również z zanieczyszczeń, w których skład wchodzi inne materiały węglowe oraz resztki katalizatora. Niepożądanym materiałem węglowym najczęściej są fulereny, grafit, węgiel amorficzny oraz nanocząstki węgla [23]. Usunięcie fulerenów nie stanowi większego problemu, gdyż można wykorzystać ich umiarkowaną rozpuszczalność w niektórych rozpuszczalnikach organicznych. Węgiel amorficzny ulega z kolei o wiele łatwiej utlenieniu niż nanorurki, dlatego usuwa się go poprzez utlenianie próbki we względnie łagodnych warunkach. Największym wyzwaniem jest usunięcie grafitu, który w swoich właściwościach fizykochemicznych jest bardzo zbliżony do nanorurek, a w szczególności do JNRW. Ponadto resztki katalizatora, którymi są najczęściej atomy metali przejściowych, w trakcie trwania procesu często zostają zamknięte wewnątrz cząstek węgla amorficznego, grafitu lub znajdują się na końcach nanorurek. Zamknięcie wewnątrz struktur węglowych powoduje, iż atomu metalu stają się odporne na działanie kwasów, co dodatkowo utrudnia pełne oczyszczenie nanorurek.

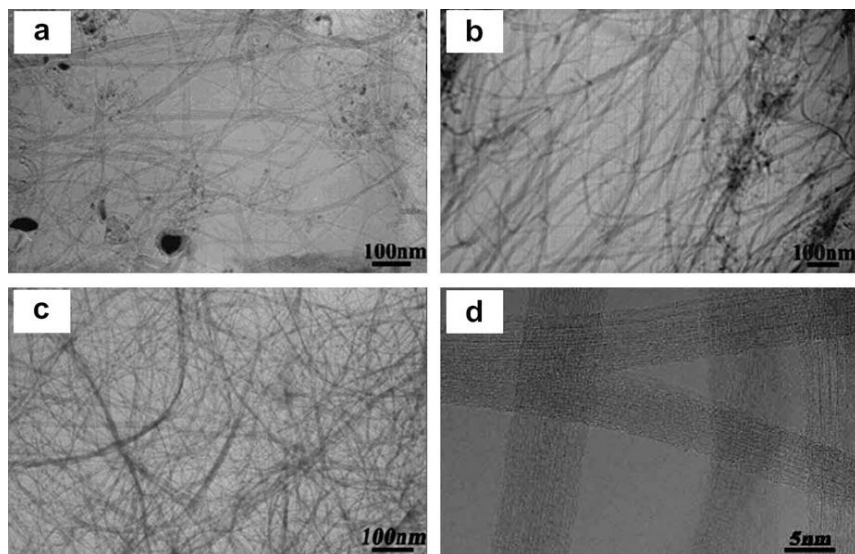
Utlenianie surowych nanorurek w celu usunięcia węgla amorficznego można przeprowadzić na trzy sposoby: utlenianie za pomocą gazów, cieczy oraz utlenianie elektrochemiczne.

Pierwsza z metod polega na ogrzewaniu próbki w przedziale temperatur od 225°C do 760°C w atmosferze utleniacza, którym najczęściej jest powietrze [24-30], mieszanina chloru, wody i chlorowodoru [31], mieszanina argonu, tlenu i wody [32-34], mieszanina tlenu, heksafluorku siarki i tetrafluoroetanu [35] lub tlenu i siarkowodoru [36]. Zastosowanie któregoś z wymienionych utleniaczy jest niezwykle efektywne podczas oczyszczania WNRW, jednakże jest mało efektywne przy oczyszczaniu JNRW, gdyż powoduje ich nadmierny rozpad. Takie zachowanie JNRW wywołane jest dwoma czynnikami zwiększającymi jej podatność na utlenianie: większym „poskręcaniem” struktury JNRW oraz obecnością atomów metali na jej powierzchni. WNRW są bardziej odporne na obecność atomów metali, gdyż w przypadku utlenienia ściany zewnętrznej struktura całej nanorurki nie ulega zniszczeniu, tak jak ma to miejsce w przypadku JNRW. Rozwiązanie tego problemu zaproponował Chiang i współpracownicy [32, 33], pierwszy etap oczyszczania JNRW polegał na ogrzewaniu ich w temp 225°C w atmosferze mokrego powietrza w celu usunięcia węglowych otoczek wokół atomów metalu. Uzyskany materiał poddano działaniu stężonego kwasu solnego w celu rozтворzenia metalu, a następnie powtórzono całą procedurę z zastosowaniem temperatury 325°C. Uzyskano w ten sposób nanorurki o czystości 99,9% (względem zawartości metalu) z wydajnością 30%. Minusem utlenianie za pomocą gazów jest niewielka ilość materiału węglowego, jaką można poddać jednorazowo oczyszczaniu, gdyż wymagany jest jak najlepszy kontakt próbki w całej objętości z przepływającym gazem.

Utlenianie w roztworze (najczęściej wodnym), ma tą przewagę nad metodą z wykorzystaniem gazów, iż w jednym etapie następuje usunięcie węgla amorficznego oraz atomów metalu. Właściwy dobór utleniacza i warunków może więc zaowocować otrzymaniem nanorurek o wysokiej czystości. Najczęściej stosowanymi utleniaczami są: kwas azotowy [37], nadtlenu wodoru lub nadtlenek wodoru zmieszany z HCl [38], mieszanina kwasu siarkowego, kwasu azotowego, manganianu(VII) potasu i wodorotlenku sodu [39-42]. Ze względu na swoją cenę i dostępność, dość często wybieranym odczynnikiem jest kwas azotowy. Jego efektywność w bardzo dużym stopniu zależy od zastosowanego stężenia i czasu ogrzewania próbki. Kwas azotowy poza rozpuszczaniem metali i utlenianiem węgla amorficznego powoduje zniszczenie nanorurek, przez rozcinanie lub otwieranie ich struktury. Kolejnym często stosowanym utleniaczem z racji dostępności jest roztwór nadtlenu wodoru, który najczęściej stosuje się w połączeniu z kwasem solnym, którego zadaniem jest rozpuszczanie

metali. Zastosowanie takiej mieszaniny gwarantuje łagodne warunki, w których metale wraz z otoczką węglową zostają usunięte, natomiast same nanorurki praktycznie nie ulegają destrukcji. Dla nanorurek otrzymanych metodami, w których tworzy się duża ilość węgla amorficznego konieczne staje się jednak użycie silniejszych środków utleniających, do których zalicza się mieszaniny kwasów oraz manganian(VII) potasu wymieszany najczęściej z kwasami. Li i współpracownicy [41] badali skuteczność oczyszczania, nanorurek przy użyciu mieszaniny stężonego H_2SO_4 i HNO_3 (3:1) w porównaniu z zastosowaniem 6 M HNO_3 . Zdjęcia TEM uzyskanych przez nich materiałów przedstawiono na rysunku 8. Można na ich podstawie stwierdzić, iż mieszanina wymienionych kwasów jest bardziej efektywna, niż sam roztwór HNO_3 . Doniesiono także, że w najlepszym przypadku uzyskano JNRW o czystości 98% z wydajnością 40% podczas ogrzewania przez 3 godziny w mieszaninie H_2SO_4 i HNO_3 (3:1). Zhang i współpracownicy [42] badali zastosowanie roztworu manganianu(VII) potasu w roztworach alkalicznych podczas oczyszczania JNRW. Roztwór taki jest ma mniejsze właściwości utleniające niż roztwór KMnO_4 w kwasach, co powoduje, że jest on za słaby, aby zniszczyć strukturę nanorurki, natomiast jest odpowiedni do ich oczyszczenia. Minusem tej metody jest konieczność zastosowania kolejnych procedur w celu usunięcia tworzącego się w reakcji dwutlenku manganu. Utlenianie w roztworze jest efektywną metodą usuwania zanieczyszczeń z nanorurek, możliwą do zastosowania dla większych ilości materiału. Jednakże podczas całego procesu istnieje duże prawdopodobieństwo, iż ściany nanorurek ulegną utlenieniu, tworząc na powierzchni grupy karboksylowe. Ponadto w przypadku oczyszczania JNRW tą metodą, często obserwuje się zanik dużej ilości nanorurek o małej średnicy.

Podobnie jak w pozostałych metodach utleniania, w utlenianiu elektrochemicznym nanorurki węglowe, jako materiały o niewielkiej liczbie defektów na powierzchni, wykazują mniejszą reaktywność niż inne zanieczyszczenia węglowe. Fang i współpracownicy [43] badali zastosowanie cyklicznej woltamperometrii (CV) w oczyszczaniu JNRW znajdujących się w roztworze wodorotlenku potasu. Węgiel amorficzny zawarty w próbce został skutecznie usunięty w wyniku utleniania elektrochemicznego, co potwierdziły zdjęcia TEM oraz widma XPD (ang. *X-ray photoelectron spectroscopy* - spektroskopia fotoelektronów rentgenowskich). Kolejnym etapem oczyszczania nanorurek było przemywanie ich kwasem solnym, gdyż atomy metalu pochodzące z katalizatora stały się dostępne w wyniku utlenienia ich otoczek węglowych. Minusem utleniania elektrochemicznego jest niewielka ilość materiału węglowego, którą można oczyścić podczas pojedynczego cyklu, co czyni tę metodę niepraktyczną.



Rysunek 8. Zdjęcia TEM oczyszczonych JNRW: (a) sonifikowane przez 4 godziny w 6 M HNO_3 (b) ogrzewane przez 4 godziny w 6 M HNO_3 (c) ogrzewane w mieszaninie H_2SO_4 / HNO_3 (3:1) przez 2 godziny (d) ogrzewane w mieszaninie H_2SO_4 / HNO_3 (3:1) przez 4 godziny [41].

W metodach chemicznego oczyszczania nanorurek, których głównym celem jest utlenienie zanieczyszczeń znajdujących się w surowych nanorurkach, często dochodzi do utlenienia powierzchni nanorurek, co w znacznym stopniu wpływa na ich strukturę. Mając na uwadze fakt, iż właściwości fizyczne nanorurek, są inne niż właściwości zanieczyszczeń występujących w surowym materiale, możliwe wydaje się wykorzystanie tych różnic w celu efektywnego oczyszczenia nanorurek. Najczęściej wybieranymi metodami rozdziału są: filtracja, wysokotemperaturowe ogrzewanie oraz wykorzystanie różnic w rozpuszczalności. Wymienione metody nie wpływają na strukturę nanorurek, co powoduje, iż mają przewagę nad powszechnie wykorzystywanymi sposobami chemicznego oczyszczania.

Rozdział z wykorzystaniem filtracji opiera się na różnicach w rozmiarze oraz rozpuszczalności JNRW, cząsteczek metali, węgla amorficznego oraz fulerenów. Fulereny i inne zanieczyszczenia rozpuszczalne są niektórych rozpuszczalnikach organicznych, takich jak disiarczek węgla, czy toluen. Zanieczyszczenia te można usunąć z nanorurek przez zawieszenie surowego materiału w wymienionych rozpuszczalnikach, a następnie przeprowadzenie

procesu filtracji. Nanorurki, jako materiał stosunkowo duży i nierozpuszczalny, pozostaną na membranie filtracyjnej, podczas gdy substancje rozpuszczalne i mniejsze od rozmiarów porów membrany zostaną oddzielone. Niestety podczas opisywanej procedury często zdarza się, iż nanorurki oraz materiał osiadający na membranie blokują ją, w znacznym stopniu spowalniając filtrację, co czynią ją mało efektywną. Zapobiec temu procesowi można w dwojaki sposób, stosując surfaktanty, które zwiększają trwałość zawiesiny nanorurek w rozpuszczalniku lub poddając układ sonifikacji. Korzystając z tej metody niestety nie można usunąć węgla amorficznego, który podczas procesu produkcji przywarł do ścianek nanorurki.

Zwiększenie rozpuszczalności nanorurek w rozpuszczalnikach organicznych można uzyskać poprzez niekowalencyjne przyłączenie do ich powierzchni różnych grup funkcyjnych. Uzyskany w ten sposób roztwór nanorurek umożliwia zastosowanie innych metod oczyszczania, takich jak filtracja, czy chromatografia. Oddzielenie nanorurek od wprowadzonych grup przeprowadza się następnie najczęściej na drodze ogrzewania. Yudasaka i współpracownicy [44] wymieszali otrzymane nanorurki z 2% roztworem polimetakrylanu metylu (PMMA) w chlorobenzenie. Mieszanina została następnie poddana działaniu ultradźwięków i filtracji. Rozpuszczalnik następnie odparowano, a PMMA usunięto w 350°C w atmosferze tlenu pod ciśnieniem 200 Tr. Minusem tej metody jest mała efektywność oczyszczania próbek zawierających dużo zanieczyszczeń lub silnie powiązane ze sobą wiązki JNRW.

Wysokotemperaturowe ogrzewanie jest jedną z najlepszych metod, która umożliwia praktycznie całkowite usunięcie atomów katalizatora z surowego materiału węglowego. Podstawą zastosowania tej metody, jest wykorzystanie różnic fizycznych między nanorurkami węglowymi, a atomami metali w wysokiej temperaturze (ponad 1400°C) w atmosferze gazu obojętnego lub próżni. Nanorurki węglowe, w opisywanych warunkach są stabilne i nie ulegają sublimacji, natomiast atomy metali przechodzą do fazy gazowej. Różne prace [46-48] donoszą, iż metoda ta jest niezwykle użyteczna podczas usuwania pozostałości katalizatora z WNRW. Autorzy podają, iż po wygrzewaniu materiału węglowego w próżni w temperaturze ponad 1800°C uzyskano nanorurki o czystości 99,9% względem zawartości metali. W wyniku dalszych badań okazało się, iż ogrzewanie nanorurek w temperaturze ponad 1400°C może przyczynić się do zmniejszenia ilości defektów krystalicznych [49], czy zwiększenia średnicy nanorurek [50]. Minusem tej metody jest fakt, iż zanieczyszczenia węglowe często ulegają w wyniku jej zastosowania grafityzacji i stają się w ten sposób jeszcze trudniejsze do usunięcia. Z tego właśnie powodu, wysokotemperaturowe ogrzewanie stosuje się najczęściej jako ostatnią metodę oczyszczania nanorurek,

która poprzedzona jest technikami umożliwiającymi efektywne usunięcie zanieczyszczeń węglowych.

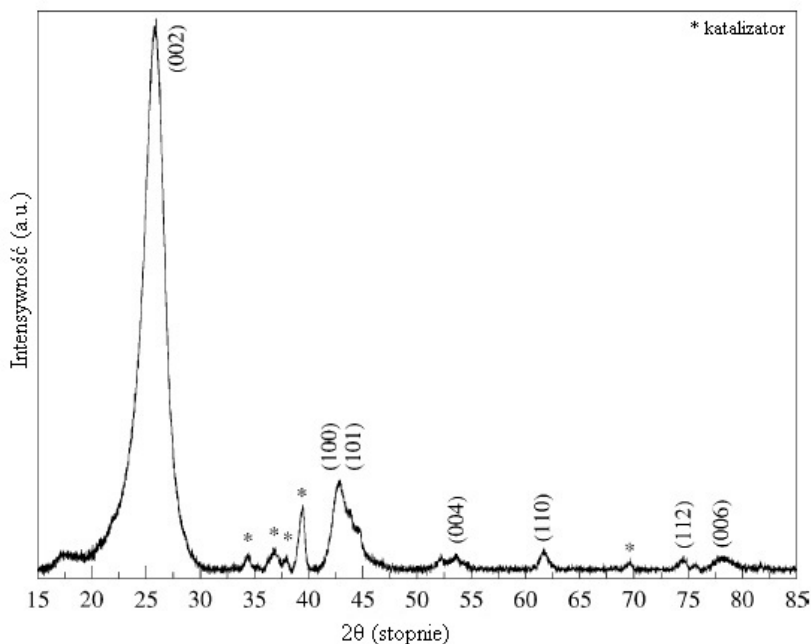
Metody badawcze nanorurek węglowych

W celu poprawnego scharakteryzowania struktury oraz czystości nanorurek węglowych, konieczne jest zastosowanie odpowiednich technik analitycznych. Oprócz wykonywania wspomnianych już zdjęć techniką TEM (ang. *transmission electron microscopy* - elektronowy mikroskop transmisyjny), najczęściej stosuje się również metodę XRD (ang. *X-ray diffraction* - dyfrakcji promieni rentgenowskich) oraz spektroskopię Ramana.

Metoda XRD umożliwia uzyskanie informacji na temat odległości międzypłaszczyznowych, odkształceniach strukturalnych oraz obecności zanieczyszczeń w nanorurkach. Co więcej, w przypadku WNRW umożliwia statystyczną ocenę ilości warstw z jakich składa się taka pojedyncza nanorurka. W związku z podobieństwem strukturalnym do grafitu, widma XRD nanorurek są bardzo podobne do widm właśnie tej odmiany alotropowej węgla. Na dyfraktogramie nanorurek wyróżnia się dwa główne refleksy:

- grafitopodobny refleks ($002l$), z którego można obliczyć (korzystając z prawa Bragga) odległości międzywarstwowe,
- grupę refleksów ($hk0$), które pochodzą od skrzyżowanych płaszczyzn grafenowych.

Na podstawie badania położenia refleksów ($002l$) stwierdzono, iż odległości między warstwami grafenowymi w nanorurkach są większe niż dla tradycyjnego grafitu, natomiast są mocno zbliżone do wartości obecnych w graficie turbostratycznym [51, 52] (czyli takim, w którym obserwuje się brak uporządkowania między poszczególnymi warstwami). Ponadto, omawiany refleks ($002l$) jest poszerzony w kierunku niższych wartości kąta 2θ w porównaniu z refleksem obserwowanym dla grafitu. Owa asymetria wywołana jest obecnością dwóch, trudnych do rozdzielenia struktur: fragmentów czystego grafitu o niezdeformowanych płaszczyznach grafenowych oraz właściwych nanorurek, w których płaszczyzny grafenowe są zwinięte. Intensywność i szerokość refleksu ($002l$) zależna jest od ilości oraz odległości warstw z jakich składa się nanorurka oraz od położenia nanorurki względem padającego promienia [53]. Refleks ($hk0$) zawiera w sobie informacje o asymetrii wynikającej z krzywizny nanorurki [52].



Rysunek 9. Dyfraktogram XRD wykonany dla WNRW otrzymanych metodą pirolizy katalitycznej. Obecność katalizatora (Co i Mo) oznaczono gwiazdką [54].

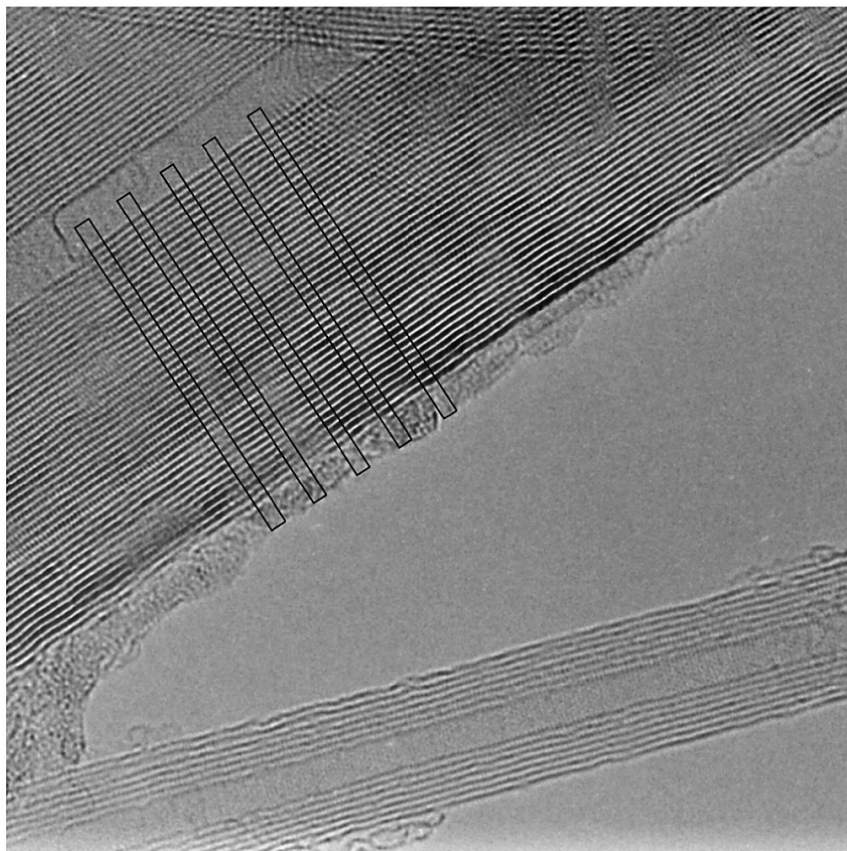
Zdjęcia wykonywane techniką TEM poza wizualizacją materiału, mogą także dostarczyć innych, istotnych informacji. Kiang i współpracownicy [55] prowadzili badania WNRW przy zastosowaniu wysokorozdzielczej transmisyjnej mikroskopii elektronowej - HRTEM (ang. *high resolution transmission electron microscopy*). Ich celem było wyznaczenie zależności między średnicą nanorurki, a odległościami poza poszczególnymi warstwami grafenowymi składającymi się na nanorurkę. W celu uśrednienia wyników przeprowadzili pięć pomiarów, co umożliwiło zredukowanie błędu do 3%. Okazało się, iż odstęp między

warstwami (oznaczony jako \hat{d}_{002}) zawierał się w przedziale 0,34 – 0,39 nm i wzrastał wraz ze zmniejszaniem się średnicy nanorurki. Autorzy opracowali ponadto empiryczny wzór opisujący tę zależność:

$$\hat{d}_{002} = 0,334 + 0,1e^{-D/2} \quad \text{dla } D \geq 0,$$

gdzie D to wewnętrzna średnica nanorurki, a wszystkie stałe wyrażone są w

nm. Zgodnie z proponowanym wzorem autorzy postulują, iż odległości między warstwami dążą asymptotycznie do wartości 0,334 nm.



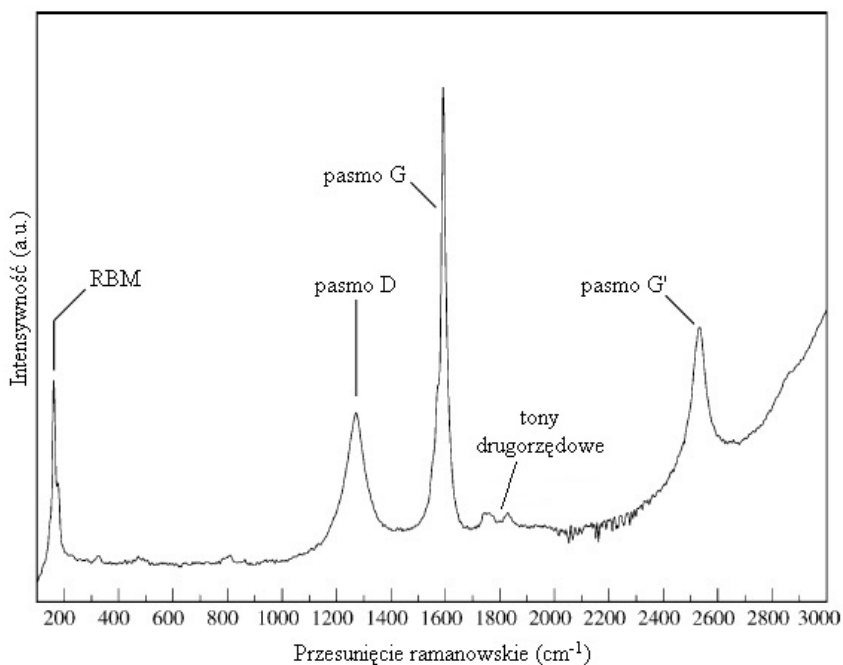
Rysunek 10. Zdjęcia HRTEM wykonane dla WNRW. Odstęp między warstwami mierzony był dla przekroju, który prezentują zaznaczone prostokąty [55].

