

Vysoce účinné biologicky aktivní látky z oblasti léčiv a problematika jejich vztahu k životnímu prostředí

Petr Kačer

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
Fakulta chemické technologie
Ústav organické technologie

*Centralizovaný rozvojový projekt MŠMT č. C29:
„Integrovaný systém vzdělávání v oblasti výskytu a eliminace reziduí léčiv v životním prostředí“*



BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY

Látky, které při interakci s organismem mění jeho biochemické pochody v důsledku, čehož dochází ke změně jeho chování.

Biochemickým podkladem jsou vysoce specifické interakce mezi biologicky aktivní látkou a specificky uspořádanou molekulou na straně organismu.

Léčiva, vonné látky, agrochemikálie, ad.

MÍSTA ZÁSAHU BAL

BAL zasahují
specifická místa v organismu - místa pro fyziologické
substráty - a tím zasahují do
životních funkcí

CÍLOVÉ STRUKTURY PRO ZÁSAH BAL:

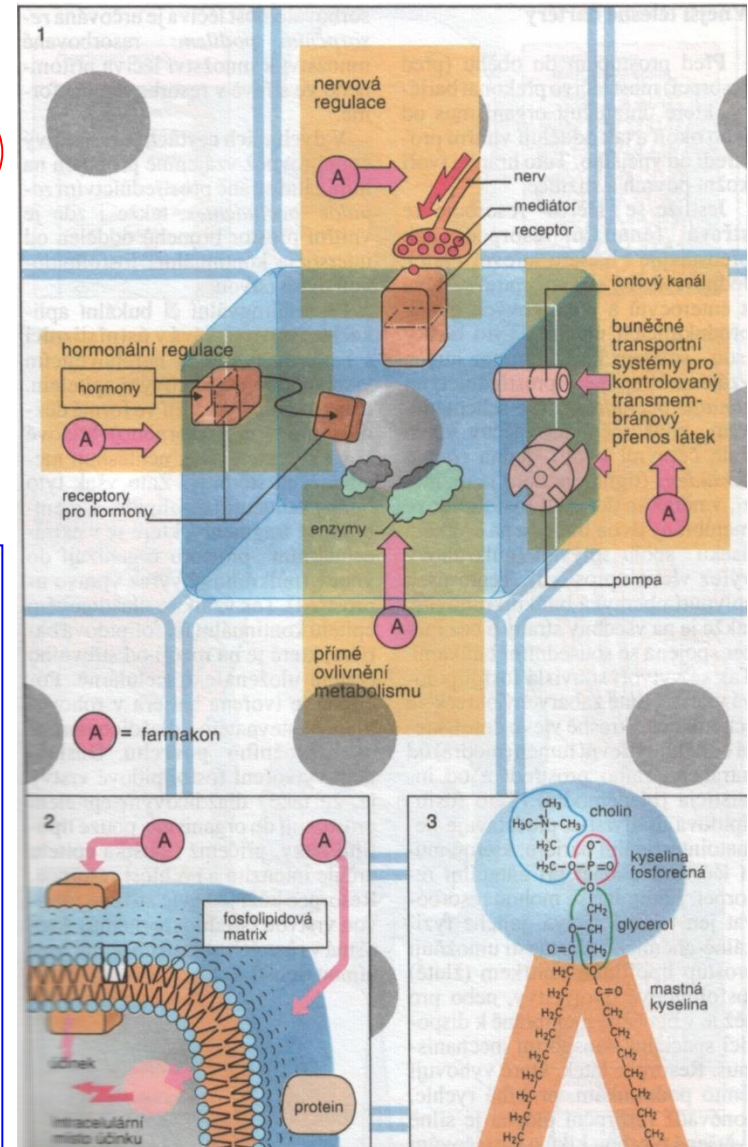
BÍLKOVINY

- **RECEPTORY** = vazebná místa pro mediátory
- **TRANSPORTÉRY**
- **ENZYMY**

NUKLEOVÉ KYSELINY

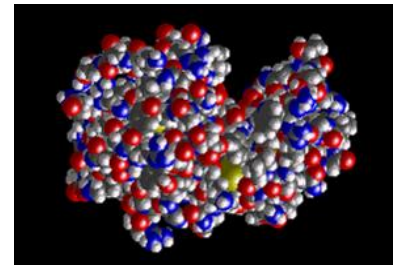
LIPIDY

SACHARIDY



RECEPTOR

RECEPTOROVÁ TEORIE



RECEPTOR - specializovaná buněčná komponenta, s kterou BAL interaguje (reaguje) a tím navozuje specifickou odpověď organismu

Makromolekulární komponenta (většinou bílkovina)

Receptory

zajišťují specifickou vazbu s látkou (ligand), přičemž po jejím navázání navodí biologické pochody (transdukce signálu), které nakonec vyústí v sledovaný efekt

Přirozené aktivátory receptorů – řada endogenních látek:

- hormony
- neurotransmitery
- autakoidy
- růstové faktory atd.

RECEPTOR; RECEPTOROVÁ TEORIE

FYZIOLOGICKÝ
SUBSTRÁT

RECEPTOR

XENOBIOTIKUM

KOMPLEX
XENOBIOTIKUM - RECEPTOR

INICIACE

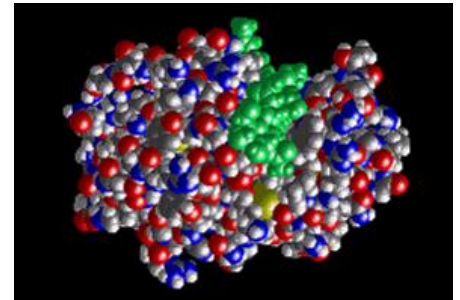
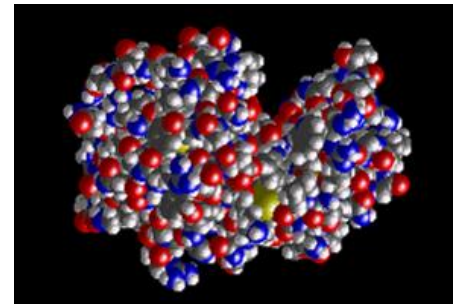
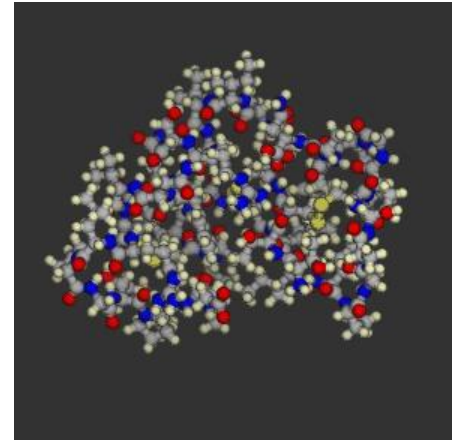
EFEKTOROVÝ SYSTÉM
ŘADA REAKCÍ

MANIFESTACE

TOXIKOLOGICKÝ EFEKT

*Interakce s receptory
jiných typů*

*Regulační mechanismy
organismu*



RECEPTOR RECEPTOROVÁ TEORIE

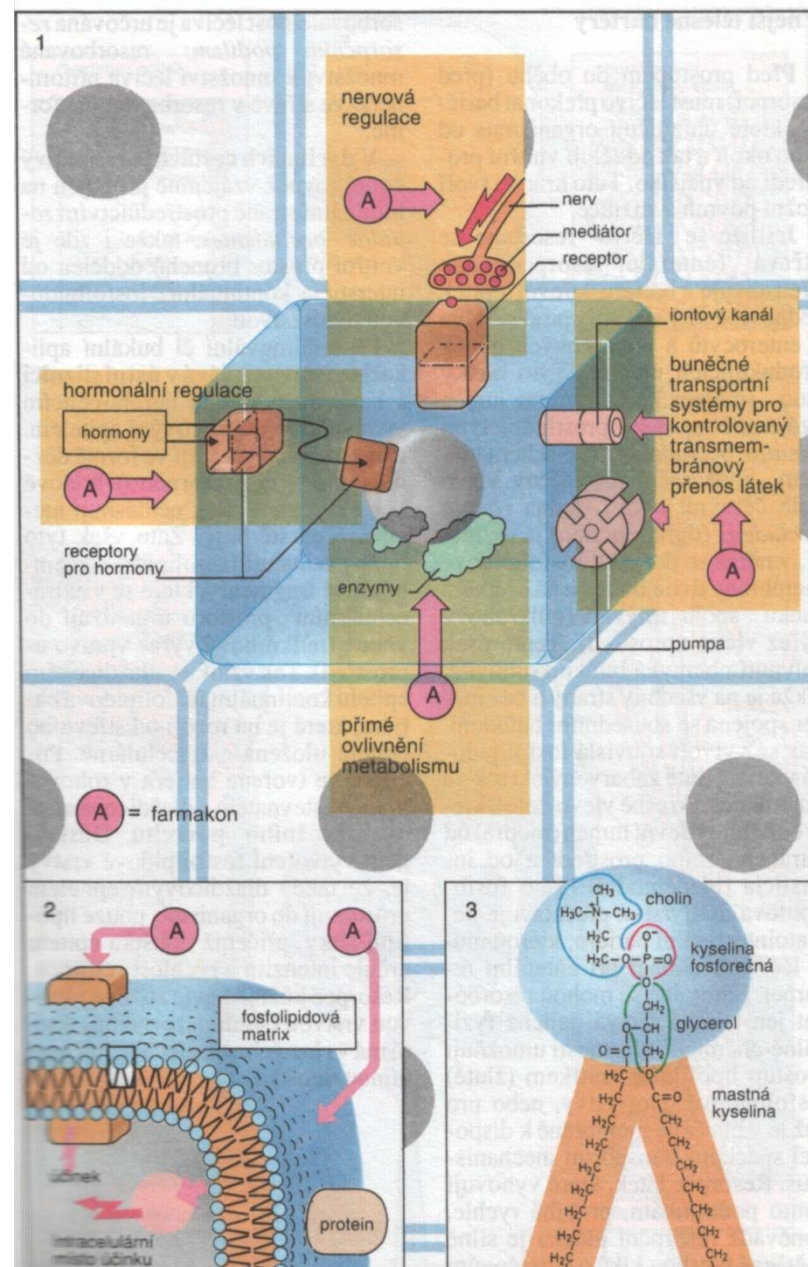
LOKALIZACE RECEPTORŮ

- buněčná membrána
- extracelulárně
- intracelulární přenašeč
- membrány subcelulárních struktur



Vazba RF je reverzibilní

po splnění úlohy se R a X oddělí a receptor je znovu k dispozici fyziologickému substrátu nebo XENOBIOTIKU (shodnému nebo jinému)



AGONISTÉ *versus* ANTAGONISTÉ

ANTAGONISMUS
=
PROTICHŮDNÉ PŮSOBNÍ

AGONISTA

- látka, která aktivuje receptor podobně jako endogenní substrát

ANTAGONISTA

- látka, která inhibuje účinku endogenních látek (příp. účinku agonistů)

AGONISTÉ

ÚČINNÁ
LÁTKA

- působí jako specifické (fyziologické) mediátory

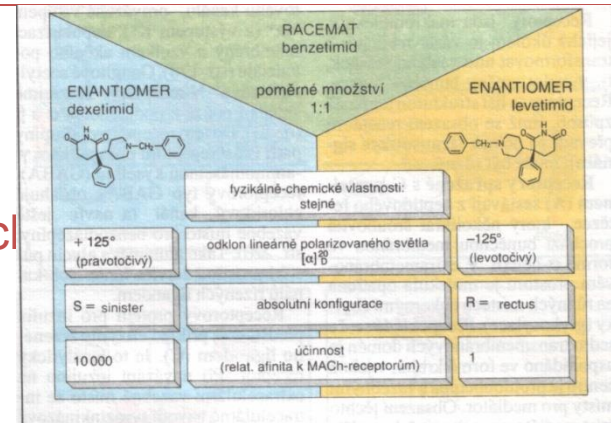
- působí ve velmi nízkých koncentracích
- vykazují stereoselektivitu
- saturabilitu (zvýšení koncentrace substrátu nad jistou hladinu již nezvýší účinek)

NEÚČINNÁ
LÁTKA

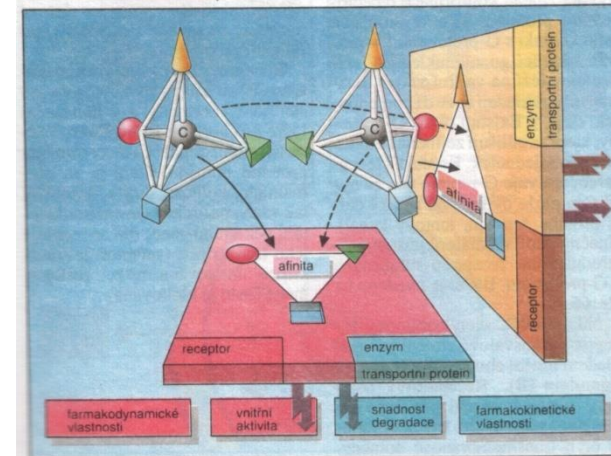
- lze je blokovat ANTAGONISTY

ANTAGONISTÉ

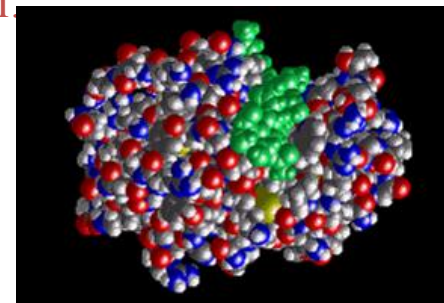
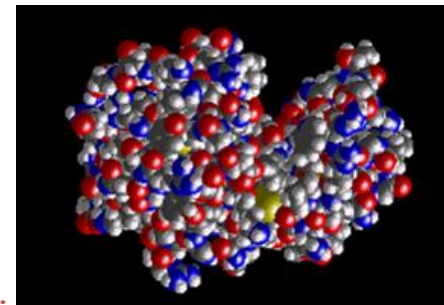
- působí jako specifické blokátory receptorů
- blokuje působení fyziol. substrátu



A. Příklad, v němž má pár enantiomerů rozdílnou účinnost na stereoselektivním receptoru



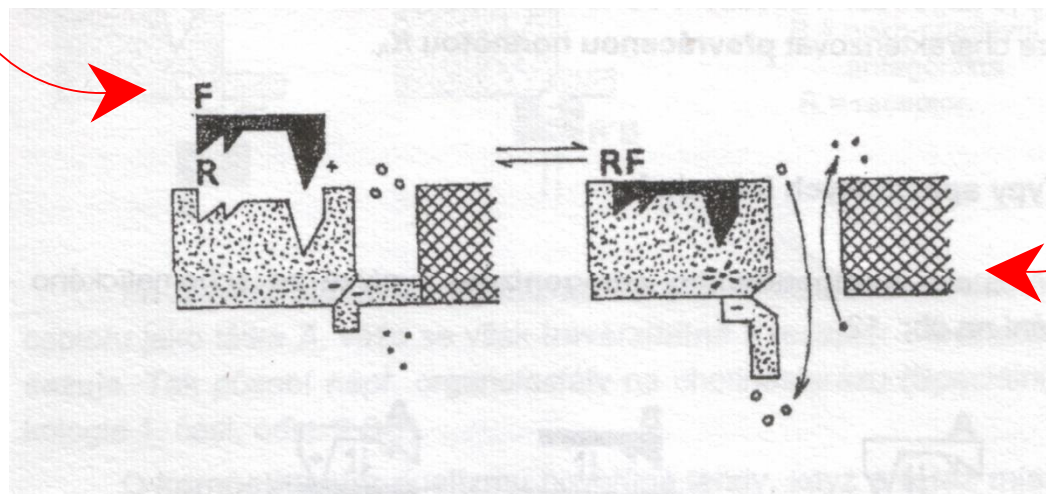
RECEPTOROVÁ KONCEPCE



Každé xenobiotikum má ve vztahu k receptoru dvě základní vlastnosti

A/ **AFINITA** – „vazebnost“ - schopnost vazby na receptor

B/ **VNITŘNÍ AKTIVITA** – schopnost vyvolat účinek
(schopnost aktivovat receptor)

