



UNIwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Wydział Chemii

Zakład Chemii Analitycznej i Analizy Instrumentalnej

Załącznik 2A

do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego

Autoreferat

Dr Joanna Lenik

Lublin 2017

1. Imię i Nazwisko Joanna Lenik

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

- 1995 licencjat, Uniwersytet Marii Curie – Skłodowskiej w Lublinie
- 1997 magister chemii, Uniwersytet Marii Curie – Skłodowskiej w Lublinie
- 2006 – doktor nauk chemicznych, Uniwersytet Marii Curie – Skłodowskiej w Lublinie
Praca doktorska pt.: Konstrukcja i zastosowanie membranowych elektrod jonoselektywnych do oznaczania wybranych niesteroidowych leków przeciwzapalnych.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- 01.10.1997 – 30.09.2006
Asystent, Uniwersytet Marii Curie – Skłodowskiej, Wydział Chemii,
Zakład Chemii Analitycznej i Analizy Instrumentalnej
- 01.10.2006 – do chwili obecnej
Adiunkt, Uniwersytet Marii Curie – Skłodowskiej Wydział Chemii
Zakład Chemii Analitycznej i Analizy Instrumentalnej

4. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):

a) tytuł osiągnięcia naukowego

Jednotematyczny cykl publikacji pt.:

Badania właściwości elektrod jonoselektywnych czułych na leki pochodne wybranych kwasów karboksylowych

b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa

- [H1] **Joanna Lenik***, Cecylia Wardak, Properties of ibuprofen ion-selective electrodes based on the ion pair complex of tetraoctylammonium cation, **Central European Journal of Chemistry**, **8 (2010) 382–391** **IF₂₀₁₀=0,991**
- [H2] **Joanna Lenik**, Properties of ion selective electrodes with polymeric membranes for ketoprofen determination, **Journal of Analytical Chemistry**, **67 (2012) 601–607** **IF₂₀₁₂=0,616**
- [H3] **Joanna Lenik***, Cecylia Wardak, Characteristic of a New Sensor for Indomethacin Determination, **Procedia Engineering**, **47 (2012) 144–147**
- [H4] **Joanna Lenik**, Preparation and study of an naproxen ion-selective electrode, **Materials Science and Engineering C**, **33 (2013) 311–316** **IF₂₀₁₃=2,736**
- [H5] **Joanna Lenik**, Influence of Anionic, Cationic and Nonionic Surfactants on Response of Ibuprofen PVC Sensors, **Sensor Letters**, **11 (2013) 405–412** **IF₂₀₁₃=0,558**
- [H6] **Joanna Lenik***, Cecylia Wardak, Studies on influence of (2-Hydroxypropyl)- β -cyclodextrin on properties of a new indomethacin electrode, **IEEE Sensors Journal**, **13 (2013) 4638–4647** **IF₂₀₁₃=1,852**
- [H7] **Joanna Lenik**, Preparation and characterization of a sulindac sensor based on PVC/TOA–SUL membrane, **Materials Science and Engineering C**, **37 (2014) 383–389** **IF₂₀₁₄=3,088**
- [H8] **Joanna Lenik**, A new potentiometric electrode incorporating functionalized β -cyclodextrins for diclofenac determination, **Materials Science and Engineering C**, **45 (2014) 109–116** **IF₂₀₁₄=3,088**
- [H9] **Joanna Lenik***, Renata Łyszczek, Functionalized β -cyclodextrin based potentiometric sensor for naproxen determination, **Materials Science and Engineering C**, **61 (2016) 149–157** **IF₂₀₁₆=4,164**

- [H10] **Joanna Lenik***, Małgorzata Wesoły, Patrycja Ciosek, Wojciech Wróblewski, Evaluation of taste masking effect of diclofenac using sweeteners and cyclodextrin by a potentiometric electronic tongue, **Journal of Electroanalytical Chemistry**, **780 (2016) 153–159** **IF₂₀₁₆=3,012**
- [H11] **Joanna Lenik**, Fabrication of a developed potentiometric ibuprofen electrode based on new functionalized β -cyclodextrins for pharmaceuticals determination, **IEEE Sensors Journal** **17(5) (2017) 1215–1221** **IF₂₀₁₇=2,512**
- [H12] **Joanna Lenik**, Cyclodextrins based electrochemical sensors for biomedical and pharmaceutical analysis – Review article, **Current Medicinal Chemistry**, **24 (2017) 2359–2391** **IF₂₀₁₇=3,249**
- [H13] **Joanna Lenik***, Jolanta Nieszporek Construction of a glassy carbon ibuprofen electrode modified with multi-walled carbon nanotubes and cyclodextrin, **Sensors and Actuators B: Chemical**, **255 (2018) 2282–2289** **IF_{2016/2017}=5,401**
(brak jeszcze danych o IF₂₀₁₈)

* autor korespondencyjny

c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

WSTĘP

Rzeczywisty rozwój elektrod jonoselektywnych zaczyna się od początku dwudziestego wieku i jest wciąż bardzo intensywny zwłaszcza w analizie farmaceutycznej. Na całym świecie pojawiają się w dziedzinie potencjometrii coraz to nowe osiągnięcia zarówno teoretyczne [1-6] jak i aplikacyjne [7-9]. Pierwszy kierunek badań dotyczy rozważań nad teorią i mechanizmem odpowiedzi elektrod jonoselektywnych oraz nad sposobem poprawy parametrów analitycznych (np. obniżenia granicy wykrywalności elektrod, poprawy odtwarzalności, stabilności potencjału, przewodnictwa). Drugi kierunek odnosi się głównie do opracowywania nowych czujników potencjometrycznych, celem uzyskania jak najlepszych korzystnych parametrów analitycznych. Poszukiwane są bardziej efektywne, nowe rozwiązania konstrukcyjne, a także możliwości syntezy i wykorzystania coraz to nowych związków organicznych jako jonoforów. Prowadzone są liczne badania nad przydatnością elektrod, które wykazują selektywność na nowy, nie zbadany dotychczas związek lub wykorzystuje się opracowane już czujniki, niekoniecznie selektywne, do utworzenia matrycy potencjometrycznej służącej do chemometrycznej analizy związków farmaceutycznych [10]. Oznacza to wykorzystanie takich prac i badań do rozszerzenia wiedzy w zakresie teoretycznym jak i aplikacyjnym.

Elektrody jonoselektywne ze stałym kontaktem (*ang. solid contact ion selective electrodes*) stanowią obecnie obszerną grupę wśród czujników elektrochemicznych. O ich popularności decyduje wiele zalet tj.: prostsza obsługa i przechowywanie, większa trwałość, łatwość miniaturyzacji oraz w wielu przypadkach lepsze parametry analityczne w stosunku do ich odpowiednich klasycznych konstrukcji z ciekłym kontaktem. W ostatnich latach konstruowane są nowe czujniki potencjometryczne o podłożu z materiałów węglowych, metali szlachetnych, czy materiałów polimerowych, które zawierają w swojej budowie warstwę stałego kontaktu najczęściej z polimeru przewodzącego [1, 11–13]. W celu poprawienia i doskonalenia właściwości czujników o stałym podłożu wyprowadzającym, prowadzone są badania poprawy przewodnictwa jonowo–elektronowego m.in. poprzez zastosowanie w konstrukcjach nanostrukturalnych materiałów węglowych np. nanorurek węglowych [14].

Ważnym etapem w przygotowaniu elektrod jest również optymalizacja membrany jonoselektywnej, dobór komponentów membrany pod względem jakościowym oraz ilościowym. Możliwości w tym polu działania są różnorodne m.in. dobór odpowiedniego jonoforu (wykorzystanie typowych dostępnych handlowo związków jak również synteza nowych niezbadanych substancji), wykorzystanie różnych rodzajów plastyfikatorów lub ich kombinacji i dobór odpowiedniej matrycy. W przypadku elektrod anionoselektywnych możliwości doboru nośnika jonów są ograniczone, ponieważ w porównaniu do elektrod czujących na kationy, istnieje stosunkowo niewiele dostępnych komercyjnie jonoforów, ponadto

najczęściej wykorzystywane są w tym celu klasyczne wymiennicze jonowe. Alternatywą dla tych związków są często stosowane np. związki makrocykliczne [15 – 17].

Czujniki potencjometryczne mają szerokie zastosowanie w analizie farmaceutycznej. Koszty wytwarzania czujników oraz koszty analizy są znacznie niższe w porównaniu do wielu innych technik analitycznych. Ponadto czujniki te w analizie farmaceutycznej charakteryzują się wieloma innymi cechami takimi jak dobra powtarzalność, stabilność, odpowiednia dokładność i precyzja pomiaru. Są łatwe w przygotowaniu, w obsłudze, wykazują kompatybilność z analizowaną próbką. Oprócz dokładnej i precyzyjnej analizy ilościowej związków farmaceutycznych w preparatach farmaceutycznych i próbkach środowiskowych, mogą one znaleźć zastosowanie w nowoczesnym urządzeniu do automatycznej analizy i rozróżniania próbek np. lekowych – elektronicznym języku (EJ).

CEL NAUKOWY PRACY

Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ-y) są grupą związków, którymi interesuję się od wielu lat w aspekcie ich analitycznego oznaczania. Ze względu na ich popularność, szerokie zastosowanie, łatwą dostępność są najczęściej spożywaną grupą leków obok leków przeciwbakteryjnych. W Polsce NLPZ-y stosowane są przez 3 mln ludzi, a w Stanach Zjednoczonych przyjmuje je aż 13 mln rocznie. Na całym świecie jednego dnia NLPZ-y zażywa 30 mln ludzi, z czego 40 % to grupa wiekowa powyżej 65 lat [18, 19]. Statystyki podają, że produkcja tych leków wynosi ok. 50 mln ton rocznie. W związku z szerokim stosowaniem i również szerokim spektrum działania NLPZ-ów, stale rośnie liczba nowych opartych na tych składnikach aktywnych preparatów farmaceutycznych, co wiąże się z intensywnym rozwojem i doskonaleniem metod analitycznych.

W ramach prac badawczych, które były podstawą mojej pracy doktorskiej, skupiłam się na dwóch rodzajach konstrukcji elektrody jonoselektywnej służącej do oznaczania NLPZ-ów, a mianowicie elektrody z ciekłym kontaktem i elektrody polimerowej ze stałym kontaktem oraz na rodzaju substancji aktywnej membrany – wymiennicza jonowego. W efekcie uzyskanych wyników opublikowałam kilka prac dotyczących elektrod ibuprofenowej klasycznej [D5] i polimerowej [D2], naproksenowej z ciekłym kontaktem [D10], oraz polimerowej [D4]. Ostatnią opracowaną elektrodą była elektroda ketoprofenowa polimerowa [D7]. Optymalną zastosowaną solą amoniową był chlorek metylotrioktyloamoniowy w przypadku obu rodzajów elektrod. Okazało się, że zróżnicowanie w konstrukcji elektrod (przy stałym, tym samym składzie membranowym) nie miało większego wpływu na przebieg charakterystyki elektrod (czułość, zakres liniowości 10^{-1} – 10^{-4} M, granicę wykrywalności) i selektywność. Lepsze parametry tj. odtwarzalność potencjału, czas odpowiedzi uzyskałam dla elektrod klasycznych, zaś czas życia był dłuższy dla elektrod polimerowych (ok. 2–3 miesiące).

Kontynuując po doktoracie pracę naukową w dziedzinie elektrod jonoselektywnych czułych na substancje lecznicze o charakterze anionów za cel swoich badań wybrałam zadanie uzyskania elektrod ze stałym kontaktem o znacznie lepszych parametrach, a zwłaszcza selektywności, które mogłyby zostać praktycznie wykorzystane nie tylko w analizie ilościowej preparatów farmaceutycznych, ale także innych próbkach organicznych. Oprócz zastosowania w analizie ilościowej, opracowane czujniki potencjometryczne mogłyby być zastosowane również w tzw. matrycy czujnikowej elektronicznego języka do analizy smaku gorzkiego leków przeciwwzpalnych.

Celem moich prac badawczych było: opracowanie elektrod anionoselektywnych czułych na substancje lecznicze, o dobrych parametrach i różnych możliwościach aplikacyjnych.

W przedstawionym jednotematycznym cyklu publikacji, *Badania właściwości elektrod jonoselektywnych czułych na leki pochodne wybranych kwasów karboksylowych* przyjęłam następujące kierunki badań:

- 1) opracowanie elektrod jonoselektywnych zawierających wymienniacz jonowy – chlorek tetraoktyloamoniowy [**H1-H4, H6, H7**] oraz nowe substancje aktywne – pochodne β -cyklodekstryny [**H8, H9, H11, H12, H13**],
- 2) badania wpływu substancji pomocniczych zawartych w lekach na parametry pracy wybranych elektrod: ibuprofenowej i indometacynowej [**H5, H6**],
- 3) zastosowanie analityczne opracowanych elektrod
 - a) oznaczanie API w próbkach farmaceutycznych [**H1-H4, H6, H7-H9, H11, H13**] oraz próbkach pochodzenia organicznego [**H4, H8, H9**] i próbkach wody [**H11**],
 - b) wykorzystanie wybranych czujników w matrycy sensorowej elektronicznego języka [**H10**].

1. Opracowanie elektrod jonoselektywnych zawierających wymienniacz jonowy – chlorek tetraoktyloamoniowy [**H1-H4, H6, H7**] oraz nowe substancje aktywne - pochodne β -cyklodekstryn [**H8, H9, H11, H12, H13**].

Wśród licznych prac dostępnych w literaturze dotyczących elektrod jonoselektywnych wiele z nich jest związanych z analizą farmaceutyczną [20, 21]. Są to elektrody jeszcze z ciekłym kontaktem lub ze stałym kontaktem oparte na polimerowych membranach. Do najczęściej stosowanych polimerów w konstrukcjach czujników należą: polichlorek winylu, utwardzane żywice epoksydowe, miękkie poliuretany, guma silikonowa, polichlorek winylidien, polisiloksany, poliakrylany i inne. Porównując jednak najkorzystniejsze właściwości polichloroku winylu, sposób przygotowania matrycy polimerowej, można powiedzieć, że PVC znalazł najszerze zastosowanie jako składnik polimerowej membrany elektrod jonoselektywnych. Plastyfikator stanowi środowisko, w którym zachodzą procesy podziału jonu z fazy wodnej do fazy organicznej oraz reakcje tworzenia kompleksów. Głównym składnikiem, który ma wpływ

na selektywność membrany jest jonofor, który powoduje odwracalną ekstrakcję jonu między fazą membranową a roztworem i powstanie kompleksów. W przypadku wymiennicy jonowych, które nie posiadają właściwości jonoforowych, selektywność elektrod jest determinowana przez różnice między standardową energią swobodną jonów w fazie wodnej i organicznej.