Spektroskopia Ramana jest jedną z najlepszych technik umożliwiających charakterystykę nanorurek węglowych, gdyż poza bogactwem informacji, jakie dostarcza, pozwala na bardzo szybką analizę, bez konieczności długiego przygotowywania próbki. Na widmach ramanowskich nanorurek węglowych, można wyróżnić kilka charakterystycznych pasm [54]:

- pasmo występujące poniżej 200 cm^{-1} jest charakterystyczne dla JNRW,

gdyż jego częstotliwość zależy od średnicy nanorurki, jest to tzw. pasmo RBM (ang. *radial breathing mode*), czyli drganie normalne „oddychające”,

- pasmo D (1340 cm^{-1}) pochodzące od nieuporządkowanych fragmentów nanorurek (ang. *D – disorder*),
- pasmo G (między 1500 , a 1600 cm^{-1}),
- pasmo G' (między 2450 , a 2650 cm^{-1}) opisywane jako pierwszy nadton pasma D,
- tony kombinacyjne pasma D i G (między 2775 , a 2950 cm^{-1}).



Rysunek 11. Widmo ramanowskie prezentujące najbardziej charakterystyczne pasma obserwowane dla nanorurek węglowych [54].

Pasmo RBM, jak już zostało wspomniane, jest bezpośrednio powiązane ze średnicą nanorurek (w szczególności JNRW [56]), a zależność tą opisuje równanie:

$$\omega_{RBM} = \frac{A}{d} + B,$$

gdzie A i B to wartości wyznaczone eksperymentalnie, zależne od badanego materiału. Dla przykładu Milnera i współpracownicy [57] badając wiązki JNRW wyznaczyli, iż wartości A i B wynosiły odpowiednio 234 nm cm⁻¹ oraz 10 cm⁻¹. Metaliczne od półprzewodnikowych JNRW można odróżnić na podstawie analizy pasma G. Pasma to składa się z sześciu linii, jednak tylko dwie spośród, ω_G^- i ω_G^+ o odpowiednio niższej i wyższej częstotliwości, są użyteczne przy analizie [58]. Dla nanorurek półprzewodzących linie te są wąskie i pasują do profilu linii Lorentza, natomiast w widmie nanorurek metalicznych linia ω_G^- ulega poszerzeniu i staje się asymetryczna.

Podsumowanie

Nanorurki węglowe, ze względu na swoje unikalne właściwości fizyczne, cieszą się obecnie zainteresowaniem wielu grup badawczych z całego świata. Dzięki opracowaniu metod umożliwiających produkcję dużych ilości nanorurek w stosunkowo krótkim czasie, znalazły już pierwsze zastosowania komercyjne w produktach z tzw. „wyższej półki”. Jednym z przykładów jest umieszczenie ich w materiałach kompozytowych służących do produkcji rakiet tenisowych przez francuską firmę Babolat. Okazuje się jednak, iż pomysł zastosowania nanorurek przy produkcji przedmiotów codziennego użytku jest wciąż daleki od realizacji, gdyż wymagane jest wpięrcw dopracowania ich metody syntezy. Wciąż nie jesteśmy w stanie otrzymywać nanorurek o pożądanej charakterystyce z wysoką wydajnością. Konieczność stosowania dodatkowych procedur oczyszczania podnosi cenę materiału, co stawia pod znakiem zapytania jego możliwości aplikacyjne.

Literatura:

1. Iijima, S.; Helical microtubules of graphitic carbon, *Nature* **354**, 56-58 (1991)
2. Wen, Q.; Zhang, R.; Qian, W.; Wang Y.; Tan, P.; Nie, J.; Wei, F.; Growing 20 cm Long DWNTs/TWNTs at a Rapid Growth Rate of 80-90 μm/s, *Chem. Matter.* **22**, 1294-1296 (2010)
3. http://www-ibmc.u-strasbg.fr/ict/vectorisation/nanotubes_eng.shtml [dostęp: 5.03.2010 r.]
4. Xie, S.; Li, W.; Pan, Z.; Chang, B.; Sun, L.; Mechanical and physical properties on carbon nanotube, *Journal of Physics and Chemistry of*

- Solids* **61**, 1153-1158 (2000)
5. Wong, E. W.; Sheehan, P. E.; Lieber C. M.; Nanobeam Mechanics: Elasticity, Strength, and Toughness of Nanorods and Nanotubes, *Science* **277**, 1971 (1997)
 6. A. Huczko, Nanorurki węglowe, s. 296, BEL Studio, Warszawa, 2004, ISBN: 83-88442-86-4
 7. Hu, J.; Odom, T. W.; Lieber, C. M.; Chemistry and Physics in One Dimension: Synthesis and Properties of Nanowires and Nanotubes, *Acc. Chem. Res.* **32**, 435-445 (1999)
 8. Mintmire, J. W.; Dunlap, B. I.; White, C. T.; Are Fullerene Tubules Metallic? *Phys. Rev. Lett.* **68**, 631 (1992)
 9. Hamada, N.; Sawada, S.; Oshiyama, A.; New One-Dimensional Conductors: Graphitic Microtubules, *Phys. Rev. Lett.* **68**, 1579 (1992)
 10. Saito, R.; Fujita, M.; Dresselhaus, G.; Dresselhaus, M. S.; Electronic Structure of Chiral Graphene Tubules, *Appl. Phys. Lett.* **60**, 2204 (1992)
 11. Saito, R.; Fujita, M.; Dresselhaus, G.; Dresselhaus, M. S.; Electronic Structure of Graphene Tubules Based on C60, *Phys. Rev. B* **46**, 1804 (1992)
 12. White, C. T.; Robertson, D. H.; Mintmire, J. W.; Helical and Rotational Symmetries of Nanoscale Graphitic Tubules, *Phys. Rev. B* **47**, 5485 (1993)
 13. Dai, H.; Nanotube Growth and Characterization, *Carbon Nanotubes*; Springer, Berlin, 2001; pp 29-53
 14. Rao, C. N. R.; Satishkumar, B. C.; Govindaraj, A.; Nath, M.; Nanotubes, *ChemPhysChem* **2**, 78-105 (2001)
 15. Journet, C.; Maser, W. K.; Bernier, P.; Loiseau, A.; Lamy de la Chapelle, M.; Lefrant, S.; Deniard, P.; Lee, R.; Fischer, J. E.; Large-scale production of single-walled carbon nanotubes by the electric-arc technique, *Nature* **388**, 756-758 (1997)
 16. Journet, C.; Bernier, P.; Production of carbon nanotubes, *Appl. Phys. A* **67**, 1-9 (1998)
 17. Guo, T.; Nikolaev, P.; Rinzler, A. G.; Tomanek, D.; Colbert, D. T.; Smalley, R. E.; Self-Assembly of Tubular Fullerenes, *J. Phys. Chem.* **99**, 10695 (1995)
 18. Guo, T.; Nikolaev, P.; Thess, A.; Colbert, D. T.; Smalley, R. E.; Catalytic growth of single-walled nanotubes by laser vaporization, *Chem. Phys. Lett.* **243**, 49 (1995)
 19. Yudasaka, M.; Komatsu, T.; Ichihashi, T.; Iijima, S.; Single-wall carbon nanotube formation by laser ablation using double-targets of carbon and

- metal, *Chem. Phys. Lett.* **278**, 102 (1997)
20. Unrau, C.; Axelbaum, R. L.; Gas-phase synthesis of single-walled carbon nanotubes on catalysts producing high yield, *Carbon* **48**, 1418-1424 (2010)
 21. Zhao, Q.; Li, Y.; Zhou, X.; Jiang, T.; Li, C.; Yin, H.; Synthesis of multi-wall carbon nanotubes by the pyrolysis of ethanol on Fe/MCM-41 mesoporous molecular sieves, *Superlattices and Microstructures* **47**, 432-441 (2010)
 22. Borowiak-Palen, E; Pichler, T.; Fuentes, G. G.; Graff A.; Kalenczuk, R. J.; Knapfer M.; Fink J.; Efficient production of B-substituted single-wall carbon nanotubes, *Chemical Physics Letters* **378**, 516–520 (2003)
 23. Hou, P.-X.; Liu, C.; Cheng, H.-M.; Purification of carbon nanotubes, *Carbon* **46**, 2003–2025 (2008)
 24. Ajayan, P.M.; Ebbesen, T.W.; Ichihashi, T.; Iijima, S.; Tanigaki, K.; Hiura, H.; Opening carbon nanotubes with oxygen and implications for filling, *Nature* **362**, 522–525 (1993)
 25. Ebbesen, T.W.; Ajayan, P. M.; Hiura, H.; Tanigaki, K.; Purification of nanotubes, *Nature* **367**, 519 (1994)
 26. Park, Y. S.; Choi, Y. C.; Kim, K. S.; Chung, D. C.; Bae, D. J.; An, K. H. et al; High yield purification of multiwalled carbon nanotubes by selective oxidation during thermal annealing, *Carbon* **39**, 655–661 (2001)
 27. Chen, Y. J.; Green, M. L. H.; Griffin, J. L.; Hammer, J.; Lago, R. M.; Tsang, S. C.; Purification and opening of carbon nanotubes via bromination, *Adv. Mater.* **8**, 1012–1015 (1996)
 28. Hou, P. X.; Bai, S.; Yang, Q. H.; Liu, C.; Cheng, H. M.; Multi-step purification of carbon nanotubes, *Carbon* **40**, 81–85 (2002)
 29. Ikazaki, F.; Ohshima, S.; Uchida, K.; Kuriki, Y.; Hayakawa, H.; Yumura, M. et al. Chemical purification of carbon nanotubes by use of graphite-intercalation compounds, *Carbon* **32**, 1539–1542 (1994)
 30. Harutyunyan, A. R.; Pradhan, B. K.; Chang, J. P.; Chen, G. G.; Eklund, P. C.; Purification of single-wall carbon nanotubes by selective microwave heating of catalyst particles, *J. Phys. Chem. B* **106**, 8671–8675 (2002)
 31. Zimmerman, J. L.; Bradley, R. K.; Huffman, C. B.; Hauge, R. H.; Margrave, J. L.; Gas-phase purification of single-wall carbon nanotubes, *Chem. Mater.* **12**, 1361–1366 (2000)
 32. Chiang, I. W.; Brinson, B. E.; Smalley, R. E.; Margrave, J. L.; Hauge, R. H.; Purification and characterization of single-wall carbon nanotubes, *J. Phys. Chem. B* **105**, 1157-1161 (2001)

33. Chiang, I. W.; Brinson, B. E.; Huang, A. Y.; Willis, P. A.; Bronikowski, M. J.; Margrave, J. L. et al. Purification and characterization of single-wall carbon nanotubes (SWCNTs) obtained from the gas-phase decomposition of CO (HiPco Process), *J. Phys. Chem. B* **105**, 8297–8301 (2001)
34. Sen, R.; Rickard, S. M.; Itkis, M. E.; Haddon, R. C.; Controlled purification of single-walled carbon nanotube films by use of selective oxidation and near-IR spectroscopy, *Chem. Mater.* **15**, 4273–4279 (2003)
35. Xu, Y. Q.; Peng, H. Q.; Hauge, R. H.; Smalley, R. E.; Controlled multistep purification of single-walled carbon nanotubes, *Nano. Lett.* **5**, 163–168 (2005)
36. Jeong, T.; Kim, W. Y.; Haha, Y. B.; A new purification method of single-wall carbon nanotubes using H₂S and O₂ mixture gas, *Chem. Phys. Lett.* **344**, 18–22 (2001)
37. Dujardin, E.; Ebbesen, T. W.; Krishnan, A.; Treacy, M. M. J.; Purification of single-shell nanotubes, *Adv. Mater.* **10**, 611–613 (1998)
38. Zhao, X. L.; Ohkohchi, M.; Inoue, S.; Suzuki, T.; Kadoya, T.; Ando, Y.; Large-scale purification of single-wall carbon nanotubes prepared by electric arc discharge, *Diam. Relat. Mater.* **15**, 1098–1102 (2006)
39. Liu, J.; Rinzler, A. G.; Dai, H. G.; Hafner, J. H.; Bradley, R. K.; Boul, P. J. et al. Fullerene pipes, *Science* **280**, 1253–1256 (1998)
40. Wiltshire, J. G.; Khlobystov, A. N.; Li, L. J.; Lyapin, S. G.; Briggs, G. A. D.; Nicholas, R. J.; Comparative studies on acid and thermal based selective purification of HiPCO produced single-walled carbon nanotubes *Chem. Phys. Lett.* **386**, 239–43 (2004)
41. Li, Y.; Zhang, X. B.; Luo, J. H.; Huang, W. Z.; Cheng, J. P.; Luo, Z. Q. et al. Purification of CVD synthesized single-wall carbon nanotubes by different acid oxidation treatments, *Nanotechnology* **15**, 1645–1649 (2004)
42. Zhang, J.; Zou, H. L.; Qing, Q.; Yang, Y. L.; Li, Q. W.; Liu, Z. F. et al. Effect of chemical oxidation on the structure of single-walled carbon nanotubes, *J. Phys. Chem. B* **107**, 3712–3718 (2003)
43. Fang, H. T.; Liu, C. G.; Liu, C.; Li, F.; Liu, M.; Cheng, H. M.; Purification of single-wall carbon nanotubes by electrochemical oxidation, *Chem. Mater.* **16**, 5744–5750 (2004)
44. Yudasaka, M.; Zhang, M.; Jabs, C.; Iijima, S.; Effect of an organic polymer in purification and cutting of single-wall carbon nanotubes, *Appl. Phys. A* **71**, 449–51 (2000)

45. Hirsch, A.; Functionalization of Single-Walled Carbon Nanotubes, *Angew. Chem. Int. Ed.* **41**, 1853-1859 (2002)
46. Andrews, R.; Jacques, D.; Qian, D.; Dickey, E. C.; Purification and structural annealing of multiwalled carbon nanotubes at graphitization temperatures, *Carbon* **39**, 1681-1687 (2001)
47. Huang, W.; Wang, Y.; Luo, G. H.; Wei, F.; 99.9% purity multi-walled carbon nanotubes by vacuum high-temperature annealing, *Carbon* **41**, 2585-2590 (2003)
48. Wang, Y.; Wu, J.; Wei, F.; A treatment method to give separated multi-walled carbon nanotubes with high purity, high crystallization and a large aspect ratio, *Carbon* **41**, 2939-2948 (2003)
49. Kim, Y. A.; Muramatsu, H.; Hayashi, T.; Endo, M.; Terrones, M.; Dresselhaus, M. S.; Thermal stability and structural changes of double-walled carbon nanotubes by heat treatment, *Chem. Phys. Lett.* **398**, 87-92 (2004)
50. Yudasaka, M.; Kataura, H.; Ichihashi, T.; Diameter enlargement of HiPco single-wall carbon nanotubes by heat treatment, *Nano Lett.* **1**, 487-489 (2001)
51. Saito, Y.; Yoshikawa, T.; Bandow, S.; Tomita, M.; Hayashi, T.; Interlayer spacings in carbon nanotubes, *Phys. Rev. B* **48**, 1907-1909 (1993)
52. Lambin, P.; Loiseau, A.; Culot, C.; Biro, L.; Structure of carbon nanotubes probed by local and global probes, *Carbon* **40**, 1635-1648 (2002)
53. Cao, A.; Xu, C.; Liang, J.; Wu, D.; Wei, B.; X-ray diffraction characterization on the alignment degree of carbon, *Chem. Phys. Lett.* **344**, 13-17 (2001)
54. Belin, T.; Epron, F.; Characterization methods of carbon nanotubes: a review, *Materials Science and Engineering B* **119**, 105-118 (2005)
55. Kiang, C.-H.; Endo, M.; Ajayan, P. M.; Dresselhaus, G.; Dresselhaus, M. S.; Size Effects in Carbon Nanotubes, *Physical Review Letters* **81**, 1869-1872 (1998)
56. Costa, S.; Borowiak-Palen, E.; Kruszyńska, M.; Bachmatiuk, A.; Kaleńczuk, R. J.; Characterization of carbon nanotubes by Raman spectroscopy, *Materials Science- Poland* **26**, 433-441 (2008)
57. Milnera, M.; Kurti, J.; Hulman, M.; Kuzmany, H.; Periodic Resonance Excitation and Intertube Interaction from Quasicontinuous Distributed Helicities in Single-Wall Carbon Nanotubes, *Phys. Rev. Lett.* **84**, 1324-1327 (2000)
58. Jorio, A.; Pimenta, M.; Souza-Filho, A.; Saito, R.; Dresselhaus,

G.; Dresselhaus, M.; Characterizing carbon nanotube samples with resonance Raman scattering, *New J. Phys.* **5**, 139.1-139.17 (2003)

Rozdział 10

Zastosowanie spektrometrii mas z jonizacją/desorpcją laserową wspomaganą matrycą (MALDI) w chemii supramolekularnej

Grażyna Bartkowiak, Grzegorz Schroeder

Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Wydział Chemii UAM, Grunwaldzka 6,
60-780 Poznań

Wstęp

Rozwijająca się burzliwie w ostatnich latach chemia supramolekularna wiąże się z otrzymywaniem złożonych układów o skomplikowanej i rozbudowanej przestrzennie, wielowymiarowej architekturze – sieci, klatek, drabinek, warstw i włókien, helis i nanorurek oraz wielu innych struktur, charakteryzujących się bogactwem form i dużą masą asocjatu. Jedną z istotnych cech układów supramolekularnych jest oparcie ich konstrukcji na słabych oddziaływaniach międzycząsteczkowych, m. in. wiązaniach wodorowych, interakcjach π - π , oddziaływaniach elektrostatycznych metal-ligand i siłach van der Waalsa. Identyfikacja i analiza tych struktur wymaga nowych narzędzi badawczych, które umożliwiają charakteryzowanie otrzymanych połączeń, opartych na oddziaływaniach niekowalencyjnych, znacznie słabszych od klasycznych wiązań chemicznych.

Stosunkowo łatwo jest zidentyfikować nieduże dimery, połączone za pomocą wiązań wodorowych oraz małe kompleksy, koordynowane jodem metalu. Jednak trudności pojawiają się, gdy mamy do czynienia z wielkimi agregatami supramolekularnymi, strukturami o dużych masach, których analiza jest trudna, tym bardziej, gdy chce się przy tym uniknąć destrukcji ich delikatnej architektury supramolekularnej¹.

Większość ustaleń, dotyczących tego typu połączeń opiera się na danych z pomiarów NMR w roztworach, które jednak pozwalają tylko na określenie stechiometrii kompleksu. Skojarzenie danych NMR, z osmometrią prężności par (VPO, ang. *vapor-pressure osmometry*)², chromatografią wykluczania (SEC, ang. *size exclusion chromatography*) i/lub chromatografią sączenia żelowego (GPC, ang. *gel-permeation chromatography*) pozwala uzyskać więcej informacji

na temat wielkości i masy agregatów supramolekularnych, jednak wyznaczanie średniej masy cząsteczkowej tymi metodami jest obciążone dużym błędem, nawet do 20%. W niektórych przypadkach, gdy uda się uzyskać odpowiedniej wielkości kryształ, można zastosować metody rentgenograficzne³, jednak większość połączeń supramolekularnych nie tworzy takich kryształów. Istnieją również doniesienia na temat wykorzystania rozpraszania neutronów (ang. *neutron-scattering*)⁴ i światła dla uzyskania informacji strukturalnych o budowie tego typu kompleksów.

Jedyną techniką analityczną, pozwalającą dokładnie ilościowo określić skład kompleksu supramolekularnego i wyznaczyć jego masę jest jak dotąd spektrometria mas. Metody MS umożliwiają często:

- określenie stechiometrii połączenia;
- wyznaczenie ilości podjednostek, tworzących kompleks;
- potwierdzenie składu elementarnego poszczególnych jonów na podstawie porównania doświadczalnego rozkładu izotopowego z teoretycznym;
- zmierzenie dokładnej masy z błędem rzędu kilku ppm;
- stwierdzenie ilości ładunków na danym jonie z odległości pików izotopowych Δm ($\Delta m = 1/n$, gdzie n – liczba ładunków).

Warunkiem pomyślnego użycia MS jest uzyskanie jonizacji badanego kompleksu przy zastosowaniu tak łagodnej metody, że nie dojdzie do rozbicia uzyskanego połączenia na fragmenty. Zastosowanie do badania układów supramolekularnych mają tzw. „miękkie techniki jonizacji” (ang. *soft ionization techniques*), tj. bombardowanie szybkimi atomami⁵ (ang. *fast atom bombardment*, FAB) określane też jako spektrometria mas jonów wtórnych w matrycy ciekłej (ang. *liquid secondary ions mass spectrometry*, LSIMS) oraz jonizacja przez elektrorozpylanie (ang. *electrospray ionization*, ESI)⁶, a w ostatnich latach coraz bardziej zyskuje na znaczeniu jonizacja przez desorpcję laserową, wspomagana matrycą (ang. *matrix-assisted laser desorption ionization*, MALDI)^{7,8} z analizatorem czasu przelotu (ang. *time-of-flight*, TOF).

Zastosowanie ESI MS do określania masy dużych asocjatów niekowalencyjnych opisali Whitesides i współpracownicy⁹, Schalley¹⁰ i wielu innych autorów. Istnieje obszerny polskojęzyczny przegląd zastosowań spektrometrii mas z jonizacją przez elektrorozpylanie w chemii supramolekularnej¹¹, natomiast brak jest do tej pory zestawienia aplikacji jonizacji MALDI dla analizowania połączeń supramolekularnych, kompleksów gość-gospodarz, jak i samych bloków budulcowych supercząsteczek.

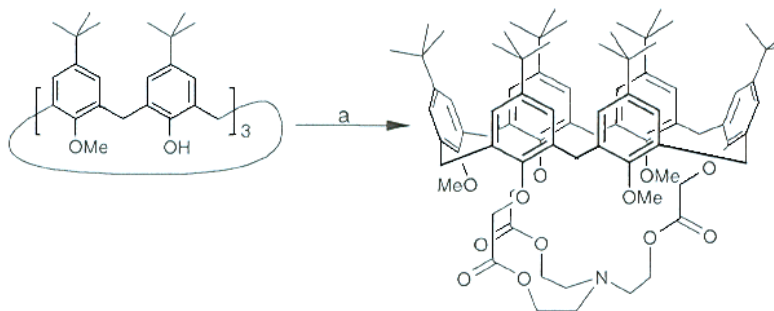
Chemię supramolekularną określa się często, tak jak zdefiniował ją Jean-Marie Lehn¹², jako chemię połączeń niekowalencyjnych. Istnieje jednak duża

grupa związków, która – mimo, że ich budowa jest oparta wyłącznie na wiązaniach kowalencyjnych – ma szerokie zastosowanie w chemii supramolekularnej, gdyż dzięki specyficznej budowie, np. rozgałęzionej strukturze, obecności odpowiednio rozmieszczonych heteroatomów, naturalnemu kształtowi, tworzącemu wnękę lub innym cechom topologicznym, mogą służyć albo jako cząsteczki gospodarza do tworzenia kompleksów inkluzyjnych albo jako klocki budulcowe dużych układów supramolekularnych. Wśród takich połączeń należy wymienić kaliksareny i rezorcynoareny, cyklodekstryny, dendrymery, porfiryny i ftalocyjaniny, pochodne fulerenów, etery koronowe i ich analogi, inne związki makrocykliczne, związki bipirydynowe i tripirydynowe. Spektrometria mas z jonizacją MALDI tych połączeń jest także przedmiotem niniejszego opracowania.

Kaliksareny

Szczególną rolę w chemii supramolekularnej odgrywają kaliksareny. Związki te, składające się z jednostek fenolowych połączonych grupami metylenowymi i tworzące strukturę kielicha, znajdują liczne zastosowania jako trójwymiarowe receptory molekularne. Zwłaszcza odpowiednie modyfikacje górnego obrzeża kaliks[4]arenów, przy zachowaniu ich stożkowego kształtu, prowadzą do uzyskania licznych, cennych cząsteczek gospodarzy, zdolnych do kompleksowania jonów metali o odpowiedniej średnicy jak i całych molekuł. Już same cząsteczki receptorów kaliksarenowych są pokaźnych rozmiarów, a więc mają dużą masę cząsteczkową. Tworzone przez nie kompleksy są jeszcze większymi strukturami, a przy tym opartymi na słabych oddziaływaniach, co znacznie utrudnia ich analizę. Wyznaczenie masy takiego kompleksu jest często kluczowe dla ustalenia jego struktury.