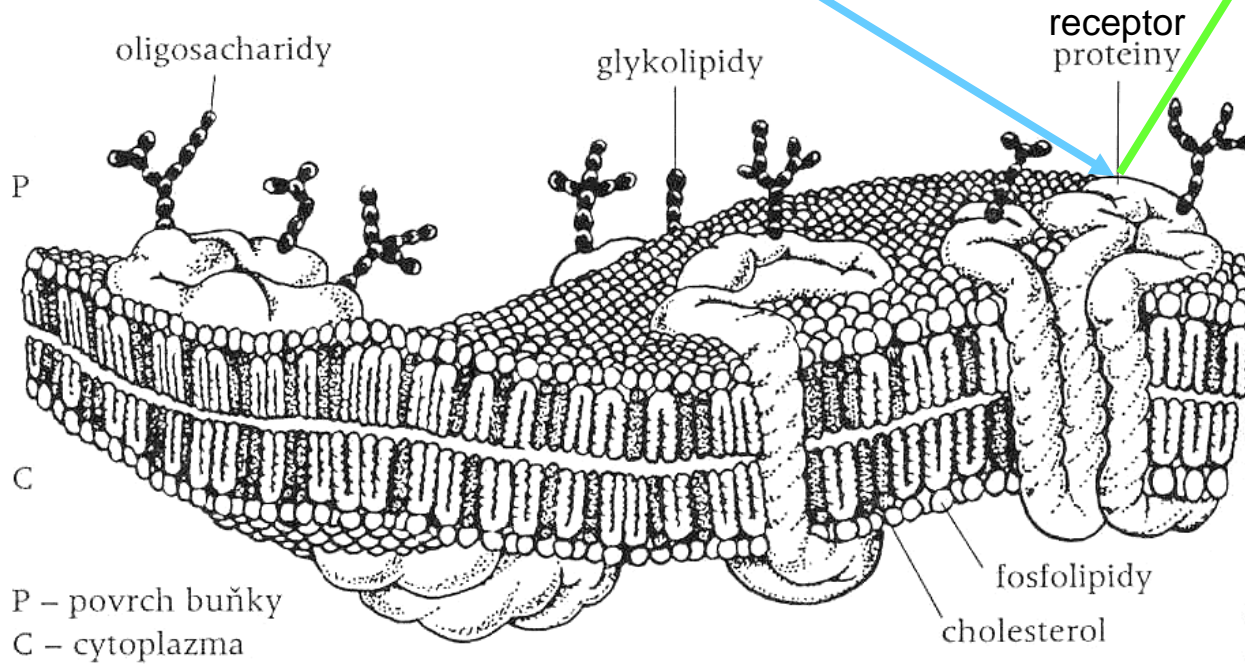


R- receptor
F – xenobiotikum
RF – komplex receptor-léčivo

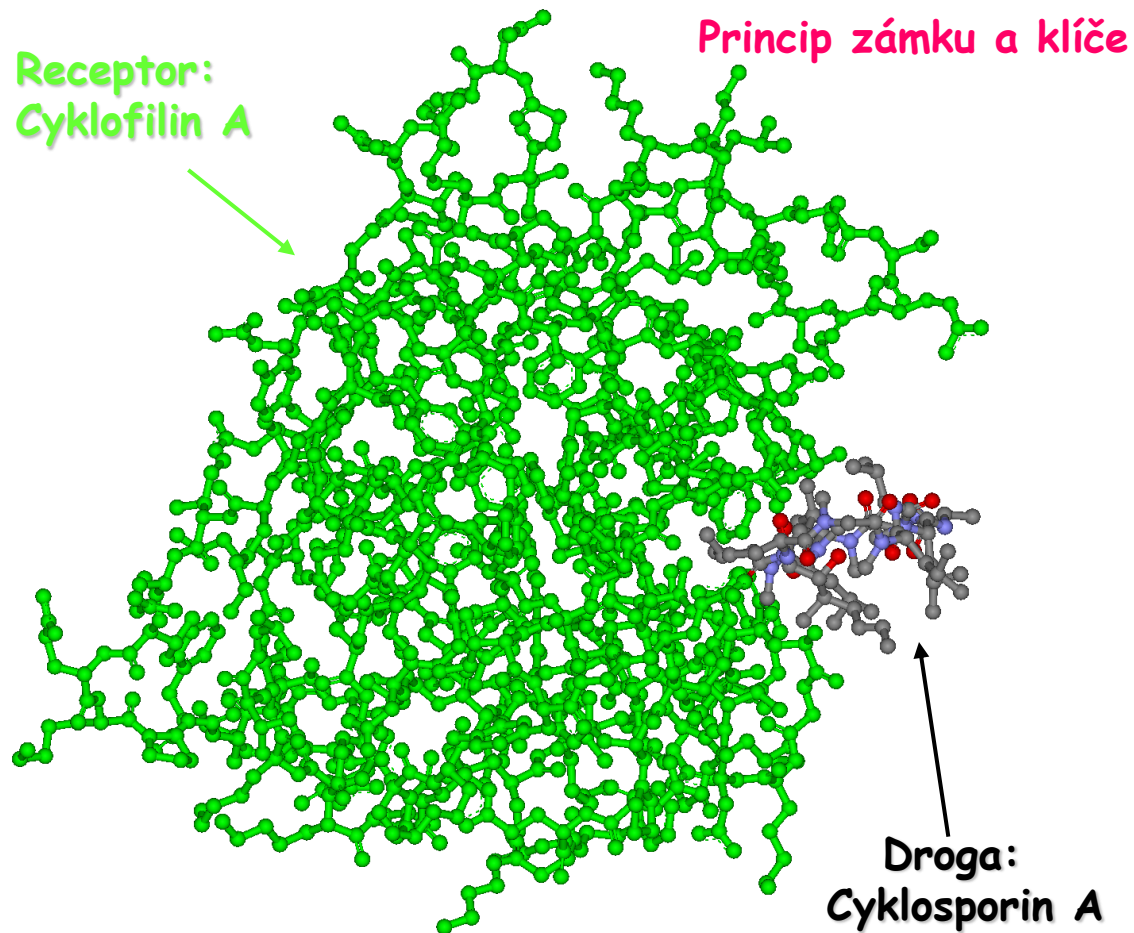
Toxikodynamický účinek

molekula
(droga, substrát)

komplex droga/receptor



Příklad komplexu droga/receptor



Mechanismus účinku: konformační změna vyvolá biochemickou reakci:

komplex cyklosporin A / cyklofilin A blokuje produkci interleukinu-2, který je růstovým faktorem T-lymfocytů. T-lymfocyty (bílé krvinky) jsou odpovědné za imunitu organismu.

Typy vazeb v komplexu xenobiotikum - receptor

Kovalentní vazba (společný elektronový pár)

- pevná, ireversibilní
- xenobiotika se s receptorem váží kovalentně jen výjimečně

Nekovalentní vazba (nevytváří se společný elektronový obal)

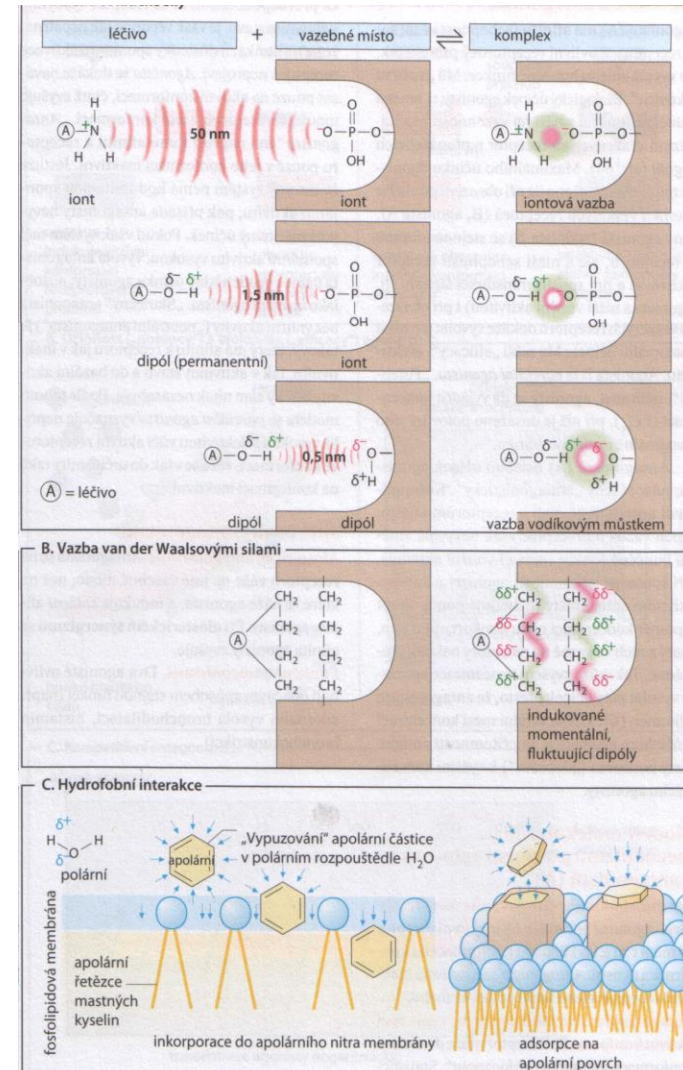
- reverzibilní
- typická pro léčiva (většinou více kontaktních míst)

1. elektrostatická vazba

ion – ion interakce (rel. vysoká pevnost, daleký dosah)
dipól – ion interakce
dipól-dipól interakce

2. Van der Waals síly – malá síla

3. Hydrofóbní interakce



Typy vazeb v komplexu xenobiotikum - receptor

Receptory = makromolekuly, jejichž fyziologickým úkolem je vázat biologicky účinné látky a převádět tuto vazbu na efekt

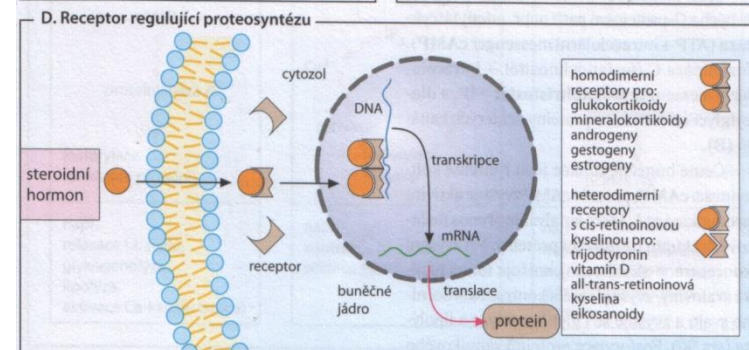
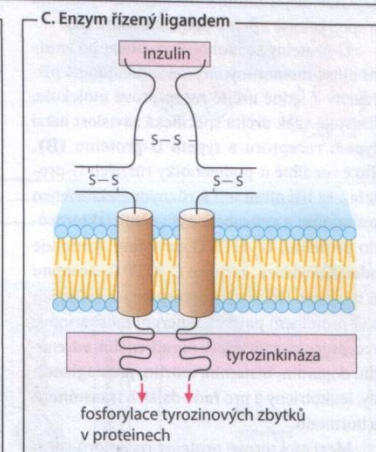
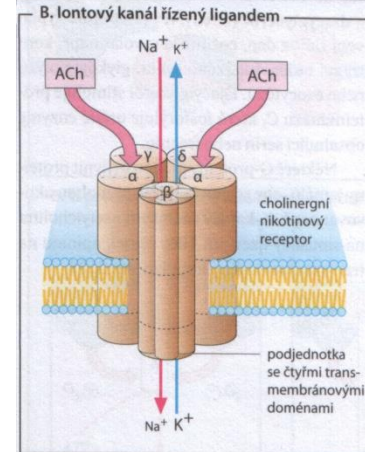
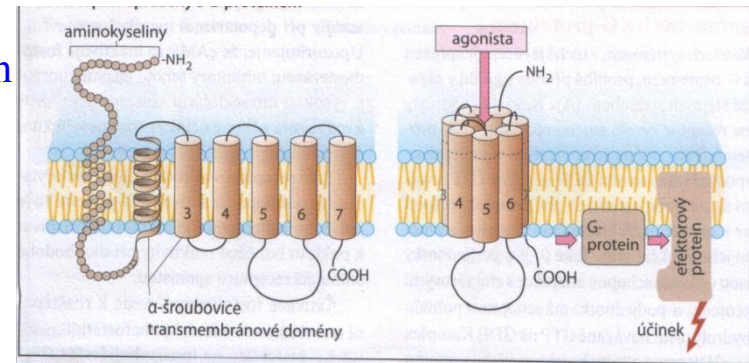
1. Receptory spřažené s G proteinem

(7 transmembránových domén proteinů uspořádaných do kruhu v jehož středu se váže transmitter + G protein = protein ležící na intracelulární straně membrány, který po aktivaci ovlivňuje další struktury

2. Iontový kanál řízený ligandem

3. Enzym řízený ligandem

4. Receptory regulující syntézu proteinů

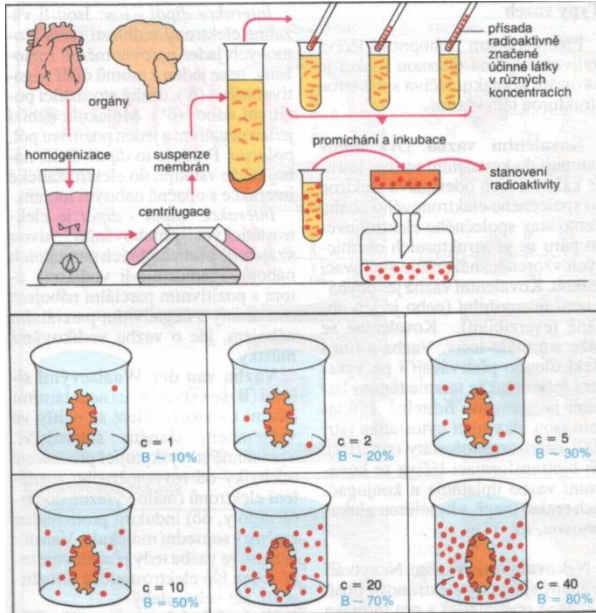


VZTAH MEZI KONCENTRACÍ (DÁVKOU) A ÚČINKEM (VAZBOU)

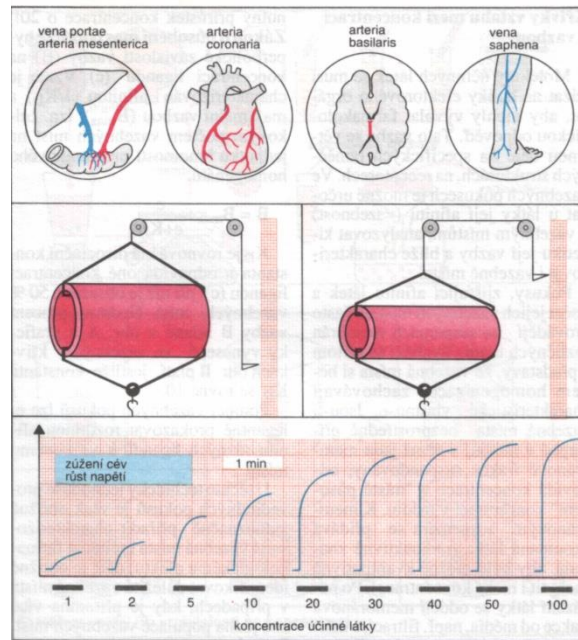
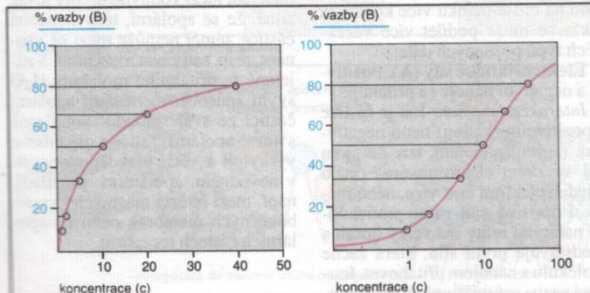
$f c$ (VAZBA)

$f c$ (ÚČINEK)

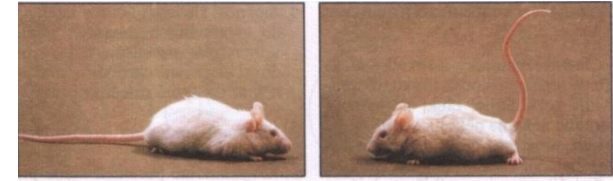
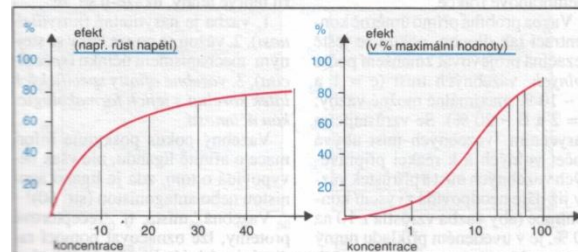
$f D$ (ÚČINEK)