Przełóżając dane literaturowe dotyczące elektrod selektywnych na NLPZ-y z polimerową membraną można stwierdzić, że w latach 2000 – 2014 w literaturze światowej zostało opublikowanych ok. 40 prac naukowych, w tym osiem prac mojego autorstwa [22]. W przeciągu kolejnych dwóch lat opublikowane zostały oprócz moich trzech prac, kolejne doniesienia o elektrodach – ibuprofenowych [23, 24], elektrodzie diklofenakowej [25], piroksykamowej [26], naproksenowej [27]. Powyższe dane literaturowe świadczą o aktualnym i rozwijającym się kierunku badań w dziedzinie czujników potencjometrycznych do oznaczania m. in. leków przeciwbólowych.

Parametry analityczne elektrod ze stałym kontaktem z wyprowadzeniem Ag/AgCl

Opierając się na wcześniejszych doświadczeniach związanych z opracowywaniem elektrod jonoselektywnych, postanowiłam zastosować chlorek tetraoktyloamoniowy pełniący funkcję wymiennicza jonowego elektrody ze stałym kontaktem. Związek ten nie był stosowany dotychczas jako składnik polimerowej membrany w elektrodach czułych na leki z wyjątkiem elektrody salicylanowej [22]. Badania z TOA rozpocząłam od elektrod czułych na ibuprofen (kwas 2-(4-izobutylofenylo)propionowy), ze względu na prostą strukturę cząsteczki w porównaniu z innymi pochodnymi kwasu propionowego, oraz dostępność formy handlowej w postaci soli sodowej [H1]. W pierwszym etapie badań przygotowałam kompleks jonowo – asocjacyjny IBU-TOA w wyniku procesu ekstrakcji jonowymiennej anionu ibuprofenowego z fazy wodnej do fazy organicznej, którą stanowił 60% (v/v) roztwór 1-dodekanolu. Skonstruowałam nowe elektrody ibuprofenowe ze stałym kontaktem z wyprowadzeniem Ag/AgCl. Elektrody te nie posiadają roztworu wewnętrznego, stąd stosuję dla nich skrót SCISE. Schemat budowy i preparatyki membrany stosowanej elektrody został przedstawiony na szczegółowym rysunku w publikacji [H7] oraz opis elektrody został zamieszczony w innych pracach [H1, H2, H3, H4, H8, H9]. Membrany przygotowano na bazie różnych plastyfikatorów tj.: DOS, o-NPOE oraz DIBP. Wszystkie elektrody wykazywały bardzo zbliżone parametry, zakres prostoliniowości charakterystyki 10^{-4} – 10^{-1} M, czułość 58,3–60,9±0,7 mV/dekadę, granicę wykrywalności $4,8$ – $6,8 \times 10^{-5}$ M. Spowodowane to było wysokim powinowactwem cząsteczki ibuprofenu zarówno do polarnego jak i lipofilowego plastyfikatora. Czas odpowiedzi nowych elektrod w porównaniu z wcześniejszą elektrodą ibuprofenową [D2] był znacznie krótszy o 40-30 s. Czas życia był korzystniejszy i dłuższy o 9 miesięcy.

W toku dalszych badań opracowałam elektrodę o funkcji ketoprofenowej [H2]. Do preparatyki membrany użyłam różnych plastyfikatorów z grupy ftalanów: DBP, DIBP, fosforanów: TBP, TEHP oraz

DOS-u i *o*-NPOE. Optymalną odpowiedź analityczną zarejestrowałam dla elektrody z membraną plastyfikowaną DBP, uzyskując nernstowską odpowiedź w zakresie stężeń ketoprofenu 10^{-4} – 10^{-1} M. Użycie wymiennicza anionowego TOA obsadzonego jonami ketoprofenu umożliwiło uzyskanie elektrody o niższej granicy wykrywalności (1×10^{-5} M) niż w przypadku elektrody z wymienniczem metylotrioktyloamoniowym ($5,75 \times 10^{-5}$ M) [D7]. Czas odpowiedzi uzyskanej elektrody był również krótszy o 14 s, czas życia elektrody był dłuższy i wynosił do 12 miesięcy. Zakres interferencji jonów wodorowych w przypadku nowej elektrody ketoprofenowej był również korzystniejszy (zakres pH od 5,5 do 9,0).

Następną opracowaną przeze mnie elektrodą w oparciu o kompleks naproksen – TOA była elektroda naproksenowa [H4]. Dla wszystkich elektrod zawierających w membranie plastyfikatory o różnej lipofilowości i polarności (DOA, DIBP, DBP, DOS, *o*-NPOE) uzyskałam korzystne parametry krzywej kalibracyjnej. Czułość mieściła się w przedziale wartości 57,4–59,7 mV/dekadę, zakres prostoliniowości wynosił 10^{-4} – 10^{-1} M. Podobnie jak dla elektrody KET, uzyskałam niższą granicę wykrywalności 2 – 3×10^{-5} M w stosunku do elektrody NAP zawierającej MTOA – 5×10^{-5} M [D4] lub 6×10^{-5} M [D10] oraz czas odpowiedzi równy 15 s. Nowa elektroda poprawnie funkcjonowała przez dłuższy czas (10 miesięcy), niż poprzednie elektrody (2,5 miesiąca).

Podsumowując uzyskane rezultaty, można stwierdzić, że parametry analityczne elektrod czułych na pochodne kwasu propionowego, w oparciu o wymiennicz TOA są podobne.

Kolejnym krokiem było opracowanie elektrod zawierających TOA selektywnych na pochodne kwasu octowego – indometacynową [H3, H6] oraz sulindakową [H7]. Membrany elektrod INDO zostały przygotowane w oparciu o plastyfikatory z różnych grup. Oprócz kryterium jakościowego, stosowałam też kryterium ilościowe. Zmiana ilościowa komponentów dotyczyła zawartości TBP w stosunku do innego plastyfikatora. Stosowałam mieszanki zawierające 5% wag. [H3] oraz 25% wag. [H6] TBP w stosunku do innego plastyfikatora. Korzystniejsze krzywe kalibracyjne uzyskałam dla elektrod z większą zawartością TBP zmieszanego z DIBP, nachylenie nernstowskie w zakresie stężeń 5×10^{-6} – 10^{-2} M, granicę wykrywalności $2,5 \times 10^{-6}$ M [H6].

Jak wynika z danych literaturowych, kolejna elektroda selektywna na pochodną kwasu octowego – sulindak, została przeze mnie opracowana po raz pierwszy [H7]. Oprócz stosowanych wcześniej plastyfikatorów używałam do preparatyki membran inne związki tj.: DIDP, BBPA i DOA. Wszystkie elektrody sulindakowe charakteryzowały się czułością w granicach 44–58 mV/dekadę w zakresie stężeń 5×10^{-5} – 10^{-2} M oraz granicą wykrywalności $1,0$ – $1,6 \times 10^{-5}$ M. Można zauważyć, że dla podanych elektrod ich czułość zależy od użytego ftalanu i wzrasta zgodnie z szeregiem DIBP<DBP<DIDP. Ponadto stwierdziłam, że wzrost lipofilowości rozpuszczalnika skutkuje spadkiem czułości elektrod sulindakowych w następującym szeregu: DOS<BBPA<NPOE<DBP. Najkorzystniejsze właściwości ekstrakcyjne rozpuszczalnika membrany, wykazały estry kwasu ftalowego. Czas odpowiedzi elektrod sulindakowej i indometacynowej jest krótki

i wynosi odpowiednio dla elektrody INDO 9–10 s, a dla elektrody SUL 15 s. Czas życia opracowanych elektrod mieści się w granicach 2,5–3 miesiące.

Nowa koncepcja prowadzonych przeze mnie badań to znalezienie innych substancji aktywnych, które poprawiłyby parametry analityczne wybranych elektrod. Moje zainteresowania były skierowane w dziedzinę chemii supramolekularnej, a zwłaszcza cyklodekstryn. Związki te należą do grupy cyklicznych oligosacharydów. Stanowią niezależną klasę makrocycli, otrzymywanych w wyniku procesów biotechnologicznych, co różni je od eterów koronowych, kryptandów, kaliksarenów i innych związków makrocyclicznych otrzymywanych w syntezach chemicznych. Cyklodekstryny dzięki swojej unikalnej, charakterystycznej budowie oraz właściwościom fizykochemicznym mają zdolność oddziaływania z szerokim spektrum związków o charakterze cząsteczek organicznych, jonów, a nawet tak małych struktur jak rodniki, tworząc tzw. kompleksy inkluzyjne, w których pełnią rolę gospodarza. Reakcje między cząsteczką cyklodekstryny a cząsteczką gościa opierają się na licznych słabych oddziaływaniach takich jak: wiązania wodorowe, siły van der Waalsa, czy też oddziaływania typu dipol – dipol lub inne oddziaływania dyspersyjne. Inkluzja może zachodzić również w wyniku efektu sterycznego, który zależy od rozmiarów cząsteczki gościa oraz cyklodekstryny, jak również obecności grup funkcyjnych [28]. Oba te efekty mogą zachodzić w różnym stopniu dla różnych związków np. β -cyklodekstryny bardziej preferują związki z grupami aromatycznymi i heterocyklicznymi, α -cyklodekstryny – preferują związki aromatyczne, a γ -cyklodekstryny - steroidy oraz makrocycle. Cyklodekstryny poddaje się różnego typu modyfikacjom grup hydroksylowych w celu poprawy ich właściwości np. kompleksotwórczych. Poprzez alkilowanie grup hydroksylowych w pozycjach 2, 3 i 6, cyklodekstryny uzyskują charakter lipofilowy, co z kolei umożliwia ich zastosowanie jako jonoforów membranach elektrod jonoselektywnych.

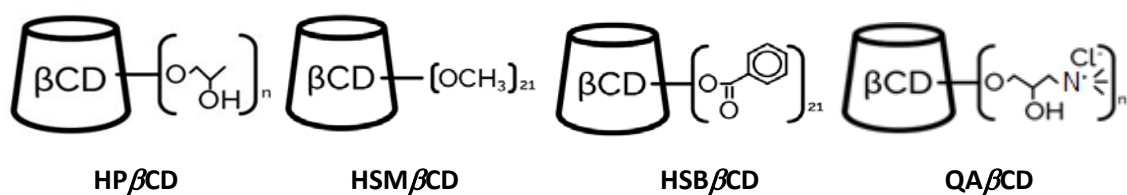
Wynikiem moich zainteresowań oraz poszerzenia wiedzy w tym kierunku, było napisanie rozdziału do książki dotyczącego zastosowania cyklodekstryn w potencjometrii [29]. Monografia ta zawiera m. in. opis chronologicznie opracowywanych elektrod jonoselektrywnych o różnych konstrukcjach w oparciu o związki aktywne z grupy cyklodekstryn. Przedstawione elektrody służą głównie do oznaczania związków o charakterze leczniczym. Pierwsze elektrody jonoselektywne zawierające cyklodekstryny w roli selektorów chiralnych, pojawiły się w latach 90-tych. Zespół badaczy – Parker, Katakly i inni zaproponowali elektrody czułe na pochodne efedryny, propranolol i amfetaminę. Kolejno ten sam zespół opracował elektrody selektywne na związki oniowe: chlorek acetylocholino, chlorowoderek dopaminy i substancję o charakterze surfaktanta bromek mirystylotrimetyloamoniowy. Wśród API-s, na które opracowano w kolejnych latach elektrody jonoselektywne można wymienić jeszcze wiele innych związków: organiczne aminy, chlorowoderek lidokainy, propranolol, S-perindopryl, prolinę, kwas 2-hydroksyglutarowy, tobramycynę, velsamicol, butylobromek hioscyny, midazolam, diazepam, witamina B1, B6 i B12, bromek pirydostygminy, cetyryzyna, tetracyklina, sulfadiazyna, dekstrometorfan,

metronidazol, chlorowodorek cyklobenzaprinu, pramoksyna, sulfametoksazol, metformina, amisulpryd, midodrina, moksyflokscyna, rywastygmina [29].

W ostatnich latach przedstawiono kilka nowych elektrod w oparciu o cyklodekstryny, m.in. elektrodę do oznaczania witaminy B3, oksykamów, flukonazolu i innych, które zostały opisane szczegółowo w artykule przeglądowym [H12]. Spośród API-s działających przeciwbólowo, opracowano jedynie elektrody czułe na takie związki jak: piroksykan, diklofenak, ibuprofen, S-flurbiprofen [29, H12].

Z przeglądu literaturowego w dziedzinie zastosowania cyklodekstryn w elektrochemii wynika, że związki te są ostatnio często używane. Największą grupę czujników elektrochemicznych stanowią ostatnio bardzo licznie opracowywane nowe modyfikowane elektrody (sensory amperometryczne i voltamperometryczne) na bazie materiałów węglowych, metali szlachetnych modyfikowane m. in. cyklodekstrynami. Mają one szerokie zastosowanie nie tylko w analizie farmaceutycznej, ale także mogą być stosowane do oznaczeń wielu cząsteczek o znaczeniu biologicznym np. glukoza, cholesterol, DNA, aminokwasy, kwas moczowy. Wynikiem zebrania wiedzy na ten temat był napisany na zaproszenia artykuł przeglądowy w renomowanym czasopiśmie, *Current Medicinal Chemistry* [H12]. Stale rozwijająca się ta dziedzina badań (liczba publikacji po 2010 roku zwiększyła się prawie dwukrotnie w stosunku do poprzedniej dekady) świadczy o wciąż niewyczerpalnych możliwościach zarówno konstrukcyjnych jak i aplikacyjnych tego typu sensorów. Przy czym należy wspomnieć, że liczba prezentowanych w literaturze czujników potencjometrycznych w stosunku do innych sensorów elektrochemicznych jest znacznie mniejsza [29, H12].

W dalszym etapie badań zaproponowałam nowe elektrody ze stałym kontaktem (z elektrodą Ag/AgCl oraz z węglem szklanym) modyfikowane pochodnymi β -cyklodekstryn. Jako API-s, wybrałam nową nie badaną dotychczas przeze mnie substancję czynną – diklofenak [H8], naproksen [H9] oraz ibuprofen [H11, H13]. Ze względu na bardzo dobre parametry analityczne elektrod: indometacynowej, ketoprofenowej oraz sulindakowej, związki aktywne INDO, SUL oraz KET nie były uwzględnione do dalszych badań w aspekcie otrzymania nowych elektrod i optymalizacji fazy membranowej. Swoją uwagę skupiałam na wybranych API-s ze względu na 1) popularność stosowania i opracowywania na rynku nowych preparatów farmaceutycznych zawierających dany API 2) konieczność doskonalenia i poprawy parametrów analitycznych opracowywanych na wybrane API-s elektrod. Stosowane w moich pracach β -cyklodekstryny, należały do grupy obojętnych β -cyklodekstryn, z podstawnikami: alifatycznym, aromatycznym, oraz kationowa czwartorzędowa amoniowa β -cyklodekstryna. Wzory poszczególnych cyklodekstryn umieszczono na Rysunku 1.