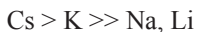
W badaniu kompleksów gość-gospodarz, w których w roli gospodarza występują kaliksareny, znalazła zastosowanie spektrometria mas z jonizacją MALDI. Zastosowano ją np. do analizowania kompleksów kaliksarenów z kationami litowców. Maas¹³ i współpracownicy otrzymali *p-tert*-butylokaliks[6]aren (Rys. 1), zamknięty na dolnym obrzeżu trójramiennym mostkiem, pochodzącym od trietanoloaminy (oznaczany dalej jako L, gdzie L = C₈₁H₁₀₅NO₁₂, MALDI-TOF MS: m/z 1284,6 [MH⁺]), co pozwoliło usztywnić strukturę kaliksarenu i zapewnić jego stożkową konformację. Następnie oceniano zdolność tego związku do kompleksowania jonów metali I grupy, tj. Li, Na, K i Cs.



(a) 1) NaH, THF/DMF; 2) N[CH₂CH₂OC(=O)CH₂Cl]₃

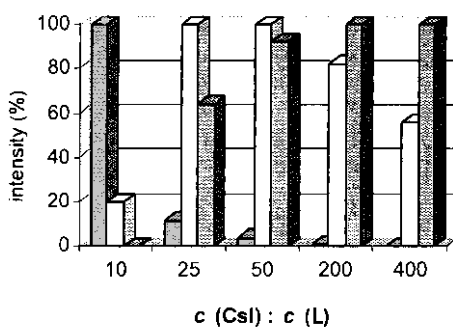
Rysunek 1. Schemat reakcji otrzymania **L**, tj. *p*-*t*-Bu-kaliks[6]arenu, zamkniętego u dołu mostkiem ACE¹⁵.

Zmierzono widma MALDI kompleksów receptora (kaliksarenu, **L**) z jonami poszczególnych metali, obserwując w każdym pik podstawowy [LM]⁺, gdzie L = ligand, M = Li, Na, K, Cs, wskazujący na stechiometrię 1:1 kompleksu w fazie gazowej; w przypadku jonów cezu obserwowano również oprócz [LCs]⁺ intensywny pik [LCs₄]⁴⁺. Badano kompleksowanie litowców przez kaliksaren **L** przy różnych nadmiarach kationu w stosunku do ligandu. Dane z widm MALDI, obrazujące zdolność kompleksowania jonów metali alkalicznych przez kaliks[6]aren **L** (nazwa systematyczna: 5,11,17,23,29,35-heksa-*tert*-butylo-37,39,41-trimetoksy-48,40,42-trihydroksykaliks[6]aren) w zależności od stosunku stężeń kation:ligand przedstawiono w postaci wykresów (Rysunek 2 a). Eksperyment konkurencji, w którym do roztworu ligandu dodano wszystkie wymienione kationy (Li, Na, K, Cs) równocześnie, wykazał, że najlepiej kompleksowane przez niego są jony cezu, a najslabiej sodu i litu (Rys. 2 b). Siła oddziaływania tego ligandu z jonami badanych metali alkalicznych maleje w szeregu:

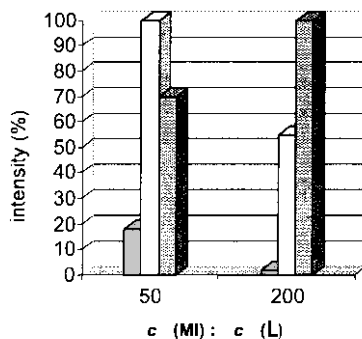


Na rys. 2 b – selektywność ligandu **L** wobec jodków metali MI (M = K, Cs; Li i Na pominięto wskutek znikomej intensywności jonów kompleksowych).

(a)



(b)



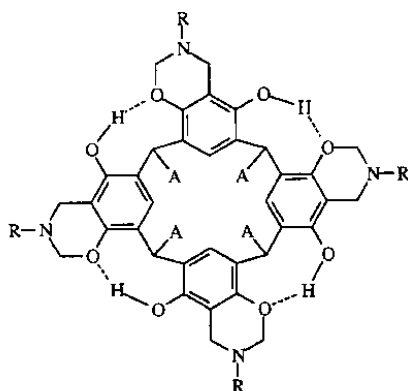
Rysunek 2. Zdolność kompleksowania kaliksarenu *L* przy różnych stężeniach kationów metali alkalicznych (a) oraz konkurencyjność kompleksowania potasu i cezu przez *L* (b) – na podstawie widm MALDI-TOF, matryca CHCA (kwas 4-hydroksy- α -cyjanocynamonowy¹³).

Próby zastosowania, MALDI MS jako techniki analitycznej do badania kompleksów gość-gospodarz, w których gospodarzem były benzoksazy-no-rezorcynoareny (w skrócie: BO-rezorcareny) (wzory – Rys.3), a gośćmi - jony metali alkalicznych względnie jony amoniowe nie dały dobrych rezultatów¹⁴. Okazało się, że BO-rezorcareny nie kompleksują jonów amoniowych a kompleksowanie przez nie jonów metali alkalicznych jest słabe. Jednak widma MALDI –TOF posłużyły do scharakteryzowania samych rezorcarenów i prześledzenia ich zachowania w warunkach jonizacji przez desorpcję laserową.

W poszukiwaniu optymalnych warunków pomiaru przetestowano różne związki jako matryce, m. in.:

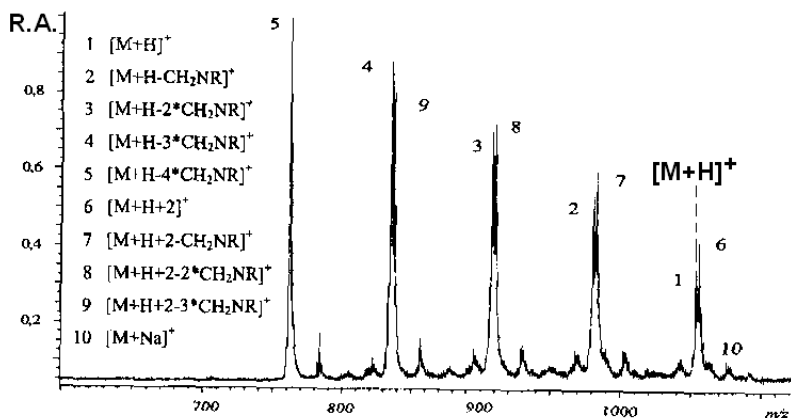
- 1-(2-benzotiazolilo)-3-(4-metoksyfenilo)-5-feniloformazan (BMOF),
- kwask 2,5-dihydroksybenzoesowy (DHB),
- 1,8,9-trihydroksyantracen (ditranol, DIT),
- kwask 2-(4-hydroksyfenylazo)benzoesowy (HABA),
- 9-nitroantracen (9-NA)
- i 2,4,6-trihydroksyacetonfenon (THAP).

Najlepszą matrycą dla tego typu związków okazał się kwask 2,5-dihydroksybenzoesowy (DHB), gdyż jako jedyny pozwalał uzyskać – oprócz fragmentów - jony pseudomolekularne $[M+H]^+$. Pozostałe matryce powodowały natychmiastową intensywną fragmentację BO-rezorcarenów, polegającą na wielokrotnej eliminacji jednostki CH_2NR . Jon $[M+H]^+$ benzoksazy-no-rezorcynoarenów obserwowano również przy użyciu ditranolu jako matrycy, ale jego intensywność była znikoma. Widmo MALDI rezorcarenu **9** (wg numeracji na Rys. 3) przedstawia Rys. 4. Interesujące jest, że jonowi $[M+H]^+$ (**1**) „jak i jonom fragmentacyjnym, utworzonym przez utratę grup/y CH_2NR (**2,3,4**), towarzyszą jony o masie wyższej o 2 Da (**6** i odpowiednio **7,8,9**). Można przypuszczać, że w trakcie desorpcji laserowej następuje otwarcie pierścienia oksazynowego i hydrogenacja utworzonej zasady Schiffa, katalizowana przez kwasową matrycę oraz że reakcja ta zachodzi w fazie gazowej, gdyż nie obserwowano jej w roztworze.



Związek	R	A
1	C_6H_{11}	C_2H_5
2	$C(CH_3)_3$	C_2H_5
3	$CH_2CH_2C_6H_5$	C_2H_5
4	CH_2CH_2OH	C_2H_5
5	$CH_2CH_2CH_3$	C_2H_5
6	$CH_2(CH_3)_2$	C_2H_5
7	C_6H_{11}	<i>i</i> - C_4H_9
8	$CH_2CH_2C_6H_5$	<i>i</i> - C_4H_9
9	CH_2CH_2OH	<i>i</i> - C_4H_9
10	$CH_2CH_2CH_3$	<i>i</i> - C_4H_9
11	$CH_2(CH_3)_2$	<i>i</i> - C_4H_9

Rysunek 3. Wzory 3,4-dihydro-2H-1,3-benzoksazy-no-rezorcarenów, badanych jako cząsteczki gospodarzy do kompleksowania kationów metali I grupy i jonów amoniowych¹⁴.

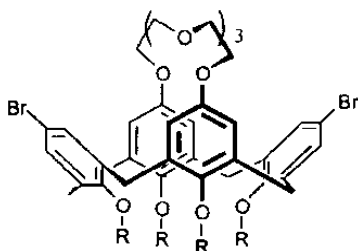


Rysunek 4. Widmo MALDI rezoarcenu **9** ($R = CH_2CH_2OH$); matryca: DHB¹⁴.

Aby badać słabe oddziaływania w kompleksie gość-gospodarz należy najpierw mieć możliwość uzyskania w widmie masowym jonu molekularnego samego gospodarza. Jednak większość makromolekuł – gospodarzy wykazuje silną absorpcję promieniowania UV lasera, co prowadzi do intensywnej dysocjacji wiązań, a więc fragmentacji cząsteczki. Dotyczy to zwłaszcza kaliksarenów, które zawierają w swojej strukturze po kilka pierścieni aromatycznych. Ciekawą cząsteczkę gospodarza stanowi dibromokaliks[4]eter koronowy **1** (Rys. 5), który posiada zarówno polarne miejsce wiązania gościa (mostek polieterowy), jak i hydrofobową, niepolarną wnękę (czaszę kaliksarenu). Wykazuje on duże powinowactwo i wysoką selektywność względem amin pierwszorzędowych. Jednak pod wpływem promieniowania UV związek ten łatwo ulega destrukcji, szczególnie odszczepieniu atomów bromu[□]. Mimo, że MALDI zalicza się do bardzo łagodnych metod jonizacji, na widmie masowym dibromokaliks[4]eteru koronowego **1** (Rys. 5), uzyskanego przy użyciu lasera UV 266 nm, kationizacji jonami Na^+ i ditranolu jako matrycy obserwuje się szereg jonów, w tym również fragmentacyjnych, m. in. $[M-Br]Na^+$ i $[M-2Br]Na^+$ (Rysunek 6).

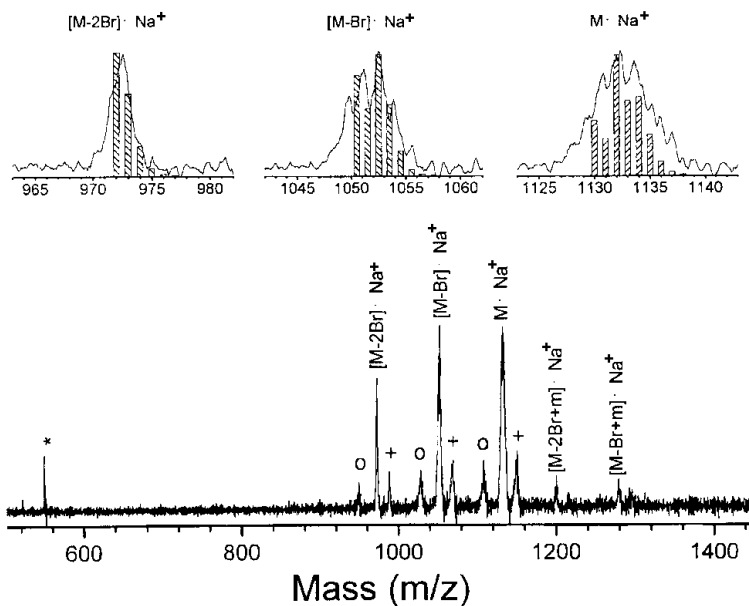
Słonność związku **1** do fragmentacji nawet w warunkach tak „miękkiej” jonizacji wskazuje na potrzebę zastosowania promieniowania o niższej energii i innej długości fali, nie absorbowanej przez cząsteczki badanego związku. Nasunęło to pomysł użycia lasera, działającego w zakresie światła widzialnego (*visible LDI*), dla którego większość tego typu makromolekuł jest przezroczysta. Aby zmniejszyć bezpośrednie pochłanianie promieniowania przez cząsteczki próbki zastosowano jako podłoże płytkę grafitową jako materiał absorbujący

fotony. Taką modyfikację techniki MALDI określa się jako SALDI (ang. *surface-assisted laser desorption/ionization*). Wykorzystano przy tym zalety grafitu, takie jak: duże rozwinięcie powierzchni, zdolność szybkiego przewodzenia ciepła do analitu, efektywna absorpcja promieniowania, zbliżona do cech idealnego ciała doskonale czarnego. Sprawiają one, że promieniowanie lasera zostaje złagodzone i następuje desorpcja nienaruszonych jonów analitu.



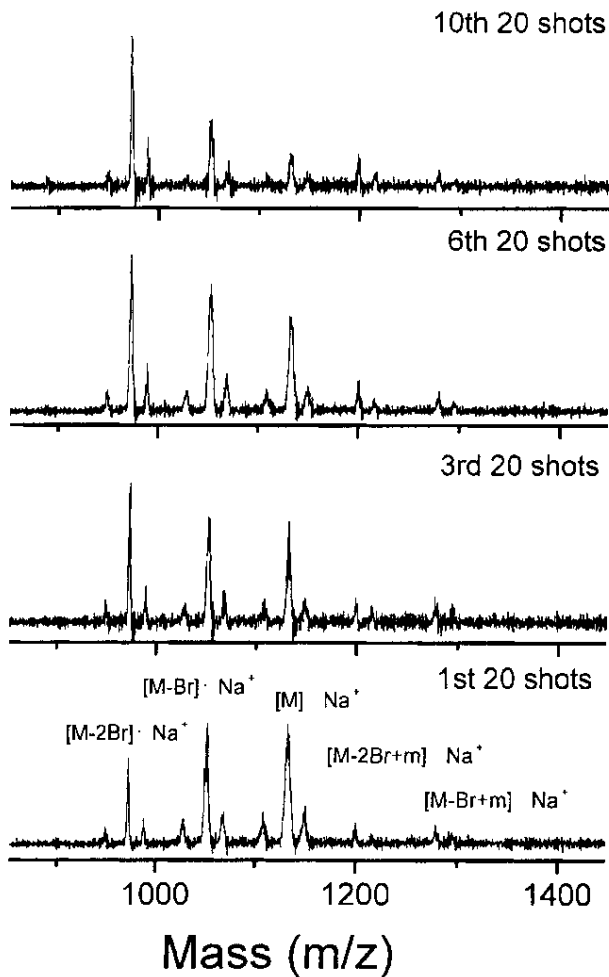
1 (R=Hexyl)

Rysunek 5. Struktura dibromokaliks[4]eteru koronowego **1**.¹⁵



Rysunek 6. Widmo UV-MALDI dibromokaliks[4]eteru koronowego, uzyskane przy $\lambda 266$ nm. Oznaczenia „o” oznaczają jony protonowane, a „+” – addukty potasu¹⁵.

Widmo MALDI ulega zmianie wraz z długością naświetlania danej plamki próbki; wpływ ilości „strzałów” lasera na wygląd widma dibromokaliks[4] eteru koronowego **1** przedstawiono na rys. 7. Przy dłuższym naświetlaniu widoczny jest zanik sygnału od jonu $[M+Na]^+$, a wzrost intensywności sygnału $[M-2Br+Na]^+$, co może być spowodowane małą efektywnością przenoszenia energii wzbudzenia do analitu, zwłaszcza przy niedużym stężeniu matrycy.

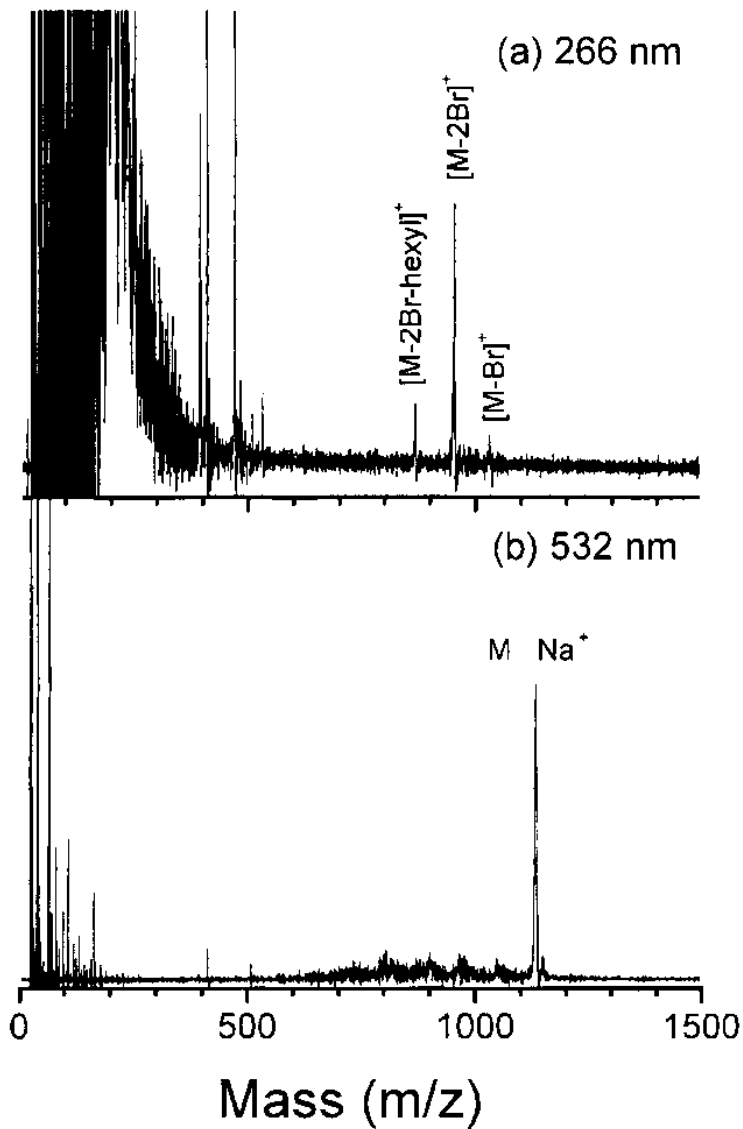


Rysunek 7. Ewolucja widma UV-MALDI dibromokaliks[4]eteru koronowego **1** ze wzrostem ilości strzałów lasera; wszystkie widma otrzymano z tej samej plamki próbki.¹⁵

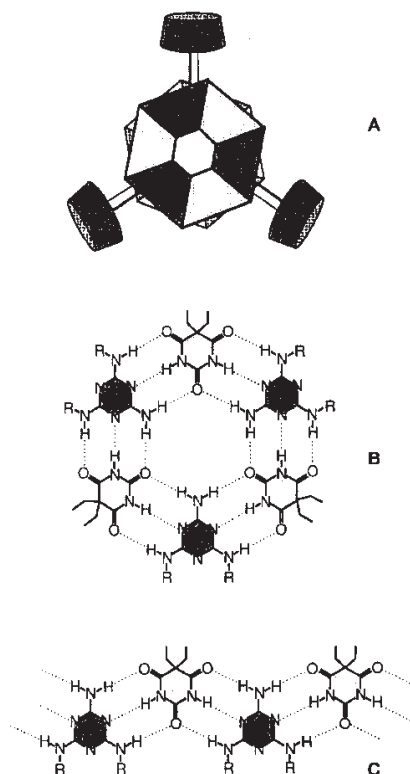
Aby uniknąć silnej absorpcji promieniowania lasera przez badaną substancję i zapobiec fragmentacji powstających jonów zastosowano laser o długości fali w zakresie światła widzialnego: 532 nm. Na rysunku 8 pokazano różnicę w widmach SALDI-TOF, otrzymanych z próbki powyższego związku, osadzonej na płytce grafitowej bez matrycy przy użyciu lasera o długości fali 266 nm (a) i 532 nm (b) z czynnikiem kationizującym CF_3COONa . Przy zastosowaniu lasera UV (266 nm) widmo wykazuje niski stosunek sygnału do szumu, obecność wielu intensywnych pików klastrów węglowych i sygnałów, pochodzących od oleju z pompy dyfuzyjnej w rejonie niskich mas (Rys. 8a). Brak jest sygnału jonu molekularnego kaliks[4]arenu, protonowanego czy sodowanego, natomiast intensywne są jony fragmentacyjne po utracie atomów bromu, z dominującym $[\text{M}-2\text{Br}]^+$. W przypadku użycia lasera w zakresie światła widzialnego (532 nm, Rys. 8b) w widmie brak jest jonów fragmentacyjnych, a dominujący jest jon $[\text{M}+\text{Na}]^+$, pochodzący od sodowanej cząsteczki analitu. Stosunek sygnału do szumu jest w tym wypadku lepszy niż w typowym widmie MALDI tego samego związku (Rys. 6). Badany kaliks[4]aren nie absorbuje promieniowania o tej długości fali (532 nm), a więc jonizacja/desorpcja analitu jest spowodowana jedynie rozpraszaniem i transferem energii, pochłoniętej przez płytkę grafitową. Oznacza to, że podłoże grafitowe jako substrat SALDI działa efektywnie jako mediator, absorbujący fotony i wywołujący desorpcję/ionizację makromolekuł.

Jeden z pierwszych sukcesów w zastosowaniu MALDI-TOF MS do badania układów supramolekularnych, w skład, których wchodziły kaliksareny, odnotowali Timmerman, Reinhoudt i współpracownicy¹⁶. Otrzymali oni szereg kaliksarenowych asocjatorów (Rys. 9), związanych wodorowo – dziewięcioskładnikowe, termodynamicznie trwałe połączenia podstawionych kaliks[4]arenów z benzylo- i cyjano-podstawionymi pochodnymi melaminy (typ A) oraz sześćskładnikowe, cykliczne połączenia, złożone z trzech cząsteczek melaminy i trzech cząsteczek cyjanuranów lub pochodnych kwasu barbiturowego (mniej trwałe termodynamicznie, typ B), a także liniowe połączenia barbituranów i pochodnych melaminy z objętościowymi podstawnikami (typ C, o niezdefiniowanym składzie).

Utworzone supercząsteczki po kationizacji jonami srebra Ag^+ dały intensywne sygnały w widmach MALDI-TOF (Rys. 10) w trybie dodatnim (matryca – DHB) przy wartościach m/z odpowiadających obliczonym masom cząsteczkowym asocjatorów, powiększonym o masę jednego atomu Ag (Tabela 1). Należy podkreślić, że uprzednie próby uzyskania widm masowych tych połączeń przy zastosowaniu jonizacji przez elektrorozpylanie (ESI) względnie jonizacji MALDI bez użycia kationów Ag^+ nie dały rezultatu.



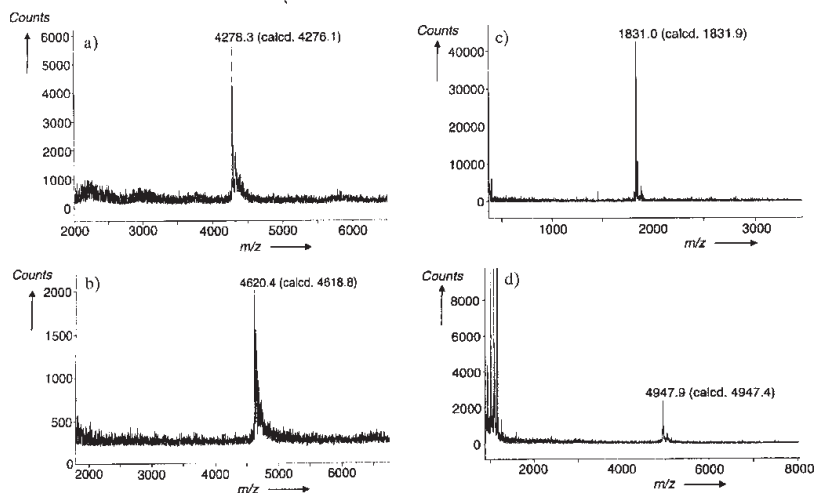
Rysunek 8. Widma SALDI dibromokaliks[4]eteru koronowego **1**, naniesionego na płytkę grafitową przy użyciu lasera: (a) 266 nm; (b) 532 nm.¹⁵



Rysunek 9. Połączenia supramolekularne z wiązaniem wodorowym o różnej stabilności termodynamicznej: A – cykliczne, dziewięcioskładnikowe, trwałe; B – cykliczne, sześćoskładnikowe, mniej trwałe; C – liniowe, o niezdefiniowanej masie. Objaśnienie stosowanych symboli elementów budulcowych – po prawej¹⁶.