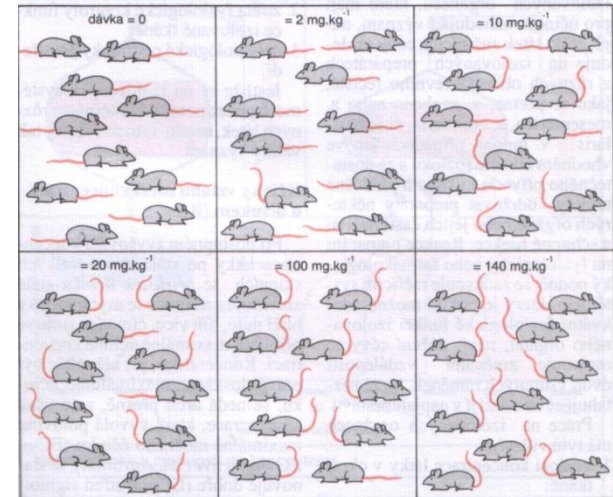
A. Měření vazby (B) v závislosti na koncentraci (c)



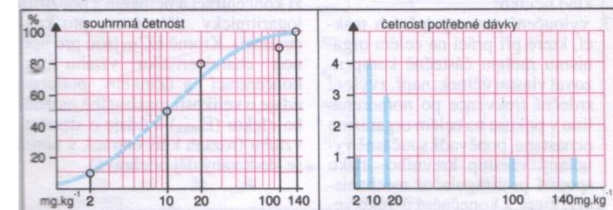
A. Měření účinku v závislosti na koncentraci



A. Anomální držení těla u myši po podání morfinu



B. Nástup účinku v závislosti na dávce



VYSOCE ÚČINNÉ BALZ OBLASTI LÉČIV

CYTOSTATIKA

ANTIBIOTIKA

IMUNOSUPRESIVA

HORMONY (ANTI-KONCEPCE)

DISRIBUČNÍ CESTY DO ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ:

MEDICINÁLNÍ APLIKACE

Výroba: odpadní vody

Komunální a nemocniční odpad → čistírna odpadních vod → kaly, zbytková koncentrace

VETERINÁRNÍ APLIKACE

Místo ustájení → hnůj (povrchová voda)

VYSOCE ÚČINNÉ BAL Z OBLASTI LÉČIV V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ

Spotřeba léčiv u nás je vysoká a farmaceutické látky se pak dostávají do ŽP

dvojím způsobem:

- 1/ Lidský organismus, z něhož jsou vylučovány (především močí) jak zbytky léčiva, tak jeho metabolity
- 2/ Odpadní vody z farmaceutických výroby

V obou případech ovšem končí v odpadních vodách a část z nich může projít procesem čištění odpadních vod a dostat se do řeky.

Čistírny totiž obvykle nemají speciální záchyty na léky.

TERAPIE ZHOUBNÉHO BUJENÍ

BENIGNÍ (= nezhoubné) NÁDOR

MALIGNÍ (= zhoubné) NÁDOR

procesy **INFILTRACE** (do okolí),
DESTRUKCE (okolní tkáň)
TVORBA METASTÁZ

Nádory (Tumory) – vznikají z různých tkání

Nejčastější nádor **KARCINOM** (z epitelu)
SARKOM, ADENOM aj.

Mechanismus vzniku neznámý

- (onkogenní viry, nekontrolovaně probíhající imunitní procesy aj.)
- přispívající faktory (biologické, chemické, fyzikální)

ZMĚNA GENETICKÉ INFORMACE
ZODPOVĚDNÉ ZA DĚLENÍ BUNĚK

**V PRŮMYSLOVĚ VYSPĚLÝCH
ZEMÍCH KAŽDÝ PÁTÝ ČLOVĚK
UMÍRÁ NA ZHOUBNÝ NÁDOR**

CYTOSTATIKA

- léčiva, která různými mechanismy zastavují růst a množení buněk
- některé látky se používají i jako imunosupresiva
- problém: metabolismus nádorových a zdravých buněk je shodný → nežádoucí účinky na zdravé buňky
- každé cytostatikum – potenciální teratogen

CYTOSTATIKA

A/ POLYFUNKČNÍ ALKYLUJÍCÍ LÁTKY

Mechanismus – přenos alkylového radikálu na molekulu NK nebo bílkoviny (potlačení dělení)

Cyklofosamid CYTOXAN

B/ ANTIMETABOLITY

Látky chemicky příbuzné prekurzorům biosyntézy NK a proteinů

Methotrexat METHOTREXAT

C/ ROSTLINNÉ ALKALOIDY

„mitotické jedy“ (inhibice mitotického dělení)

Vincristin VINCRISTIN
Vinblastin VINBLASTIN

CYTOSTATIKA

D/ CYTOSTATICKÁ ANTIBIOTIKA

Mechanismus – vazbou na molekulu DNA poškozují funkci buňky

Doxorubicin ADRIBLASTINA

E/ JINÁ CYTOSTATIKA

Deriváty platiny; Mechanismus účinku je nejasný

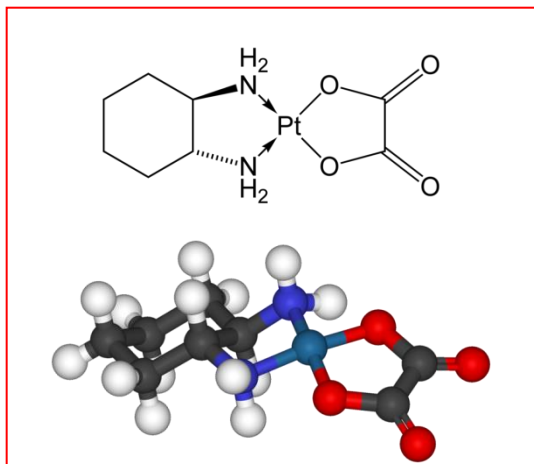
Cisplatina CISPLATYL
Karboplatina CYCLOPLATIN

F/ HORMONY A LÁTKY BLOKUJÍCÍ JEJICH ÚČINEK

Pohlavní hormony, kortikosteroidy a jejich deriváty

Prednison PREDNISON
Tamoxifen TAMOXIFEN

CYTOSTATIKA



CYTOSTATIKA: látky zpomalující příp. zastavující růst buněk či způsobující jejich degradaci

Ideální protinádorová látka zničí nádorovou buňku aniž by poškodila buňky normální – IDEÁLNÍ STAV

OXALIPLATINA – skupina alkylačních cytostatik

Pojem „CIVILIZAČNÍ ONEMOCNĚNÍ“ *versus* „Pokroky vědy“

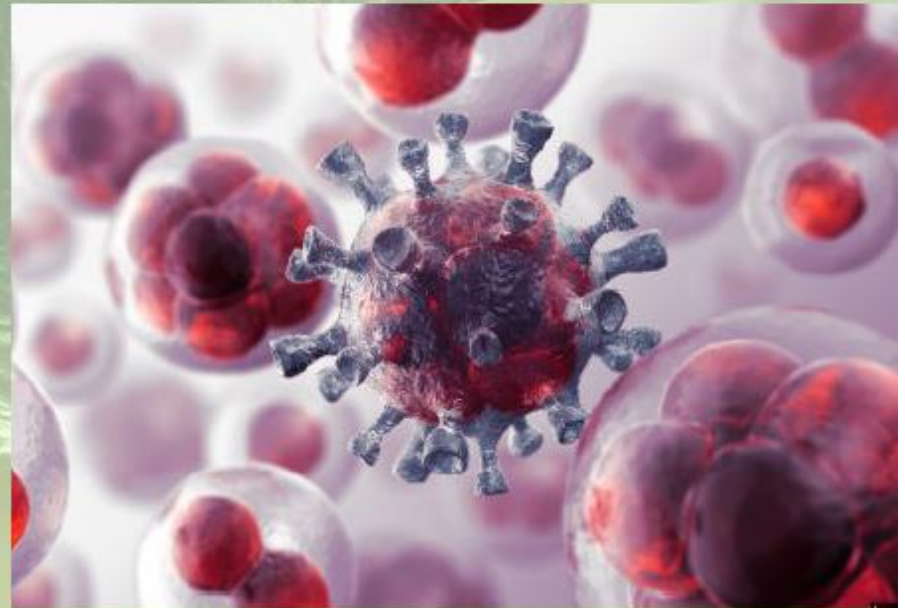
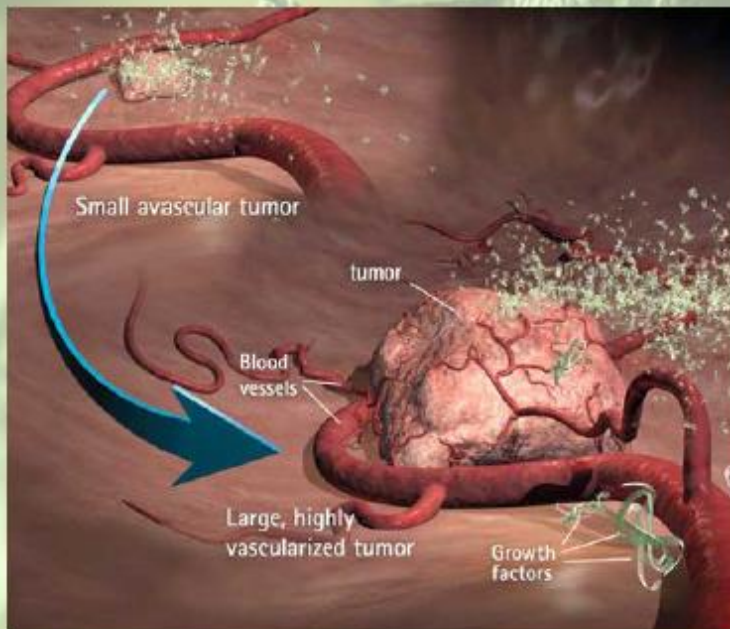
Poč. 20 století přežilo méně než 10 % lidí diagnostikované nádorové onemocnění
Dnes přežívá – „vyléčí se“ – více než 50 %

V roce 2014 : zemřelo na nádorová onemocnění 2,5 x více lidí než ve 2.světové válce

Marketing : Za 5 let se 2 x zvýší výskyt kolonorektálních karcinomů a spotřeba oxaliplatin

Nádorová onemocnění

- 2. nejzávažnější onemocnění na světě
- Vysoká četnost úmrtí – až kolem 48% (2012)
- Komplikovaná a drahá léčba



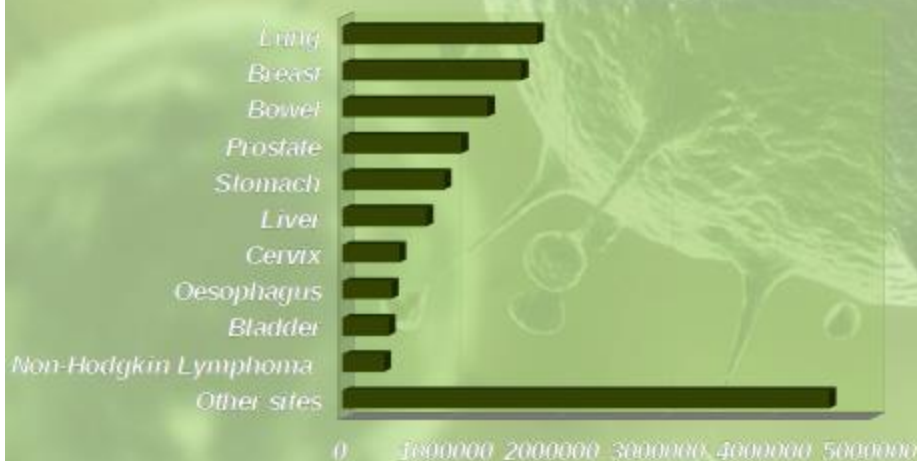
Statistika - svět (r. 2012)

- 14,1 mil. nových nálezů
- 8,2 mil. úmrtí



Celkem 32,6 mil. lidí žijících s rakovinou

Most commonly diagnosed cancer, World, 2012

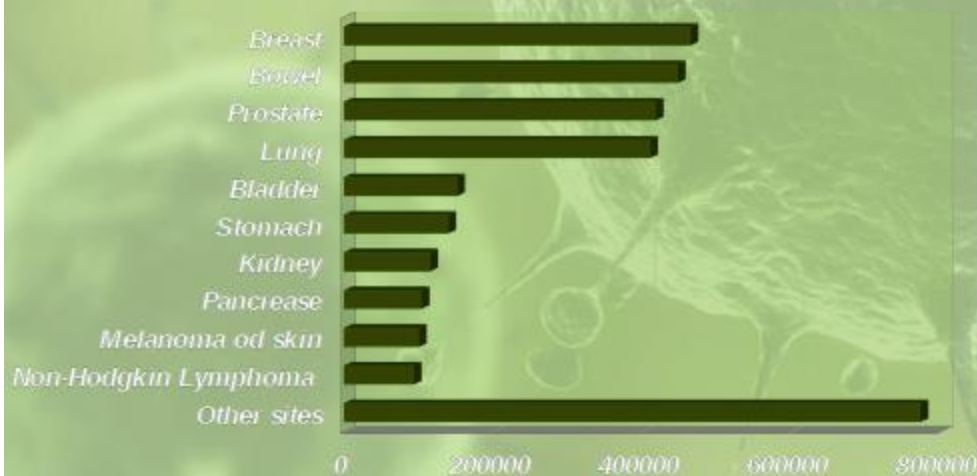


Estimated numbers (thousands)	Cases	Deaths	5-year prev.
World	14090	8201	32545
More developed regions	6076	2878	16913
Less developed regions	8014	5323	15632
WHO Africa region	645	456	1363
WHO Americas region	2882	1295	7958
WHO East Mediterranean region	555	367	1194
WHO Europe region	3737	1932	9790
WHO South-East Asia region	1724	1171	3278
WHO Western Pacific region	4543	2978	8956
IARC membership (24 countries)	7060	3470	18684
USA	1604	617	4775
China	3056	2206	5045
India	1015	683	1790
EU	2657	1273	7246
Russian	458	295	1088

Statistika- EU (r. 2012)