Rys. 1. Cyklodekstryny stosowane jako jonofory: (2-hydroxypropylo)- β -cyklodekstryna (**HP β CD**), heptakis (2,3,6-tri-O-metylo)- β -cyklodekstryna, (**HSM β CD**), heptakis (2,3,6-tri-O-benzoilo)- β -cyklodekstryna (**HSB β CD**), chlorek(2-hydroksy-3-N,N,N-trimetylamino)propylo- β -cyklodekstryny(**QA β CD**) [30].

Wybór cyklodekstryn do badań był podyktowany przede wszystkim danymi literaturowymi. Opierając się na metodach rozdzielania np. chromatograficznych, elektroforetycznych, można przewidzieć, dobrać i zastosować dany związek np. odpowiednią cyklodekstrynę jako jonofor w membranie elektrody jonoselektywnej do analizy związków farmaceutycznych. Większość leków ma charakter kationów ze względu na uwodornienie grup amonowych i utworzenie chlorowodorków. Stanowią one grupę bardziej rozpowszechnioną w stosunku do leków anionowych np. barbiturany, leki niesteroidowe przeciwbólowe. W związku z tym w literaturze opisywanych jest więcej cyklodekstryn anionowych niż cyklodekstryn kationowych stosowanych w metodach rozdziału. Do pochodnych cyklodekstryn kationowych stosowanych w selektywnym rozdzielaniu kwasów karboksylowych lub aminokwasów, najczęściej można zaliczyć: mono- i poli- pochodne aminowe cyklodekstryny. Najczęściej używaną cyklodekstryną w chiralnym i achiralnym rozdzielaniu elektroforetycznym związków leczniczych jest QA β CD [31]. W porównaniu z cyklodekstrynami obojętymi, CD obdarzone ładunkiem, lepiej kompleksują cząsteczki organiczne obdarzone przeciwnym ładunkiem np. leki o charakterze kwasowym bardziej preferują cyklodekstryny kationowe [32].

Z danych literaturowych wynika, że badano związki inkluzyjne soli sodowej diklofenaku z β -cyklodekstryną, HP β CD, np. metodą spektroskopii Ramana, SERS [33], UV-VIS, spektroskopii fluorescencyjnej, konduktometrii [34], NMR [35]. W świetle tych badań, diklofenak tworzy kompleksy z β -cyklodekstrynami w większości w stosunku molowym 1:1. Podobnie pozostałe związki, naproksen i ibuprofen tworzą kompleksy typu gospodarz – gość z β -cyklodekstrynami. Badano np. kompleksy inkluzyjne IBU z β CD i pochodnymi [36-38] m. in. metodą spektroskopii FTIR, UV-VIS, metodami analizy termicznej, spektrofotometrii, IBU z HSM β CD metodą dyfraktometrii promieni X oraz metodami analizy termicznej [39]. Dla kompleksu naproksenu najczęściej z β CD i pochodnymi, stosunek molowy wynosi również w większości 1:1 [40, 41]. W przemyśle farmaceutycznym, pochodna HP β CD jest również często używanym związkiem kompleksującym, zwiększającym rozpuszczalność leków np. diklofenaku [42]. Opierając się na w/w publikacjach, danych producentów leków, przyjęłam odpowiednie stosunki molowe

opisanych kompleksów i zastosowałam wymienione wyżej cyklodekstryny jako substancje aktywne badanych elektrod.

Spośród wybranych do badań cyklodekstryn, HSB β CD i QA β CD nie były dotąd stosowane jako jonofory czujników potencjometrycznych. Po raz pierwszy zastosowałam je w elektrodach naproksenowej [H9], ibuprofenowej [H11, H13] oraz w elektrodzie diklofenakowej (HSB β CD) [H8]. Założyłam, że związki HSM β CD HSB β CD QA β CD tworzą kompleksy inkluzyjne z wybranymi API-s w tych samych stosunkach molowych.

We wstępnej części moich badań nad elektrodą naproksenową, w celu sprawdzenia możliwości kompleksujących odpowiednich cyklodekstryn z NAP, wykonano widma w podczerwieni metodą ATR-FTIR odpowiednio czystego związku – naproksenu oraz cyklodekstryn: HSM β CD, HSB β CD, HP β CD, QA β CD, ich mieszanin fizycznych oraz spreparowanych kompleksów. Na widmach tych widać wyraźnie [H9], że w przypadku kompleksów NAP z pochodnymi β CD brak charakterystycznych pasm absorpcji dla samego NAP lub są niewidoczne niektóre pasma charakterystyczne dla mieszaniny NAP+ β CD. Ponadto widma kompleksów są zbliżone bardziej do widm samej cyklodekstryny. Uzyskane wyniki badań spektralnych potwierdzają tworzenie się kompleksów inkluzyjnych z NAP. Częsteczką naproksenu jako gość wnika częściowo lub całkowicie do hydrofobowej wnęki gospodarza, cyklodekstryny.

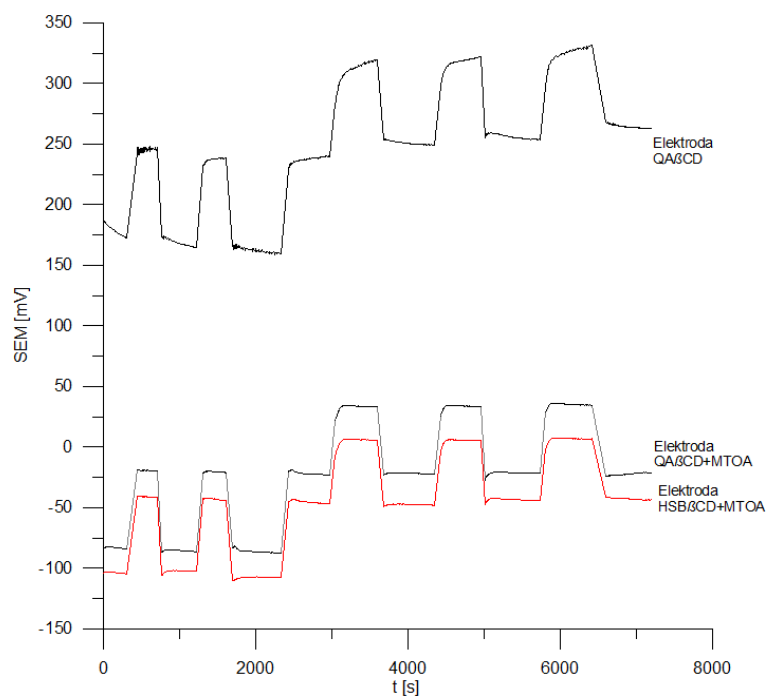
W wyniku przeprowadzonych badań okazało się, że umieszczenie w polimerowej membranie pochodnych β -cyklodekstryn wraz z dodatkiem jonowym (w stosunku wagowym 1:3) polepsza znacznie charakterystykę elektrod. Jako dodatek jonowy stosowałam głównie chlorek TOA [H8, H9] oraz chlorek MTOA [H11]. Związki te miały na celu stabilizację ładunku powstających kompleksów, zapewnienie selektywnej permeacji (*ang. permselectivity*) i elektroobojętności membrany. Ponadto miejsca jonowe redukują opór elektryczny membrany pozwalając na lepszą ruchliwość jonów w warstwie organicznej. Jako plastyfikatorów użyłam tylko *o*-NPOE, DOS oraz wybrane ftalany ze względu na ograniczoną rozpuszczalność badanych cyklodekstryn w pozostałych plastyfikatorach tj.: DOA, TEHP, DIDP i BBPA.

W przypadku elektrod diklofenakowych [H8] nachylenie charakterystyki mieści się w zakresie wartości od ok. 55 do ok. 60 mV/dekadę w zakresie stężeń 5×10^{-5} – 10^{-2} M, z wyjątkiem elektrody HSM β CD z DIBP (1×10^{-4} – 10^{-2} M). Granica wykrywalności wynosi $1,0 \times 10^{-5}$ – $7,9 \times 10^{-6}$ M. Krzywe kalibracyjne dla wszystkich elektrod z wyjątkiem elektrody HSM β CD z DIBP wykazują bardzo wysoki współczynnik korelacji 0,9999–0,9983. Czujniki plastyfikowane DOS-em i zawierające HSB β CD i HSM β CD wykazują niewiele niższą czułość. Wszystkie elektrody z membraną plastyfikowaną *o*-NPOE wykazują korzystniejsze nachylenie krzywej kalibracyjnej o ok. 5 mV/dekadę niż elektrody z DOS-em. Dla elektrody zawierającej HP β CD uzyskałam stabilną prawie nernstowską czułość i najniższą granicę wykrywalności ($7,9 \times 10^{-6}$ M). Elektroda diklofenakowa wykazuje korzystny czas odpowiedzi równy 10 s. Zakres stałości potencjału w zależności od zmiany stężenia jonów wodorowych wynosi 6,2–8,5. Elektroda diklofenakowa charakteryzuje się również

bardzo stabilnym potencjałem oraz dobrą odwracalnością potencjału. Dla elektrody dwumiesięcznej zawierającej w membranie HSB β CD z *o*-NPOE obserwowany dryft potencjału w czasie jednej doby był najmniejszy. Elektrody diklofenakowe (HSM β CD HSB β CD oraz HP β CD), zawierająca dodatkowo TBP w wewnętrznej warstwie i zewnętrznej warstwie membranowej wykazują odwracalność potencjału z odchyleniem standardowym dla wszystkich elektrod w granicach 0,29–1,33 mV. Spośród podanych w literaturze innych diklofenakowych czujników potencjometrycznych, opracowane przeze mnie czujniki wykazują najdłuższy czas życia 10 miesięcy.

Dla elektrod naproksenowych [H9] zawierających w fazie membranowej HSM β CD i *o*-NPOE, można zaobserwować stabilne, nernstowskie nachylenie krzywej kalibracyjnej, niską granicę wykrywalności. Może to być spowodowane tworzeniem kompleksów poprzez oddziaływania wodorowe między cząsteczkami - grupą karboksylanową naproksenu a grupami hydroksylowymi cyklodekstryny (-H---O-H). Podobne parametry wykazują czujniki z HSB β CD (z *o*-NPOE lub DIBP). Cyklodekstryny te są dobrze rozpuszczalne w ftalanach oraz eterze, ale mimo to elektrody plastyfikowane bardziej polarnym eterem (stała dielektryczna $\epsilon=14$), wykazują nieco lepsze parametry. Porównując parametry elektrod naproksenowych z różnymi cyklodekstrynami, elektrody przygotowane z HSB β D odznaczają się lepszymi parametrami analitycznymi niż elektrody z HSM β CD i QA β CD-s. W tym przypadku zdelokalizowane elektrony pierścieni aromatycznych naproksenu mogą oddziaływać z grupą benzoilową cyklodekstryny i cząsteczka może wnikać do wnętrza cyklodekstryny tworząc związek inkluzyjny. W wyniku tego powstaje stabilniejszy stan o niższej energii, a więc będą występowały bardziej korzystne warunki ekstrakcji. Elektroda bez dodatku jonowego w membranie wykazuje stosunkowo wyższe nachylenie charakterystyki i odchylenie standardowe ($75\pm 8,7$ mV/dekadę) co wyklucza ją jako elektrodę do oznaczeń naproksenu.

Odwracalność potencjału elektrod naproksenowych zawierających cyklodekstryny HSB β CD oraz QA β CD z dodatkiem soli lipofilowej w fazie wewnętrznej jest lepsza w porównaniu do takich samych elektrod bez dodatku soli lipofilowej MTOA. Dla czujników (HSB β CD+MTOA i QA β CD+MTOA) uzyskałam znacznie lepszą odwracalność potencjału w roztworach o stężeniach 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} M. Odchylenie standardowe mieściło się w granicach 2,3–2,7 mV oraz 1,3–2,4 mV dla odpowiednich elektrod. Dla czujnika QA β CD odchylenie standardowe było znacznie wyższe, mieściło się w granicach 6,9–10,5 mV. Można wnioskować, że elektroda Ag/AgCl umieszczona w plastyfikowanym poli(chloroku winylu) z dodatkiem soli chlorkowej wykazuje potencjał bardziej stabilny i odwracalny. Dodatek soli lipofilowej MTOA-Cl zapewnił wyższe stężenie jonów chlorkowych w warstwie wewnętrznej elektrody oprócz jonów pochodzących z rozkładu polichloroku winylu. Wyniki uzyskanych rezultatów przedstawiłam na Rys. 2. W porównaniu do elektrody NAP z TOA, nowa elektroda naproksenowa zawierająca CD wykazuje krótszy czas odpowiedzi 10 s.



Rys. 2. Odwracalność potencjału trzech elektrod naproksenowych zawierających w membranie HSB β CD lub QA β CD z dodatkiem MTOA lub bez dodatku MTOA do warstwy wewnętrznej.

Dla elektrod ibuprofenowych [H11] do preparatyki membrany wybrałam dwie cyklodekstryny HSB β CD oraz QA β CD jak wynika z danych literaturowych nie stosowane jako jonofory elektrod ibuprofenowych oraz jako rozpuszczalnik *o*-NPOE. Elektrody te wykazują podobne parametry analityczne, zakres prostoliniowości 5×10^{-5} – 10^{-2} M, czułość 59,46 mV/dekadę (minimalnie wyższa dla elektrody HSB β CD) oraz granicę wykrywalności $2,5 \times 10^{-5}$ M. Czujnik, który zawiera w fazie membranowej dodatek jonowy MTOA-Cl (HSB β CD) wykazuje odwracalność potencjału z odchyleniem standardowym ok. 1 mV. Czas odpowiedzi w wyniku zatężania próbki jest w porównaniu do poprzednio opracowanych elektrod (TOA) krótszy i wynosi 10–15 s. Opracowane elektrody wykazują dłuższy czas życia w porównaniu do czujników z wymiennikiem TOA. Nowa elektroda IBU zawierająca HSB β CD przechowywana w temperaturze pokojowej, nie używana w pomiarach, zachowuje poprawną nernstowską odpowiedź po czasie dwóch lat.

Reasumując, zastosowanie cyklodekstryn jako związków aktywnych polimerowej membrany w porównaniu do klasycznego wymiennicza jonowego, zwiększyło zakres nernstowskiej odpowiedzi elektrod ibuprofenowej [H11] oraz naproksenowej [H9], obniżając granicę wykrywalności do wartości $2,5$ – $3,0 \times 10^{-5}$ M (dla elektrody ibuprofenowej) oraz $1,0 \times 10^{-5}$ M (dla elektrody naproksenowej).