Składy asocjatów, ich masy obliczone i uzyskane z pomiaru MALDI-TOF MS przedstawia Tabela 1.

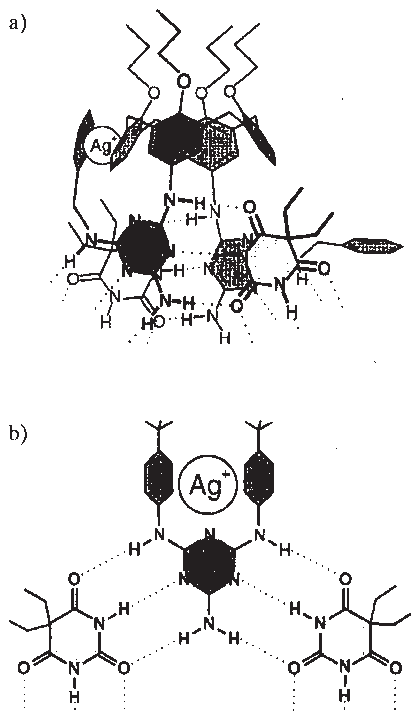
Okazało się, że kationizacja tych układów supramolekularnych jonami srebra była skuteczna tylko wtedy, gdy podstawnikami w pierścieniu melaminy były grupy benzytowe względnie nitrylowe, a nie dała rezultatu w przypadku podstawników alkilowych (układy A2 i A3 oraz B8 i B9, Rys.10 i Tabela 1). Proponowany tryb kompleksowania jonów srebra przez utworzenie struktur sandwiczowych z udziałem dwóch pierścieni aromatycznych i kationem Ag^+ pomiędzy nimi przedstawia rys. 11.



Rysunek 10. Widma MALDI-TOF kompleksów Ag^+ połączeń: a) **A1** [$1_3 \cdot 5_6$], b) **A5** [$3_3 \cdot 6_6$], c) **B1** [$7_3 \cdot 5_3$], d) **B3** [$7_3 \cdot 9_3$].¹⁶

Tabela 1. Dane MALDI-TOF dla układów, związanych wodorowo **A1-A6** i **B1-B9** po działaniu 1,5 równoważnika $AgCF_3COO$ przez 24 h w temperaturze pokojowej.¹¹⁾

Układ supramolekularny	Skład cząsteczkowy	Obliczona masa [Da] kompleksu z Ag^+	Obserwowana masa [Da]
A1	$1_3 \cdot 5_6$	4276,1	4278,3
A2	$2_3 \cdot 5_6$	4072,0	-
A3	$3_3 \cdot 5_6$	4342,0	-
A4	$2_3 \cdot 6_6$	4347,9	4348,1
A5	$3_3 \cdot 6_6$	4618,8	4620,4
A6	$4_3 \cdot 5_6$	4221,9	4220,0
B1	$7_3 \cdot 5_3$	1831,9	1831,0
B2	$7_3 \cdot 8_3$	1919,0	1919,1
B3	$7_3 \cdot 9_3$	4947,4	4947,9
B4	$7_3 \cdot 10_3$	3692,2	3692,0
B5	$11_3 \cdot 5_3$	1828,4	1828,9
B6	$11_3 \cdot 8_3$	1916,0	1915,0
B7	$11_3 \cdot 12_3$	2475,2	2476,9
B8	$13_3 \cdot 5_3$	1495,3	-
B9	$14_3 \cdot 5_3$	1375,3	-

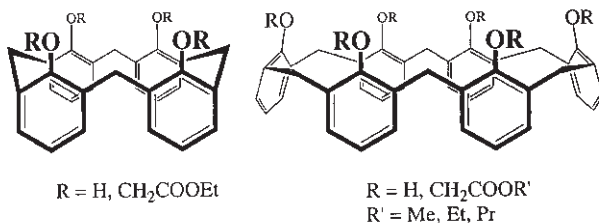


Rysunek 11. Proponowana struktura kompleksów Ag^+ z a) **A1** [$1_3:5_\delta$], b) **B1** [$7_3:5_3$], (pokazano tylko fragment kompleksu)¹⁶

Kompleksowanie kationów srebra przez połączenia, zawierające podstawniki aromatyczne (grupy benzytowe) względnie nitrylowe (CN) tłumaczy się znacznym powinowactwem jonów Ag^+ do układów π -donorowych¹⁷ i grup $-C\equiv N$. Można sądzić, że podobnie będą działały inne grupy funkcyjne, np. acetylenowe, etylenowe, aminowe lub siarkowe, znane z interakcji z jonami srebra¹⁸ Brak w widmach MALDI widocznych jonów fragmentacyjnych świadczy o wyjątkowej łagodności tej metody jonizacji, a więc o jej stosowalności do niedestrukcyjnego badania układów, opartych na słabych wiązaniach niekowalencyjnych.

Zastosowanie kaliksarenów jako cząsteczek-gospodarzy do tworzenia kompleksów gość-gospodarz z aminokwasami przebadali przy pomocy spektrometrii mas MALDI Lebrilla i współpracownicy¹⁹. Wiadomo, że kaliksareny są silnymi chelatorami kationów metali alkalicznych²⁰ oraz niektórych innych kationów, np. jonów amoniowych, alkiloamoniowych i benzyloamoniowych, natomiast ciekawe jest ich potencjalne zastosowanie jako narzędzi rozpoznania

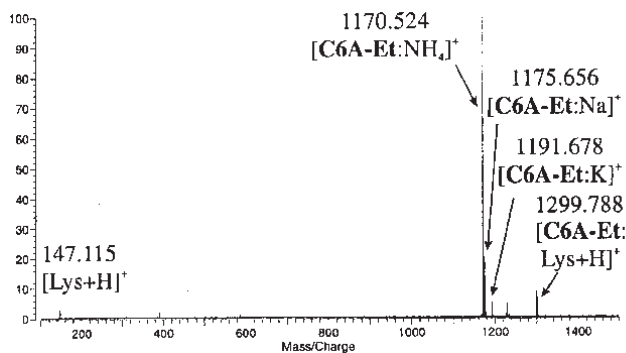
molekularnego aminokwasów i peptydów. Struktury modyfikowanych kaliks[4]arenów i kaliks[6]arenów, użytych do kompleksowania aminokwasów przedstawia Rysunek 12.



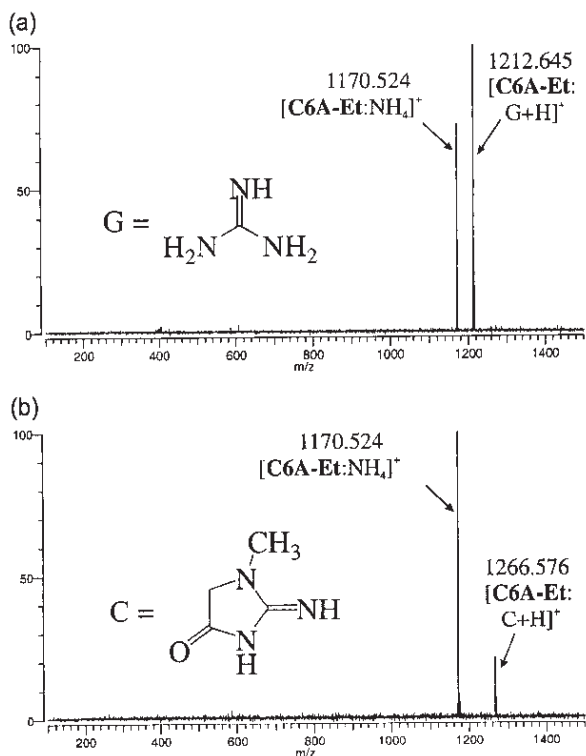
Rysunek 12. Struktury kaliksarenów, badanych jako gospodarze aminokwasów.¹⁹

Wykazano, że pochodne kaliks[6]arenów, modyfikowane na górnym obrzeżu grupami estrowymi, tworzą silne kompleksy inkluzyjne z niemal wszystkimi naturalnie występującymi aminokwasami. Kompleksy te, zdolne przetrwać nawet wysokoenergetyczne procesy MALDI, dają się łatwo obserwować w fazie gazowej przy użyciu jonizacji przez desorpcję laserową z matrycą DHB i dodatkiem amoniowej żywicy jonowymiennej. Próby uzyskania w MALDI analogicznych kompleksów aminokwasów z cyklodekstrynami lub eterami koronowymi nie dały rezultatu, co świadczy o większej trwałości kompleksów kaliksarenowych. Rys. 13. przedstawia widmo MALDI-MS kompleksu kaliks[6]arenu **C6A-Et** z lizyną, gdzie **C6A-Et** oznacza kaliks[6]aren z rysunku 12 z grupami etylowymi ($R' = \text{Et}$).

Kompleksów tego typu nie obserwowano dla kaliks[4]arenów, które są najczęściej badane jako gospodarze z powodu ich sztywniejszej struktury i mniejszej skłonności do zmiany konformacji. Powodem jest prawdopodobnie to, że kaliks[4]areny posiadają mniejszą wnękę, co uniemożliwia wsunięcie się do niej cząsteczek aminokwasów. Na podstawie obserwacji tworzenia kompleksów kaliksaren-aminokwas w warunkach pomiaru MALDI można wnioskować, że kaliks[6]areny, modyfikowane grupami estrowymi, mogą służyć jako efektywne receptory aminokwasów. Związki te tworzą również kompleksy z etylo- i propyloaminą, guanidyną i kreatyniną (odpowiednie widma MALDI kompleksów tych dwóch ostatnich związków przedstawia Rysunek 14). Silny sygnał kompleksu z guanidyną (Rys. 14 a) świadczy, że estry kaliks[6]arenów mogą być sensorami guanidyny. Jonizację ułatwia dodatek amoniowej żywicy jonowymiennej, która umożliwia odsalanie próbek i dostarcza kationów NH_4^+ .



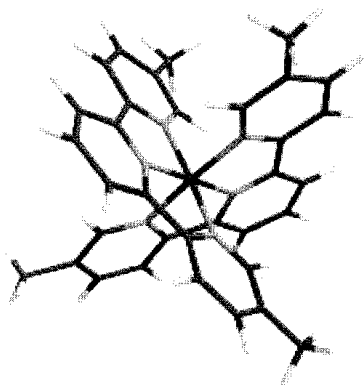
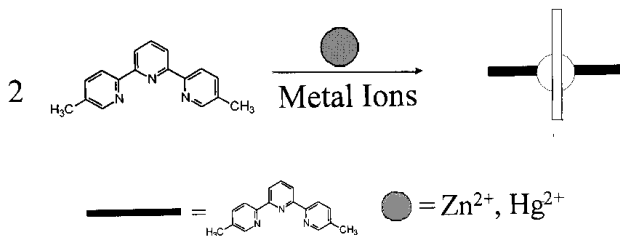
Rysunek 13. Widmo MALDI-FTMS kompleksu C6A-Et z lizyną w obecności żywicy amoniowej.¹⁹



Rysunek 14 . Widma MALDI(FTMS) C6A-Et w obecności jonowymiennej żywicy amoniowej oraz (a) chlorowodorku guanidyny; (b) siarczanu kreatyniny.

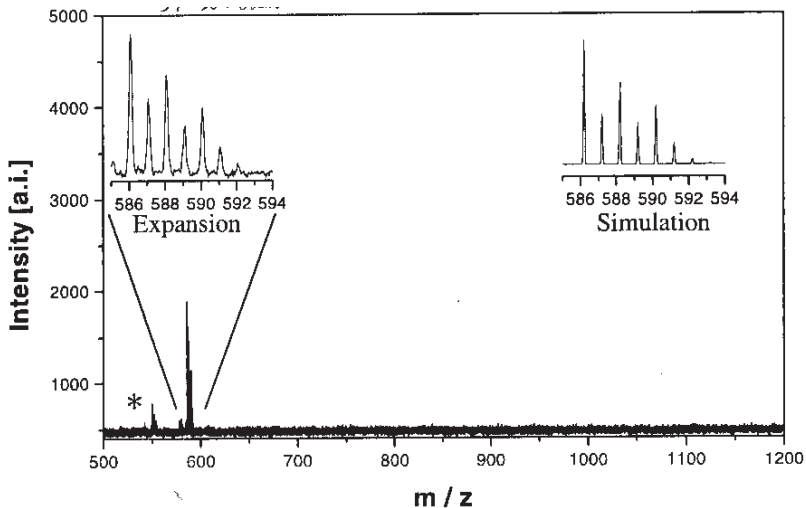
Układy metalo-supramolekularne z terpirydyną

Wyniki, uzyskane przez Reinhoudta i współpracowników zachęciły Schuberta i Eschbauera do zastosowania MALDI – TOF MS do charakteryzowania układów metalo-supramolekularnych, zawierających jony cynku, rtęci i kobaltu²¹. Jony te w reakcji z pochodnymi terpirydyny tworzą koordynacyjne macierze o masach cząsteczkowych w zakresie 500 do 4000g/mol. W tym wypadku obecność kationów metali (Zn, Hg i Co) w kompleksie pozwala zrezygnować z dodatkowego wprowadzania jonów srebra. Rysunek 15 przedstawia schemat reakcji 5,5''-dimetylo-terpirydyny z jonami Zn^{2+} i Hg^{2+} , prowadzącej do otrzymania kompleksów [1x1] oraz model takiego kompleksu [1x1]Zn(II).



Rysunek 15. Schematyczne przedstawienie reakcji 5,5''-dimetyloterpirydyny, prowadzącej do utworzenia kompleksów [1x1] oraz model prętowy kompleksu [1x1] Zn(II), MacSpartan 1997, level MM2.²¹

Otrzymane kompleksy [1x1] 5,5''-2,2':6',2''-terpirydyny z Zn(II) i Hg(II) oraz PF_6^- jako przeciwjonem badano przy użyciu MALDI-TOF MS z ditranolem (DIT) jako matrycą (DIT = 1,3,7-trihydroksyantracen). Najintensywniejszy sygnał na widmie MALDI kompleksu cynku (Rys. 16) przy wartości m/z 586 odpowiada jonowi o składzie $\text{C}_{34}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{Zn}$, m/z 586,2 (wartość obliczona). Rozkład izotopowy dla tego jonu (*Expansion*) jest zgodny z teoretycznym (*Simulation*).

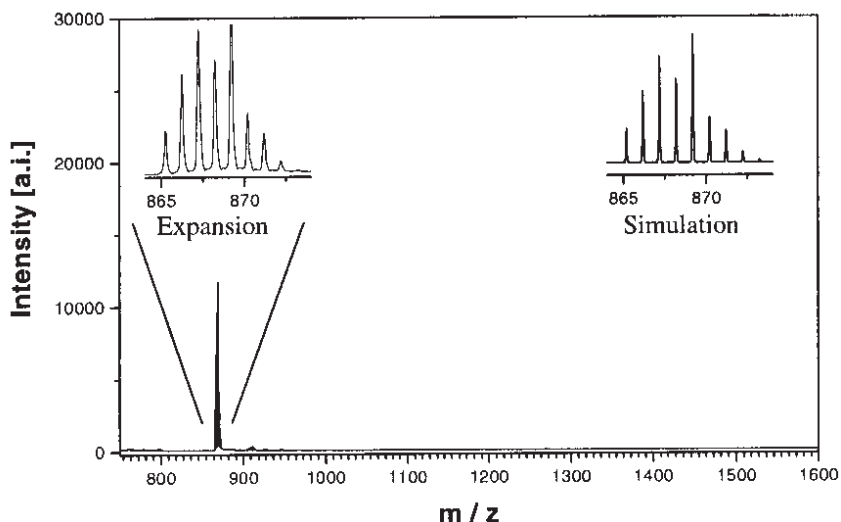


Rysunek 16. Widmo MALDI-TOF kompleksu [1x1] Zn(II), matryca: ditranol; * oznacza jon matryca/terpirydyna/Zn.²¹

W przypadku kompleksu rtęci z dwiema cząsteczkami 5,5''-dimetyloterpirydyny główny jon w widmie MALDI-TOF występuje przy wartości m/z 869 (Rys. 6), co odpowiada składowi $[2 \cdot \text{ligand} + \text{Hg}^{2+} + \text{PF}_6^-]$. Na widmie MALDI (Rys. 17) pokazano sygnał tego jonu poroziągnięciu (*Expansion*) oraz teoretyczny profil izotopowy dla podanego składu $\text{C}_{34}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{HgPF}_6$ (*Simulation*); widać dobrą zgodność obu rozkładów izotopowych, co potwierdza proponowany skład jonu.

Bardziej skomplikowaną strukturę ma kompleks kobaltu z dużym ligandem, zawierającym w cząsteczce pięć pierścieni heterocyklicznych z donorowymi atomami azotu. Rysunek 18 przedstawia proponowaną strukturę kompleksu, w którym cztery cząsteczki ligandu, 4,6-bis((5''-metylo)-2'',2''-bipiryd-6'-ylo)-2-fenylopirymidyny, łączą się z czterema kationami Co^{2+} , tworząc strukturę

kratkową [2x2], a ładunek (8+) równoważy osiem przeciwjonów PF_6^- .



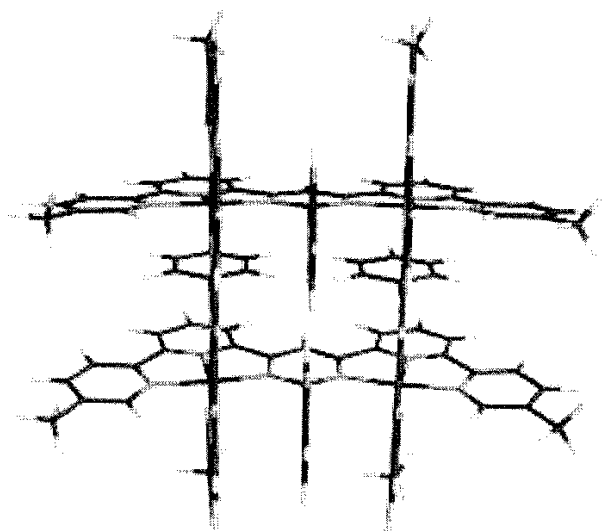
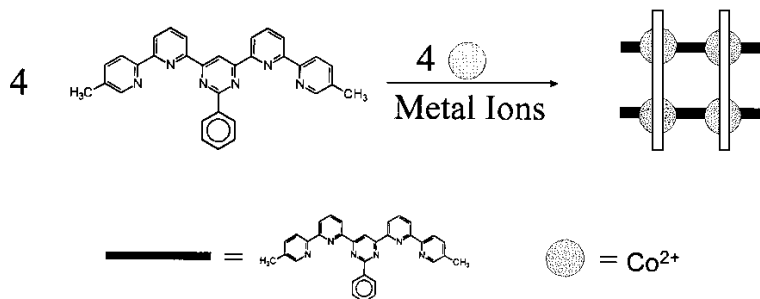
Rysunek 17. Widmo MALDI-TOF kompleksu Hg(II) z 5,5'-dimetyloterpirydyną; matryca – ditranol²¹.

Widmo MALDI tego kompleksu wykazuje sześć intensywnych pików, odległych kolejno o 145 Da, tj. masę PF_6^- . Masy jonów, odpowiadających tym sygnałom, wskazują na kompleks [2x2] zawierający metaloorganiczny układ kratowy oraz od 0 do 5 przeciwjonów. Najwyższy sygnał w widmie MALDI (Rys. 19) odpowiada składowi $\text{C}_{128}\text{H}_{96}\text{F}_{24}\text{Co}_4\text{N}_{24}\text{P}_3$, m/z 2640,5, tj. całemu nienaruszonemu rdzeniowi metaloorganicznemu z trzema przeciwjonami; rozkład izotopowy eksperymentalny i teoretyczny pokazano w widmie. Na widmie nie widać jonu molekularnego całego kompleksu (bez fragmentacji), który powinien mieć masę 3366 Da ($[(\text{ligand})_4\text{Co}_4(\text{PF}_6)_8]$), ale stopniowa utrata kolejnych przeciwjonów aż do 0 stanowi wystarczający „odcisk palca” badanego układu supramolekularnego. Dodatkowym dowodem, potwierdzającym budowę kompleksu, jest porównanie profili izotopowych otrzymanych sygnałów z teoretycznymi, wykazującymi wysoką zgodność.

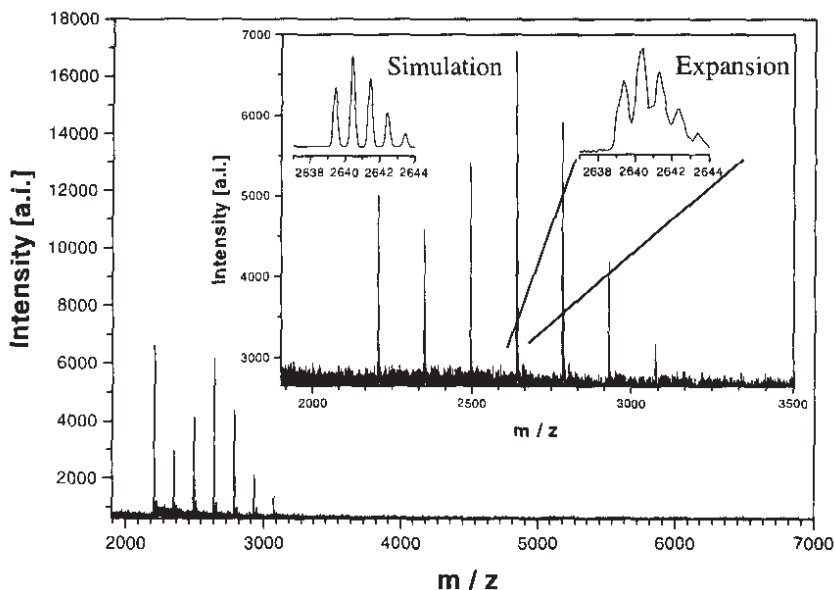
Matryce kwasowe, stosowane często w MALDI, jak kwas 2,5-dihydroksybenzoesowy (DHB) czy kwas synapinowy (SA), okazały się nieprzydatne dla połączeń tego typu. Dobre wyniki uzyskano przy zastosowaniu ditranolu (DIT) jako matrycy oraz acetonu jako rozpuszczalnika.

Pozostaje niewyjaśnione, dlaczego obserwowane w widmie MALDI jony,

zawierające centrum metaloorganiczne i różne ilości przeciwnionów, mają zawsze ładunek +1, niezależnie od ilości grup PF_6^- . Zjawisko to jest często obserwowane w widmach masowych z jonizacją przez desorpcję laserową.



Rysunek 18. Schemat tworzenia kompleksu $[2 \times 2]$ przez 4 cząsteczki 4,6-bis((5''-metylo)-2'',2'-bipiryd-6''-ylo)-2-fenylopirymidyny z czterema kationami Co^{2+} oraz model prętowy tego kompleksu²¹.



Rysunek 19. Widmo MALDI-TOF kompleksu $[2 \times 2]$ Co(II) z 4,6-bis((5''-metylo)-2'',2'-bipiryd-6'-ylo)-2-fenylpirymidyną; matryca – ditranol²¹.

Fulereny

Wraz z rozwojem nanotechnologii ważnymi blokami budulcowymi struktur supramolekularnych stały się fulereny. Sferyczny rdzeń fulerenu stanowi unikalną cechę budowy geometrycznej, która otwiera możliwość tworzenia trójwymiarowych układów o zaprojektowanej, „szytej na miarę” architekturze. Szczególne znaczenie mają modyfikowane fulereny amfifilowe, w których hydrofobowe centrum stanowi rdzeń węglowy C_{60} , a przyłączone podstawniki mają charakter hydrofilowy. Połączenia tego typu są zdolne do tworzenia trwałych monocząsteczkowych warstw Langmuira-Blodgeta^{22, 23} oraz budzą zainteresowanie jako potencjalne biosensory.