- 2,6 mil. nových nálezů
- 1,26 mil. úmrtí

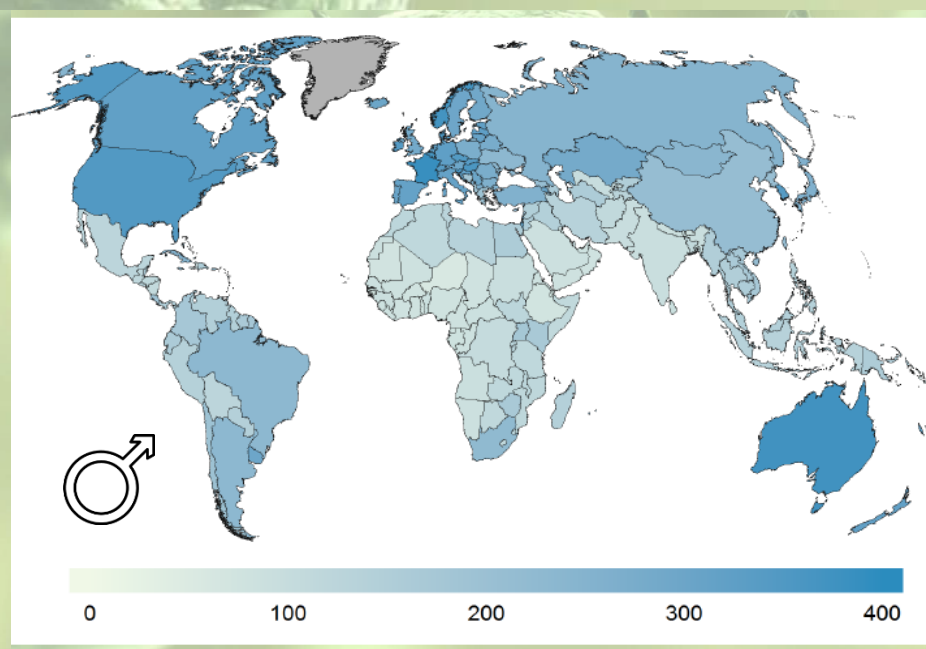
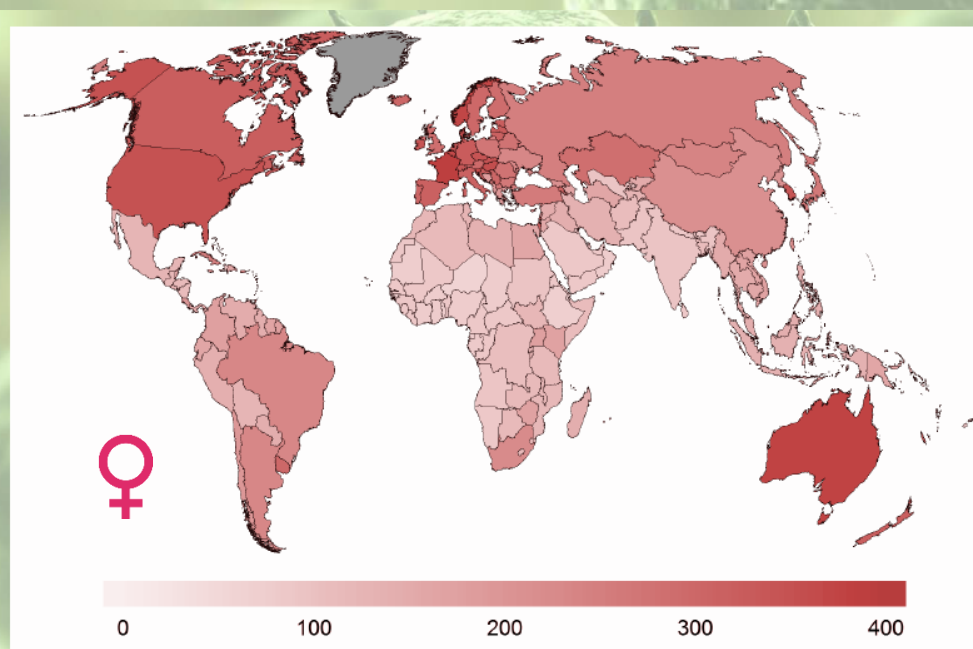
Most commonly diagnosed cancer, EU, 2012



Estimated numbers	Cases	Deaths	5-year prev.
Europe	3439598	1754550	9168372
EU	2634582	1262433	7184205
Germany	493780	217636	1396766
Russia	458382	295357	1087857
France	371676	154572	1121491
Italy	354456	170030	1012541
UK	327812	157849	827126
Spain	215534	102762	581688
Poland	152216	94958	350227
Ukraine	140999	87288	334375
Netherlands	93448	42539	267924
Romania	78760	48252	178416
Belgium	65345	29815	192018
Czech Republic	57627	26911	145631

ONKOGENNÍ ONEMOCNĚNÍ A JEJICH INCIDENCE

- Nekontrolovatelná buněčná proliferace
- Maligní x benigní nádory
- Tvorba metastáz
- Komplikovaná léčba
 - Nutnost přizpůsobit stavu pacienta, typu rakoviny



Léčba

- Absence univerzální léčby
- Kombinace více terapií
 - Chirurgický zákrok, chemoterapie, radioterapie,
- Pouze 45% úspěšnost
- U 38% pouze paliativní léčba



Chemoterapie

- Léčba za pomoci léčivých látek - cytostatik
- Zastavení množení nádorových buněk nebo jejich zničení
 - Rychlá proliferace nádorových buněk = citlivější na cytostatika
- Systémová léčba
- i.v. podání, p.o. podání (zřídka)
- Kombinace s jinými terapiemi (chirurgický zákrok, radio. , ...)
- Více než 100 léků
 - Abraxane, Afinitor, Busulfan, Paclitaxel, Pt-cytostatika, ...



TERAPEUTIKA BAKTERIÁLNÍCH INFEKČÍ

**ANTIINFEKTIVA
= PREVENCE A
THERAPIE INFEKČNÍCH
ONEMOCNĚNÍ**

ANTIBIOTIKA (přírodní produkty mikroorganismů)

CHEMOTERAPEUTIKA (uměle syntetizované látky)

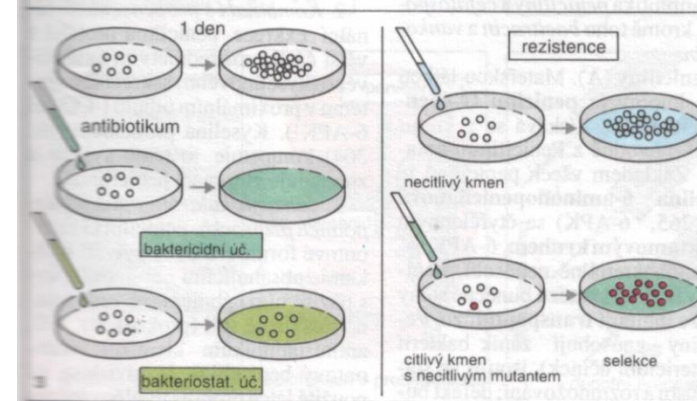
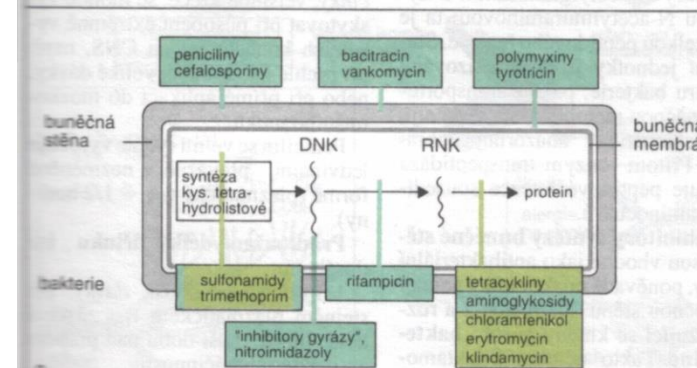
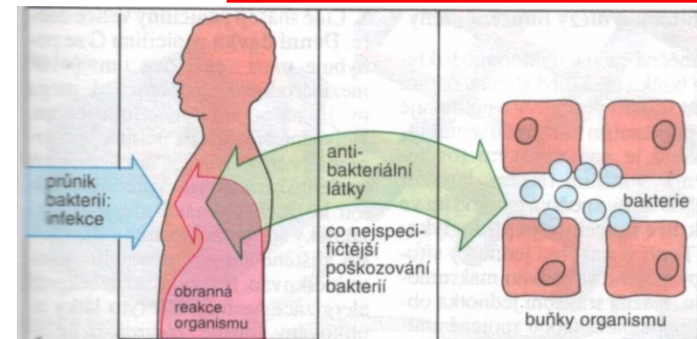
- Působí na mikroorganismy bakteriostaticky
nebo baktericidně

INFEKČNÍ ONEMOCNĚNÍ

Charakteristická proniknutím choroboplodných
zárodků, kde se rozmnoží a po určité době
(inkubační doba) se projeví příznaky

MECHANISMUS ÚČINKU – cílem je:

**SELEKTIVNÍ OVLIVNĚNÍ SPECIFICKÝCH
PROCESŮ MIKROORGANISMU BEZ
VÁŽNĚJŠÍHO OVLIVNĚNÍ MAKROORGANISMU**



M.Ú. ANTIINFEKTIV A JEJICH N.Ú.

1/ INHIBICE BUNĚČNÉ STĚNY

2/ POŠKOZENÍ FUNKCE BUNĚČNÉ MEMBRÁNY

3/ PORUCHA SYNTÉZY BÍLKOVIN

4/ PORUCHA METABOLISMU NUKLEOVÝCH KYSELIN

NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY ANTIBIOTIK

Používané antimikrobiální látky patří mezi relativně bezpečné léky, přesto existují určité typy toxicity

Poškození krvetvorby (aplastická anémie)

Chloramfenikol

Ototoxicita a nefrotoxicita

Aminoglykosidy a polypeptidová A.

Hepatotoxické reakce

Tetracykliny

Neurotoxicita

Peniciliny

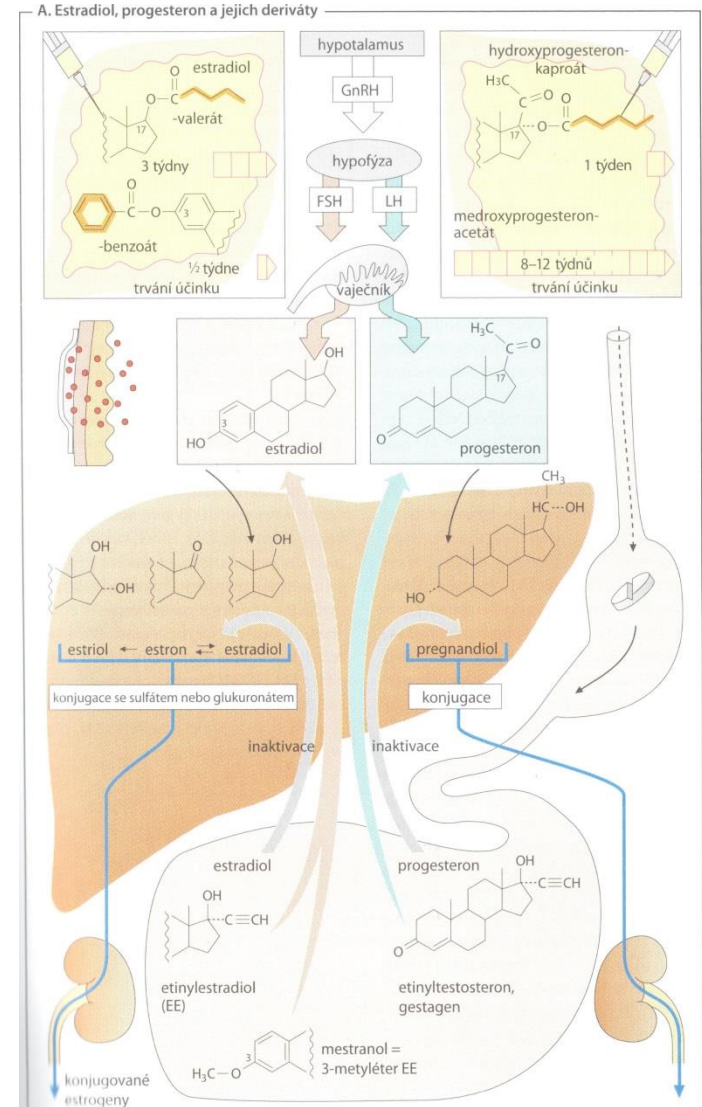
Alergické reakce

Rezistence, dysmikrobie, superinfekce a ovlivnění imunitních dějů.

HORMONY

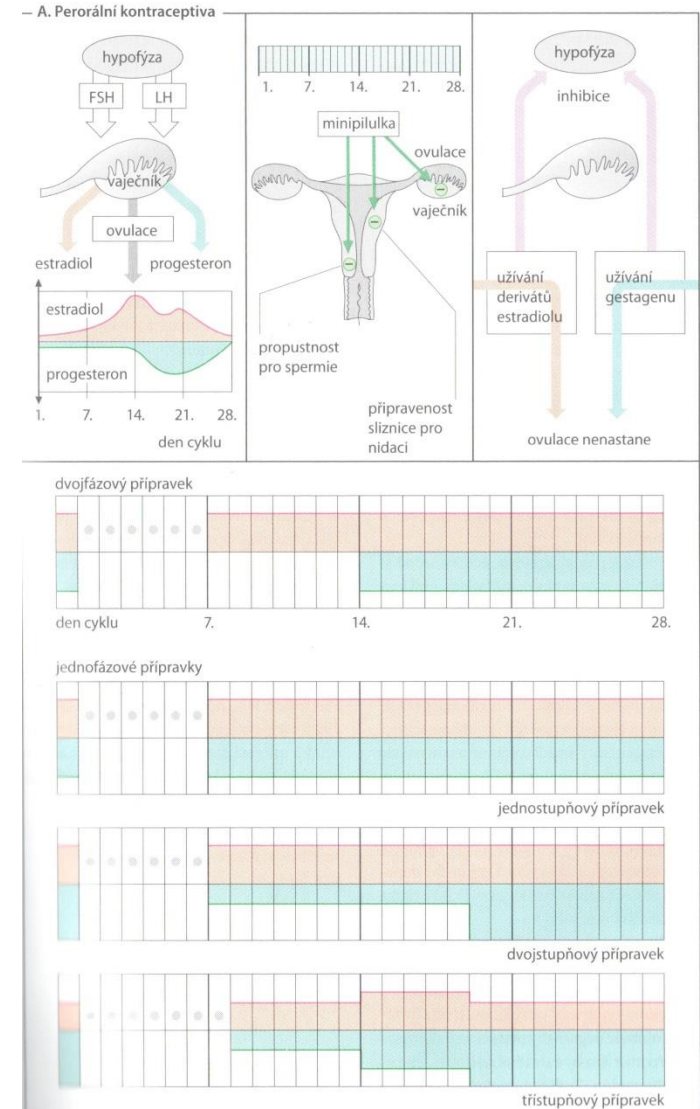
- 17-beta-estradiol,
- estriol,
- estron,
- 17-alfa-ethinylestradiol,
- mestranol
- Norethisterone

- FEMINIZACE VODNÍCH ŽIVOČICHŮ
- HERMAFRODITIZACE
- KANCEROGENEZE



HORMONY

- ESTROGENY
- PROGESTERONY
- FYZIOLOGICKÉ
- PERORÁLNÍ KONTRACEPTIVA
- SUBSTITUČNÍ TERAPIE
- ANTIANDROGENNÍ TERAPIE
- FEMINIZACE VODNÍCH ŽIVOČICHŮ
- HERMAFRODITIZACE
- KANCEROGENEZE



BAL V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ

Počátek masivního vstupu do ŽP kolem poloviny 20. století

Zájem o problematiku 90. léta 20. století

- Řada léčiv – vztah dávka x účinek, akutní, subchronická, chronická
 - Separace jediného parametru
 - Špatně odhadnutelná toxicita
 - Problematika koncentrace \square toxicita (odhad)
 - Problematika BAL
 - Nerovnoměrné rozptýlení kontaminace
 - Málo prozkoumaná oblast
-

ODSTRAŇOVÁNÍ BAL Z ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

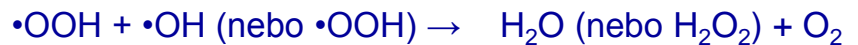
- ČISTÍRNÝ ODPADNÍCH VOD
- POKROČILÉ OXIDAČNÍ PROCESY (AOP's)
(ozon, potenciace UV, potenciace H₂O₂, Fentonova oxidace, ... Fe²⁺/UV, fotooxidace, ad.)
- DEKONTAMINAČNÍ PROCESY
- ALTERNATIVNÍ PROCESY (VPHP, Speciální „pasti“ – iontové, ad.)