Elektrody diklofenakowe [H8] skonstruowane w oparciu tylko o cyklodekstryny wykazują podobne parametry do elektrod NAP i IBU. Zestawienie parametrów analitycznych opracowanych przeze mnie elektrod przedstawiłam w Tabeli 1.

Tabela 1. Parametry analityczne elektrod ze stałym kontaktem z wyprowadzeniem Ag/AgCl

Elektroda	Czułość [mV/dekadę] Zakres prostoliniowości [M]		Zakres pH		Czas życia [miesiące]		Czas odpowiedzi [s]	
	TOA	HSB β CD	TOA	HSB β CD	TOA	HSB β CD	TOA	HSB β CD
IBU TOA [H1] HSB β CD [H11]	58,3–60,9 10^{-4} – 10^{-1}	9,5 5×10^{-5} – 10^{-2}	6,0–9,3	5,1–9,1	11–12	10–15	20–30	10–15
NAP TOA [H4] HSB β CD [H9]	57,4–59,7 10^{-4} – 10^{-1}	59,3 5×10^{-5} – 10^{-2}	5,5–9,5	6,0–9,0	20	10	15	10
DIKLO [H8]	–	60,0 5×10^{-5} – 10^{-2}	–	6,2–8,5	–	8–10	–	10
KET [H2]	59,1 10^{-4} – 10^{-1}	–	5,0–9,5	–	12	–	15	–
INDO [H6]	58,7 5×10^{-6} – 10^{-2}	–	5,5–10,0	–	2,5	–	9	–
SUL [H7]	57,5 5×10^{-5} – 10^{-2}	–	6,0–9,0	–	3	–	15	–

Selektywność elektrod

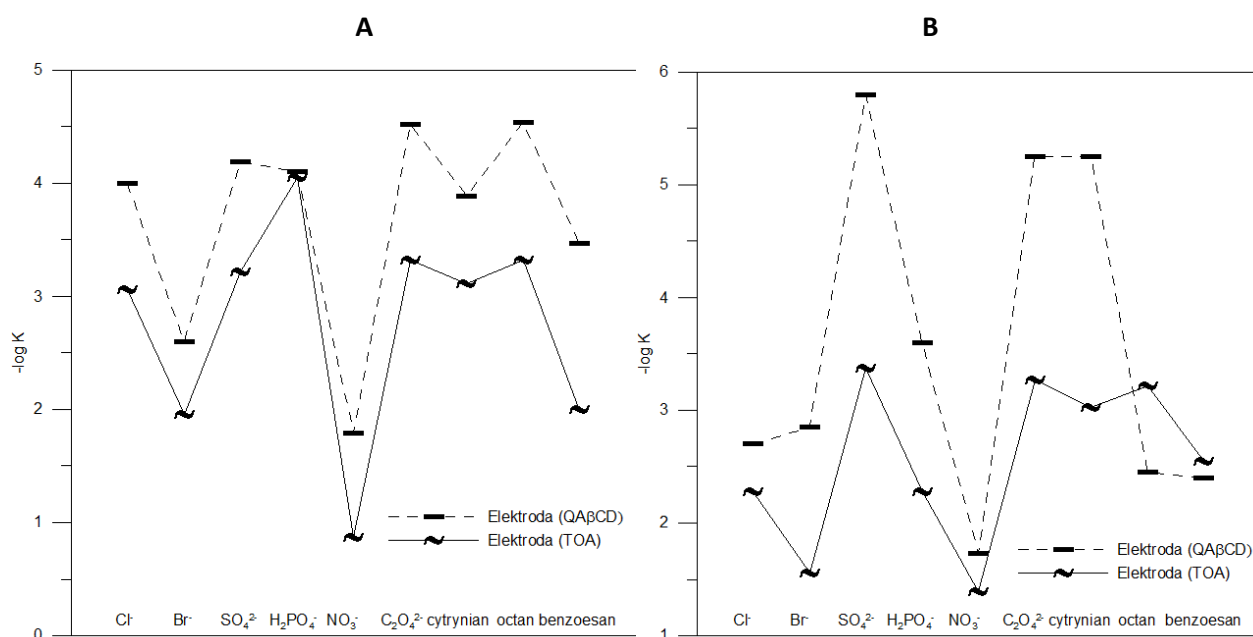
Jednym z najważniejszych parametrów elektrod jonoselektywnych jest selektywność. Dla elektrod zawierających obojętny jonofor, wielkość ta jest zależna od stałych kompleksowania jonoforu oraz anionów. W przypadku elektrod zawierających w membranie wymienniczkę jonową, selektywność będzie zależała od współczynników podziału anionów między fazą wodną a organiczną membraną. Czasami wyznaczone stałe kompleksowania jonoforu w odpowiednich rozpuszczalnikach organicznych są wyznacznikiem otrzymania wysokoselektywnej membrany. W przypadku związków np. cyklodekstryn jako jonoforów, kluczowym czynnikiem rozpoznawania molekularnego w roztworze jest umieszczenie cząsteczki wewnątrz hydrofobowej wnęki według przestrzennego dopasowania. Jednak mechanizm rozpoznawania molekularnego w układzie membranowym sprawia pewne trudności ze względu na konkurujące ze sobą interakcje między cząsteczkami jonoforu, organicznymi cząsteczkami oraz komponentami membrany. Całkowitą selektywność elektrody będzie więc określał charakter lipofilowy membrany, czyli wpływ innych jej komponentów tj. plastyfikator, lipofilowa sól, matryca [43].

W przypadku elektrod ibuprofenowych [H11], opartych na QA β CD (*o*-NPOE) (Rys. 3) widoczny jest wzrost wartości ujemnego log współczynnika selektywności w porównaniu do elektrod IBU–TOA (*o*-NPOE) [H1] wyznaczonego dwiema metodami SSM oraz FIM. Na podstawie uzyskanych wartości współczynników selektywności można też zauważyć, że dla obu elektrod wartości te układają się w podobne szeregi kolejno dla jonów: azotan > bromek > benzoesan > chlorek = cytrynian oraz w dalszej części różniące się, dla

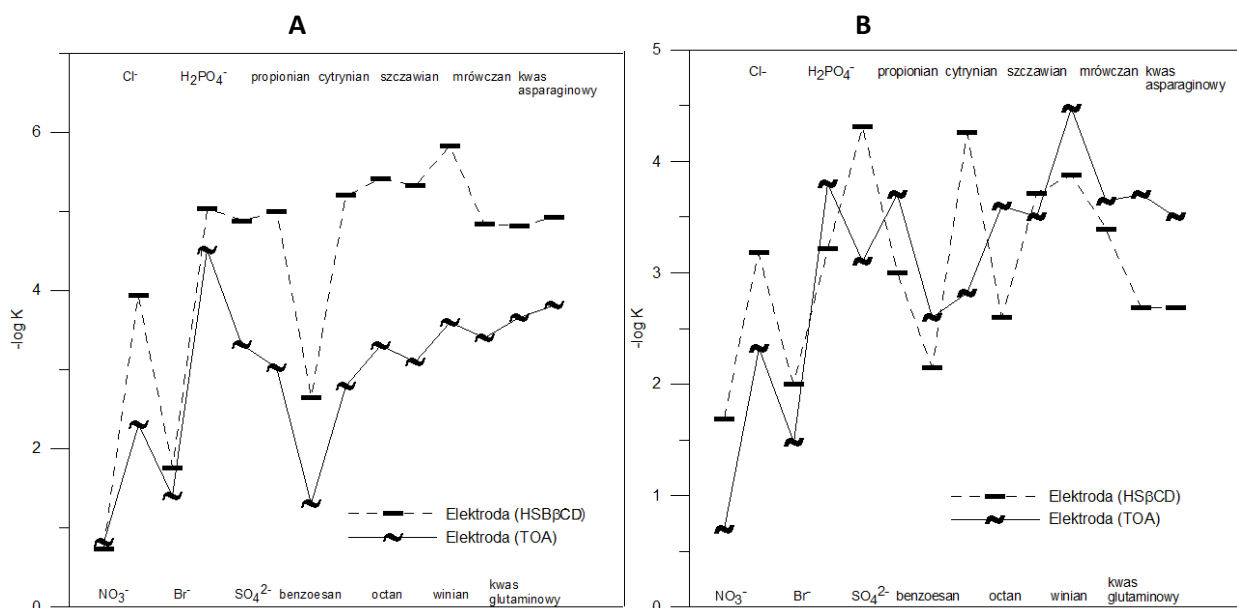
elektrody QA β CD: wodorofosforan > siarczan > szczawian = octan, dla elektrody TOA: siarczan > szczawian = octan > wodorofosforan.

Dane literaturowe potwierdzają uzyskane szeregi selektywności. Otrzymane stałe trwałości kompleksów m. in. β -cyklodekstryn z małymi anionami nieorganicznymi metodą konduktometryczną maleją odpowiednio w szeregu: ClO $_4^-$ > SCN $^-$ > I $^-$ > Br $^-$ > NO $_3^-$ > Cl $^-$ [44].

Współczynniki selektywności dla elektrod naproksenowych wyznaczone metodą SSM dla elektrod zawierających HSB β CD są najkorzystniejsze (wartości $-\log K$ są najwyższe) w stosunku do innych elektrod naproksenowych opartych na cyklodekstrynach [H9]. Wartości te można uporządkować w kierunku malejącym w następujący szereg: naproksen > NO $_3^-$ > J $^-$ > Br $^-$ > benzoesan > Cl $^-$ > kwas glutaminowy > mrówczan > SO $_4^{2-}$ > kwas asparaginowy > propionian > H $_2$ PO $_4^-$ > cytrynian > szczawian > octan > winian. Związki o charakterze substancji pomocniczych (*excipients*) w preparatach farmaceutycznych tj. glukoza, laktoza, mannit nie wykazują interferencji. Porównanie wartości $-\log K$ dla elektrod naproksenowych HSB β CD [H9] oraz TOA [H4] przedstawia diagram na Rys. 4. Dla wszystkich jonów nieorganicznych oraz organicznych osiągnięto wyższe stosunkowo wartości $-\log K$, wyznaczone metodą SSM. Dla jonów chlorkowych, siarczanowych, benzoesanowych, mrówczanowych, o 1,5 jednostki większe, dla jonów propionianu, octanu, szczawianu, winianu o dwie jednostki wartości większe, dla jonów aminokwasów o jednostkę większe.



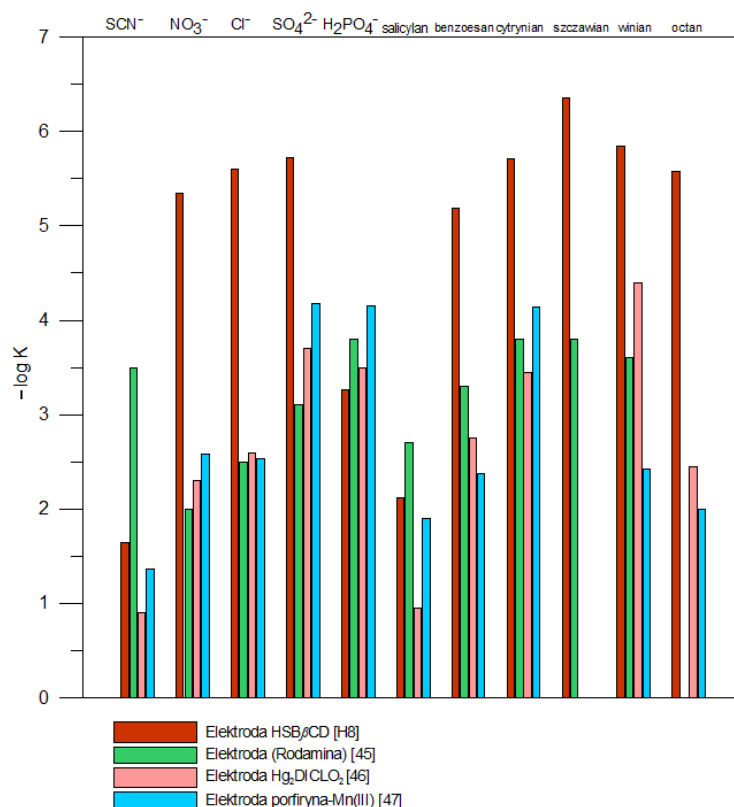
Rys. 3. Diagram przedstawiający porównanie wartości współczynników selektywności dla elektrod ibuprofenowych zawierających cyklodekstrynę oraz TOA wyznaczonych dwiema metodami SSM (rys. A) oraz FIM (rys. B).



Rys. 4. Diagram przedstawiający porównanie wartości współczynników selektywności dla elektrod naproksenowych zawierających cyklodekstrynę oraz TOA wyznaczonych dwiema metodami SSM (rys. A) oraz FIM (rys. B).

Metodą FIM, otrzymano znacznie korzystniejsze wartości K w porównaniu do elektrody TOA, dla jonów tj.: chlorek, azotan, siarczan, cytrynian oraz mniejsze różnice we współczynnikach dla jonów: bromkowych, szczawianowych. Dla elektrod diklofenakowych opartych na cyklodekstrynach [H8] najkorzystniejsze wartości współczynników selektywności wykazują czujniki plastyfikowane *o*-NPOE zawierające HSMβCD oraz HSBβCD. Dane doświadczalne osiągnięte w niniejszej pracy zostały porównane z wybranymi danymi literaturowymi (Rys. 5). W przypadku większości interferentów opracowane przeze mnie elektrody wykazują znacznie korzystniejsze wartości współczynników selektywności niż elektrody diklofenakowe w oparciu o pary jonowe czy też porfiryny. Najwyższe wartości $-\log K$ elektrody diklofenakowe wykazują względem jonów nieorganicznych NO₃⁻, Cl⁻, SO₄²⁻ i organicznych tj.: benzooesan, cytrynian, octan, szczawian, winian, mrówczan.

Elektrody oparte na wymienniczu jonowym: elektroda ketoprofenowa [H2], sulindakowa [H7] indometacynowa [H6] wykazują dobrą selektywność względem interferentów nieorganicznych oraz organicznych. Elektroda czuła na ketoprofen z wymienniczem TOA w stosunku do elektrody wcześniej opracowanej [D7] wykazuje lepsze wartości współczynników o jedną jednostkę dla chlorków, o półtorej jednostki dla cytrynianu, o dwie jednostki dla siarczanu, wodorofosforanu i szczawianu.



Rys. 5. Porównanie wartości współczynników selektywności elektrod diklofenakowych.