Analiza derywatyzowanych fulerenów wymaga nowych metod analitycznych, gdyż większość tych związków to labilne termicznie ciała stałe o dość małej prężności par. Konwencjonalne metody spektrometrii mas, które wymagają ogrzewania, aby przeprowadzić cząsteczki badane w stan pary, prowadzą łatwo do rozkładu tych substancji. Łagodne przeniesienie analitu fulerenowego do fazy gazowej zapewniają jedynie najbardziej „miękkie” metody jonizacji, jak elektrorozpylanie (ang. electrospray, ESI), nanospray²⁴ lub

MALDI. Przy zastosowaniu do analizy fulerenów MALDI MS konieczne jest dobranie odpowiedniej matrycy, co jest przedmiotem wielu eksperymentów^{25, 26}.

Interesujące jest w jaki sposób zachodzi jonizacja fulerenów w MALDI i która metoda jonizacji jest preferowana. Postuluje się, że możliwe są trzy drogi uzyskania jonów modyfikowanych fulerenów w MALDI MS:

- transfer elektronów, prowadzący do utworzenia dodatnich lub/i ujemnych jonów molekularnych (kationo- bądź aniono-rodników), zachodzący często dla organicznych pochodnych fulerenów;
- transfer protonu, prowadzący do jonów protonowanych $[M+H]^+$ lub deprotonowanych $[M-H]^-$;
- przyłączenie jonu metalu, prowadzące do jonów kationizowanych metalem.

Wykazano eksperymentalnie, że przyłączenie kationu metalu do amfifilowych fulerenów skutecznie konkuruje z jonizacją poprzez transfer protonu, nawet, gdy do próbki nie dodaje się w sposób celowy soli metalu²⁷.

Kationizacja przez przyłączenie jonu metalu do analitu jest też powszechnie stosowaną (i często jedyną) metodą otrzymania jonów polimerów i dendrymerów podczas analizy w MALDI MS²⁸, dlatego też zagadnienie przyłączania się kationów metalu do cząsteczek w fazie gazowej i preferencje ich kompleksowania są niezwykle ważne dla analityki wielu substancji wielkocząsteczkowych.

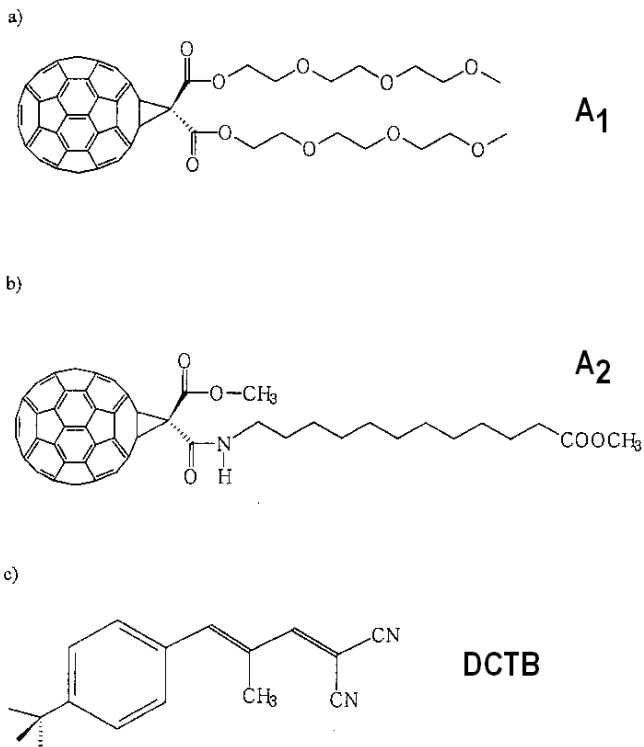
Zbadano²⁹ przyłączanie się kationów metali alkalicznych do derywatyzowanych, amfifilowych fulerenów, których struktury przedstawiono na rysunku 20. Wyniki wskazują, że kationy metalu przyłączają się chętniej do podstawnika organicznego niż do rdzenia węglowego fulerenu, a budowa tego podstawnika ma kluczowe znaczenie dla tworzenia kompleksu metal-ligand. Tworzenie się jonów przez przyłączenie kationu metalu jest energetycznie korzystniejsze od jonizacji przez przeniesienie protonu.

Widma MALDI MS dla związku A_1 (wzór – Rys. 20) w obecności soli poszczególnych metali alkalicznych przedstawia Rys. 21. Wszystkie kationy metali alkalicznych tworzą kompleks z pochodną fulerenu A_1 , a zdolność kompleksowania rośnie ze zmniejszaniem się rozmiaru jonu metalu. Szereg zdolności kompleksującej jonów litowców względem fulerenu A_1 można zapisać jako:

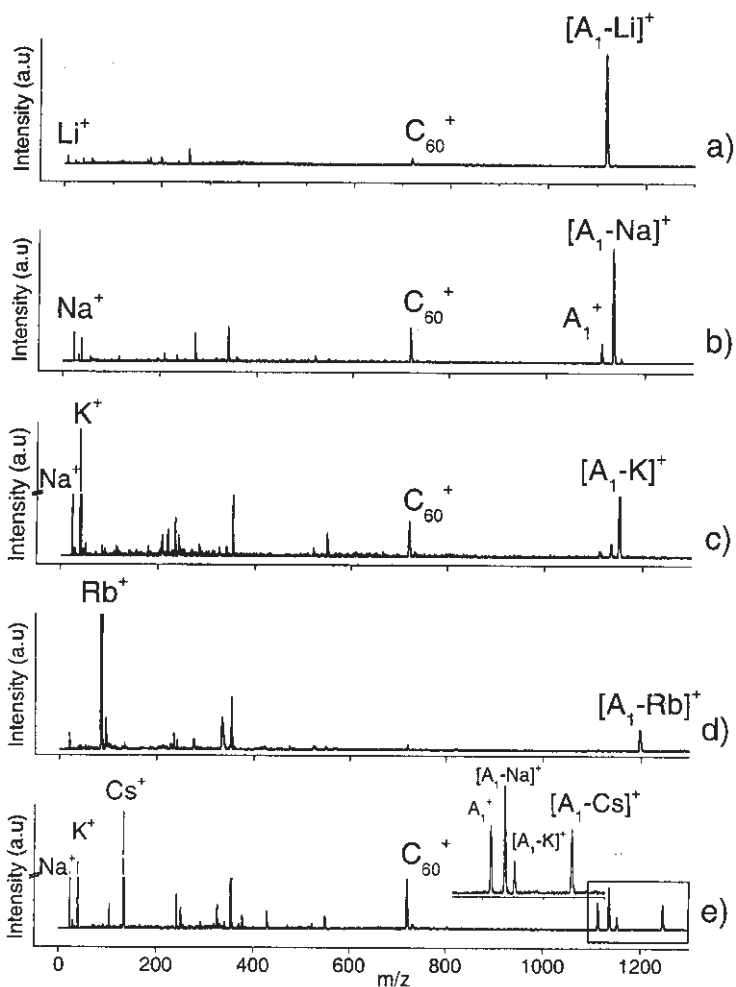


Taką kolejność można wyjaśnić zmianą gęstości ładunku elektrycznego z rozmiarem jonu, tym samym zmianą zdolności do polaryzacji i oddziaływania elektrostatycznego z heteroatomami ligandu. Co ciekawe, często na widmie widoczny jest kompleks analitu z kationem, który nie był celowo wprowadzony, np. zamierzonemu kompleksowi sodu towarzyszy kompleks potasu (Rys.

21b) i odwrotnie, oczekiwanemu tworzeniu kompleksu z potasem towarzyszy konkurencyjne kompleksowanie jonu Na (Rys. 21 c). Najsilniej widać ten efekt w przypadku soli cezu (Rys. 21e), gdzie oprócz kompleksu $[A_1Cs]^+$ widać intensywne jony $[A_1Na]^+$ i $[A_1K]^+$. Wynika to prawdopodobnie z wielkiej powszechności jonów sodu i potasu, które mogą pochodzić z zanieczyszczenia soli metali, z rozpuszczalników albo z używanego sprzętu szklanego. Interesująca jest też obecność w większości widm (Rys. 21 a-e) jonu molekularnego analitu jako kationorodnika A_1^+ (jonu nieparzystoelektronowego). Jony te powstają wskutek transferu elektronu, zapewne z udziałem jonów matrycy (gdyż transfer ładunku za pośrednictwem kationów metalu jest mało prawdopodobny), jako konkurencyjne wobec jonów kationizowanych litowcem.



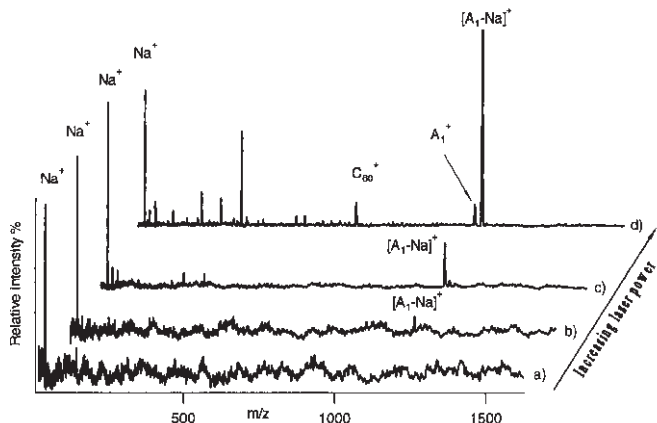
Rysunek 20. Struktura amfifilowych pochodnych fulerenów: a) z grupami estrowymi, pochodnymi malonianu di(polioksaetylenowego) ($M = 1114 \text{ g/mol}$) – A_1 ; b) z grupą amidową i dwiema grupami estru metylowego ($m = 1047 \text{ g/mol}$) – A_2 , c) Matryca, DCTB ($M = 250 \text{ g/mol}$)²⁹.



Rysunek 21. Widma MALDI związku A_p , otrzymane po naniesieniu analitu i matrycy na warstwy różnych chlorków metali alkalicznych: a) LiCl ; b) NaCl ; c) KCl ; d) RbCl ; e) CsCl .²⁹

Rysunek 22 pokazuje wpływ energii lasera na pojawianie się poszczególnych jonów: pierwszym obserwowanym jonem jest kation Na^+ , następnie przy nieco wyższej fluencji lasera pojawia się kompleks analitu z sodem $[\text{A}_1\text{Na}]^+$ przy m/z 1137), a jego intensywność rośnie przy dalszym wzroście energii promieniowania.

Przy jeszcze wyższej energii lasera pojawia się jon molekularny analitu A_1^+ . Powodem tych różnic jest stopniowa desorpcja jonów z próbki, rosnąca wraz z czasem naświetlania.



Rysunek 22. Widma MALDI analitu A_1 z matrycą DCTB (1:1000) po naniesieniu na wierzch warstwy NaBr, zapisane przy rosnącej energii lasera (a-d). Wszystkie widma znormalizowano wg odpowiedniego piku podstawowego.²⁹

Badano konkurencyjność kompleksowania danego analitu przez jony metali alkalicznych, wprowadzając jony w równomolowych ilościach poszczególnych soli metali, w nadmiarze do analitu, jako dolną warstwę na płytce MALDI. Oprócz jonów kompleksów analit-metal obserwowano też w widmach jony samych litowców (Rys. 23). Względne abundancje tych „nagich” jonów miały w kolejności:



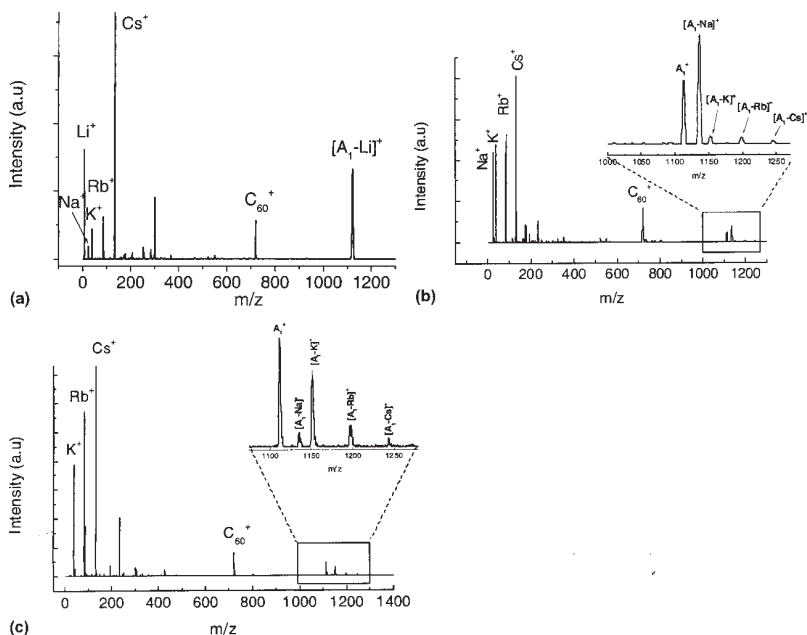
tj. zgodnie z oczekiwaniem, wg rosnącej energii sieci krystalicznej – za wyjątkiem litu, który stanowi odstępstwo od reguły, prawdopodobnie ze względu na jego dużą higroskopijność. Im większy kation, tym mniejsza energia sieci krystalicznej i łatwiej jest uwolnić ten kation z kryształu. W przypadku litu (o dużej energii sieci krystalicznej) kryształ ulega hydratacji, a energia, potrzebna do uwolnienia kationu z hydratowanej warstwy krystalicznej jest niższa niż z kryształu niehydratowanego.

Preferencje kompleksowania derywatyzowanego fulerenu przez kationy metali alkalicznych widać wyraźnie na widmach MALDI na Rys. 23 a-c. W obecności wszystkich litowców od Li^+ do Cs^+ dominuje przyłączanie kationów litu (na widmie – Rys. 23a - widać bardzo intensywny jon $[A_1Li]^+$, a prawie nie

widąc adduktów innych litowców). Po wyeliminowaniu jonów litu (Rys. 23b) widoczne są jony kompleksowe z kationami od Na⁺ do Cs⁺, a ich intensywność maleje w kolejności od sodu do cezu. Przy użyciu tylko chlorków potasu, rubidu i cezu w równomolowych ilościach (Rys. 23 c), przyłączanie kationu zachodzi najintensywniej dla K⁺, słabiej dla Rb⁺, a najslabiej dla Cs⁺. Analogiczne wyniki uzyskano dla drugiego fulerenu (analitu A₂ z Rys. 17). Można więc zapisać następujący szereg reaktywności jonów metali alkalicznych względem analitów fulerenowych, równoznaczny z szeregiem intensywności kompleksowania:



Łatwo zauważyć, że (poczynając od Na a kończąc na Cs, tj. z wyjątkiem litu) szereg intensywności jonów kompleksów analit-metal układu się przeciwnie, niż szereg intensywności dla kationów samych metali (przykładowo Rys. 23b). Oznacza to, że efektywność przyłączania kationu do pochodnej fulerenu w fazie gazowej nie jest proporcjonalna do stężenia jonu metalu.



Rysunek 23. Widma MALDI analitu A₁ z równomolowymi mieszaninami chlorków metali alkalicznych. Jony metali wprowadzone w postaci warstwy soli: (a) kationy wszystkich litowców od Li⁺ do Cs⁺, (b) Na⁺ do Cs⁺ (bez Li⁺), (c) K⁺ do Cs⁺ (bez Li⁺ i Na⁺).

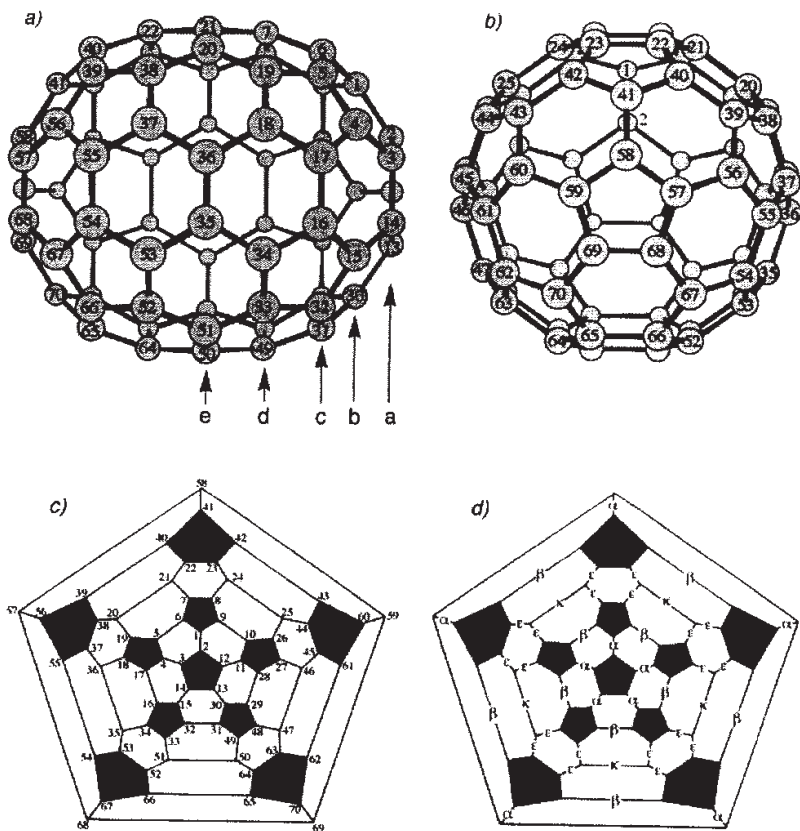
Podobną obserwację zrobiono podczas analizy MALDI MS dendrymerów, gdzie nawet minimalne zanieczyszczenia jonami metali prowadziły do intensywnego tworzenia kompleksów³⁰. Ogólnie, czynnikami wpływającymi najsilniej na efektywność przyłączania kationów są: powinowactwo kationu do analitu, gęstość ładunku jonu metalu i jego zdolność polaryzowania na zasadzie oddziaływań elektrostatycznych. Działanie tych czynników może się różnić w gazie gazowej i w roztworze, gdzie duże znaczenie ma solwatacja jonów.

Wpływ na efektywność kompleksowania ma też budowa ligandu (polioksaetylenowe kompleksy lepiej niż amidowe) oraz rodzaj przeciwjonu (im mniejszy przeciwjon, tym gorsze kompleksowanie kationu; podobny efekt występuje w przypadku kationizowania polimerów³¹).

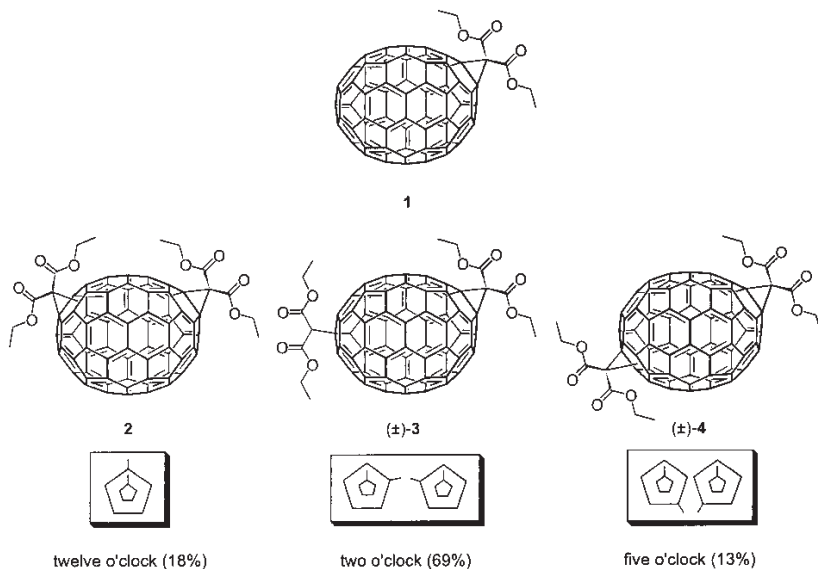
Oprócz najbardziej znanych fulerenów C_{60} , zainteresowanie budzą też fulereny C_{70} , nie tak symetryczne, o kształcie spłaszczonej kuli. W tym wypadku mamy do czynienia z kilkoma typami atomów węgla (Rys. 24) i kilkoma rodzajami wiązań C-C, różniącymi się długością i stopniem naprężenia, a tym samym reaktywnością. Inaczej reagują atomy węgla w pozycji „biegunowej”, inaczej w pozycji „równikowej”, a jeszcze inaczej w pozycjach pośrednich, co stwarza możliwości selektywnej modyfikacji chemicznej tych cząsteczek. Wśród użytecznych reakcji, stosowanych do funkcjonalizacji fulerenów C_{70} należy wymienić przede wszystkim cyklopropanację Bingela[□].

Modyfikacja fulerenu C_{70} pochodnymi malonianu dietylu prowadzi do otrzymania szeregu adduktów (Rys. 25), mono i di podstawionych, często izomerycznych³³. Z uzyskanych mieszanin izomerów izoluje się pojedyncze związki metodą rozdzielania chromatograficznego, np. preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej, uzyskując najczęściej bardzo małe ilości czystych produktów, co utrudnia ich identyfikację. Wówczas nieocenione są metody MS, umożliwiające otrzymanie widma ze śladowych ilości próbki.

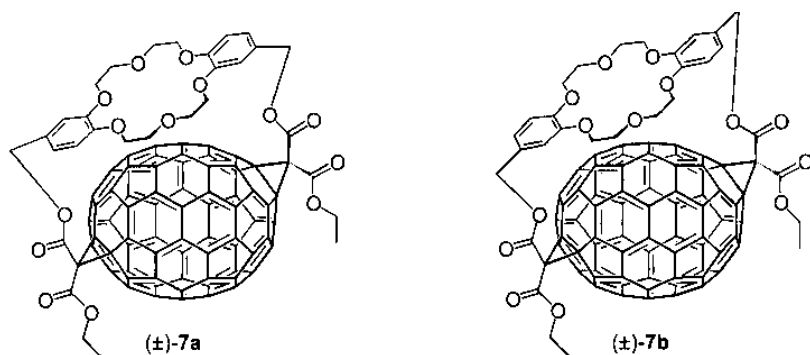
Otrzymano pochodne C_{70} , sfunekjonalizowane pochodnymi malonianu, powiązane z eterami koronowymi (rys. 25), co doprowadziło do uzyskania ciekawych jonoforów i cząsteczek-gości. Tożsamość izomerycznych adduktów C_{70} **7a** i **7b** (Rys. 26) oraz ich dokładną masę ustalono za pomocą wysokorozdzielczej spektrometrii mas MALDI-TOF, która wykazała dla obu związków kompleks jonu molekularnego z Na^+ jako pik przy m/z 1507,1950 ($[M+Na]^+$, $C_{102}H_{36}NaO_{14}$; masa obliczona 1507,1997). W wielu wypadkach MALDI-MS i spektroskopia UV były głównymi źródłami informacji o otrzymanych połączeniach C_{70} z uwagi na wyjątkowo małe ilości analitu i niską konsumpcję próbki w wymienionych metodach spektralnych.



Rysunek 24. Fuleren C_{70} : a) widok prostopadły do osi symetrii C_5 , wskazujący pięć typów atomów C (a, b, c, d, e); b) widok wzdłuż osi symetrii C_5 ; c) i d) diagramy Schlegela, wskazujące: numerację atomów węgla (c) i cztery różne typy wiązań 6-6, α , β , ϵ i κ (d)³³.



Rysunek 25. Mono(**1**) –i regioizomeryczne bis-addukty **2**, (\pm)-**3** i (\pm)-**4**, otrzymane w toku cyklopropanacji Bingela C_{70} .³³



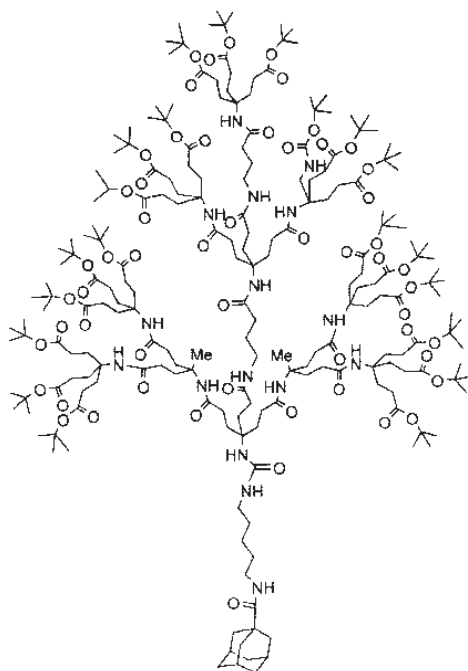
Rysunek 26. Dwie diastereoizomeryczne pary enancjomerów: połączeń C_{70} bis-malonianową pochodną dibenzo-eteru koronowego DB18C6³³.