PERSISTENCE

POTENCIACE, SYNERGISMUS

Výroba, příprava BAL VPHP (=vapour phase hydrogen peroxide)

- **Ideální desinfekční, dekontaminační metoda**
- **Levná, rychlá, účinná i v malých koncentracích**
- **Metoda sterilizace farmaceutických izolátorů**
- **Dnes kontrola procesu pomocí bio-indikátorů**



Vapour Phase Hydrogen Peroxide → „ISOLÁTOROVÁ TECHNIKA“

KONTROLA PROCESU – BIOINDIKÁTORY

CHEMICKÉ INDIKÁTORY



BAL V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ – Pt cytostatika

Zařízení pro odstranění kontaminantů z moči (obsahujících Pt – komplexy)

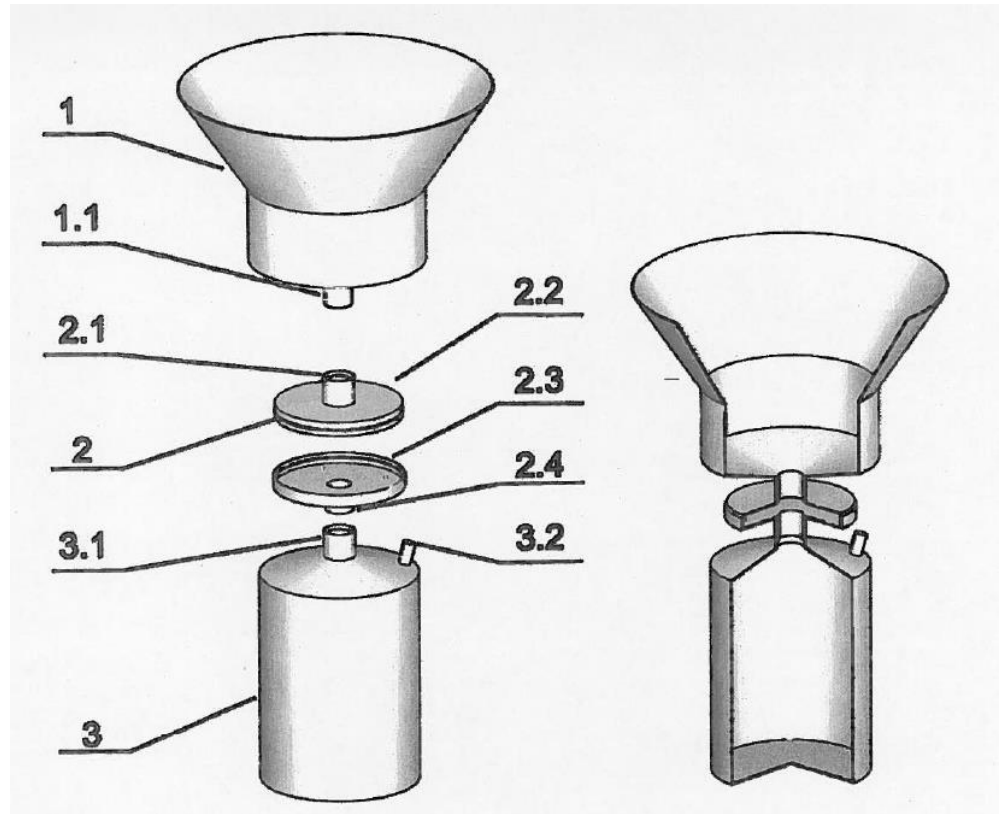
Sorbent s vysokou afinitou k Pt

Barevná indikace nasycení

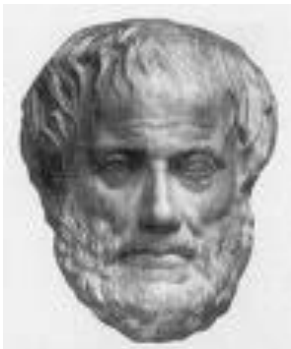
Regenerace platiny

Odstranění Pt-komplexu z moči

Koncentrační rozdíl oproti čistírně
Odpadních vod



Onkologie, přenosné zařízení v případě ambulantního řešení chemoterapie



Aristoteles
384 - 322 př.n.l.

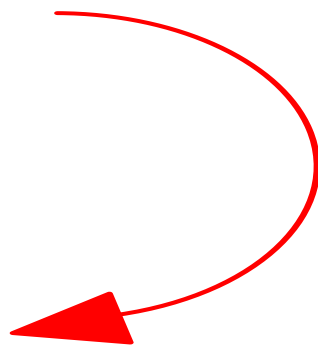
DEKONTAMINACE



dekontaminace = zbavení nečistot včetně choroboplodných zárodků

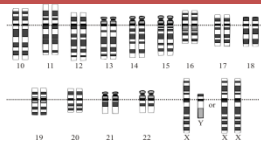


Antony van Leeuwenhoek
(1632 – 1723)

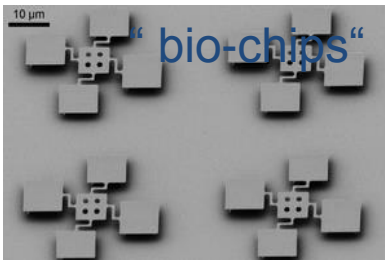


2012 – “**DECONTAMINATION TAILORING**”

genome sequencing



MRI



“bio-chips”



Louis Pasteur
(1822 – 1895)

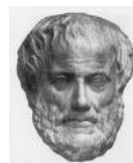
Dekontaminace

→ odmoření, zbavení nečistot včetně choroboplodných zárodků

- ošetřující proces → umožňuje bezpečně používat zařízení, instrumenty nebo povrchy
 - především ve zdravotnickém, případně potravinářském, farmaceutickém, vojenském aj. prostředí

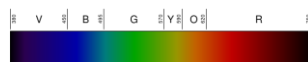
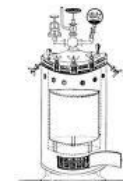
HISTORIE ¹

- prvotní vědecké aplikace dekontaminačních látek a postupů ~ před 150 lety
- empirické praktikování → starověk (Bible, Homér, **Aristotelés** aj.)
- **válka = nemoci**



Klíčové milníky ¹

- 1438 - **Magistrát zdravotnictví - Benátky**
- 1676 - **chemická látka** → **usmrcení mikroorganismu** (vinný ocet, A. van Leeuwenhoek)
- **2. polovina 18. století - chlór** (1774, C. W. Scheele), **chlornany** (1789, C. L. Berthollet)
- 1810 - **Nicolas Appert - konzervace**
- 1877 - **antimikrobionální efekt světelného záření** → **UV** (A. Downes a T. P. Blunt)
- 1879 - **parní autokláv (Ch. Chamberland)** - inspirace L. Pasteur - objev sterilizační efektivity přehřáté vodní páry
- 1881 - **“On Desinfection”** (R. Koch)
- 1897 - **základ chemické dezinfekce - „fenol koeficientová metoda“** (B. Krönig a T. Paul)
- **20. století - mohutný rozvoj chemie** (především organické)



¹ Block S. S., v knize: *Disinfection, Sterilization, and Preservation* (Block S. S., ed.), kap. 1. Lea & Febiger, Philadelphia 1991.

Dekontaminační metody

→ široká škála metod, počínaje od prostého čištění pomocí mýdla a konče procesy sterilizací či dezinfekcí²

- likvidace a eliminace mikroorganismů → **BIO-DEKONTAMINACE**
- detoxikace a deaktivace nebezpečných chemických látek



Základní dělení: metody mechanické, chemické, fyzikální a fyzikálně-chemické

□ metody na mokré cestě, gely a pěny

(vodný roztok ClO_2 , CH_3COOOH , H_2O_2 , NaOCl , kapalné detergenty, alkoholy, jodoform, Fentonovo činidlo aj.)

□ metody v plynné, resp. parní fázi

(ClO_2 , H_2O_2 , etylenoxid, propylenoxid, β -propiolakton, formaldehyd, ozón, methylenbromid aj.)

□ fyzikální a fyzikálně-chemické metody

(teplo, zmrazení, fotochemické reakce, rentgenové, gama, mikrovlnné a UV záření, plasma aj.)



• aplikace řady z doposud užívaných dekontaminačních agens sebou přináší značná **RIZIKA**

- ! nebezpečnost samotného účinného činidla dané metody !
- ! možnost vzniku toxických reziduí → zátěž pro životní prostředí !

ŘEŠENÍ: nové dekontaminační postupy



„IDEÁLNÍ“ DEKONTAMINAČNÍ ČINIDLO

² Favero M. S., Bond W. W., v knize: *Disinfection, Sterilization, and Preservation* (Block S. S., ed.), kap. 35. Lea & Febiger, Philadelphia 1991.

Ideální dekontaminační činidlo

CHARAKTERIZACE ³

- 1) vysoký stupeň účinnosti → rychlá aktivita
- 2) dlouhotrvající výsledek
- 3) opakovatelnost použití
- 4) cenová přijatelnost
- 5) odolnost vůči organickým materiálům
- 6) netoxičita vůči lidem a životnímu prostředí
- 7) aplikace na široké spektrum chemických, popř. biologických kontaminantů
- 8) nešpinící (nezanechávající nevratné stopy na ošetřených materiálech)
- 9) bez zápachu (popř. příjemná vůně)
- 10) snadná a bezpečná manipulace
- 11) dlouhodobá skladovatelnost
- 12) neomezenost nakládání při likvidaci
- 13) materiálová snášenlivost
- 14) snadná detekovatelnost
- 15) rychlá účinnost



+ schopnost dekontaminace velkých prostor a budov → činidlo - „g“ fáze

DŮVODY → epidemie či pandemie (ptačí či prasečí chřipka)



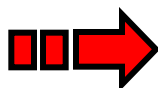
→ rostoucí hrozba teroristických útoků (USA - 2001 - antrax, Japonsko - 1995 - sarin)

→ průmyslová havárie (1984 - Bhópál - methylisokyanát, kyanovodík aj. plyny, 1976 - Seveso - dioxin)

→ jiné dopady lidské činnosti (produkty agrochemie a jiné biologicky aktivní látky - farmaceutika)



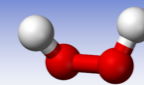
MOŽNÉ ŘEŠENÍ



Vapor Phase Hydrogen Peroxide (VPHP)

³ Rutala W. A., Weber D. J.: Infect. Control. Hosp. Epidemiol. 20, 69 (1999).

H₂O₂ - Peroxid vodíku



Kyslíčník ↔ Hydrogen peroxide

Molární hmotnost: 34,0147 g mol⁻¹

CAS číslo: 7722-84-1

Skupenství: kapalina (bezbarvá)

Hustota: 1,44 g cm⁻³



O T Xn C

Rozpustnost ve vodě: neomezeně mísitelný

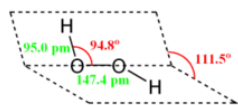
Teplota tání: -0,46 °C (272,2 K)

Bod varu: 150,2 °C (423,4 K)

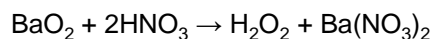
Disociační konstanta (pK_a): 11,65

Tvar molekuly: kovalentní vazby

- tvar složeného papíru do úhlu 97°

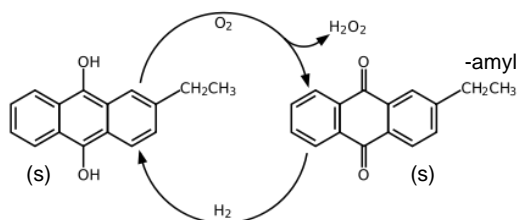


- prvotní syntéza - 1818 - L. J. Thénard



- výroba: *Riedl-Pfleidererův proces*

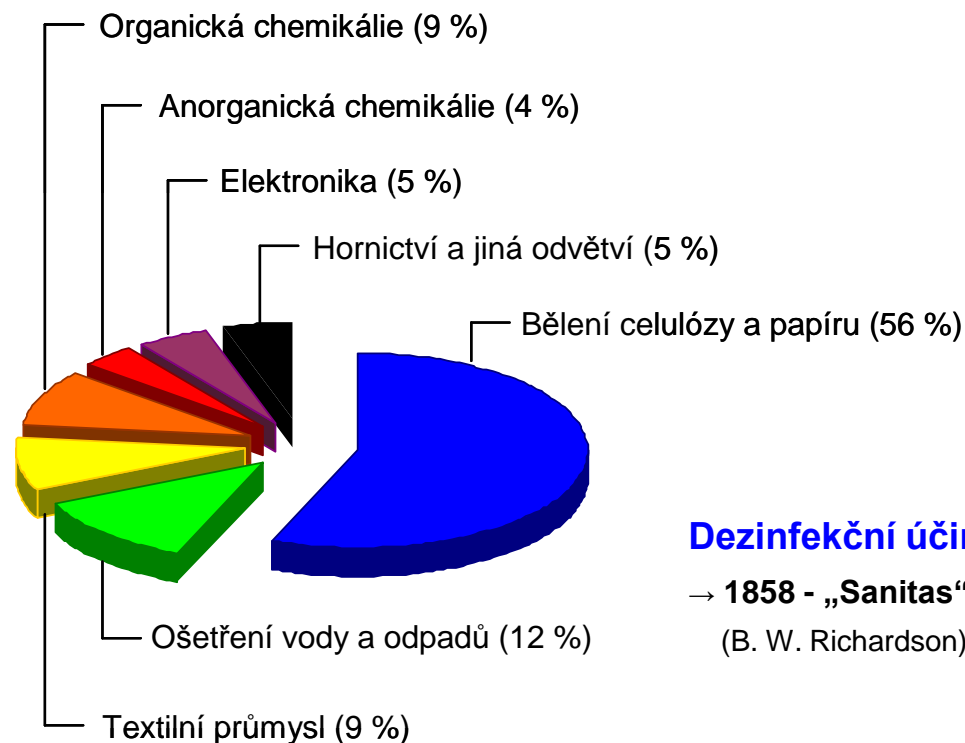
~ 96 % světové produkce



- rozklad: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

! Exo reakce ! ($\Delta H_r = -98 \text{ kJ mol}^{-1}$)

- čirá kapalina mající **silné oxidační**, ale i redukční vlastnosti



Dezinfekční účinky H₂O₂

→ 1858 - „Sanitas“

(B. W. Richardson)



- **ideální vlastnosti pro likvidaci chemických polutantů**

(oxidační činidlo, rozklad na netoxická rezidua → O₂ a H₂O)

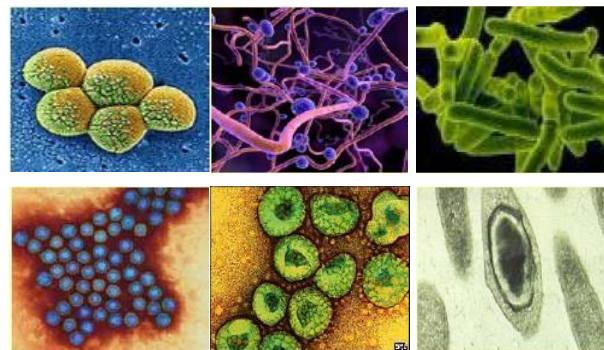
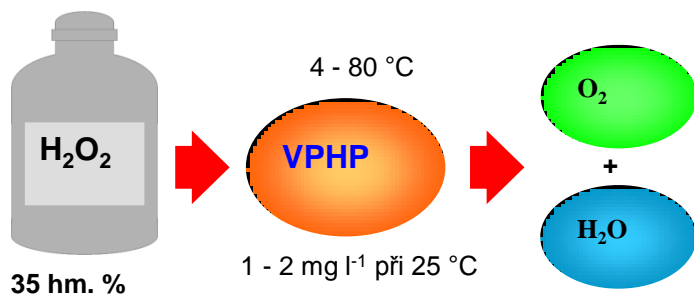
- **aplikace v ochraně životního prostředí** → **AOP**

-H₂O₂/UV, O₃/H₂O₂, O₃/H₂O₂/UV, Fe²⁺/H₂O₂, Fe²⁺/H₂O₂/UV ...

Páry peroxidu vodíku → VPHP

- užití „l“ H_2O_2 k dezinfekci a sterilizaci > 150 let
 - **cidní účinek spočívá zejména v produkci volných $\bullet\text{OH}$ radikálů**
 - **vyšší antimikrobionální účinnost $\uparrow c(\text{H}_2\text{O}_2)$** - omezení = nestabilita „l“ H_2O_2 [běžné $c(\text{H}_2\text{O}_2)$ = 3 - 59 hm. %]
- prvotní aplikace **VPHP** → **1989** → **EPA** - plnohodnotná sterilizační metoda ^{4,5}
 - **prudký nárůst aplikací** → orientace na **BIO-DEKONTAMINACI**

ANTIMIKROBIONÁLNÍ AKTIVITA H_2O_2 dramaticky VZRŮSTÁ UŽITÍM jeho PARNÍ FÁZE → VPHP ⁴



- eko-přátelské činidlo**
- použitelné za běžných podmínek**
- aplikovatelné na rozsáhlé prostory a těžko dostupná místa**

⁴ Block S. S., v knize: *Disinfection, Sterilization, and Preservation* (Block S. S., ed.), kap. 9. Lea & Febiger, Philadelphia 1991.

⁵ U.S. EPA: *Compilation of Available Data on Building Decontamination Alternatives*, EPA Contract No. 68-C-02-067 (U.S. EPA, 2005).