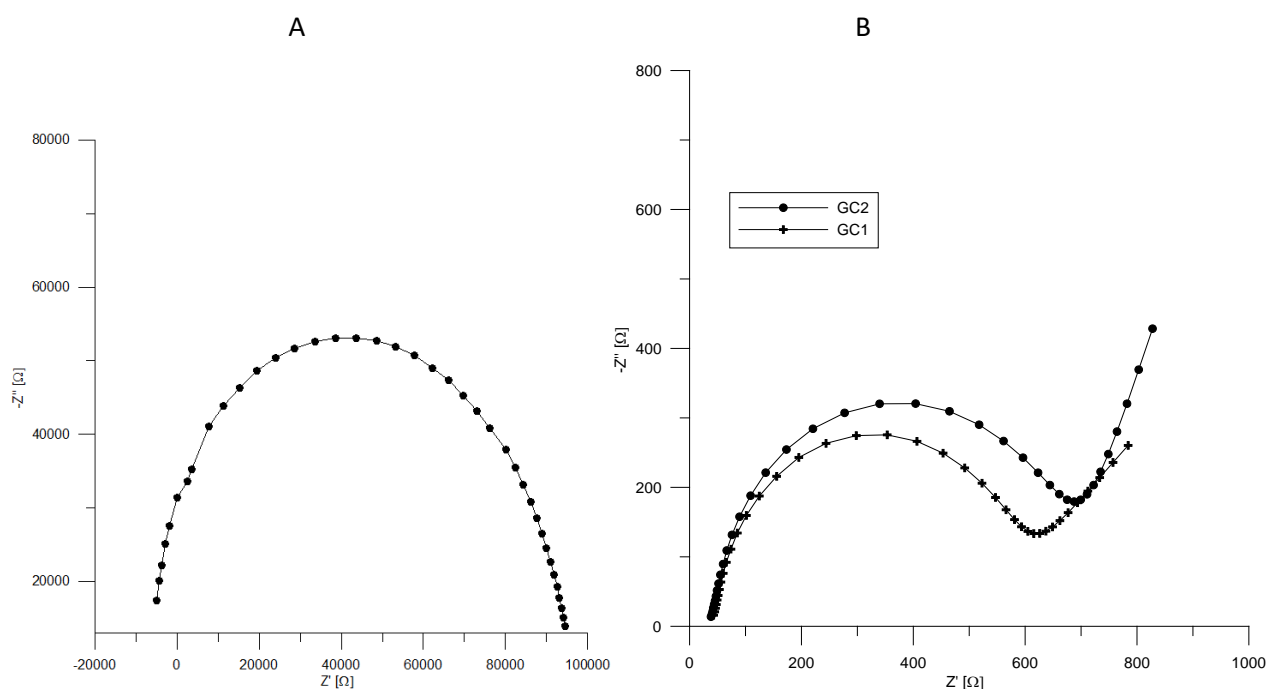
Elektrody czułe na pochodne kwasu indoliloctowego tj. indometacyna i sulindak wykazują korzystne współczynniki selektywności zgodne z szeregiem lipofilowości. Dla elektrody INDO najniższe wartości rzędu $-\log K=2$ osiągnięto dla jonów tj. azotan, benzoesan, wartości $-\log K\sim 3$ dla jonów tj. bromek chlorek wodorofosforan, propionian, octan, mrówczan, wartości $-\log K\sim 4-5$ osiągnięto dla pozostałych jonów tj. siarczan, cytrynian, szczawian, winian, kwas glutaminowy, kwas asparaginowy, glicyna malonian, glukoza, laktoza, D-mannitol. Wartości współczynników selektywności dla elektrody sulindakowej były również korzystne i wynosiły dla jonów azotanowych, bromkowych, benzoesanowych $-\log K=1$, dla jonów tj. chlorek i propionian $-\log K=3$, dla jonów octanowych, szczawianowych, winianowych, mrówczanowych $-\log K\sim 4$ oraz wartości $-\log K\sim 5$ uzyskano dla siarczanów, wodorofosforanów, cytrynianów, kwasu glutaminowego, kwasu asparaginowego i glicyny.

Parametry analityczne elektrody ze stałym kontaktem na podłożu z węgla szklanego (GC)

W kolejnym etapie badań postanowiłam określić właściwości potencjałotwórcze membrany polimerowej opartej na cyklodekstrynach ale w układzie o innym przewodniku elektronowym niż dotychczas badane czujniki z elektrodą wewnętrzną Ag/AgCl. Wybrane czujniki ibuprofenowe stanowiły elektrody na nowym podłożu wyprowadzającym z węgla szklanego. Oprócz komponentów stosowanych

w polimerowej membranie umieściłam dodatkowo wielościennie nanorurki węglowe (MWCNT-s). W czujnikach elektrochemicznych MWCNT-s zapewniają przepływ elektronów między elektrodą a elektroaktywnymi cząsteczkami, przyczyniając się do poprawy odpowiedzi analitycznej i zmniejszenia oporu, a tym samym zwiększenia stabilności zarejestrowanego sygnału. Wśród elektrod dostępnych w literaturze, dotyczącej czujników potencjometrycznych w oparciu o nanorurki węglowe oraz cyklodekstryny można znaleźć jak dotąd niewiele prac. Wymienić można elektrody sitodrukowane czułe na bromek ipratropiowy, oksykamy, piroksykan. Znacznie więcej opracowanych jest czujników woltamperometrycznych, amperometrycznych czułych na leki w oparciu o te nanomateriały [H12]. Przedstawione przeze mnie nowe elektrody stanowią znaczny wkład w rozwój literatury elektrochemicznej dotyczącej czujników elektrochemicznych modyfikowanych cyklodekstrynami.

Jako API, na który czułe były elektrody na podłożu z węgla szklanego wybrałam ibuprofen. Postanowiłam zbadać oporność membran elektrod ibuprofenowych ze stałym kontaktem z elektrodą Ag/AgCl [H11] oraz nowej skonstruowanej elektrody na podłożu z węgla szklanego [H13] przy pomocy elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej (EIS). Technika ta w przypadku elektrod jonoselektywnych jest pomocna do badania oporności membran, pojemności podwójnej warstwy [48] i jest jak dotąd rzadko stosowana. W ramach współpracy naukowej wyznaczyłam widma impedancyjne dla elektrody ze stałym kontaktem Ag/AgCl zawierającej w fazie membranowej HSB β CD oraz dla nowych elektrod z GC zawierających HSB β CD oraz QA β CD (Rys. 6 A, B).



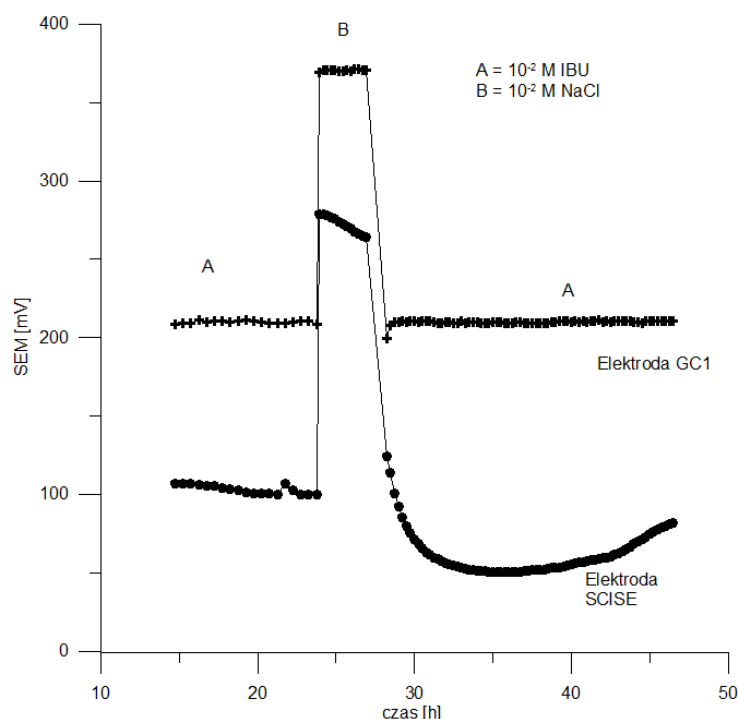
Rys. 6. Widma EIS dla elektrody IBU HSB β CD ze stałym kontaktem (A) oraz elektrod na podłożu z węgla szklanego (B) GC1 (HSB β CD/MWCNT-s) oraz GC2 (QA β CD).

Z przedstawionych rezultatów wynika, że wartość oporu R_b elektrod GC jest ok 200 razy mniejsza od wartości oporu elektrody z Ag/AgCl. Opór elektrody ze stałym kontaktem jest stosunkowo duży i wynosi R_b $105,5 \times 10^3 \Omega$ przy dosyć niskiej wartości pojemności C_g równej $72,1 \times 10^{-11} F$. W przypadku tych dwóch elektrod na pewno znaczny wpływ na lepsze przewodnictwo elektrod GC miała obecność w membranie MWCNT-s. Uzyskane z widm impedancji parametry dla elektrod GC z zastosowaniem dwóch różnych cyklodekstrym są korzystniejsze w przypadku elektrody 1 (HSB β CD). Uzyskana dla niej wartość R_b jest mniejsza od tej wyznaczonej dla elektrody 2 (QA β CD) a wartość pojemności C_g większa niż dla elektrody 2. Można więc wnioskować, że obecność cyklodekstryny HSB β CD w membranie elektrody 1 przyczynia się również do efektywniejszego przewodnictwa jonowo – elektronowego.

W dalszym etapie badań porównałam efekt tworzenia się warstwy wodnej na granicy faz elektroda wewnętrzna – polimerowa membrana, która w przypadku elektrod jonoselektywnych może prowadzić do niestabilności potencjału. Skład takiej warstwy wodnej zależy od typu próbki, ponieważ zarówno jony główne jak i interferujące jony mogą przenikać przez membranę do tworzącej się warstwy. Dla elektrody modyfikowanej GC (Rys. 7) nie zaobserwowałam dryftu potencjału w roztworze NaCl. Wskazuje to na brak tworzenia się niekorzystnej warstwy wodnej pomiędzy powierzchnią stałego kontaktu z węgla szklanego a polimerową membraną. Po umieszczeniu elektrody w roztworze jonu głównego, wartość potencjału wraca niemal do wartości potencjału z pierwszej części badania. Odmianą sytuację zaobserwowałam dla elektrody SCISE o innej konstrukcji, o tym samym składzie membranowym, ale nie zawierającej MWCNT-s. W roztworze NaCl, potencjał elektrody lekko dryfuje w kierunku wartości ujemnych nie osiągając wartości stałej w danym czasie (5 godzin). Ponadto, po ponownym zanurzeniu elektrody do jonu głównego można zaobserwować, że potencjał wraca do stanu wyjściowego w dłuższym czasie. Świadczy to o obecności warstwy wodnej pomiędzy powierzchnią elektrody a membraną polimerową. Podsumowując, na podstawie uzyskanych wyników i danych literaturowych można stwierdzić, że zastosowanie nanorurek węglowych polepszyło hydrofobowość polimerowej membrany oraz wyeliminowało tworzenie warstwy wodnej.

Opracowana i zbadana przeze mnie elektroda ibuprofenowa o podłożu GC potwierdziła przydatność nanorurek węglowych w stosowanej konstrukcji elektrody jonoselektywnej. Dodatkowym atutem była kompatybilność tych nanokompozytów z dwoma rodzajami jonoforów – HSB β CD oraz QA β CD i innymi składnikami polimerowej membrany tj.: *o*-NPOE oraz liofilowa sól MTOA-Cl, co w efekcie prowadziło do optymalnych bardzo dobrych właściwości elektrod. Uzyskałam szerszy zakres odpowiedzi $3,2 \times 10^{-5}$ – $10^{-2} M$, czułość nernstowską, niższą granicę wykrywalności ($1,25 \times 10^{-5} M$) w odniesieniu do wcześniej przebadanych elektrod polimerowych, krótszy czas odpowiedzi do 5 s. Wiedzę i doświadczenie zebrane podczas opracowywania zarówno elektrod polimerowych jak i na podłożu z węgla szklanego zamierzam

wykorzystać w przyszłych badaniach do optymalizacji matrycy czujnikowej elektronicznego języka do oceny leków.



Rys.7. Test warstwy wodnej dla elektrody GC1 (HSB β CD) oraz elektrody SCISE (HSB β CD).

Efekty moich prac badawczych zostały zauważone w środowisku naukowym. Zostałam zaproszona do napisania artykułu przeglądowego w renomowanym czasopiśmie *Current Medicinal Chemistry*. W pracy tej zebrałam wiedzę na temat cyklodekstryn stosowanych w czujnikach elektrochemicznych (potencjometrycznych oraz woltamperometrycznych) mających zastosowanie w analizie biomedycznej i farmaceutycznej [H12].

2. Badania wpływu substancji pomocniczych zawartych w lekach na parametry pracy elektrod ibuprofenowej i indometacynowej [H5, H6]

Surfaktanty oraz cyklodekstryny należą do substancji, które z farmakologicznego punktu widzenia, są stosowane w wielu preparatach farmaceutycznych jako tzw. substancje pomocnicze, mogące w znaczny sposób wpływać na działanie leku. Badania nad wpływem surfaktantów na właściwości substancji leczniczych wykazały, że związki te umożliwiają tworzenie asocjatów koloidalnych - miceli, co zwiększa solubilizację trudno rozpuszczalnych substancji w wodzie. Spośród analizowanych surfaktantów tj. kationowy CTAB (bromek cetylotrimetyloamoniowy), anionowy SDS (dodecylosiarczan sodu) i polisorbant 80, surfaktant CTAB, najefektywniej zwiększa szybkość rozpuszczania leków kwaśnych [49]. Inne badania

wykazały, że surfaktanty - anionowy SDS (siarczan dodecylosodowy), kationowy DTAB (bromek dodecylotrimetyloamoniowy), niejonowy C12E4 (tlenek n-dodecyloctetraetyleny) i amfoteryczny C8-lecytyna (dioctanoyl fosfatydylocholina), wraz ze wzrostem stężenia zwiększają solubilizację ibuprofenu, dzięki asocjacji pomiędzy lekiem, a cząsteczką surfaktantu. Związki te zapobiegają również działaniom niepożądanym leków. W większości są wykorzystywane w różnych formach dozowania leku do zwiększenia uwodnienia, stabilności i dostępności biologicznej leku [50]. Wśród surfaktantów jonowych głównie wykorzystywane są: laurylosiarczan sodu, chlorek i bromek benzalkoniowy, bromek cetylopirydyniowy, lecytyna. Inne stosowane surfaktanty niejonowe to np.: monostearnian glicerolu, Span, Tween 20, 60, 80, Brij, Cremophor.