Za pomocą spektrometrii mas z jonizacją MALDI badano również inne,

wysoko sfunkcjonalizowane pochodne fulerenów, w tym C_{70} połączone z dwoma mostkami, zawierającymi eter koronowy, działające jako selektywne jonofory.

Dendrymery

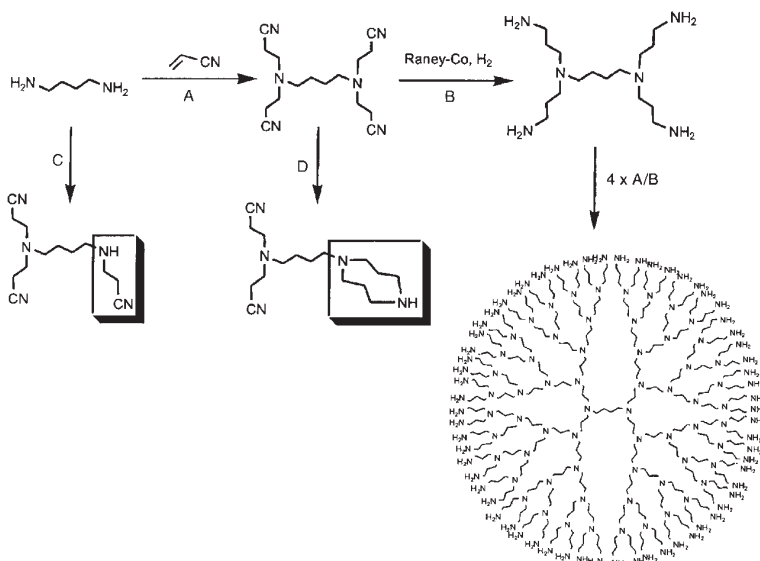
Dendrymery (gr. *dendron* – drzewo) są to związki organiczne o regularnej, rozgałęzionej budowie, otrzymywane przez kolejne sekwencje przyłączania powtarzających się podjednostek, merów. Swoją nazwę zawdzięczają podobieństwu do drzewa (gałęzie, wzrost, często kształt). Przykład dendrymeru o budowie drzewka przedstawia rysunek 27.



Rysunek 27. Przykład dendrymeru w kształcie drzewka, otrzymanego na bazie adamantanu, modyfikowanego rozgałęzionymi amidami³⁴

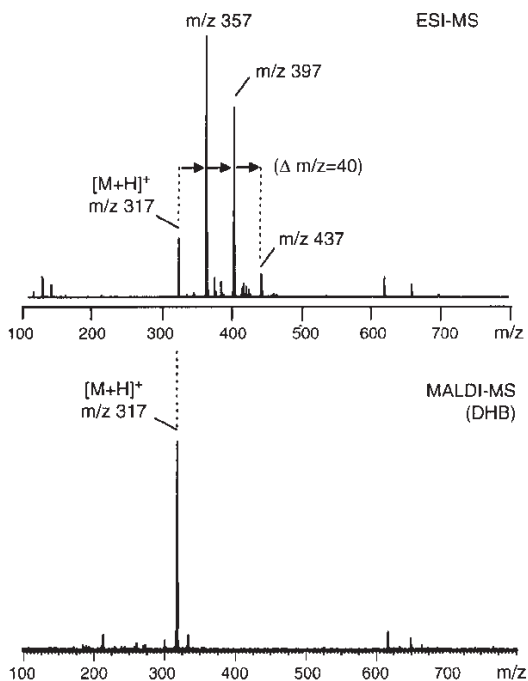
Budowa dendrymerów jest niekiedy porównywana do cebuli^{35,36} gdyż związki te posiadają jednostki, układające się w kolejne warstwy, tzw. generacje, wokół rdzenia. Kolejne generacje dendrymeru oznaczają się literą G z odpowiednią cyfrą (np. G1- pierwsza generacja). Ilość rozgałęzień i masa dendrymeru rosną

wykładniczo ze wzrostem ilości generacji. Spektrometria mas jest dobrym narzędziem do badania rozmiaru i budowy dendrymerów. Za pomocą MALDI MS otrzymuje się dość łatwo protonowane jony dendrymerów^{37,38} o wysokiej intensywności. W literaturze można znaleźć wiele przykładów badania ich struktury przy użyciu jonizacji/desorpcji laserowej^{39,40,41,42,43,44}. Ta metoda jonizacji jest stosowana do ustalenia masy dendrymerów, ich czystości i stopnia sfunkcjonalizowania oraz do wykrywania defektów w ich budowie. Interesująca praca Schalleya i współpracowników³⁶ pozwoliła nie tylko na prześledzenie przy użyciu spektrometrii mas, jakie defekty powstają w czasie syntezy dendrymerów polipropylenoaminowych (POPAM) i ich analogów z peryferyjnymi grupami sulfonamidowymi (ang. *sulfonamide-terminated POPAM dendrimers*), ale też na ciekawe wnioski ogólne, dotyczące wad i zalet dwu powszechnie stosowanych metod miękkiej jonizacji MS, tj. jonizacji przez elektrorozpylanie i jonizacji MALDI. Dendrymery POPAM, drogę ich syntezy (addycja Michaela diaminy do akrylonitrylu z następującą redukcją grup nitrylowych do aminowych) i potencjalne defekty struktury, jak brak niektórych gałęzi lub zamykanie się dwóch podstawników na końcach z utworzeniem cyklicznej aminy, przedstawiono na rysunku 28.



Rysunek 28. Tworzenie dendrymeru polipropylenoaminowego (POPAM) i potencjalne defekty w jego strukturze³⁶.

Często się zdarza, że widma masowe uzyskane w ESI i w MALDI różnią się, gdyż niektóre tylko jony powtarzają się w obu widmach, inne uzyskuje się tylko w jednej z tych technik, a w drugiej nie (Rys. 29). Zachodzi pytanie, które widmo lepiej odzwierciedla stan faktyczny, a które zawiera artefakty i czym to jest spowodowane. Rysunek 29 przedstawia widma ESI i MALDI (matryca: DHB) w trybie dodatnim tego samego dendrymeru POPAM. Widmo ESI, otrzymane z roztworu metanolu z dodatkiem 1% CH_3COOH , pokazuje jon protonowanego dendrymeru $[\text{M}+\text{H}]^+$ o małej intensywności i szereg intensywniejszych jonów, różniących się masą o 40 Da, tj. o powtarzalną jednostkę C_3H_4 . Sugeruje to, że do dendrymeru o oczekiwanej strukturze dobudowały się dodatkowe podstawniki propenowe (poprzez podstawienie terminalnych grup aminowych $-\text{NH}_2$ z utworzeniem grup iminowych $\text{N}=\text{CHCH}_2\text{CH}_3$, Rys. 30), jednak widmo MALDI nie potwierdza tej sugestii, ponieważ zawiera ono pojedynczy jon pseudomolekularny $[\text{M}+\text{H}]^+$ (oprócz bardzo mało intensywnych jonów tła).



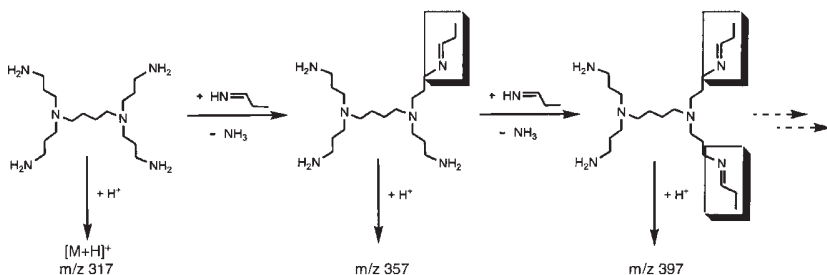
Rysunek 29. Widmo ESI (góra), wykazujące serię równoodległych sygnałów ($\Delta m/z = 40$) i MALDI (matryca DHB, dół), wykazujące tylko oczekiwany sygnał przy m/z 317, $[\text{M}+\text{H}]^+$ dla generacji G1 dendrymeru POPAM w trybie jonów dodatnich³⁶.

Dla dalszego wyjaśnienia większej ilości jonów w widmie ESI wykonano szereg pomiarów widm masowych drugiej generacji (G2) dendrymeru POPAM o oczekiwanej masie jonu $[M+H]^+$ 774 Da w różnych warunkach (Rys. 31), tj. z dwóch różnych próbek (Rys. 31 a i b), po mieszanii próbki z wodą w celu zhydrolizowania grup iminowych (Rys. 31 c) i po celowym dodaniu aldehydu propionowego do próbki dendrymeru, by spowodować utworzenie iminy (Rys. 31 d). Widma te porównano z widmami MALDI (Rys. 31 e), które wykazywały obecność tylko jednego sygnału, odpowiadającego jonowi $[M+H]^+$ 774 Da.

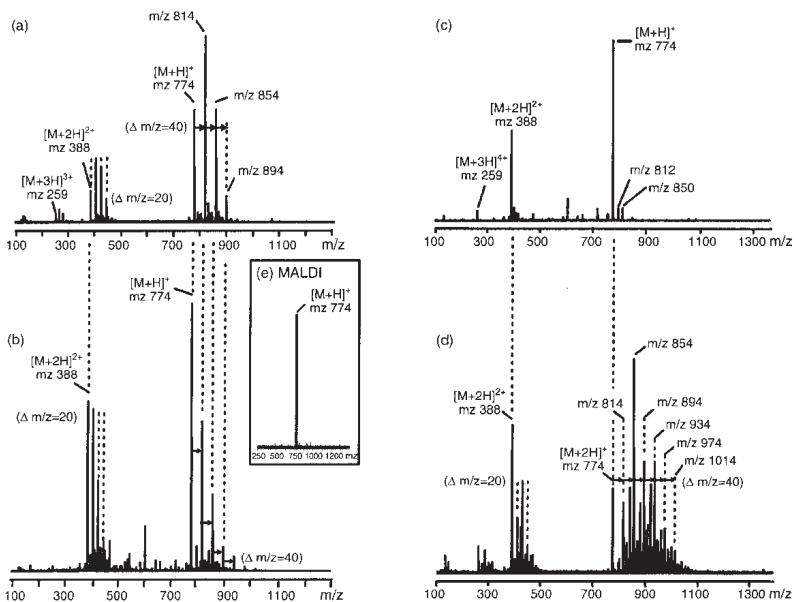
Na podstawie widma Rys. 31 a-d można wnioskować, że:

- widma ESI z dwóch różnych pobrań tej samej próbki różnią się znacznie rozkładem intensywności jonów, co świadczy o słabej powtarzalności metody;
- mieszanie z próbki z wodą prowadzi do zaniku jonów $[M+H+n\cdot 40]^+$, a dodanie do próbki aldehydu propionowego generuje serię jonów, różniących się o 40 Da, co oznacza że przypisanie ich sygnałów obecności grup iminowych jest poprawne.

Sprawdzający pomiar $^1\text{H NMR}$ nie wykazał jednak obecności w widmie protonów iminowych ani końcowych grup metylowych, niezależnie od generacji badanego dendrymeru. Należy więc sądzić, że próbki nie zawierały znaczącej ilości dendrymerów z iminowymi grupami terminalnymi, a jedynie ilości śladowe.

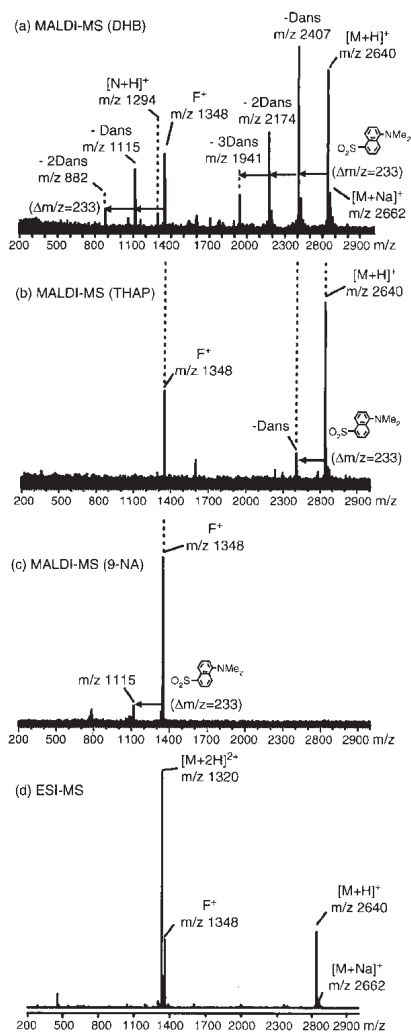


Rysunek 30. Proponowany schemat powstawania „defektu iminowego” w dendrymerze PAPAM G1 oraz masy tworzonych jonów³⁶.



Rysunek 31. Widma ESI: (a) i (b) dwóch różnych wsadów dendrymeru POPAM G2, wykazujące znaczne różnice w intensywnościach jonów; (c) próbki mieszanej z wodą przez kilka minut, (d) próbki po dodaniu aldehydu propionowego. Inset (e): odpowiadające poprzednim widmo MALDI, nie wykazujące sygnału od dendrymeru z defektem³⁶.

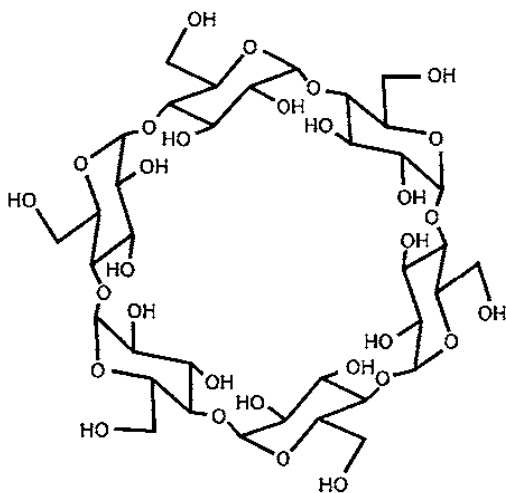
Wniosek końcowy z porównania wyników ESI i MALDI jest taki, że widma z jonizacją MALDI przedstawiają bardziej realistyczny obraz czystości dendrymerów POPAM, podczas gdy ESI prowadzi do przesadnego oszacowania ilości dendrymeru z defektem iminowym. Nie jest to jednak wniosek ogólny, dowodzący wyższości MALDI nad ESI, gdyż w przypadku dendrymerów z grupami sulfonamidowymi, np. dansyłowymi grupami terminalnymi, widmo MALDI pokazuje zafałszowany obraz dendrymeru, co jest skutkiem intensywnej fragmentacji w warunkach jonizacji laserowej. Istotnym czynnikiem jest również oddziaływanie analitu z matrycą, a więc konieczne jest sprawdzenie zachowania się analitu przy użyciu kilku różnych matryc. Wpływ matrycy na widmo MALDI perdansylowanego dendrymeru POPAM G2 ($[M+H]^+$ m/z 2640) oraz porównanie z widmem ESI tego samego związku przedstawia Rysunek 32.



Rysunek 32. Wpływ matrycy o różnej kwasowości na widmo MALDI-MS perdansylowanego dendrymeru POPAM G2. (a) Kwas 2,5-dihydroksybenzoesowy (DBA) prowokuje utratę kolejnych grup dansylowych znacznie silniej niż (b) 2,4,6-trihydroksyacetonfenon (THAP); (c) 9-nitroantracen stymuluje fragmentację do jonu F^+ ; jon macierzysty niewidoczny; (d) porównawcze widmo ESI potwierdza czystość dendrymeru – widoczne tylko jony: pseudomolekularny $[M+H]^+$, dwukrotnie naładowany $[M+2H]^{2+}$, sodowany $[M+Na]^+$ i fragmentaryczny F^+ .³⁶

Cyklodekstryny

Cyklodekstryny (CD) są cyklicznymi oligosacharydami, zawierającymi jednostki α -D-glukozy, połączone wiązaniami 1-4. Najpospoliciej występujące cyklodekstryny to formy oznaczane kolejnymi literami alfabetu greckiego, tj. α (Rys. 37), β i γ , zawierające odpowiednio sześć (cyklomaltoheksaozy), siedem (cyklomaltoheptaozy) i osiem (cyklomaltoooktaozy) jednostek glukozowych. Tworzą one toroidalne struktury o różnej średnicy, posiadające niepolarną wnękę, zawierającą wewnątrz drugorzędowe grupy hydroksylowe, podczas gdy pierwszorzędowe grupy OH są rozlokowane na zewnątrz. Cyklodekstryny mają zdolność przyjmowania do środka wnęki różnych cząsteczek–gości, których średnica i kształt są odpowiednie do rozmiarów wnęki. Tworzą w ten sposób kompleksy inkluzyjne, powiązane za pomocą słabych oddziaływań, m. in. wiązań wodorowych, sił van der Waalsa lub/i oddziaływań hydrofobowych. Kompleksy cyklodekstryn są analizowane przy pomocy rozmaitych metod analitycznych, wśród których poczesne miejsce zajmuje spektrometria mas.

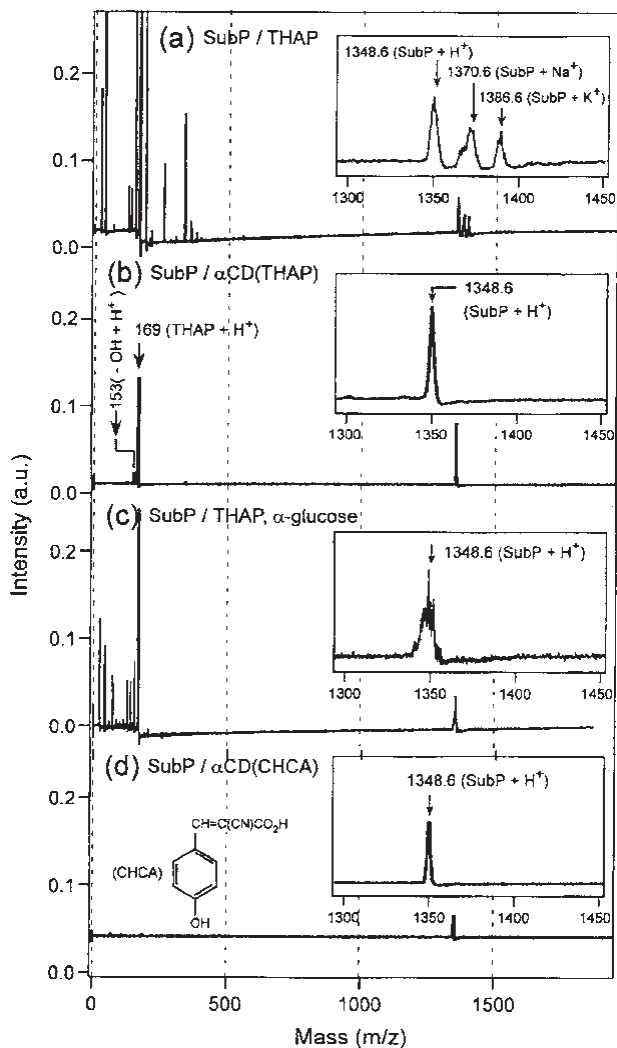


Rysunek 37. Struktura α -cyklodekstryny.

W ciągu ostatnich kilkunastu lat ukazało się bardzo wiele prac, wiążących spektrometrię mas z jonizacją przez desorpcję laserową z analityką cyklodekstryn^{45, 46, 47} i ich kompleksów typu gość-gospodarz, jak też proponujących zastosowanie cyklodekstryn jako substancji pomocniczych, eliminujących jony tła i matrycy podczas pomiarów MALDI. Zagadnienie jest

tak szerokie, że przytoczyć tu można jedynie wybrane przykłady.

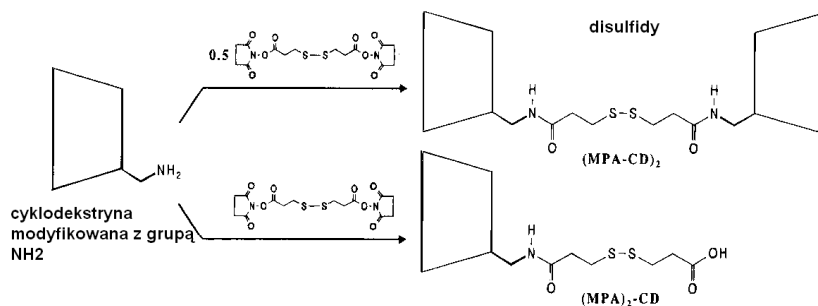
Widma MALDI, mierzone po dodaniu α -cyklodekstryny do matrycy (przy użyciu typowych matryc organicznych, jak CHCA, tj. kwasu α -cyjano-4-hydroksycynamonowego lub THAP czyli 2,4,6-trihydroksyaceto-fenonu) wykazują supresję jonów matrycy w widmie, zarówno pod względem intensywności, jak i fragmentacji⁴⁸. Cyklodekstryna działa tu jako cząsteczka gospodarza dla matrycy, co umożliwia pomiar widma masowego bez interferencji (Rys. 38). Taki układ można uznać za nowy typ matrycy MALDI – „matrycę wspomaganą cyklodekstryną”. Rysunek 38 obrazuje efekty zastosowania α -cyklodekstryny, oznaczanej dalej „ α -CD”, jako dodatku do matrycy na przykładzie pomiarów dla modelowego peptydu, zwanego substancją P (oznaczonego na widmie jako SubP): Rys. 38(a) przedstawia widmo SubP w standardowych warunkach z matrycą THAP (2,4,6-trihydroksyaceto-fenon) bez dodatku cyklodekstryny; widoczne nie tylko jony pseudomolekularne SubP: protonowany, sodowany i potasowany (powiększenie zakresu 1300-1450 Da), ale i obfitość sygnałów w rejonie <500Da (piki matrycy i fragmentów). Po dodaniu do matrycy α -CD (Rys. 38b) uzyskuje się widmo „oczyszczone” z jonów fragmentarycznych i klasterów lub/i fragmentów matrycy, widoczne są jedynie jony protonowane analitu [SubP+H]⁺ i matrycy [THAP+H]⁺. Takiej redukcji zbędnych pików w widmie MALDI nie osiągnięto przy zastosowaniu α -glukozy zamiast cyklodekstryny (mimo, że glukozę wprowadzono do THAP w stosunku 1:6, by imitować obecność α -CD, która składa się z 6 cząsteczek glukozy; tu jednak widać intensywną fragmentację matrycy THAP – Rys. 38c). Można wnioskować, że to oddziaływanie gość-gospodarz matrycy z cyklodekstryną ma kluczowe znaczenie dla klarowności widma. Aby sprawdzić, czy ten efekt zachodzi też dla innych matryc niż THAP, przeprowadzono próbę z CHCA w obecności α -CD (Rys. 38d), otrzymując widmo, oczyszczone całkowicie z jonów matrycy.



Rysunek 38. (a) Widmo MALDI SubP/THAP; (b) widmo MALDI SubP/ α CD(THAP) - widoczne tylko cząsteczki protonowane SubP oraz cząsteczki matrycy [THAP+H]⁺; (c) widmo MALDI SubP z użyciem THAP jako matrycy i α -glukozy jako ko-matrycy (1:6); (d) widmo MALDI SubP/ α CD(CHCA) - widoczny zupełny zanik sygnałów, pochodzących od matrycy.⁴⁸

Spektrometria mas z jonizacją MALDI posłużyła do scharakteryzowania monowarstw, zawierających cyklodekstryny, osadzonych na powierzchni złota⁴⁹. β -Cyklodekstryny zmodyfikowano, wprowadzając linker z grupą disulfidową, który umożliwił utworzenie monocząsteczkowej warstwy samoorganizującej się na powierzchni Au o wysokim stopniu upakowania. Reakcja obejmowała wymianę jednej z grup OH cyklodekstryny na grupę aminową (NH_2), a następnie sprzężenie tej amino pochodnej z kwasem ditiopropionowym, aktywowanym przez estryfikację N-hydroksylimidem bursztynowym. Zależnie od stosunku stechiometrycznego substratów (1:0,5 lub 1:1) uzyskano disulfid symetryczny, oznaczony $(\text{MPA-CD})_2$ lub niesymetryczny $(\text{MPA})_2\text{-CD}$, gdzie MPA oznacza kwas 3-merkaptopropionowy, $\text{HS-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$ (ang. *mercaptopropionic acid*, MPA) a CD – cyklodekstrynę. Wprowadzona grupa dystansująca zapewnia części cyklodekstrynowej wystarczającą swobodę w przestrzeni, aby utworzyć monowarstwę samoorganizującą na Au. Reakcję otrzymywania sfunkcjonalizowanej β -cyklodekstryny przedstawia Rysunek 39.