VPHP - Biocidní činidlo

Zařazení	Mikroorganismus
Bakterie (+ spory)	<i>Acholeplasma laidlawii</i> ; <i>Actinetobacter baumannii</i> ; <i>Asperigillus spores</i> ; <i>Bacillus anthracis</i> ; <i>Bacillus alvei</i> ; <i>Bacillus cereus</i> ; <i>Bacillus circulans</i> ; <i>Bacillus firmus</i> ; <i>Bacillus licheniformis</i> ; <i>Bacillus megaterium</i> ; <i>Bacillus pumilus</i> ; <i>Bacillus sphaericus</i> ; <i>Bacillus stearothermophilus</i> ; <i>Bacillus subtilis</i> ; <i>Bacillus thuringiensis</i> ; <i>Clostridium botulinum</i> ; <i>Clostridium difficile</i> ; <i>Clostridium piliforme</i> ; <i>Clostridium sporogenes</i> ; <i>Enterobacter cloacae</i> ; <i>Enterococcus faecium/faecalis</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Lactobacillus caesei</i> ; <i>Legionella pneumoniae</i> ; <i>Klebsiella pneumoniae</i> ; <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> ; <i>Mycobacterium smegmatis</i> ; <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Salmonella choleraesuis</i> ; <i>Staphylococcus epidermidis</i> ; <i>Salmonella typhimurium</i> ; <i>Serratia marcescens</i>
Viry	<i>Adenoviridae</i> ; <i>Caliciviridae</i> ; <i>Coronaviridae</i> ; <i>Flaviviridae</i> ; <i>Herpesviridae</i> ; <i>Iridoviridae</i> ; <i>Orthomyxoviridae</i> ; <i>Paramyxoviridae</i> ; <i>Parvoviridae</i> ; <i>Picornaviridae</i> ; <i>Poxviridae</i> ; <i>Reoviridae</i> ; <i>Rhabdoviridae</i>
Houby	<i>Alternaria</i> ; <i>Aspergillus niger</i> ; <i>Blastomyces dermatitidis</i> ; <i>Botrytis cinerea</i> ; <i>Candida albicans</i> ; <i>Candida parapsilosis</i> ; <i>Coccidioides immitis</i> ; <i>Histoplasma capsulatum</i> ; <i>Penicillium</i>
Další	<i>Caenrohabditis elegans</i> ; <i>Cryptosporidium parvum</i> ; <i>Lactococcal bacteriophage</i> ; <i>Syphacia muris</i>

□ modelový biologický kontaminant pro VPHP - bakteriální spory *Bacillus stearothermophilus*

(vysoce rezistentní mikroorganismus vůči VPHP, surogát antraxu)



APLIKACE VPHP

Dekontaminace fermentorů, dialyzátorů, inkubátorů, izolátorů, rukavicových boxů, bezpečnostních kabinetů (hazard boxů), zvířetníků, nemocničních oddělení, sterilizace zařízení umožňujících lyofilizaci, ultracentrifugaci, pro aseptické procesy, sterilizační testy, nejrůznější výrobní zařízení a plnicí linky, rovněž pro sterilizaci stomatologických a jiných zdravotnických nástrojů, hardware vesmírných systémů, ale také i k ošetření ovoce, hub atd.

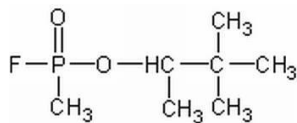
VPHP - degradace chemických kontaminantů

Atmosféra o vysoké koncentraci VPHP = silné oxidační prostředí

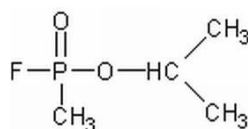
→ solidní předpoklad pro možnou aplikaci tohoto činidla k degradaci organických kontaminantů (např. BAL)

→ **minimální informace o degradaci organických látek**

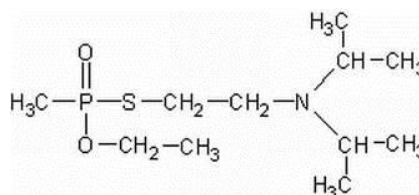
- vybrané farmaceutické substance ⁶ a bojové otravné látky ⁷



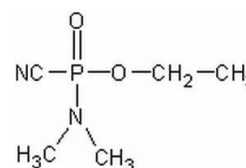
Soman



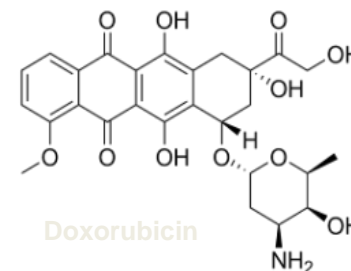
Sarin



VX



Tabun



Doxorubicin

Aplikace VPHP → oblast „ZÁKLADNÍHO“ výzkumu → nutno prostudovat:

- reaktivitu různých funkčních skupin s VPHP
- mechanismus(y) VPHP degradace různorodých chemických kontaminantů
- molekulární strukturní vlivy ze strany organického kontaminantu
- vliv základních operačních (T, RH, ...) a jiných podmínek (přídavná aditiva) na účinnost degradace chemických kontaminantů parami H₂O₂
- vzájemnou slučitelnost materiálů s VPHP

⁶ Roberts S. R., Khammo N., McDonnell G., Sewell G. J.: J. Oncol. Pharm. Practice 12, 95 (2006).

⁷ Wagner G. W., Sorrick D. C., Procell L. R., Brickhouse M. D., Mcvey I. F., Schwartz L. I. : Langmuir 23, 1178 (2007).

DEKONTAMINACE CHEMICKÝCH LÁTEK

Dekontaminace organických látek a léčiv

- Látky s různými funkčními skupinami
- Široce používaná léčiva
- Látky s vhodnými fyzikálními vlastnostmi (bod varu, těkavost)



Chemikálie

- Substituované aromatické aldehydy
- Substituované aminy

Cíl: získat představu o mechanismu účinku VPHP



Léčiva

- Antibiotika
- Chemoterapeutika
- Opioidy a neopioidní analgetika
- Hormony
- Steroidy
- Antineoplastika
- Alkaloidy

Koncept

Cíl: Studium molekulárních strukturních vlivů – mechanismus účinku

PŘÍPRAVA VZORKU

GC/MS
GC/MS/MS

LC/MS
LC/MS/MS

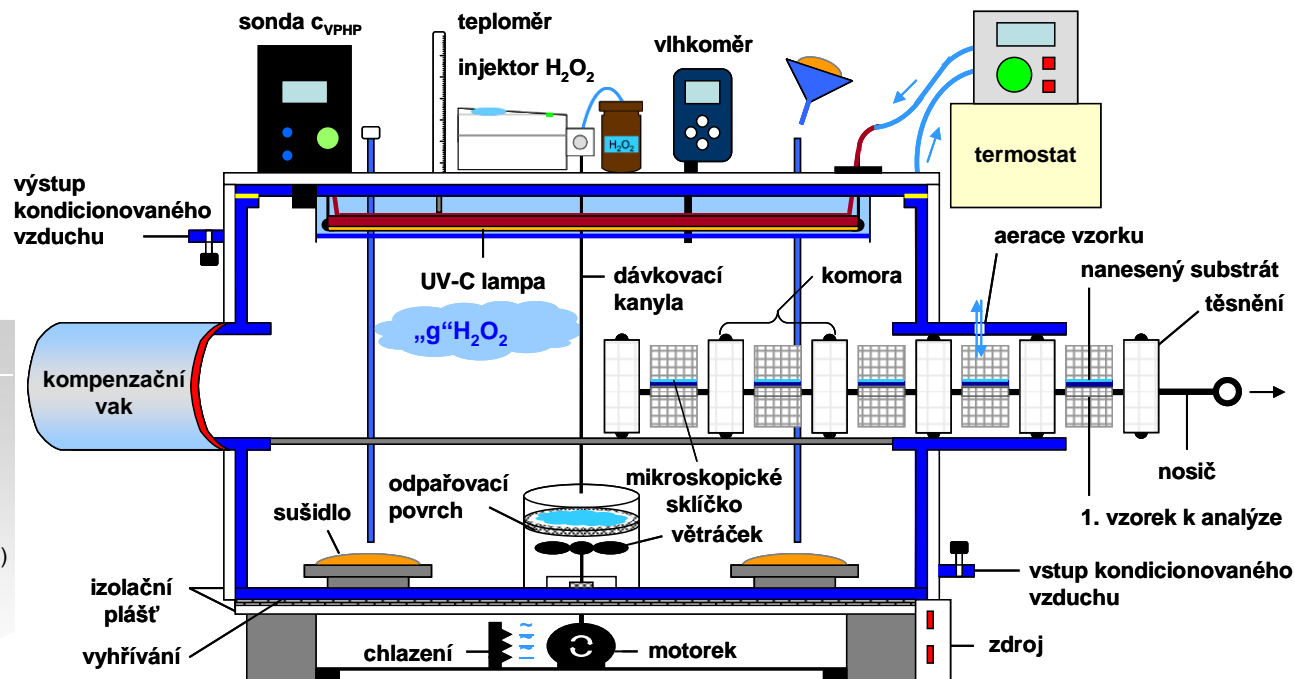
NMR

^1H NMR, ^{13}C NMR
COSY, TOCSY, ROESY, HSQC, HMBC
bs-gHSQC, bs-gHMBC

1D-TOCSY, 1D-TOCSY-TOCSY



Experimentální zařízení → „Peroxybox“



DEKONTAMINAČNÍ CYKLUS

1) Dehumidifikace + Kondicionace

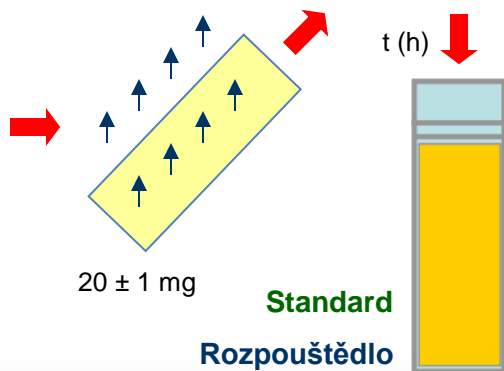
($RH_0 = 40\%$; $T_0 = 25\text{ °C}$)

2) Dekontaminace

($C_{VPHP} = 1200 \pm 100\text{ ppm}$; $T = 25 \pm 1\text{ °C}$)

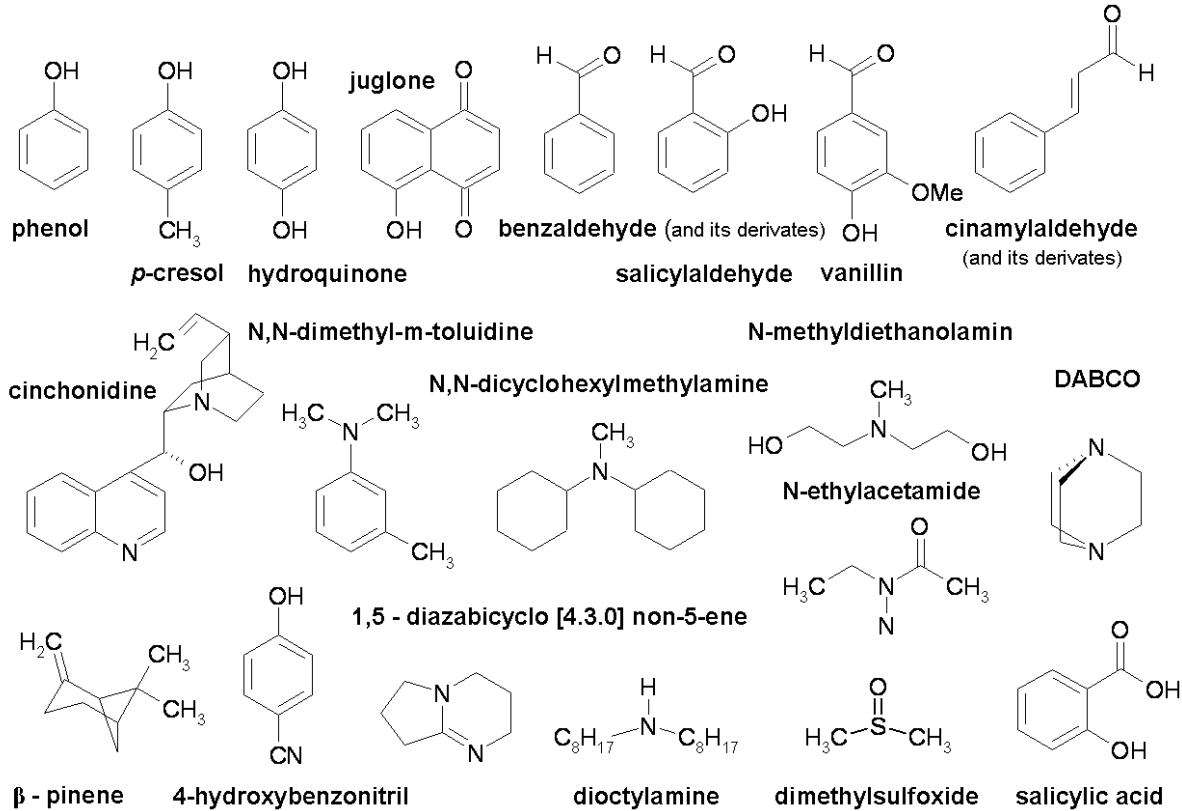
3) Aerace

($C_{VPHP} \rightarrow 1\text{ ppm}$)



- identifikace degradačních produktů
- monitorování degradace substance v čase

Molekulární strukturní vlivy



Molekuly s aldehydickou skupinou a terciárním dusíkem jsou velmi citlivé k VPHP.

Vliv přítomnosti a lokace funkčních skupin

Factory ovlivňující reaktivitu modelových látek (deriváty benzaldehydu) s **VPHP**:

• Typ of substituentu:

□ S_1 (elektron-donory) – **pozitivní vliv** → $\uparrow S_1 = \uparrow r_{\text{degradation}}$

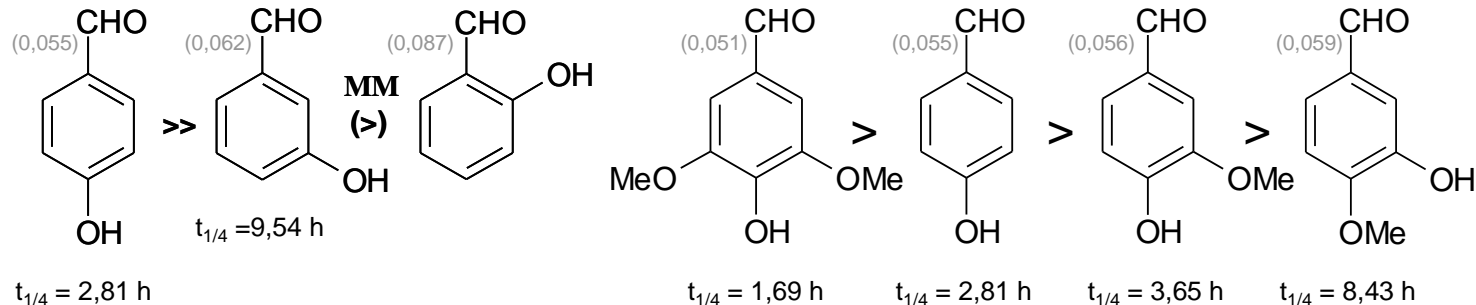
$-NR_2 > -NHR > -NH_2 > -NHCOR > -OH > -OR > -SH > -SR > -R > -X > -NO$

(deriváty benzaldehydu obsahující halogen nebo objemný substituent, např. *tert*-butyl, vykazují nižší reaktivitu).