Cyklodekstryny stosowane jako kompleksy inkluzyjne odpowiednich leków są stosowane w celu poprawy rozpuszczalności leków słabo rozpuszczalnych w wodzie, przez co substancje te stają się bardziej biodostępne, lepiej przyswajalne. W przypadku takich leków jak: ketoprofen, fenytoina, cynaryzyna wykazano, że po dodaniu hydroksypropylo- β -cyklodekstryny do substancji czynnej nastąpił znaczny wzrost rozpuszczalności i szybkości rozpuszczania leku w organizmie [51, 52]. Kompleksowanie z cyklodekstrynami ma ogromne zastosowanie w poprawie stabilności chemicznej, fizycznej i termicznej leków. Ponadto cyklodekstryny redukują podrażnienia – zmniejszają miejscowe stężenia wolnego leku poniżej progu powodującego podrażnienia. Kompleks stopniowo ulegając dysocjacji powoduje powolne uwalnianie leku, który zostaje wchłonięty do organizmu, a jego lokalne stężenie zawsze pozostaje poniżej poziomu, który może podrażniać błonę śluzową. Kompleksy leków z cyklodekstrynami pełnią również rolę w maskowaniu smaku gorzkiego i nieprzyjemnego zapachu leków [53, 54].

Szczególnym przypadkiem leków, których właściwości mogą być modyfikowane przez cyklodekstryny są leki z grupy NLPZ-ów. Dzięki cyklodekstrynom można przede wszystkim zwiększyć rozpuszczalność tych farmaceutyków. Przykładowo β -CD powoduje wzrost rozpuszczalności m.in.: ibuprofenu, indometacyny, ketoprofenu, piroksydamu, a jej pochodna acetylowa zwiększa rozpuszczalność naproksenu [55]. Ponadto inkluzja leku wewnątrz cząsteczek gospodarzy może niwelować podrażnienia śluzówki żołądka (jest to charakterystyczne i główne działanie niepożądane wywoływane przez leki z grupy NLPZ). W literaturze istnieje wiele innych badań dotyczących wpływu β -CD na właściwości leków takich jak: rozpuszczalność, szybkość rozpuszczania, biodostępność [53, 56, 57]

Wiele produktów farmaceutycznych o zwiększonej biodostępności API, zawierających β -CD lub ich pochodne jest dostępnych na rynku od wielu lat. Z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) preparaty te obejmują: indometacynę, piroksydam, meloksydam, nimesulid, kwas tiaprofenowy, diklofenak. Indometacyna skompleksowana z HP β CD jest dostępna handlowo w postaci preparatu INDOCID – krople do oczu, roztwór, (*Chauvin Laboratories*, Francja). Dane literaturowe donoszą również, że inkluzja tego związku powoduje wzrost szybkości rozpuszczalności 50% leku wolnego z czasu 12,5 min

do 50% leku skompleksowanego do czasu 1 min. [58]. Innym lekiem jest piroksykam który występuje z β CD w preparatach w postaci tabletek, saszetek, czopków (*Chiesi, Włochy, Ache, Brazylia*), nimesulid z β CD w preparatach w postaci tabletek, saszetek (*Novartis, Szwajcaria*), meloksykam z β CD w postaci tabletek, czopków (*Medical Union Pharmaceuticals, Egipt*) [59].

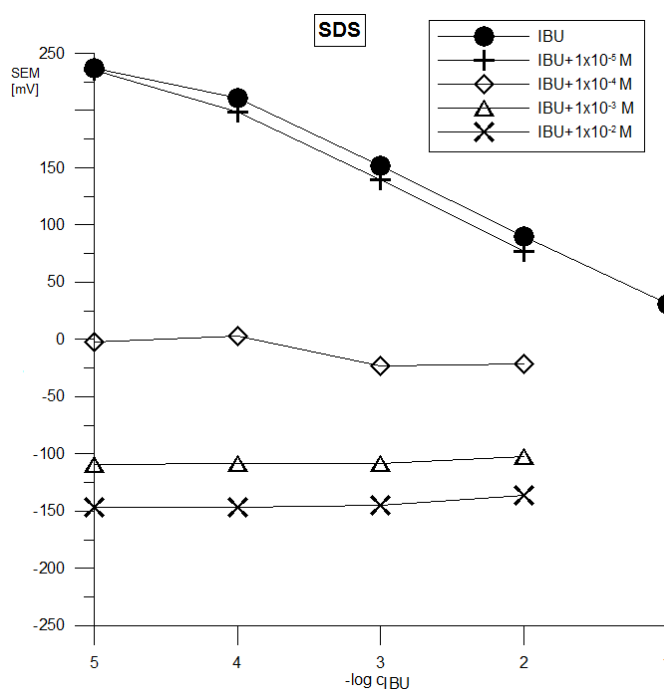
Wobec intensywnego rozwoju chemii leków, postaci preparatów farmaceutycznych, stosowanych nowych substancji pomocniczych, nasuwa się potrzeba bardziej wnikliwej oceny i optymalizacji metod analitycznych w tym potencjometrii, które są szeroko wykorzystywane w analizie leków. Stąd też moja koncepcja dalszej części badań sprowadziła się do próby określenia czy związki tj. surfaktanty, cyklodekstryny, które można potraktować jako potencjalne interferenty nie będą wpływały na parametry pracy opracowywanych przeze mnie elektrod. Do badań wybrałam związki dostępne handlowo z grupy surfaktantów niejonowych tj. Tween 20, 60, 80, Brij, oraz surfaktantów jonowych: SDS i BTE oraz z grupy cyklodekstryń HP β CD. Jako modelowe substancje lecznicze przyjąłm ibuprofen, oraz indometacynę, na które opracowałam wcześniej elektrody ibuprofenową z chlorkiem TOA [H1] oraz elektrodę indometacynową również z chlorkiem TOA [H6].

Badałam wpływ różnych surfaktantów na przebieg krzywej kalibracyjnej, selektywność oraz czas odpowiedzi elektrod ibuprofenowych (DOS, *o*-NPOE, DIBP) [H5]. Dla wszystkich 3 elektrod tak, jak można było się spodziewać widać większy wpływ surfaktantów jonowych na parametry elektrod w porównaniu z niejonowymi. W obecności kationowego BTE zmiany są stosunkowo niewielkie, dopiero przy stężeniu BTE 10^{-2} M, następuje spadek czułości i podwyższenie granicy wykrywalności elektrody. Anionowy SDS powoduje spadek czułości i brak jakiegokolwiek odpowiedzi elektrody już przy jego stężeniu wynoszącym 10^{-4} M. (Rys. 8). Niejonowe surfaktanty typu Tween oraz Brij 35, nie wpływają na przebieg funkcji elektrod plastyfikowanych *o*-NPOE oraz DIBP, zmieniają odpowiedź elektrody z DOS-em, powodując spadek czułości lub całkowity brak odpowiedzi. Lipofilowe części cząsteczki surfaktanta, są w tym przypadku w większym stopniu adsorbowane na powierzchni membrany i w ten sposób hamują procesy wymiany jonowej. Ponadto dla elektrody z DOS-em zaobserwowano wzrost wartości współczynników selektywności. Największe niekorzystne zmiany powoduje obecność niejonowego Tween – 20 oraz jonowego SDS dla azotanów i chlorków. Dla elektrod plastyfikowanych *o*-NPOE oraz DIBP obserwuje się zmianę współczynników względem propionianu, octanu i chloru w obecności niejonowego Brij 35 (propionian octan – elektroda DIBP oraz jeszcze chlorków elektroda *o*-NPOE). Czas reakcji czujników na zmianę stężenia ibuprofenu w obecności surfaktantów wydłuża się o kilka, kilkanaście sekund.

Badania potwierdziły ograniczone możliwości aplikacyjne proponowanych elektrod ibuprofenowych w obecności surfaktantów, chociaż ze wszystkich trzech czujników największe ograniczenia ma elektroda plastyfikowana lipofilowym DOS-em. Elektroda ta musi być wykluczona z oznaczeń próbek zawierających dodatkowo niejonowe surfaktanty (Tween 20, 10^{-2} M, Tween 60, 80, 10^{-3} M, Brij od 10^{-5} do 10^{-2} M). Spośród surfaktantów największy niekorzystny wpływ posiada SDS od stężenia 10^{-4} M i wyższych

(dla wszystkich elektrod), który poprzez siły elektrostatyczne bezpośrednio przyczynia się do ograniczenia transportu jonów ibuprofenu przez organiczną membranę, powodując zanik funkcji elektrody i spadek potencjału (Rys 8). Najbardziej przydatne elektrody to czujniki zawierające *o*-NPOE oraz DIBP, których parametry tj. selektywność, czułość, granica wykrywalności nie zmieniają się w obecności Tween 20, 60 i 80.

Wpływ pochodnej β -cyklodekstryny (HP β CD) na parametry analityczne określiłam dla elektrody indometacynowej [H6]. Przykładowe krzywe kalibracyjne elektrody, przedstawiłam na Rys. 9. W przypadku tej elektrody oraz innych badanych elektrod widoczny jest znaczny wpływ HP β CD o stężeniu 10^{-2} M na przebieg krzywej odpowiedzi, wzrost czułości do ok. 80 mv/dekadę, skrócenie zakresu liniowości do stężenia 10^{-3} – 10^{-2} M, podwyższenie granicy wykrywalności do wartości $3,16 \times 10^{-4}$ M.



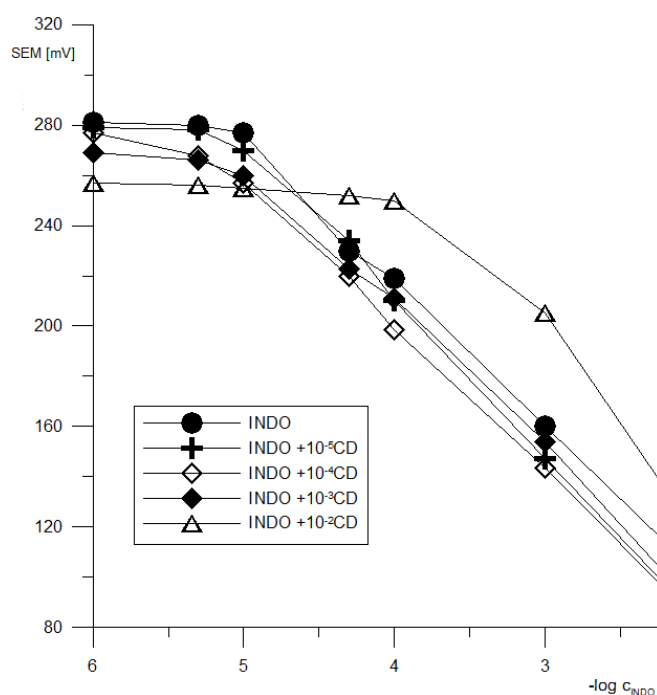
Rys. 8. Wpływ SDS o różnych stężeniach na odpowiedź elektrody ibuprofenowej.

Przyczyną tego efektu jest prawdopodobnie utworzenie w roztworze kompleksu inkluzyjnego między cząsteczką cyklodekstryny i cząsteczką indometacyny, co skutkuje również podwyższeniem potencjału standardowego. Potwierdzeniem tego założenia było wykonanie widm absorpcyjnych w zakresie ultrafioletu. Pomiar absorbancji wykonałam w trzech roztworach czystej indometacyny, w roztworach odpowiednio 10^{-2} , 10^{-3} M. Okazało się, że w widmie roztworu INDO + 10^{-2} CD M pojawiły się dwa wyraźne piki, świadczące o zmianie składu roztworu i utworzeniu kompleksów. Ponadto dwa pozostałe widma dla roztworów INDO i INDO+CD były bardzo do siebie zbliżone.

Kolejnym ważnym parametrem elektrod, który mógł ulec zmianie pod wpływem obecności w roztworze cyklodekstryny, była selektywność. W tym celu wyznaczyłam krzywe kalibracyjne elektrod w roztworach jonu głównego oraz w roztworach jonów interferentów w obecności HP β CD. W przypadku wielu interferentów wartości współczynników selektywności pozostały prawie niezmienione, lub nawet stały się bardziej korzystne np. dla azotanu, bromku, siarczanu, winianu, kwasu asparaginowego glutaminowego.

Przeprowadziłam również badania nad wpływem HP β CD na czas odpowiedzi elektrod indometacynowych. Z zależności potencjału od czasu wynika, że w obecności cyklodekstryny o stężeniu 10^{-3} M w roztworze INDO o stężeniu również 10^{-3} M elektroda reaguje na zmianę stężenia jonu głównego w prawie takim samym czasie ok. 10 s.

Podjęta próba określenia wpływu cyklodekstryny jako potencjalnego interferenta na parametry elektrody indometacynowej (TOA+ DBP lub DIBP) potwierdziła przydatność tej elektrody do oznaczania INDO w obecności cyklodekstryny o stężeniu poniżej 10^{-2} M.



Rys. 9. Wpływ HP β CD o różnych stężeniach na odpowiedź elektrody indometacynowej zawierającej DBP.

3. Zastosowanie analityczne opracowanych elektrod

Opracowane przeze mnie wybrane elektrody zarówno z wymiennikiem jonowym jak i z cyklodekstryną, zostały wykorzystane do analizy związków farmaceutycznych – wybranych pochodnych kwasów karboksylowych w różnych próbkach analitycznych.

a) Oznaczanie API w próbkach farmaceutycznych [**H1-H4, H6, H8, H9, H11, H13**] oraz próbkach pochodzenia organicznego [**H4, H7- H9**] i próbkach wody [**H11**].

Do oznaczeń API-s, stosowałam następujące metody analityczne: krzywą kalibracyjną, dodatek standardu do próbki oraz metodę Grana. Dobre parametry analityczne elektrod ibuprofenowej [**H1, H11, H13**], ketoprofenowej [**H2**], naproksenowej [**H4, H9**], indometacynowej [**H3, H6**] i diklofenakowej [**H8**], umożliwiły zastosowanie ich do oznaczeń API w preparatach farmaceutycznych. Stosowałam różne postaci leków, najczęściej tabletki lub kapsułki, iniekcje. Uzyskane wyniki oznaczeń dokładność, precyzja były zadowalające, typowe dla metody potencjometrii bezpośredniej. Dodatkowym atutem był nieskomplikowany sposób przygotowania próbki, polegający najczęściej na zobojętnieniu zasadą kwasowej postaci leku do określonej wartości pH oraz na odsączeniu składników masy tabletkowej lub kapsułki. Miarodajność wyników została przeze mnie sprawdzona innymi metodami odniesienia, metodą spektrofotometrii UV oraz metodą zalecaną przez Farmakopeę Brytyjską – miareczkowania klasycznego w środowisku alkoholu etylowego. Wyniki oznaczeń badanych próbek farmaceutyków były zgodne, co potwierdziło przydatność analityczną wykonanych elektrod np. w laboratorium farmaceutycznym w rutynowych badaniach kontroli jakości leków.