Wykazano za pomocą MALDI-MS i fotoelektronowej spektroskopii rentgenowskiej (ang. *X-ray photoelectron spectroscopy*, XPS), że modyfikowane cyklodekstryny ulegają chemisorpcji na złocie za pomocą wiązań Au-S. Wiąże się to z rozpadem wiązań disulfidowych i utworzeniem monowarstwy tioli na powierzchni złota. Analiza XPS potwierdziła brak mostków disiarczkowych po związaniu cząsteczek β -CD z powierzchnią.



Rysunek 39. Otrzymywanie disulfidów $(\text{MPA-CD})_2$ i $(\text{MPA})_2\text{-CD}$, zawierających reszty cyklodekstrynowe.⁴⁹

Analizę tiolowanych cyklodekstryn przy użyciu spektrometrii mas z jonizacją MALDI przeprowadzono (stosując jako matrycę kwas 2,5-dihydroksybenzoesowy, DHB) w trzech układach:

- a) na konwencjonalnej płytce stalowej, gdzie oba disulfidy – symetryczny

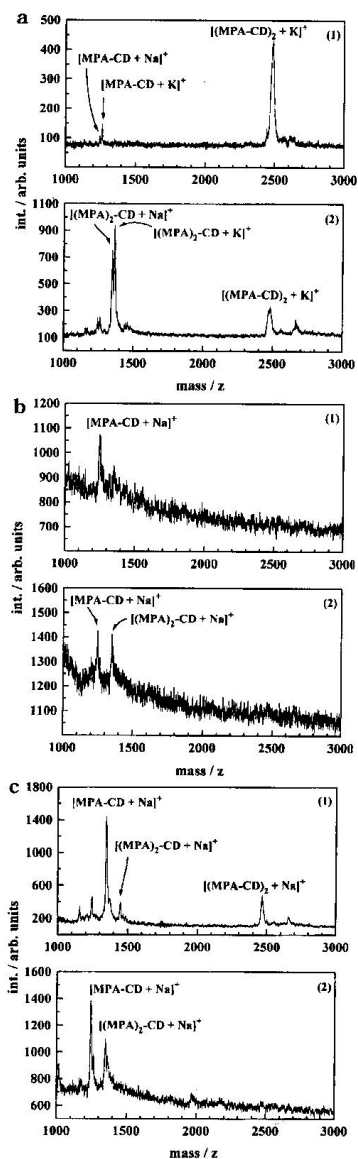
(MPA-CD)₂ i niesymetryczny (MPA)₂-CD – ulegają adsorpcji fizycznej do powierzchni stali – Rys. 40 a;

b) na płytce złotej, gdzie następuje chemisorpcja – Rys. 40b;

c) na płytce złotej, gdzie do chemisorbowanej monowarstwy SAM dodano kwasu 3-merkaptopropionowego, MPA – Rys. 40c.

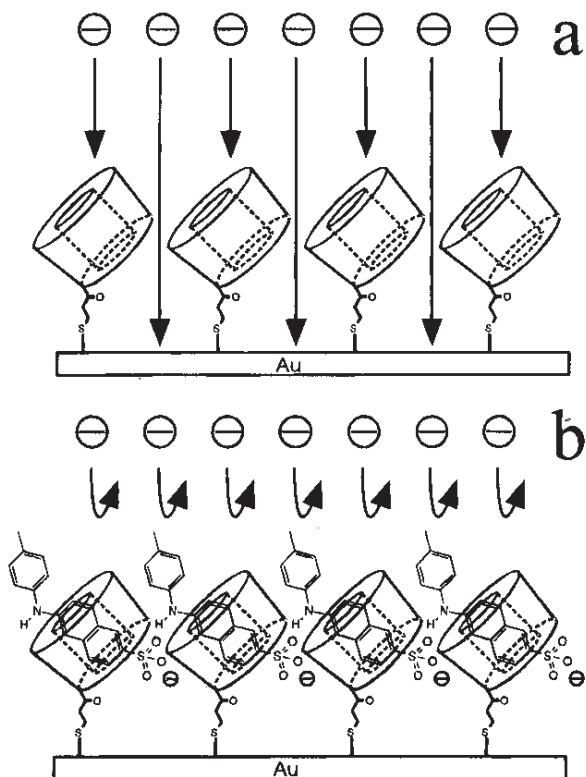
W każdym przypadku wykonano pomiar z użyciem symetrycznego disulfidu (MPA-CD)₂ - rys. 40 (1) a,b,c i z użyciem niesymetrycznego (MPA)₂-CD- rys. 40 (2) a,b,c.

W przypadku płytki stalowej jako sondy MALDI disulfidy ulegają fizysoorpcji i w widmie widzimy sygnały całych cząsteczek (MPA-CD)₂ i (MPA)₂-CD z kationem metalu alkalicznego (Na lub K). (Rys.40a 1 i 2). Odpowiednie widma w przypadku powierzchni złota zasadniczo się różnią: W widmie Rys.40b(1) widać sygnał chemisorbowanego tiolu [(MPA-CD) + Na]⁺ przy m/z 1245, a brak jest sygnału disulfidu [(MPA-CD)₂+Na]⁺ przy m/z 2465. Dowodzi to redukcji disulfidów czyli rozpadu mostków disiarczkowych i tworzenia monowarstw, złożonych wyłącznie z tioli (MPA-CD) w wypadku substratów symetrycznych (MPA-CD)₂ lub z tioli mieszanych (MPA-CD) i MPA w przypadku substratów asymetrycznych (MPA)₂-CD. Nie jest do końca wyjaśniona obecność w widmie Rys. 40b (2) sygnału asymetrycznego disulfidu (MPA)₂-CD; rozważa się możliwość rekombinacji pojedynczych tioli przy powierzchni złota pod działaniem lasera. Jednak wskutek silnego oddziaływania chemisorbowanych cząsteczek z powierzchnią intensywność sygnałów w widmach SAM na Au jest słaba. Można tę intensywność znacznie podwyższyć, dodając do wstępnie utworzonej monowarstwy dodatkowego czynnika tiolowego, mianowicie kwasu 3-merkaptopropionowego (MPA). Zakłada się, że MPA wypiera z powierzchni złota duże cząsteczki MPA-CD, przenosi je do warstwy matrycy i ułatwia ich desorpcję do fazy gazowej, co skutkuje polepszeniem jakości sygnału MALDI. Takie „przemieszczanie” zaadsorbowanych cząsteczek pod wpływem dodatkowego czynnika, dodawanego do roztworu matrycy, może być przyczynkiem do nowych aplikacji w spektrometrii mas monowarstw.



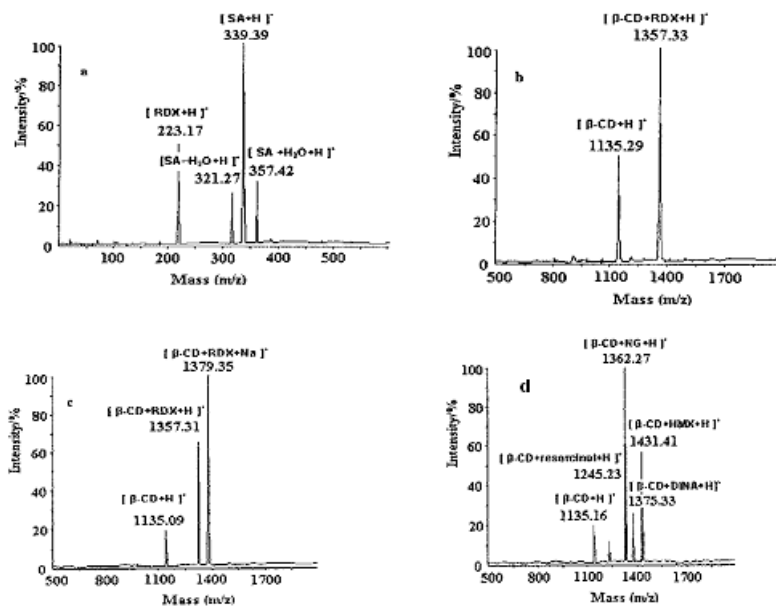
Rysunek 40. Widma MALDI-MS (1) $(MPA-CD)_2$ i $(MPA)_2-CD$ (2): (a) na powierzchni stali nierdzewnej; (b) na powierzchni Au po utworzeniu monowarstwy (chemisorpcji); (c) widmo monowarstwy tioli na powierzchni złota po dodaniu MPA.⁴⁹

Ciekawe zastosowanie monowarstw samoorganizujących, zawierających cyklodekstryny przedstawiono na rysunku 41. Elektrode złotą poddano pasywacji, pokrywając ją monowarstwą modyfikowanej cyklodekstryny, co sprawia, że penetracja anionów poprzez tę warstwę jest utrudniona i zachodzi jedynie w miejscach defektów w SAM, gdzie pokrycie jest niewystarczające (Rys. 41a). Po wprowadzeniu dodatkowej substancji – TNS (kwasu 2-(p-toluidynylo) naftaleno-6-sulfonowego) – związek ten tworzy kompleks inkluzyjny z cyklodekstryną w taki sposób, że pierścienie naftalenowe są w środku wnęki, a wystające na zewnątrz ujemnie naładowane grupy sulfonowe powodują zwiększone odpychanie anionów od powierzchni elektrody (Rys. 41b).



Rysunek 41. Prawdopodobny mechanizm pasywacji elektrody złotej pod wpływem (a) samej monowarstwy samoorganizującej, złożonej z modyfikowanej cyklodekstryny; (b) zwiększone odpychanie elektrostatyczne anionów po utworzeniu kompleksu gość-gospodarz kwasu sulfonowego z cyklodekstryną.⁴⁹

Zhang¹ i współpracownicy wykorzystali β -cyklodekstryny i ich zdolność do kompleksowania całych cząsteczek-gości do wyznaczania przy pomocy MALDI MS mas cząsteczkowych niskocząsteczkowych środków wybuchowych i miotających, zarówno składających się z pojedynczych substancji, jak i będących mieszaninami wieloskładnikowymi. Wśród badanych materiałów wybuchowych były: TNT, RDX, HMX, 2,3-DNT, 2,6-DNT, NTO i wiele innych. Związki te mają niskie indywidualne masy cząsteczkowe, co jest przeszkodą w badaniu ich przy pomocy MALDI, natomiast z cyklodekstrynami tworzą kompleksy inkluzyjne o masach powyżej 1000Da, których sygnały można łatwo zlokalizować na widmie masowym. Zmierzone widma MALDI-TOF (Rys. 42) związku o nazwie handlowej RDX (heksahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazyna, $C_3H_6N_6O_8$, MW 222,12) z kwasem synapinowym (SA) jako matrycą bez cyklodekstryny (Rys. 42a), z dodatkiem β -cyklodekstryny (Rys. 42b), z którą RDX tworzy kompleks inkluzyjny oraz z β -CD i dodatkiem NaCl (Rys. 42c). Dodatkowo zrobiono pomiar MALDI-TOF dla złożonej substancji wybuchowej o nieznanym składzie (Rys. 42d).



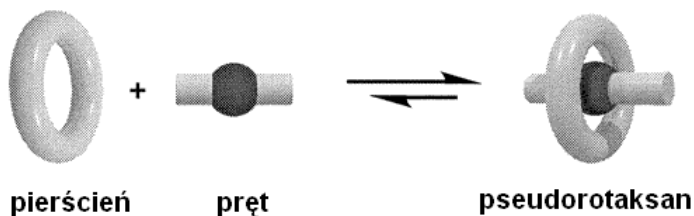
Rysunek 42. Widma masowe MALDI-TOF środków wybuchowych: (a) substancja RDX z kwasem synapinowym(SA) jako matrycą; (b) RDX z matrycą SA i β -cyklodekstryną; (c) RDX z SA i β -CD, domieszkowane jonami Na⁺; (d) środek wybuchowy o nieznanym składzie z matrycą SA i β -CD.⁵⁰

Widmo masowe RDX z konwencjonalną matrycą SA (Rys. 42a) zawiera wiele intensywnych pików, pochodzących od jonów matrycy (protonowanej $[SA+H]^+$, z cząsteczką wody $[SA+H_2O+H]^+$, fragmentu $[SA-H_2O+H]^+$), co sprawia, że jon $[RDX+H]^+$ jest słabo widoczny. Widmo RDX z cyklodekstryną (Rys. 42b) zawiera tylko dwa intensywne jony w zakresie 800 – 1700 m/z, które nie interferują z jonami matrycy: jon protonowanej cyklodekstryny $[\beta-CD+H]^+$ przy m/z 1135 i jon kompleksu inkluzyjnego $[\beta-CD+RDX+H]^+$ przy m/z 1357. Po dodaniu NaCl, głównym pikiem (Rys. 42c) staje się sygnał kompleksu sodowanego $[\beta-CD+RDX+Na]^+$, m/z 1379; poprzednie dwa sygnały są również widoczne. Analogiczne widma MALDI uzyskano dla pozostałych 13 związków (jednoskładnikowych środków wybuchowych); na wszystkich widać było kompleks $[\beta-CD+gość+H]^+$ i protonowaną cyklodekstrynę $[\beta-CD+H]^+$, wobec tego łatwo można było obliczyć masę cząsteczki gościa z różnicy mas jonów $[\beta-CD+gość+H]^+ - [\beta-CD+H]^+$.

W przypadku złożonego środka miotającego o nieznanym składzie zidentyfikowano substancje, których kompleksy inkluzyjne z β -CD widać na widmie MALDI (Rys. 42d) jako: rezorcynol, NG (1,2,3-trinitropropantriol czyli nitrogliceryna), HMX (oktahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocyna) i DINA, co pozwoliło na ustalenie, że badany preparat to środek ST-35, który jest mieszaniną wymienionych uprzednio składników. Wykazano, że β -cyklodekstryna tworzy kompleksy inkluzyjne ze wszystkimi szesnastoma badanymi związkami z grupy środków wybuchowych oraz że spektrometria mas z jonizacją MALDI jest dogodną metodą wykrywania tych kompleksów, bez naruszenia ich struktury i z uniknięciem interferencji jonów matrycy.

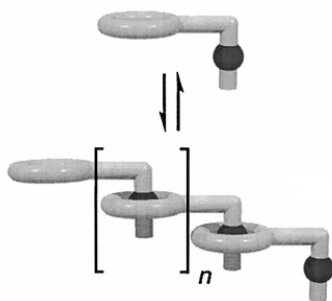
Struktury, zawierające pseudorotaksany

Pseudorotaksany są układami, złożonymi z pierścienia, nawleczonego na oś, która utrzymuje się wewnątrz pierścienia dzięki słabym oddziaływaniom, tj. wiązanom wodorowym lub siłom elektrostatycznym. Schemat budowy pseudorotaksanu przedstawiono na Rysunku 43.



Rysunek 43. Schemat budowy pseudorotaksanu².

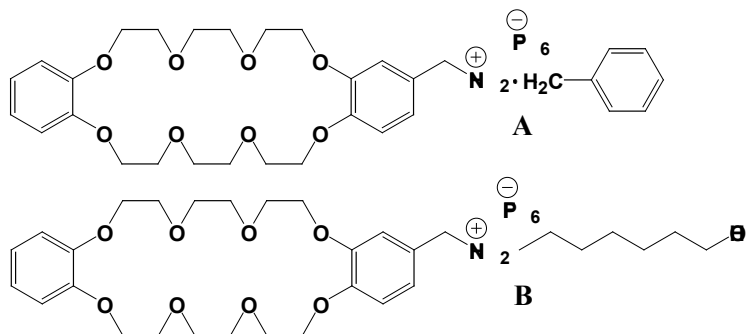
Rotaksany i pseudorotaksany są strukturami o dużym znaczeniu dla budowy większych układów supramolekularnych, m. in. polimerów supramolekularnych czyli struktur złożonych z powtarzających się jednostek, powiązanych siłami niekowalencyjnymi. Monomery muszą być zbudowane w taki sposób, by ich dwa komplementarne elementy strukturalne były zdolne rozpoznawać się nawzajem międzycząsteczkowo (lepiej niż wewnątrzcząsteczkowo), co prowadzi do utworzenia struktury „wianka stokrotek” (ang. *daisy chain*), gdzie jeden element wchodzi w „oczko”, utworzone przez drugi, podobnie jak w wianku z kwiatów (Rys. 44).



Rysunek 44. Tworzenie łańcucha „daisy chain” pseudorotaksanów.⁵²

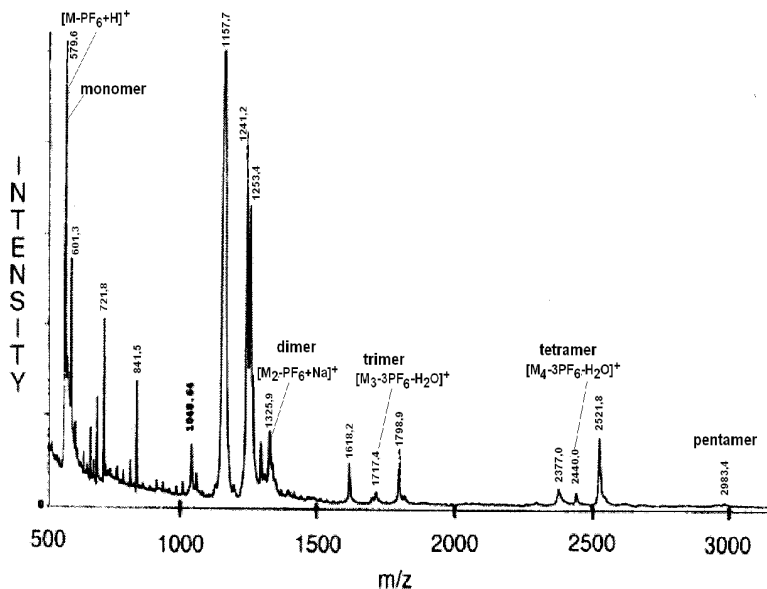
Dogodnymi blokami budulcowymi dla takich polimerów są cząsteczki, zawierające eter dibenzokoronowy, np. dibenzo-24-korona-8 (DB24C8), w których jeden z pierścieni benzenowych zawiera podstawnik alkilowy lub aryłowy, zdolny do wsuwania się w pierścień eteru koronowego kolejnej cząsteczki. Oligomery o budowie „daisy chain” otrzymane z monomerów: heksafluorofosforanu (benzyloamoniometylo)dibenzo-24-korona-8 (**A**, Rys. 45) i heksafluorofosforanu 2-(6'-hydrokso-heksyloamoniometylo)dibenzo-24-korona-8 (**B**, Rys. 45) badano przy pomocy spektrometrii mas z jonizacją MALDI³.

Dane ¹H NMR, łącznie z eksperymentami na związkach deuterowanych i fluorowanych, oraz krystalograficzne pozwoliły na ustalenie struktury pseudorotaksanu, ale nie wyjaśniły z ilu merów zbudowane są oligomery. Natomiast widma MALDI-TOF w trybie dodatnim (uzupełnione o widma FAB) dostarczyły dowodów na tworzenie się oligomerycznych agregatów związku **A** aż do heksamerów włącznie, a w przypadku związku **B** (wzór na Rys. 45) do pentamerów. Przykładowe widmo MALDI próbki, otrzymanej ze związku **B** przedstawia Rysunek 46.



Rysunek 45. Monomery do budowy supramolekularnych polimerów pseudorotaksanowych typu „daisy chain”⁵²: **A** - heksafluorofosforan (benzyloamoniometylo)dibenzo-24-korona-8;

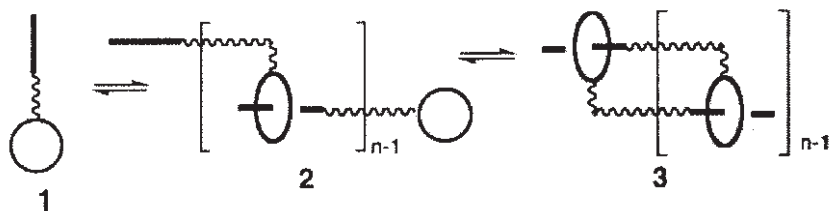
B - heksafluorofosforan 2-(6'-hydroksy-heksyloamoniometylo)dibenzo-24-korona-8.



Rysunek 46. Widmo MALDI-TOF próbki stałej, otrzymanej ze związku B, przedstawiające samoorganizację oligomerów typu „daisy chain”.⁵²

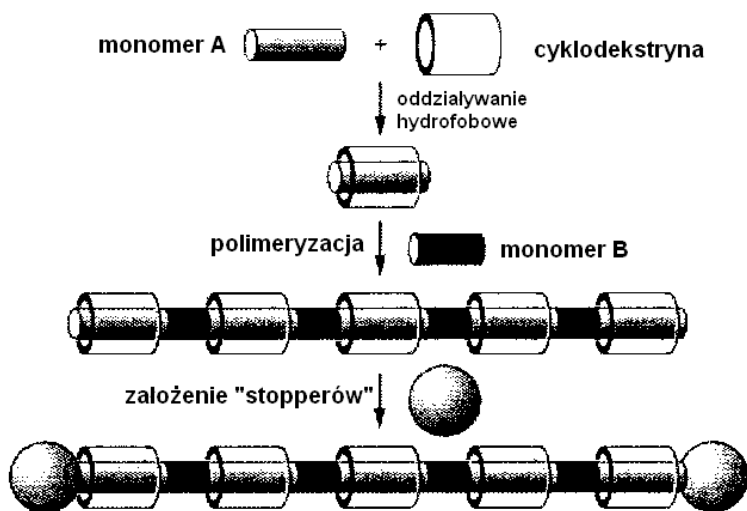
Obrazowe przedstawienie możliwych liniowych struktur oligomerów

(2) i cyklicznych (3), otrzymanych przez samoorganizację związku 1 typu dibenzokorona z bocznym łańcuchem hydrofobowym przedstawia rysunek 47.



Rysunek 47. Schematyczna budowa liniowych (2) i cyklicznych (3) polimerów „daisy chain”.⁵²

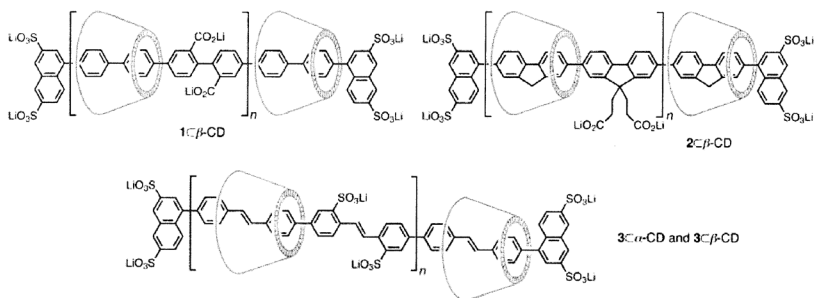
Wśród struktur o budowie rotaksanu dużym zainteresowaniem cieszą się skoniugowane polimery, zwane potocznie „drutami molekularnymi” ze względu na ich zdolność przenoszenia ładunku elektrycznego wzdłuż układu sprzężonych wiązań.⁴



Rysunek 48. Synteza polirotaksanu w formie izolowanego drutu molekularnego: polimeryzacja i zakończenie łańcucha ogranicznikami w reakcjach sprzęgania Suzuki.⁵⁴

W drutach molekularnych istnieje jednak również możliwość wymiany ładunków pomiędzy łańcuchami polimerów i oddziaływania π - π między nimi. Aby wyeliminować te typy oddziaływań, zastosowano *izolowane druty molekularne*, w których szkielet polimeru jest osłaniany z zewnątrz przez cząsteczki cyklodekstryny, które są „nawleczone” na nić polimeru⁵. Pierwszym etapem syntezy jest otrzymanie pseudorotaksanu (z monomeru A i cyklodekstryny, Rys. 48), następnie kopolimeryzacja tego pseudorotaksanu z monomerem B do utworzenia polipseudorotaksanu, a końcowym etapem syntezy jest przyłączenie do końców łańcucha objętościowych grup terminalnych, które zapobiegają zsuwaniu się otoczki z rdzenia polimeru. Struktury otrzymanych tą metodą polirotaksanów przedstawia Rys. 49.