□ S_2 (electron-akceptory) - **negativní vliv** → $\uparrow S_2 = \downarrow r_{\text{degradation}}$

$-R_2N^+ > -R_2S^+ > -NO_2 > -CN > -CHO > -SO_2R > -SO_3H > -COOR > -CONH_2$

• Vliv lokace substituentů a jejich počtu (deriváty benzaldehydu)



VPHP Potenciace

Fyzikální metody – UV potenciace

$\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV} \rightarrow \text{FOTOOXIDACE}$ - H_2O_2 absorbuje UV záření v rozmezí 185 - 300 nm $\rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + h\nu \rightarrow 2\cdot\text{OH}$

$\xrightarrow{\text{MAX}}$ **UV-C (200 - 280 nm)**

$C_{\text{VPHP}} \dots \dots \text{DP} > \text{WP}$

$c(\text{H}_2\text{O}_2)_{\text{ads.}} \dots \dots \text{WP} > \text{DP}$

$r_{\text{DEG.}}(\text{VPHP}) \dots \dots \text{WP} > \text{DP}$

$r_{\text{DEG.}}(\text{VPHP/UV-C}) \dots \dots \text{DP} > \text{WP}$

INVERSE



• radical recombinaace
• atakuje látku

DP = suchý proces
WP = vlhký proces

Chemické metody – kombinace H_2O_2 s aminy

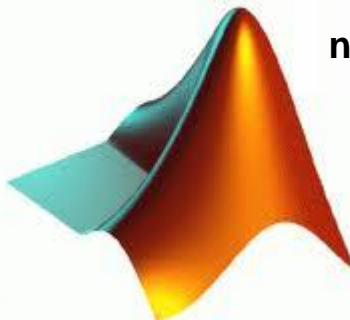
VPHP/RNH₂ > VPHP/R₃N

OPTIMALIZACE poměru VPHP/R_xH_yN

R = methyl, ethyl;

x & y = 0 to 3, and x + y = 3

n(H_2O_2):n(amine) poměr

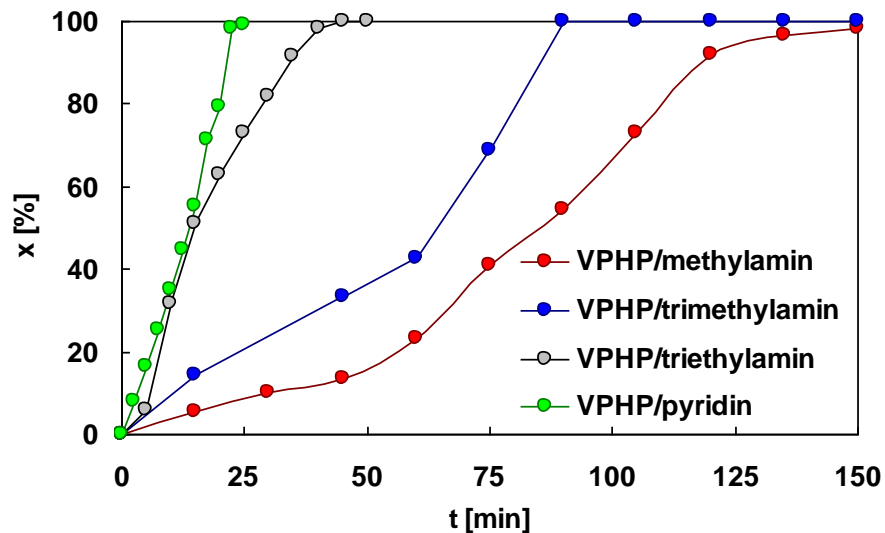


n(H_2O_2):n(amin) = 10:1 – optimální poměr

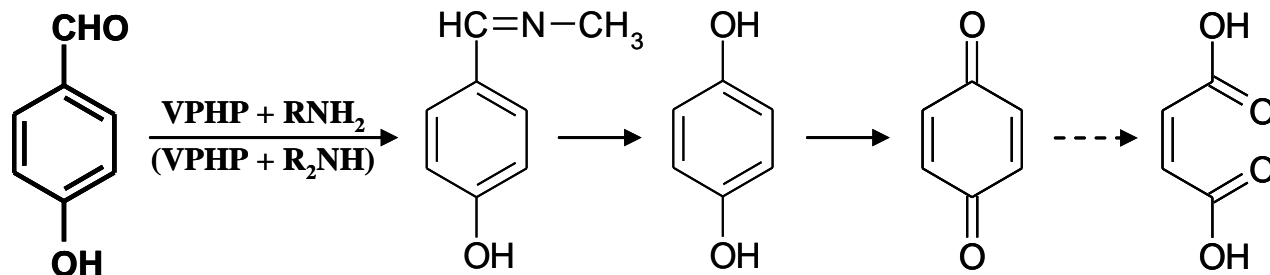
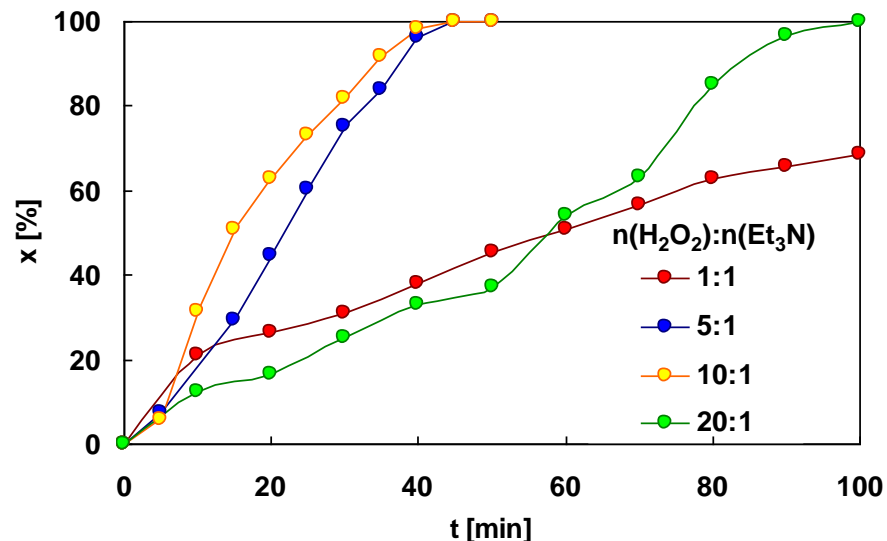
VPHP/R₂NH - nestabilní

VPHP + chemické agens = VPHP/amin

Dependence of 4-hydroxy benzaldehyde conversion on time



Dependence of 4-hydroxy benzaldehyde conversion on time



Identical products

IDEA: VPHP/ Et_3N

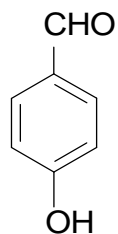
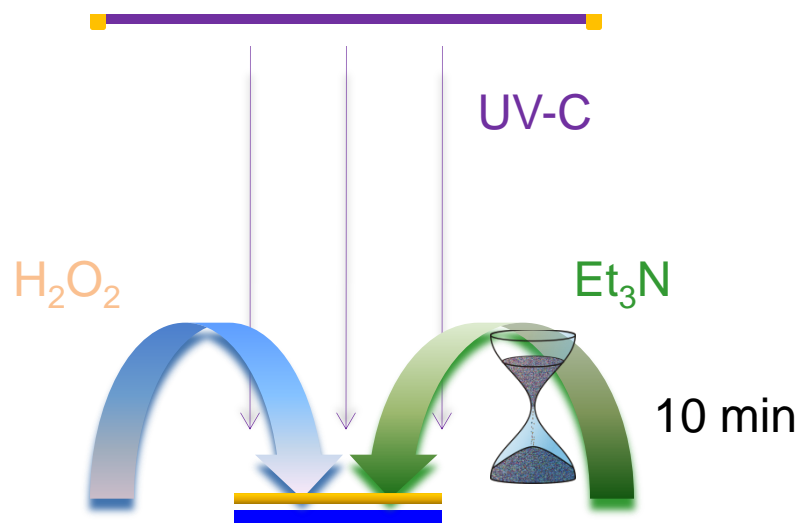
- $n(\text{H}_2\text{O}_2)$ [70 % wt.] : $n(\text{Et}_3\text{N})$ [40 % wt.] = 10:1

- Basic aditivum is fed after reach $c_{\text{VPHP}} > 1000$ ppm

Basic compound	pKa	Bp [°C]
pyridine	5.2	115
triethnolamine	7.8	335
trimethylamine	9.8	3
methylamine	10.6	-6
triethylamine	10.8	89
N-tributylamine	10.9	213

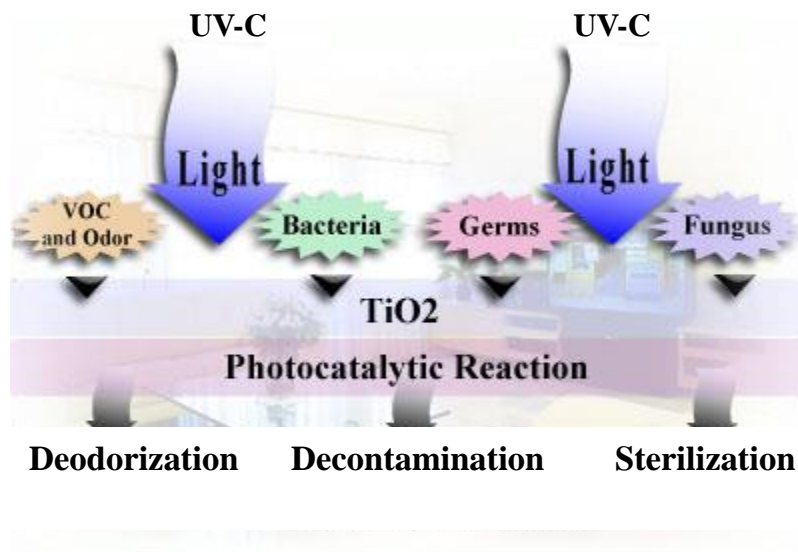
VPHP/UV-C/amine

VPHP/UV-C/Et₃N t_{1/2} > VPHP/Et₃N t_{1/2} >> VPHP/UV-C – 10min /Et₃N t_{1/2}



FOTOKATALÝZA TiO₂ / VPHP / UV-C

Zvýšení dekontaminačního účinku VPHP procesu



Transparentní TiO₂ nanovrstvy na dekontaminovaném povrchu připravené metodou dip coating

Vysoké využití UV-C

Vysoká produkce OH radikálů

Materiálová kompatibilita s VPHP – povrch VPHP-resist

Degradace léčiv

**Approx. 1000
API**



**Analgesika
Antibiotika
Antidiabetika
Hormony
Chemotherapeutika
Immunosupresiva
Námelové alkaloidy
Anti-tumor chemotherapeutika**

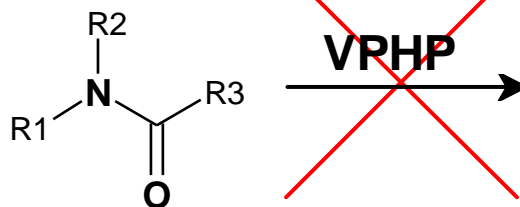
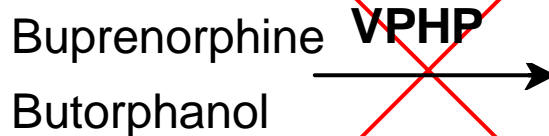
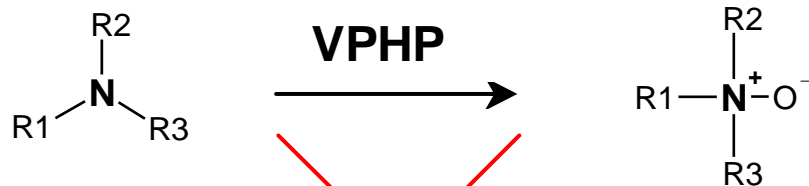


**40
testovaných
látek**

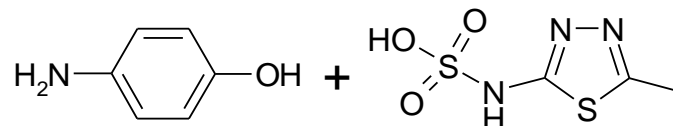
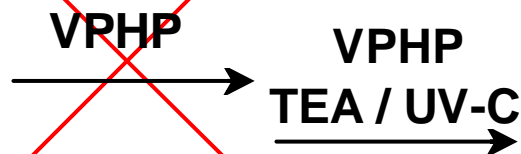
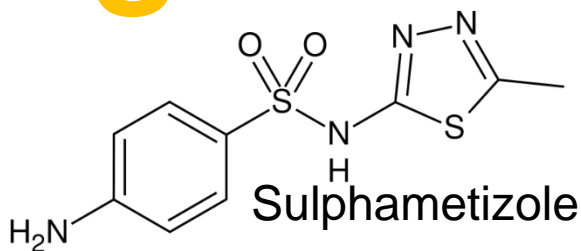
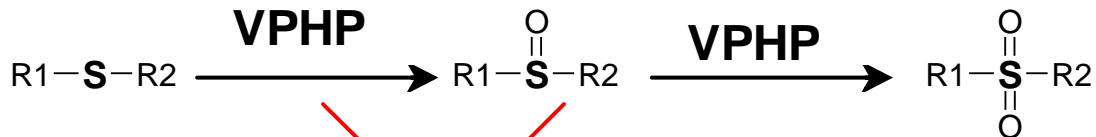


Susceptibilní funkční skupiny

N

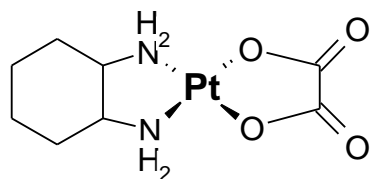
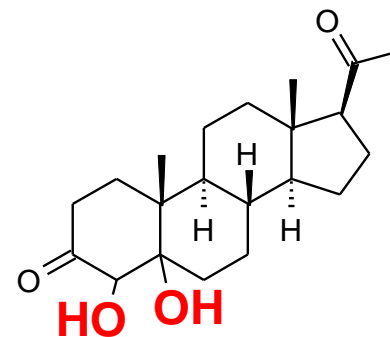
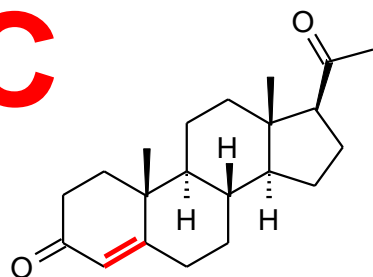


S



Susceptibilní funkční skupiny

C=C



Pt aqua a hydroxo-complexes

40 substances $\xrightarrow{\text{VPHP}}$ **15** intact

$\xrightarrow{\text{TEA / UV-C}}$ **6** intact

Degradace léčiv¹¹

No.	Pharmaceutical substance	Chemical structure
1	Buprenorphine	
2	Butorphanol	
3	Amoxicillin	
4	Gentamicin sulfate	
5	Chloramphenicol	
6	Nystatin	
7	Carbamazepine	
8	Pimaricin (Natamycin)	
9	Ketoprofen	
10	Testosterone	
11	Cyclosporine	
12	Mycophenolate mofetil	
13	Bromocriptine	
14	Dihydroergotamine	
15	Ergotamine	
16	Nicergoline	
17	Lisuride	
18	Pergolide	
19	Imatinib	
20	Methotrexate	
21	Paclitaxel	

Shrnutí výsledků:

Degradace VPHP procesem

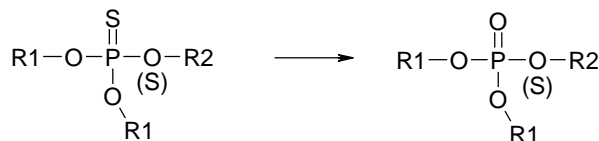
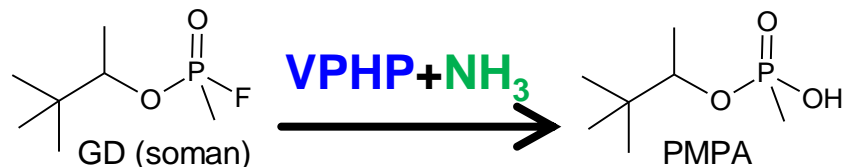
ANO	NE
3	1
14	2
15	4
16	5
17	6
18	7
19	8
20	9
	10
	11
	12
	13
	21

11] Kacer, P.: Degradation of biologically active substances by vapor-phase hydrogen peroxide, RESEARCH ON CHEMICAL INTERMEDIATES, 40(2), 619 – 626 (2014).