Elektrody jonoselektywne są wykorzystywane również bardzo intensywnie w dziedzinie ochrony środowiska do oznaczeń prostych jonów nieorganicznych głównie kationów. Stosunkowo rzadziej spotykane są w literaturze prace aplikacyjne dotyczące elektrod anionoselektywnych, a zwłaszcza do oznaczania jonów organicznych. Ze względu na fakt bardzo dużej produkcji a tym samym spożycia w Polsce i na świecie niesteroidowych leków przeciwzapalnych, związki te przedostają się do środowiska wodnego różnymi drogami. Mogą występować w postaci niezmienionej (pochodzącej z odpadów ze szpitali, prywatnych gospodarstw zakładów farmaceutycznych) lub metabolitów (występujących w ściekach komunalnych). W tym aspekcie zastosowania, wybraną elektrodę ibuprofenową [**H11**] wykorzystałam do oznaczania IBU w wodzie rzecznej i wodociągowej. Ponieważ stężenie IBU w wybranych próbkach było niskie, badałam odzysk. Uzyskałam wyniki z odpowiednią dokładnością i precyzją (RSD w zakresie 4,9–6,6%, dla próbek wody rzecznej oraz 1,5–2,2% dla wody wodociągowej).

Oprócz próbek farmaceutycznych oraz wodnych wybrane elektrody zastosowałam do badania próbek organicznych tj. mleko krowie [**H9**] mocz [**H4, H7, H8**]. Problem zawartości NLPZ-ów w mleku krowim jest obecnie bardzo powszechny. W przypadku wielu schorzeń u krów mlecznych m. in. zapalenie gruczołu mlecznego, zapalenia stawów, kręgosłupa, okrężnicy, ostrej choroby układu oddechowego zalecane jest podawanie krowom NLPZ-ów [60]. Wyniki oznaczeń naproksenu z roztworu wodnego mleka były zadowalające, uzyskałam 105-108% API z względnym odchyleniem standardowym 2.5 – 3.5 %.

Innym potencjalnym zastosowaniem opracowanych przeze mnie elektrod było oznaczenie naproksenu, sulindaku oraz diklofenaku z próbek zawierających mocz. Wyniki oznaczenia dały dobre rezultaty, średnio dla wszystkich elektrod uzyskałam 96–104 % API z odchyleniem standardowym RSD = 1,5–3,1%.

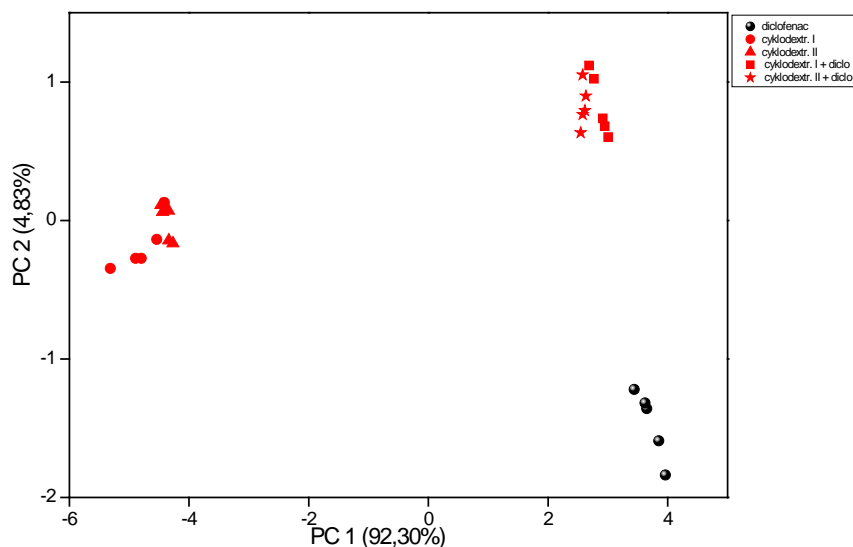
b) Wykorzystanie wybranych czujników w matrycy sensorowej elektronicznego języka **[H10]**.

Bardzo ciekawym i praktycznym zastosowaniem elektrody diklofenakowej było wykorzystanie opracowanych przeze mnie elektrod w matrycy czujnikowej elektronicznego języka (EJ) **[H10]**, przeznaczonego do zbadania efektywności maskowania smaku gorzkiego diklofenaku. Niezależnie od wymogów dotyczących leków dla dorosłych (biodostępność leku, stabilność leku, zawartość substancji czynnej), istnieją dodatkowe kryteria dla leków pediatrycznych określające optymalną formę leku, łatwość podawania, dopuszczalny smak leku oraz bezpieczeństwo stosowania wszelkich substancji pomocniczych. Europejska Agencja Leków donosi, aby ograniczać w preparatach farmaceutycznych stosowanie sztucznych słodzików oraz mieszanek smakowych zwłaszcza przeznaczonych dla dzieci. Dlatego stale poszukuje się nowych, nowoczesnych formułacji farmaceutycznych. Analiza efektywności maskowania smaku gorzkiego leków jest wykonywana na ogół przez panel ludzki. Nie jest on dobrym rozwiązaniem ze względu na subiektywne odczucia poszczególnych ludzi, problemy związane z etyką oraz bezpieczeństwem. Idealną alternatywą tej metody jest elektroniczny język, który jest systemem opartym na zestawie czujników elektrochemicznych, optycznych lub bioczujników [61].

Czujniki potencjometryczne – oparte na membranach polimerowych – są często stosowane w takich matrycach ze względu na ich nieodłączne zalety, takie jak: niski koszt, prosta konstrukcja i użytkowanie, średnia selektywność, odpowiednia czułość oraz szybki czas reakcji [62, 63]. Wykorzystując zalety oraz osiągnięte dobre parametry elektrod diklofenakowych we wcześniejszej pracy **[H8]** zastosowałam je w matrycy sensorowej nowoczesnego urządzenia bioanalitycznego.

Badania te **[H10]** zostały zrealizowane w ramach współpracy z zespołem naukowym z Politechniki Warszawskiej. Do opracowania matrycy sensorowej zastosowałam m. in. dwa rodzaje czujników selektywnych na diklofenak. Czujniki te zawierały w membranie HSB β CD z dodatkiem chlorku metylotryktyloamoniowego lub chlorku tetraoktyloamoniowego **[H8]**. Pozostałe elektrody stanowiły czujniki z ciekłym kontaktem o różnej selektywności. Jako substancje maskujące smak wykorzystywałam oprócz różnych ilości substancji słodzących, HP β CD, ze względu na fakt że związki z tej grupy są coraz częściej wykorzystywane w technologii leków i służą m. in. do maskowania smaku gorzkiego wielu leków np. HP β CD była badana w przypadku leków takich jak: meloksykam [64] i chlorowodorek lidokainy [65]. Spośród wielu obrazów chemicznych różnych próbek substancji towarzyszących, czystego API oraz ich mieszanin, uzyskanych na podstawie Analizy Głównych Składowych (PCA), ciekawy przykład został przedstawiony na Rys. 10. Na podstawie obrazu chemicznego, rozmieszczenia względem osi PC1 i PC2 oraz

wzajemnego rozmieszczenia poszczególnych skupisk substancji można wnioskować o widocznym efekcie maskowania smaku diklofenaku cyklodekstryną. Szczegółowa analiza PCA poszczególnych obrazów chemicznych wielu przebadanych próbek wykazała, że skuteczność maskowania smaku gorzkiego zmieniła się wraz ze strukturą słodzika oraz jego stężeniem w stosunku do API. Najbardziej widoczne maskowanie smaku diklofenaku obserwowano w przypadku cyklodekstryny, acesulfamu K, sacharynianu sodu i sacharozy (w wyższym stężeniu), podczas gdy w przypadku laktozy takiego efektu nie obserwowano.



Rys. 10. Wykres PCA obrazów chemicznych formułacji farmaceutycznych zawierających cyklodekstryny.

Podsumowując można stwierdzić, że nowoczesny system, jakim jest elektroniczny język może pomóc lub zastąpić powszechnie stosowany sensoryczny panel ludzki stosowany w rutynowej analizie preparatów farmaceutycznych.

Powyższa aplikacyjna praca otwiera nowy kierunek moich przyszłych badań naukowych, które będą dotyczyły opracowywania matryc czujnikowych stosowanych w potencjometrycznym elektronicznym języku do analizy farmaceutyków. Swoje doświadczenia nad konstrukcją elektrod jonoselektywnych zamierzam wykorzystać do optymalizacji i zastosowania różnych elektrod ze stałym kontaktem (polimerowe, na bazie złota, węgla szklanego) w systemie EJ. Spośród nowych formułacji farmaceutycznych będą w przyszłości badane nowoczesne postaci różnych leków np. przeciwalergicznym w postaci mikrocząstek, we współpracy naukowej razem z innymi ośrodkami naukowymi, z Politechniką Warszawską i Uniwersytetem Medycznym w Białymstoku. Dane literaturowe oraz wyniki prowadzonych prac naukowo-badawczych wskazują na możliwość dalszego rozwoju tej dziedziny oraz rozszerzenia możliwości aplikacyjnych systemów tj. elektroniczny język zwłaszcza w dziedzinie farmacji.

Podsumowanie i wnioski

W niniejszym opracowaniu przedstawiłam streszczenie swoich prac badawczych, których efektem były prace własne w postaci 13 publikacji. Moim osiągnięciem naukowym było otrzymanie nowych elektrod jonoselektywnych czułych na leki takie jak pochodne aryłowe i heterocykliczne kwasów propionowego i octowego, o bardzo dobrych parametrach, które zostały zastosowane do oznaczeń substancji aktywnych (API-s) w próbkach syntetycznych i rzeczywistych oraz do rozróżniania próbek farmaceutycznych za pomocą elektronicznego języka. Na podstawie otrzymanych rezultatów można wyciągnąć następujące wnioski:

1. Zastosowanie chlorku tetraoktyloamoniowego jako substancji potencjałotwórczej elektrod polimerowych doprowadziło do otrzymania elektrod czułych na pochodne aryłowe kwasu propionowego takich jak: ibuprofen, ketoprofen, naproksen, które charakteryzują się bardzo podobnymi do siebie parametrami analitycznymi. Czas życia skonstruowanych elektrod był bardzo długi w porównaniu do innych elektrod opisanych w literaturze. Średnio wynosił ok. 12 miesięcy a nawet 20 miesięcy dla elektrod naproksenowych. Wyjątkowa duża trwałość elektrod (ze względu na stałe stężenie soli amoniowej w fazie membranowej) i powtarzalność uzyskanych parametrów jest dużą zaletą tej grupy czujników.
2. Kolejne opracowane elektrody czułe na pochodne heterocykliczne i aryłowe kwasu octowego takie jak elektroda indometacynowa i sulindakowa wykazały podobne do siebie parametry różne od poprzedniej grupy związków. Dla tych czujników najlepsze parametry osiągnięto dla membran plastyfikowanych estrami kwasu ftalowego, szerszy stosunkowo zakres prostoliniowości charakterystyki $5 \times 10^{-6} - 10^{-2}$ M oraz $5 \times 10^{-5} - 10^{-2}$ M, podobny czas odpowiedzi w granicach 15–20 s. Czas życia otrzymanych czujników był krótszy i wynosił 2,5–3 miesiące. Współczynniki selektywności w przypadku większości jonów były rzędu $-\log K$ 4-5.
3. Zastosowanie cyklodekstryn jako nowych związków aktywnych polimerowej membrany wraz dodatkiem soli lipofilowej w porównaniu do elektrod tylko z solą lipofilową wpłynęło na znaczne polepszenie parametrów wybranych elektrod ibuprofenowej i naproksenowej. Spośród przebadanych cyklodekstryn, najkorzystniejsze właściwości jonoforowe wykazała cyklodekstryna z podstawnikiem aromatycznym HSB β CD rozpuszczona w *o*-NPOE. Związek ten wykazywał najlepsze właściwości solwatacyjne. Uzyskałam szerszy zakres prostoliniowości charakterystyki ($5 \times 10^{-5} - 10^{-2}$ M), niższą granicę wykrywalności, oraz lepszą selektywność o 1–2 rzędy wielkości.
4. Dodatek amoniowej soli chlorkowej do wewnętrznej fazy polimerowej elektrody ibuprofenowej, naproksenowej zapewnił stałe stężenie jonów chlorkowych przez co elektroda naproksenowa wykazuje bardzo dobrą odwracalność potencjału z odchyleniem standardowym ok. 3 mV oraz 1 mV (elektroda ibuprofenowa) i krótszy czas odpowiedzi 10–15 s.

5. Zastosowanie cyklodekstryn w membranie elektrod polimerowych pozwoliło na uzyskanie nowej elektrody diklofenakowej (HSB/ β CD, *o*-NPOE,) o bardzo korzystnych parametrach analitycznych oraz w wielu przypadkach znacznie lepszych wartościach współczynników selektywności od innych elektrod opisanych w literaturze.
6. Umieszczenie w membranie polimerowej MWCNT-s elektrod na podłożu z węgla szklanego wpłynęło na uzyskanie mniejszej oporności elektrod ibuprofenowych, bardzo dobrej odwracalności potencjału oraz krótszego czasu odpowiedzi w porównaniu do odpowiedniej polimerowej konstrukcji.
7. Zbadanie wpływu wybranych substancji pomocniczych potencjalnie występujących w lekach tj. surfaktantów bądź cyklodekstryna, na parametry pracy elektrod pozwoliło na określenie optymalnych warunków zastosowania skonstruowanych czujników. Elektrode indometacynową można stosować do oznaczeń INDO w obecności cyklodekstryny ale o stężeniu poniżej 10^{-2} M. Z kolei elektroda ibuprofenowa może być zastosowana do oznaczeń API w obecności surfaktantów niejonowych i w obecności jonowego SDS tylko o najwyższym stężeniu 10^{-5} M.
8. Opracowanie elektrod jonoselektywnych o bardzo dobrych parametrach pozwoliło na zastosowanie ich do oznaczenia API-s w próbkach farmaceutycznych, oraz innych próbkach wodnych i organicznych. Uzyskano przy tym poprawne wyniki. Oprócz analitycznego zastosowania, wybrane elektrody diklofenakowe zostały wykorzystane w nowoczesnym urządzeniu, jakim jest elektroniczny język – w celu określenia efektywności maskowania smaku gorzkiego diklofenaku różnymi substancjami.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych

Moim pierwszym osiągnięciem naukowym związanym z tematyką mojej pracy magisterskiej był artykuł naukowy dotyczący syntezy i badania właściwości nowych kompleksów kwasów 3,4-diaminobenzoowego oraz 3,5-diaminobenzoowego z wybranymi pierwiastkami lantanowców [D1]. Pracę naukową od chwili zatrudnienia na uczelni rozpocząłem jednak od tematyki dotyczącej elektrod jonoselektywnych. Na początku zajmowałem się konstrukcją oraz badaniem właściwości czujników zawierających w membranie jonofory z grupy barwników azowych, które mają zdolność tworzenia kompleksów chelatowych z kationami metali. Efektem badań we współpracy naukowej w tej tematyce były artykuły, w których opracowano elektrody czułe na jony cynku [D3], kadmu [D6]. Równolegle rozpocząłem też badania nad elektrodami o funkcji anionowej, do oznaczania substancji lekowych. W początkowym etapie tych badań składniki aktywne pozyskiwałem z preparatów farmaceutycznych, aby wstępnie ocenić przydatność i uzyskaną funkcję, skonstruowanych przeze mnie elektrod. Rezultaty okazały się pozytywne i po zastosowaniu czystych API-s uzyskałem działające poprawnie elektrody o różnych konstrukcjach, które wykorzystałem także praktycznie do oznaczeń substancji aktywnych w lekach [D2, D4, D5, D7, D10]. Badania były częściowo finansowane w ramach otrzymanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego grantu promotorskiego, którego byłam głównym wykonawcą.