Związki te mają dużą masę i z reguły są polidispersyjne z dwóch powodów: różnego stopnia polimeryzacji (tj. różnej długości łańcucha polimeru), jak i różnego stopnia „nawleczenia” cyklodekstryn na drut molekularny. Na rysunku 49 przedstawiono obraz idealny – jedną cząsteczkę cyklodekstryny na jednostkę niepodstawionego bifenyli, fluorenu lub stilbenu. Potrzebna jest jednak metoda analityczna, pozwalająca na ustalenie stanu faktycznego, m. in. defektów, które zaszły podczas syntezy łańcucha.

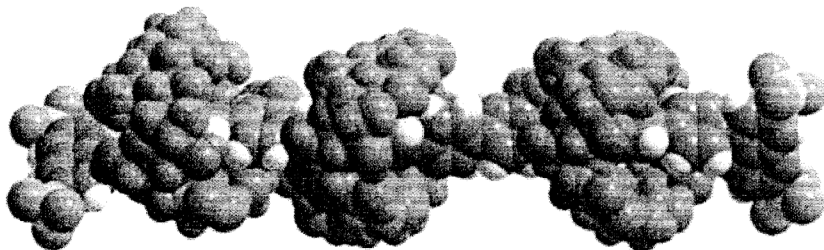


Rysunek 49. Wyidealizowana struktura czterech otrzymanych polirotaksanów⁵⁴ - polimerów poli(*p* - fenylenu) z β -CD (1), polifluorenu z β -CD (2) i poli(difenyleno-winyleny)3 z α -CD i z β -CD.

Analiza otrzymanych produktów za pomocą MALDI-MS pozwoliła na wykrycie oligomerów zawierających aż do 10 nawleczonych cząsteczek cyklodekstryny. „Stopień nawleczenia” - zdefiniowany jako stosunek ilości cząsteczek cyklodekstryny (x) na danym oligomerze do wartości ($n+1$), gdzie n - ilość jednostek powtarzalnych – wynosił 0,9 – 1,6.

Widmo (Rys. 51) MALDI-TOF w trybie jonów ujemnych polirotaksanu 1C

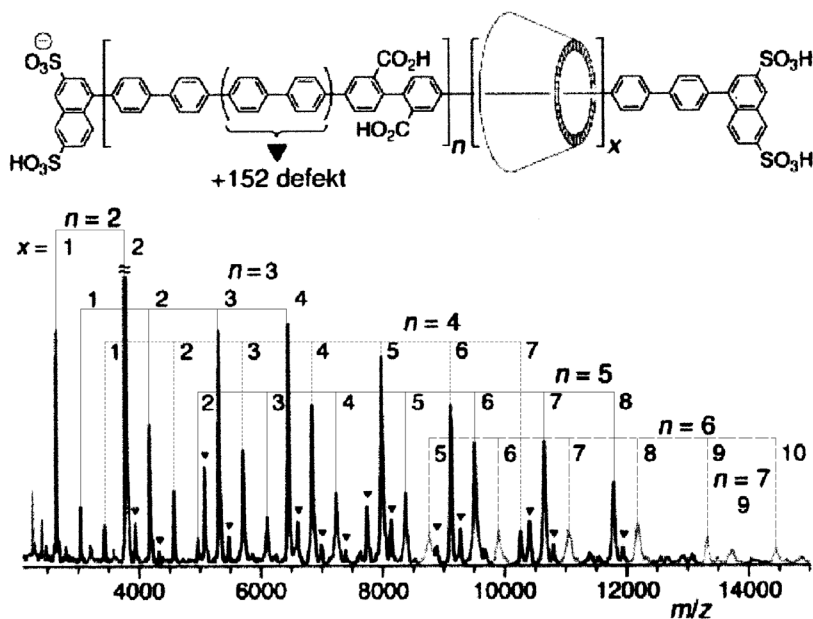
β -CD o strukturze przestrzennej, przedstawionej na Rys. 50, składa się z kilku rodzin pików o różnych ilościach nawleczonych cyklodekstryny (x) na każdą liczbę jednostek powtarzalnych (n).



Rysunek 50. Struktura przestrzenna polirotaksanu 1C β -CD⁵⁴

Okazało się, że niektóre oligomery mają wyższą ilość nawleczonych cząsteczek cyklodekstryny (x) niż wynosi liczba jednostek, co oznacza, że każdy niepodstawiony bifenył może przyjąć do dwóch cząsteczek cyklodekstryny. Na modelu przestrzennym polirotaksanu 1C β -CD (Rys. 50) widać, że przy jednostkowym stopniu nawleczenia pozostaje jeszcze wolne miejsce pomiędzy cyklodekstrynami dla drugiego makrocyklu. Średni stopień nawleczenia rośnie ze wzrostem ilości jednostek powtarzalnych i przekracza 1 dla $n > 5$. Dla krótkich oligomerów stopień nawleczenia cyklodekstryn jest niższy niż dla długich, co można interpretować w ten sposób, że cząsteczki CD są trudniej przyjmowane w okolicy objętościowych grup końcowych, tj. grup naftalenodisulfonowych (Rys. 51).

Z widma MALDI można też odczytać ilość defektów polimeru; w przypadku polirotaksanu 1C β -CD są to dodatkowe niepodstawione grupy bifenylowe, widoczne na widmie jako piki o masie wyższej o 152 ($-\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}_6\text{H}_4-$), towarzyszące jonom macierzystym.



Rysunek 51. Widmo MALDI-TOF poliritaksanu 1c β -CD w trybie jonów ujemnych z matrycą CHCA. Znakiem ∇ oznaczono jony molekularne, powstałe z łańcuchów z „defektem” w postaci dodatkowej grupy bifenylowej ($\Delta m = 152$).

Podsumowanie

Przedstawione przykłady, jakkolwiek niewyczerpujące tematu zastosowania spektrometrii mas z jonizacją MALDI w chemii supramolekularnej, pokazują aplikacje tej techniki pomiarowej do badania zarówno samych bloków budulcowych^{55,56}, jak i tworzonych z ich udziałem struktur. MALDI-MS stosuje się dla potwierdzenia skuteczności podstawienia^{57,58,59,60,61} lub faktu, że pożądana reakcja zaszła, ustalenia dokładnej lub średniej (w przypadku związków polidispersyjnych, surfaktantów, polimerów) masy cząsteczkowej^{62,63,64,65,66} czy wykrycia defektów w różnych blokach budulcowych, przydatnych dla chemii supramolekularnej. Ma to duże znaczenie w przypadku związków o silnie rozgałęzionej budowie, np. dendrymerów. Spektrometria mas z jonizacją MALDI jest przydatna do ustalenia czy nastąpiła agregacja względnie samoorganizacja cząsteczek a także w analizie kompleksów⁶⁷ różnego rodzaju ligandów z metalami^{68,69}, w tym/lub kompleksów gość-gospodarz^{70,71}. Często spotykane jest też podejście odwrotne - stosowanie układów supramolekularnych jako wspomagających matryc^{72,73} dla MALDI, gdzie tworzenie kompleksów

inkluzyjnych służy oczyszczeniu widma z sygnałów, pochodzących od matrycy lub zanieczyszczeń.

Jonizacja/desorpcja laserowa przy użyciu matrycy lub odpowiednio spreparowanego podłoża (substratu) jest dość łagodną metodą przeniesienia naładowanych cząsteczek i ich asocjatów do fazy gazowej. Jednakże ilość energii, dostarczana przy użyciu lasera jest większa, niż podczas jonizacji przez elektrorozpylanie, dlatego komplementarne zastosowanie obu metod pozwala na porównanie trwałości powstających kompleksów w fazie gazowej.

Dla uzyskania większej ilości informacji często stosuje się technikę MALDI-MS w skojarzeniu z innymi technikami spektralnymi oraz dodatkowymi metodami analitycznymi, m. in. chromatograficznymi.

Podziękowanie

Praca finansowana ze środków na naukę w latach 2009-2012 jako projekt badawczy N 204 028636.

Literatura:

1. Huck WTS, Hulst R, Timmerman P, van Veggel FCJM, Reinhoudt DN; Noncovalent Synthesis of Nanostructures: Combining Coordination Chemistry and Hydrogen Bonding; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1997, **36**, 1006-1008
2. Tirumala S, Davis JT; Self-assembled ionophores. An isoguanidine-K⁺ octamer; *J. Am. Chem. Soc.* 1997, **119**(12), 2769-2776
3. Zafar A, Yang L, Geib SJ, Hamilton AD; Linked bis-isophthalic acid derivatives as building blocks in the design of self-assembling structures; *Tetrahedron Lett.* 1996, **37**, 2327-2330
4. Thiyagarajan P, Zeng F, Ku CY, Zimmerman SC; SANS investigation of self-assembled dendrimers in organic solvents; *J. Mater. Chem.* 1997, **7**, 1221-1226
5. Barber M, Bordoli RS, Elliott J, Sedgwick RD, Tyler A; Fast atom bombardment mass spectrometry; *Anal. Chem.* 1982, **54**, 645A
6. Gaskell SJ; Electrospray: principles and practice; *J. Mass Spectrom.* 1997, **32**, 677
7. Karas M, Bachmann D, Bahr U, Hillenkamp F; Matrix-assisted ultraviolet laser desorption of non-volatile compounds; *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* 1987, **78**, 53-68
8. Hillenkamp F, Karas M, Beavis RC, Chait BT; Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of biopolymers; *Anal. Chem.* 1991, **63**, 1193A-1203A

9. Cheng X, Gao Q, Smith RD, Simanek, EE, Mammen M, Whitesides GM; Characterization of Hydrogen-Bonded Aggregates in Chloroform by Electrospray Ionization Mass Spectrometry *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 2204-2206
10. Schalley CA; Molecular recognition and supramolecular chemistry in the gas phase; *Mass Spectrom. Rev.* 2001, **20**, 253
11. Frański R, Schroeder G; Zastosowanie spektrometrii mas w chemii supramolekularnej; Betagraf P. U. H. 2003
12. Lehn J-M, Supramolecular Chemistry; VCH Weinheim, 1995
13. Zhang Y, Yuan H, Huang Z, Zhou J, Kawanishi Y, Schatz J, Maas G; A *p*-*tert*-butylcalix[6]arene capped with triethanolamine- derived triple bridge; *Tetrahedron* 2001, **57**, 4161-4165
14. Hakala K, Nuutinen JMJ, Straub T, Rissanen K, Vainiotalo P; Mass spectrometric studies of benzoxazine resorcarenes; *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 2002, **16**, 1680-1685. Doi: 10.1002/rcm.770
15. Kang W, Kim J, Shin KPKS; Matrix- and surface-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of dibromocalix[4]crown ether; *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 2001, **15**, 941-944. Doi: 10.1002/rcm.313
16. Jolliffe K, Crego Calama M, Fokkens R, Nibbering N, Timmerman P, Reinhoudt DN; Characterization of hydrogen-bonded supramolecular assemblies by MALDI-TOF mass spectrometry after Ag⁺ labeling; *Angew. Chem. Int. Ed.* 1998, **37** (9), 1247-1251
17. Kang HC, Hanson AW, Eaton B, Boekelheide V; [2₆](1,2,4,5) Cyclophane (deltaphane) and related compounds. Simultaneous π -electron interaction among three benzene rings; *J. Am. Chem. Soc.* 1985, *107*, 1979-1985
18. *Gmelin: Handbuch der Anorganischen Chemie, Silber*, Teil B5-B7; Springer, Berlin, 1975 (ogólny przegląd grup funkcyjnych, oddziałujących z jonami srebra)
19. Stone MM, Franz AH, Lebrilla CB; Non-covalent calixarene-amino acid complexes formed by MALDI-MS; *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2002, **13**, 964-974
20. Goolsby BJ, Brodbelt J, Adou JS, Blanda M; Determination of alkali metal ion binding selectivities of calixarenes by matrix-assisted laser desorption ionization and electrospray ionization in a quadrupole ion trap; *Int. J. Mass Spectrom.* 1999, **193**, 197-204
21. Schubert US, Eschbaumer C; Characterization of metallo-supramolecular systems by MALDI-TOF mass spectrometry; *J.*

- Inclusion Phenom. Macrocycl. Chem.* 1999, **35**, 101-109
22. Guldi DM, Tian Y, Fendler JH, Hungerbühler H, Asmus K-D; Stable monolayers and Langmuir-Blodgett films of functionalized fullerenes; *J. Phys. Chem.* 1995, **99**, 17673-17676
 23. Cardullo F, Diederich F, Echegoyen L, Habicher T, Farayaman J, Leblanc RM, Stoddart JF, Wang S; Stable Langmuir and Langmuir-Blodgett films of fullerene-glycodendron conjugates; *Langmuir* 1998, **14**, 1955-1959.
 24. Barrow MP, Feng X, Wallace JI, Boltalina OV, Taylor R, Derrick PJ, Drewello T; Characterization of fullerenes and fullerene derivatives by nanospray, *Chem. Phys. Lett.* 2000, **330**, 267-274.
 25. Brune DC, Elemental sulfur as a matrix for mass spectrometry of photosynthetic pigments and fullerenes; *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 1999, **13**, 384-389.
 26. Ulmer L, Mattay J, Torres-Garcia HG, Luftmann H; Letter: The use of 2[(2E)-3-(4-tert-butylphenyl)-2-methyl-prop-2-enylidene] malononitrile as a matrix for matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry; *Eur. J. Mass Spectrom.* 2000, **6**, 49-52
 27. Brown T, Clipston NL, Simjee N, Luftmann H, Hungerbühler H, Drewello T; Matrix-assisted laser desorption/ionization of amphiphilic fullerene derivatives; *Int. J. Mass Spectrom.* 2001, **210/211**, 249-263
 28. Nielen MWF, MALDI Time-of-Flight mass spectrometry of synthetic polymers; *Mass Spectrom. Rev.* 1999, **18**, 309-344
 29. Fati D, Leeman V, Vasil'ev YV, Drewello T, Leyh B, Hungerbühler H; Alkali cation attachment to derivatized fullerenes studied by matrix-assisted laser desorption/ionization; *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2002, **13**, 1448-1458
 30. Mowat IA, Donovan RJ, Bruce M, Feast WJ, Stainton NM; Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of aryl ester dendrimers; *Eur. Mass Spectrom.* 1998, **4**, 451-458
 31. Hoberg A-M, Haddleton DM, Derrick PJ, Jackson AT, Scrivens JH; The effect of counter ions in matrix-assisted laser desorption/ionization of poly(methyl methacrylate); *Eur. Mass Spectrom.* 1998, **4**, 435-440
 32. Bingel C, Schiffer H; Biscyclopropanation of C₇₀; *Liebigs Ann. Chem.* **1995 (3)**, 1551-1553
 33. van Eis MJ, Seiler P, Muslinkina LA, Badertscher M, Pretsch E, Diederich F, Alvarado RJ, Echegoyen L, Nuñez IP; Supramolecular fullerene chemistry: A comprehensive study of cyclophane-type mono- and bis-crown ether conjugates of C₇₀; *Helv. Chim. Acta*, 2002, **85**,

2009-2055

34. Newcome GR, Kotta KK, Moorefield CN; Design, synthesis and characterization of conifer-shaped dendritic architectures; *Chem. Eur. J.* 2006, **12**, 3726-3734
35. Zeng F, Zimmerman SC; Dendrimers in supramolecular chemistry: from molecular recognition to self-assembly, *Chem. Rev.* 1997, **97**, 1681-1712
36. Baytekin B, Werner N, Luppertz F, Engeser M, Brüggemann J, Bitter S, Henkel R, Felder T, Schalley C; How useful is mass spectrometry for the characterization of dendrimers? "Fake" effects" in the ESI and MALDI mass spectra of dendritic compounds; *Int. J. Mass Spectrom.* 2006, **249-250**, 138-148
37. Brodbelt JS, Dearden DV; *Mass Spectrometry*, w: „Comprehensive Supramolecular Chemistry”, vol. 8, JED Davies, JA Ripmeester (ed.), Pergamon, Oxford
38. Schalley C.; Supramolecular chemistry goes gas chase: the mass spectrometric examination of noncovalent interactions in host-guest chemistry and molecular recognition; *Int. J. Mass Spectrom.* 2000, **194**, 11-39 i odnośniki tam cytowane
39. Kawaguchi T, Walker KL, Wilkins CL, Moore JS; *J. Am. Chem. Soc.* 1995, **117**, 2159
40. Schwartz BL, Rockwood AL., Smith RD, Tomalia DA, Spindler R; *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 1995, **9**, 1552
41. Leon JW., Kawa M, Frechet JMJ; Isophthalate ester-terminated dendrimers: Versatile nanoscopic building blocks with readily modifiable surface functionalities; *J. Am. Chem. Soc.* 1996, **118**, 88478859
42. Wendland MS, Zimmerman S.C.; Synthesis of cored dendrimers; *J. Am. Chem. Soc.* 1999, **121**, 1389-1390
43. Rheiner PB, Seebach D; Dendritic TADDOLs: Synthesis, characterization and use in the catalytic enantioselective addition of Et_2Zn to benzaldehyde ; *Chem. Eur. J.* 1999, **5**(11), 3221-3236
44. Chen H, He M, Cao X, Zhou X, Pei J; **Efficient matrix-assisted laser desorption/ionization method for fully π -conjugated dendrimers**; *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 2004, **18**, 367-73
45. Guo Z, Zhang Q, Zou H, Guo B, Ni J; A method for the analysis of low-mass molecules by MALDI-TOF mass spectrometry; *Anal. Chem.* 2002, **74**, 1637-1641
46. Jeon WB, Bae KH, Byun SM; Dimeric β -cyclodextrin-based

- supramolecular ligands and their copper(II) complexes as metalloenzyme models; *J. Inorg. Biochem.* 1998, **71**, 163-169
47. Munteanu M, Kolb U, Ritter H; Supramolecular nanocycles comprising β -cyclodextrin-click-ferrocene units: Rings of rings of rings; *Macromol. Rapid Commun.* 2010, **31**, 616-618
 48. Yamaguchi S, Fujita T, Fujino T, Korenaga T; Suppression of matrix-related ions using cyclodextrin in MALDI mass spectrometry; *Anal. Sci.* 2008, **24**(11), 1497-1500
 49. Henke C, Steinem C, Janshoff A, Steffan G, Luftmann H, Sieber M, Galla H-J; Self-assembled monolayers of monofunctionalized cyclodextrins onto gold: A mass spectrometric characterization and impedance analysis of host-guest interaction; *Anal. Chem.* 1996, **68**, 3158-3165
 50. Zhang M, Shi Z, Bai Y, Gao Y, Hu R, Zhao F; Using molecular recognition of β -cyclodextrin to determine molecular weights of low-molecular-weight explosives by MALDI-TOF mass spectrometry; *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2006, **17**, 189-193
 51. Cantrill SJ, Youn GJ, Stoddart JF; Supramolecular daisy chains; *J. Org. Chem.* 2001, **66**(21), 6857-6872
 52. Gibson HW, Yamaguchi N, Niu Z, Jones JW., Slebodnick C, Rheingold AL., Zakharov LN; Self-assembly of daisy chain oligomers from heteroditopic molecules containing secondary ammonium ion and crown ether moieties; *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* 2010, **48**, 975-985
 53. Hoofman RJOM, de Haas MP, Siebbeles LDA, Warman JM; Highly mobile electrons and holes on isolated chains of the semiconducting polymer poly(phenylene vinylene); *Nature* 1998, **392** (6671), 54-56
 54. Michels JJ, O'Connell MJ, Taylor PN, Wilson JS, Cacialli F, Anderson HL; Synthesis of conjugated polyrotaxanes; *Chem. Eur. J.* 2003, **9**, 6167-6176
 55. Rieger J, Bernaerts KV, Du Prez FE, Jerome R, Jerome C; Lactone end-capped poly(ethylene oxide) as a new building block for biomaterials; *Macromolecules* 2004, **37** (26), 9738-9745
 56. Kwon C, Choi Y-HC, Kim N, Yoo JS, Yang C-H, Kim H-W, Jung S; Complex forming ability of a family of isolated cyclosophoraoses with ergosterol and its Monte Carlo docking computational analysis; *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 2000, **36**, 55-65
 57. Hachbarth S, Horneffer V, Wiehe A, Hillenkamp F, Roder B; Photophysical properties of pheophorbide-a-substituted diaminobutane

- poly-propylene-imine dendrimer; *Chem. Phys.* 2001, **269**, 339-346
58. Wang K-R, Guo D-s, Jiang B-P, Sun Z-H, Liu Y; Molecular aggregation behaviour of perylene-bridged bis(β -cyclodextrin) and its electronic interaction upon selective binding with aromatic guests; *J. Phys. Chem. B* 2010, **114**, 101-106
 59. del Barrio J, Tejedor RM, Chinelatto LS, Sanchez C, Pinol M, Oriol L; Photocontrol of the supramolecular chirality imposed by stereocenters in liquid crystalline azodendrimers; *Chem. Mater.* 2010, **22**, 1714-1723
 60. Dirksen A, Hahn U, Schwanke F, Nieger M, Reek JNH, Vögtle F, de Cola L; Multiple recognition of barbiturate guests by Hamilton-receptor-functionalized dendrimers; *Chem. Eur. J.* 2004, **10**, 2036-2047
 61. Precup-Blaga FS, Garcia-Martinez JC, Schenning APHJ, Meijer EW; Highly emissive supramolecular oligo(p-phenylene vinylene) dendrimers; *J. Am. Chem. Soc.* 2003, **125** (42), 12953-12960
 62. Yan W, Gardella Jr. JA, Wood TD; Quantitative analysis of technical polymer mixtures by matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry; *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2002, **13**, 914-920
 63. Montaudo G, Montaudo MS, Puglisi C, Samperi F; Self-calibrating property of MALDI-TOF spectra of polymeric materials; *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **8**, 1994, 981-984
 64. Bahr U, Deppe A, Karas M, Hillenkamp F, Giessmann U; Mass spectrometry of synthetic polymers by UV-matrix-assisted laser desorption/ionization, *Anal. Chem.* **64** (22), 1992, 2866-2869
 65. Zhong K-L, Huang Z, Man Z, Jin LY, Yin B, Lee M; Synthesis and self-assembly of rod-coil molecules with n-shaped rod building blocks; *J. Polym. Sci. A: Polym. Chem.* 2010, **48**, 1415-1422
 66. Girod M, Mazarin M, Phan TNT, Gignes D, Charles L; Determination of block size in poly(ethylene oxide)-b-polystyrene block copolymers by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; ; *J. Polym. Sci. A: Polym. Chem.* 2009, **47**, 3380-3390
 67. Rucareanu S, Mongin O, Schuwey A, Hoyle N, Gossauer A, Amrein W, Hediger H-U; Supramolecular assemblies between macrocyclic porphyrin hexamers and star-shaped porphyrin arrays; *J. Org. Chem.* 2001, **66**(15), 4973-4988
 68. Wang P, Newcome GR, Wesdemiotis C; Mass spectrometry analysis of organometallic assemblies: Bis-terpyridine-Ru(II) connectivity; *Int. J. Mass Spectrom.* 2006, **255-256**(1-3), 86-92
 69. Hofmeier H, Herdtweck E, Schubert US; Asymmetric bipyridine-

- terpyridine-copper(II) complexes: An approach for new supramolecular architectures; *Zeitsch. Anorg. Allgem. Chem.* 2004, **650** (5), 683-688.
70. Nielsen AL., Steffensen K, Wimmer R, Worm-Leonhard M, Larsen KL; Syntheses and characterization of novel cyclodextrin vinyl derivatives from cyclodextrin-nitrophenol-derivatives; *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 2010, **67**, 303-315
 71. Sobransingh D, Kaifer AE; New dendrimers containing a single cobaltocenium unit covalently attached to the apical position of Newcome dendron: Electrochemistry and guest binding interactions with cucurbit[7]uril; *Langmuir* 2006, **22** (25), 10540-10544
 72. Pan C, Xu S, Hu L, Su X, Ou J, Zou H, Guo Z, Zhang Y, Gou B; Using oxidized carbon nanotubes as matrix for analysis of small molecules by MALDI-TOF MS; *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2005, **16**, 883-892
 73. Xu S, Li Y, Zou H, Qiu J, Guo Z, Guo B; Carbon nanotubes as assisted matrix for laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; *Anal. Chem.* 2003, **75**, 6191-6195