Efektem moich zainteresowań tematyką elektrod jonoselektywnych zwłaszcza w dziedzinie farmacji były napisane w języku polskim artykuły przeglądowe, gdzie opisano zasadę działania czujników potencjometrycznych, ich podział oraz charakterystykę elektrod dostępnych w literaturze do oznaczania leków należących do różnych grup farmakologicznych [M12, M13]. W tym okresie mojej kariery naukowej do 2007 roku przedstawiałam na konferencjach naukowych kilka doniesień dotyczących osiągniętych wyników badań, które były prezentowane głównie przez współautorów, ponieważ przebywałam w tym czasie na dwóch urloпах macierzyńskich i zwolnieniach lekarskich, w związku z czym moja aktywność była mniejsza.

W kolejnym etapie badań, po uzyskaniu stopnia doktora, równolegle do prac badawczych związanych z przewodem habilitacyjnym [H1-H13] uczestniczyłam w badaniach dotyczących wpływu cieczy jonowych [D9, D11] oraz surfaktantów [D8] na właściwości elektrod czułych na jony nieorganiczne. Pierwsza praca dotyczyła opracowania elektrod ze stałym kontaktem, czułych na jony strontu [D9], które po dodatku do membrany wybranych cieczy jonowych charakteryzowały się zwiększoną czułością, obniżoną granicą wykrywalności, oraz lepszą selektywnością. Kolejną elektrodą, która wykazywała znacząco poprawę parametrów analitycznych, po zastosowaniu w membranie pochodnych 3-metyloimidazolu, była elektroda czuła na jony Cu^{2+} [D11]. W pracy [D8] badaliśmy wpływ substancji powierzchniowo czynnych na właściwości elektrod czułych na jony cynku i kadmu. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdziliśmy,

że wpływ ten jest zależny od stałych dysocjacji jonoforu, w jonoczułej membranie. Efektem mojej aktywności naukowej oprócz wymienionych wyżej publikacji (również Załącznik 3 pkt. I, II) były liczne prezentacje naukowe na konferencjach krajowych i zagranicznych, w których brałam czynny udział.

Swoje zainteresowania elektrodami jonoselektywnymi, wykazałam także w napisanych rozdziałach do dwóch książek w języku angielskim w latach 2014-2015, które stanowią dość obszerne prace o charakterze przeglądowym. Pierwszy rozdział był napisany na zaproszenie Głównego Edytora wydawnictwa Wiley Scrivener – Vijay Khumar Thakura (z Washington State University USA) do książki pt. „Handbook of Polymers for Pharmaceutical Technologies”, Volume 2, Processing and Applications. Treści tego rozdziału zawierają informacje o właściwościach i zastosowaniu polichlorku winylu w konstrukcjach czujników potencjometrycznych, elektrodach na bazie polimerów przewodzących, zastosowaniu elektrod polimerowych do oznaczania narkotycznych i nienarkotycznych leków przeciwbólowych.

Kolejno w odpowiedzi na zaproszenie wydawnictwa Nova Science N. Y. USA, napisałam rozdział do książki pt. „Cyclodextrins: Synthesis, Chemical Applications and Role in Drug Delivery”. W rozdziale tym (pt. „Chemical Application of Cyclodextrins in Potentiometry – Review”) zawarte są wiadomości ogólnie o cyklodekstrynach i kompleksach inkluzyjnych oraz zastosowanie cyklodekstryn jako jonoforów w membranach elektrod jonoselektywnych począwszy od pojawienia się pierwszych publikacji na ten temat do końca 2014 roku. Rozdziały te były recenzowane, są objęte indeksowaniem wielu bazach, np. w bazie Scopus, Book Citation Index, Cambridge Scientific Abstracts. W moim uznaniu mogą stanowić cenny materiał dydaktyczny dla studentów Wydziałów Chemicznych zajmujących się podaną problematyką oraz są materiałem uzupełniającym, systematyzującym wiedzę dla naukowców z dziedziny chemii i farmacji.

Pragnę nadmienić, że elektrody jonoselektywne, którymi zajmuję się od wielu lat są bardzo cenionym narzędziem analitycznym na naszym Wydziale Chemii. Opracowana wcześniej przeze mnie elektroda ibuprofenowa z wymiennikiem TOA jest od wielu lat wykorzystywana do zajęć dydaktycznych - laboratorium, metody elektrochemiczne, do ćwiczenia „Oznaczenie ibuprofenu za pomocą elektrody jonoselektywnej” dla studentów studiów stacjonarnych wszystkich kierunków na Wydziale Chemii UMCS.

BIBLIOGRAFIA

1. J. Bobacka, A. Ivaska, A. Lewenstam, *Chem. Rev.*, 108 (2008) 329-351.
2. J. Hu, A. Stein, P. Buhlman, *Trends Anal. Chem.*, 76 (2016) 102-114.
3. E. Lindler, Y. Umezawa, *Pure Appl. Chem.*, 80 (2008) 85-104.
4. E. Bakker, K. Chumbimuni-Torres, *J. Braz. Chem. Soc.*, 19 (2008) 621-629.
5. M. Zubrowska, W. Wróblewski, K. Wojciechowski, *Electrochim. Acta*, 56 (2011) 6114-6122.
6. Y. Ling, Y. Yang, S. Bian, Y. Tu, *Drug Testing and Analysis*, 2 (2010 2) 388-391.
7. A. F. Khorshid, Y. M. Issa, *Biosens. Bioelectron.*, 51 (2014) 143-149.
8. M. T. Ragab, M. K. Abd El-Rahman, N. K. Ramadan, N. A. El-Ragehy, B. A. El-Zeany, *Talanta*, 138 (2015) 138, 28-35.
9. T. F. A. Sousa, C. G. Amorim, M.C.B.S.M. Montenegro, A. N. Araújo, *Sens. Actuat. B Chem.*, 176 (2013) 660-666.
10. M. Wesoly, K. Cal, P. Ciosek, W. Wróblewski, *Talanta*, 162 (2017) 203-209.
11. A. Michalska, *Electroanalysis*, 24 (2012) 1253-1265.
12. A. Matusevich, M. Pietrzak, E. Malinowska, *Sens. Actuat. B Chem.* 168 (2012) 62-73.
13. A. Michalska, A. Konopka, M. Maj-Żurawska, *Anal. Chem.*, 75 (2003) 141-144.
14. T. Yin, W. Qin, *Trends Anal. Chem.*, 61 (2013) 79-86.
15. G. Khayatian, H. Rezatabar, F. S. Karonian, A. Salimi, *J. Chin. Chem. Soc.*, 53 (2006) 1133-1139.
16. E. Malinowska, L. Gawart, P. Parzuchowski, G. Rokicki, Z. Brzózka, *Anal. Chim. Acta*, 421 (2000) 93-101.
17. J. Kulesza, M. Bochenska, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 6 (2011) 777-783.
18. P. G. Conaghan, *Rheumatol. Int.*, 32 (2012) 1491-1502.
19. C. Sostres, C. J. Gargallo, A. Lanás, *Arthritis Res. Ther.*, 17 Suppl. 3 (2013).
20. V. K. Gupta, A. Nayak, S. Agarwal, B. Singhal, *Comb. Chem. High Throughput Screening*, 14 (2011) 284-302.
21. V. V. Cosofret, R. P. Buck, *Pharmaceutical Applications of Membrane Sensors*, CRC Press 1992.
22. J. Lenik, Application of PVC in constructions of ion selective electrodes for pharmaceutical analysis, in: V. Kumar Thakur, M. Kumari Thakur (Eds), *Handbook of Polymers for Pharmaceutical Technologies*, Vol.2, Processing and Applications, Wiley Scrivener Publishing, 2015, 195-227.
23. S.I. Rivera-Hernández, G. A. Álvarez-Romero, S. Corona-Avenidaño, M. E. Páez-Hernández, C. A. Galán-Vidal, M. Romero-Romo, M. T. Ramírez-Silva, *Quimica Nova*, 40 (2017) 68-73.
24. S. I. Rivera-Hernández, G. A. Álvarez-Romero, M. E. Páez-Hernández, C. A. Galán-Vidal, S. Corona-Avenidaño, *ECS Trans.*, 64 (2015) 57-64.
25. N. Rajendraprasad, K. Basavaiah, *Curr. Chem. Letters*, 5 (2016) 33-46.
26. E. Brennan, P. Futvoie, J. Cassidy, B. Schazmann, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 97 (2017) 588-596.

27. H. R. Rajabi, A. Zarezadeh, J. Mater. Sci.: Mater. Electron., 27 (2016)10911-10920.
28. K. Frömring, J. Szejtli, Cyclodextrins in pharmacy, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994
29. J. Lenik, Chemical Application of Cyclodextrins in Potentiometry – Review, in: Francis G. Ramirez (Eds), Cyclodextrins: Synthesis, Chemical Applications and Role in Drug Delivery Nova Science Publishers, Inc., New York 2015, 1-43.
30. Źródło rysunków cyklodekstryn [<http://www.cyclolab.hu>.15.09.2017]
31. T. de Boer, R. A. de Zeeuw, G.J. de Jong, K. Ensing, Electrophoresis, 21 (2000) 3220-3239.
32. R. Challa, A. Ahuja, J. Ali, R. K. Khar, AAPS Pharm. Sci. Tech., 6 (2005) 329-357.
33. T. Iliescu, M. Baiaa, V. Miclăuș European J. Pharm. Sci., 22 (2004) 487-495.
34. S. K. Mehta, K. K. Bhasin, S. Dham, J. Coll. Inter. Sci., 326 (2008) 374-381.
35. A. A. Abdoh, M. B. Zughul, J. E. D. Davies, A. A. Badwan, J. Incl. Phenom. Macroc. Chem., 57 (2007) 503-510.
36. P. J. Salústio, G. Feio, J. L. Figueirinhas, J. F. Pinto, H.M.Cabral Marques, Eur. J. Pharmac. Biopharmac., 71 (2009) 377-386.
37. L. A. Hergert, G. M. Escandar, Talanta, 60 (2003) 235-246.
38. V. Crupi, G. Guella, D. Majolino, I. Mancini, B. Rossi, R. Stancanelli, V. Venuti, P. Verrocchio, G. Viliani, Food Biophysics, 6 (2011) 267-273.
39. G. R. Brown, M. R. Caira, L. R. Nassimbeni, B. Van Oudtshoorn, J. Inclusion Phenom. Molec. Recogn. Chemistry, 26 (1996) 281-294.
40. E. Janquera, E. Eicart, Int. J. Pharm., 176 (1999) 169-178.
41. N. Sadlej-Sosnowska, L. Kozerski, E. Bednarek, J. Sitkowski, J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem., 37 (2000) 383-394.
42. C. Scavone, A. Colomba Bagura S. Fiorentino, D. Cimmaruta, R. Cenami, M. Torella, T. Fossati, F. Rossi, Drugs in R&D, 16 (2016) 129-140.
43. S. V. Kharitonov, Russ. Chem. Rev., 76 (2007) 361-395.
44. J. N. Spencer, Q. He, X. Ke, Z. Wu, E. Fetter, J. Solution Chem., 27 (1998) 1009-1019.
45. Z. Kormosh, I. Hunka, Anal. Bioanal. Electrochem., 1 (2009) 27-37.
46. A.O. Santini, H.R. Pezza, L. Pezza, Talanta, 68 (2006) 636-642.
47. E.M.G. Santos, A.N. Araújo, C.M.C.M. Couto, M.C.B.S.M. Montenegro, J. Pharm. Biomed. Anal., 42 (2006) 535-542.
48. J. Bobacka, Anal Chem., 71 (1999) 4932-4937.
49. Sung-Hyun Park, Hoo-Kyun Choi, Int. J. Pharm., 321 (2006) 35-41.
50. C O. Rangel-Yagui, J. Pharm. Pharmaceut. Sci., 8 (2005) 147-163.
51. T. Loftsson, M.E. Brewster, J. Pharm. Pharmaceut. Sci., 85 (1996) 1017-1025.
52. T. Loftsson, P. Jarho, M. Masson, T. Jarvinen. Drug Deliv., 2, (2005) 335-351.

53. R. Challa, A. Ahuja, J. Ali, RK Khar, *APS Pharm. Sci. Tech.*, 6 (2005) 329-357.
54. J. Szejtli, *Inclusion Phenom. Molec. Recognition Chemistry*, 14 (1992) 25-36.
55. R. Arun , K. C. K. Ashok, V. V. N. S. S Sravanthi, *Sci. Pharm.*, 76(2008) 567-578.
56. B. Pose-Vilarnovo, *J. Controlled Release*, 94 (2004) 351-363.
57. S. Sridevi, *Eur J. Pharm Biopharm.*, 54 (2002) 151-154.
58. C. Dusautois, S. Neves, R. Frères *Pharma*, 5 (2009) 36-39.
59. M. E. Brewster , T. Loftsson, *Adv. Drug Delivery Rev.*, 59 (2007) 645-666.
60. A. Gentili, F. Caretti, S. Bellante, L. Mainero Rocca, R. Curini, A. Venditti, *Anal. Bioanal. Chem.*, 404 (2012) 1375-1388.
61. P. Ciosek, W. Wróblewski, *Analyst*, 132 (2007) 963-978.
62. M. Jańczyk, A. Kutyła, K. Sollohub, H. Wosicka, K. Cal, P. Ciosek, *Bioelectrochemistry*, 80 (2010) 94-98.
63. K. Sollohub, M. Janczyk, A. Kutyła, H. Wosicka, P. Ciosek, K. Cal, *Acta Pol. Pharm.*, 68 (2011) 601-604.
64. W. Samprasit, P. Akkaramongkolporn, T. Ngawhirunpat, T. Rojanarata, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 41 (2015) 1006-1016.
65. Y. Wei, M. P. Nedley, S. B. Bhaduri, X. Bredzinski, S. H. S. Boddu, *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 16 (2014) 455-456.