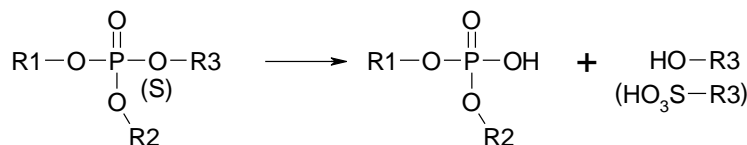
Dekontaminace organofosfátů

G. W. Wagner & al. ¹²

Potential of VPHP by NH₃
for GD warfare agent decontamination



Zvýšení toxicity



Ztráta biologické aktivity

Testované pesticidy:

Parathion

Pirimiphos-methyl

Chlorpyrifos

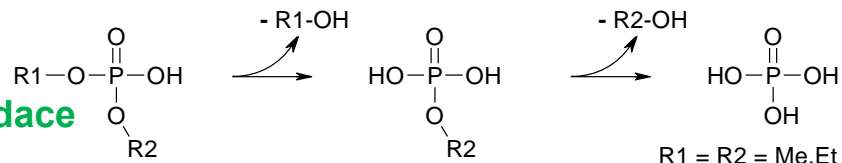
Dimethoate

Demeton-S-methyl-sulfon

Famphur

Malathion

Úplná degradace

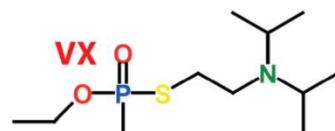
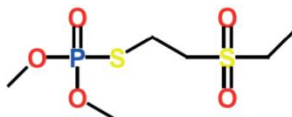


VPHP+TEA+UV

Rozkladné produkty



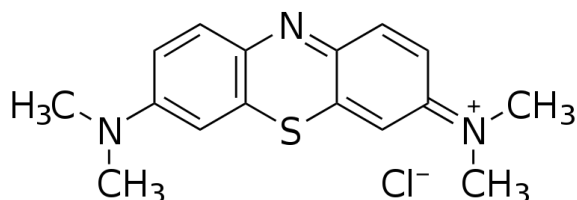
Demeton-S-methyl-sulfon



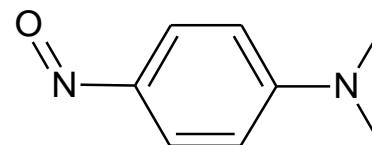
Totální rozklad
Všech testovaných pesticidů

Barvy, radikálové „trapy“ pro hydroxylové radikály

METHYLENOVÁ MODŘ



N,N-DIMETHYL-4-NITROSOANILÍN



Titanium-oxo komplexy, Benzoyl leuco methylenová modř ,Indigo , atd.

Požadavky na vybírané barvy:

- selektivita na hydroxylový radikál
- dobré spektrální vlastnosti
- nízká toxicita

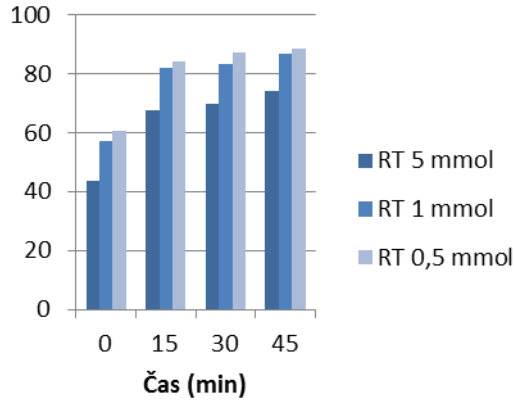
...FENTONOVA REAKCE



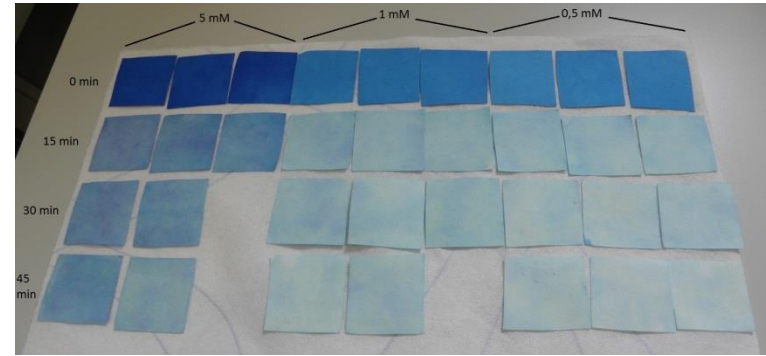
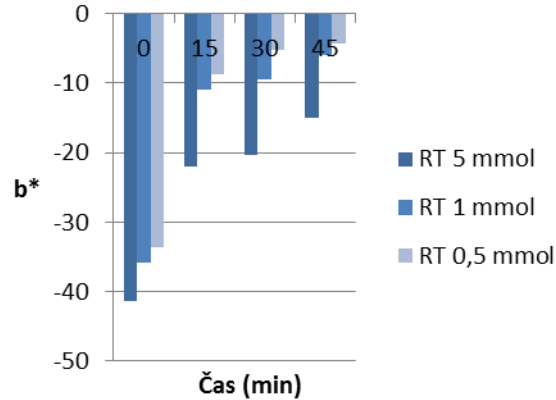
Kolorimetrický čip

- MB = Metylenová modř – modelová látka selektivní k OH radikálům**

Jas (L*)

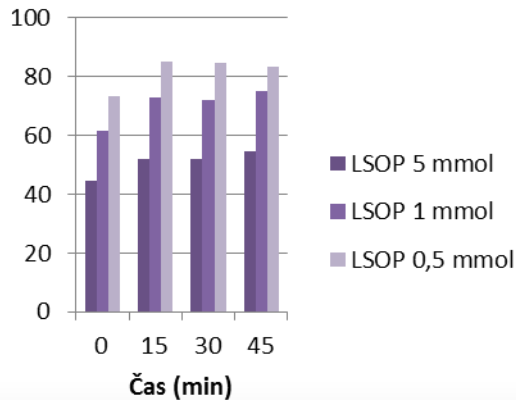


Modrý přechod (b*)

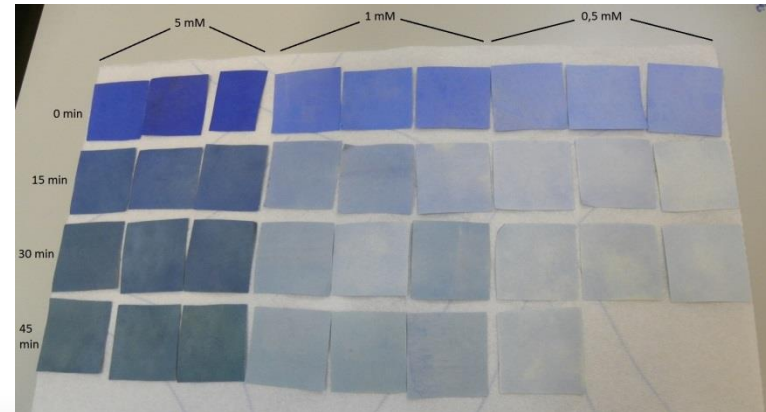
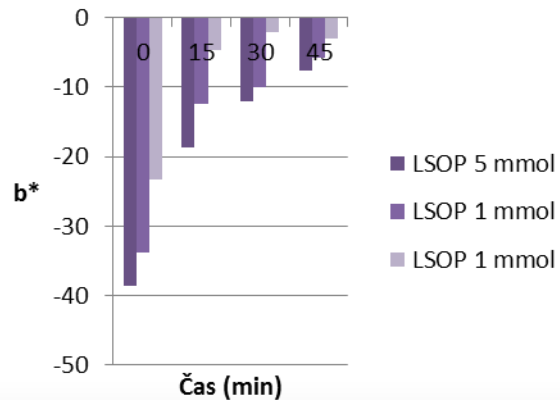


- AB = Anilinová modř – modelová látka senzitivní na oxidační prostředí**

Jas (L*)



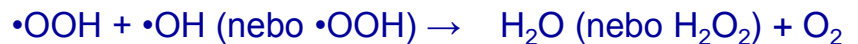
Modrý přechod (b*)



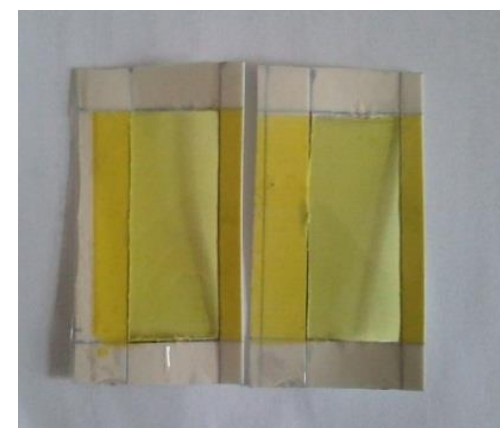
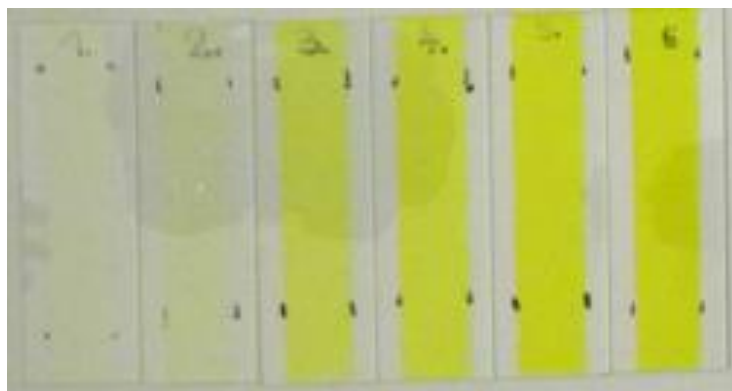
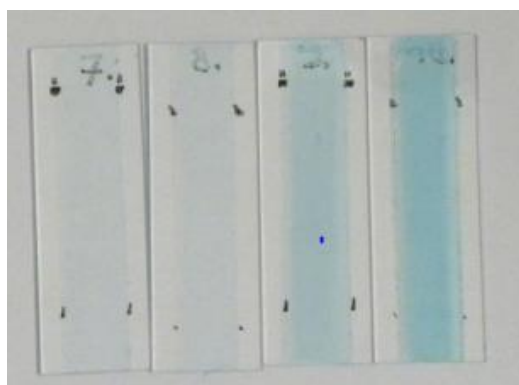
VPHP

(=vapour phase hydrogen peroxide)

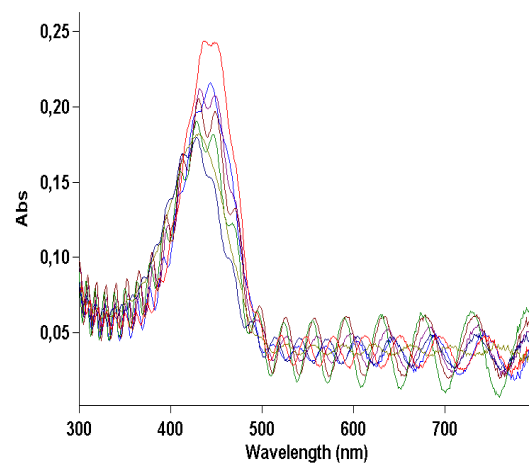
- **Ideální desinfekční, dekontaminační metoda**
- **Rychlá, vysoce účinná i v malých koncentracích ppm**
- **Metoda sterilizace farmaceutických izolátorů**
- **Dnes kontrola procesu pomocí bio-indikátorů**



Způsob zakotvení - Nitrocelulózová mikrovrstva

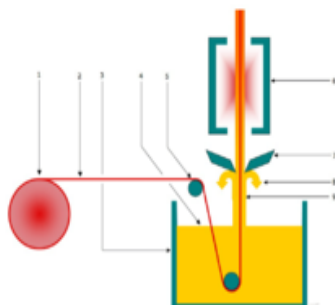


- Metoda Doctor-blade
- Opakovatelnost přípravy vrstev
- Možnost přípravy definované koncentrace radikálového „trapu“

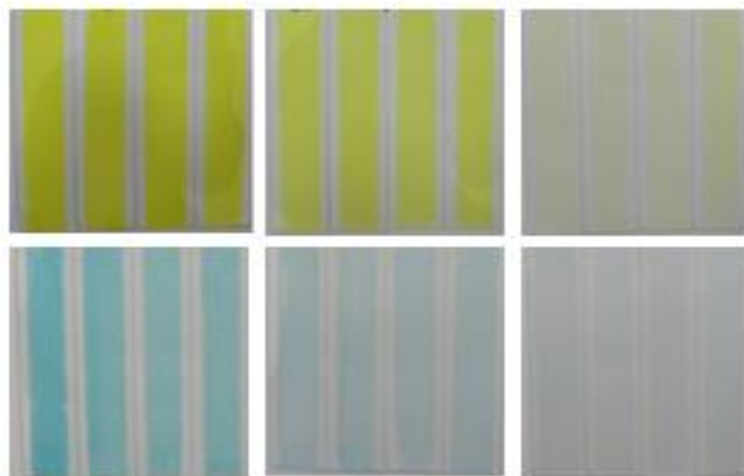
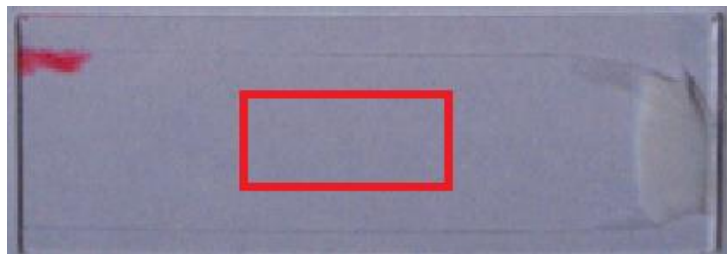


Dip-coating

Sprejování

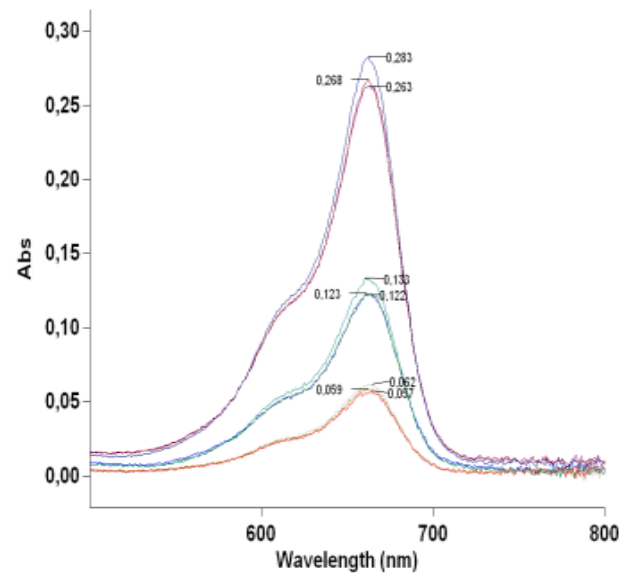
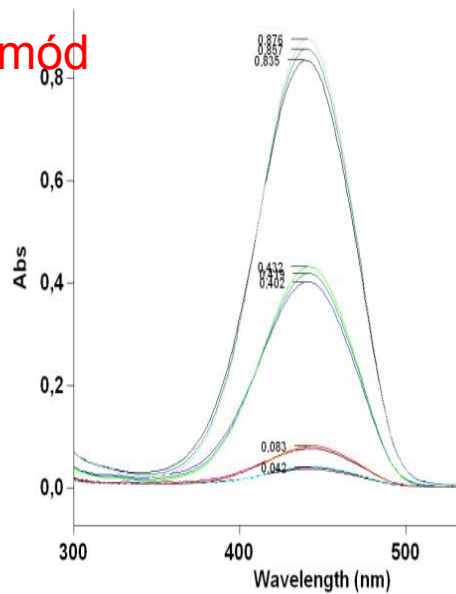
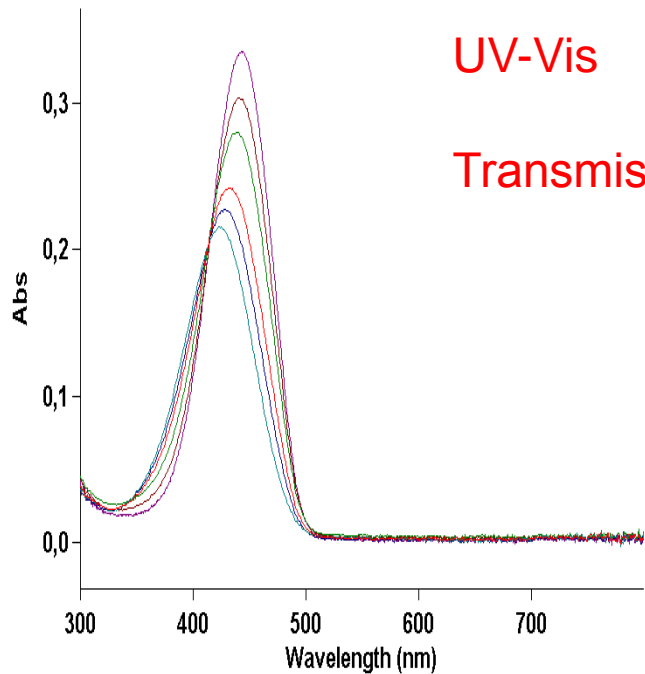


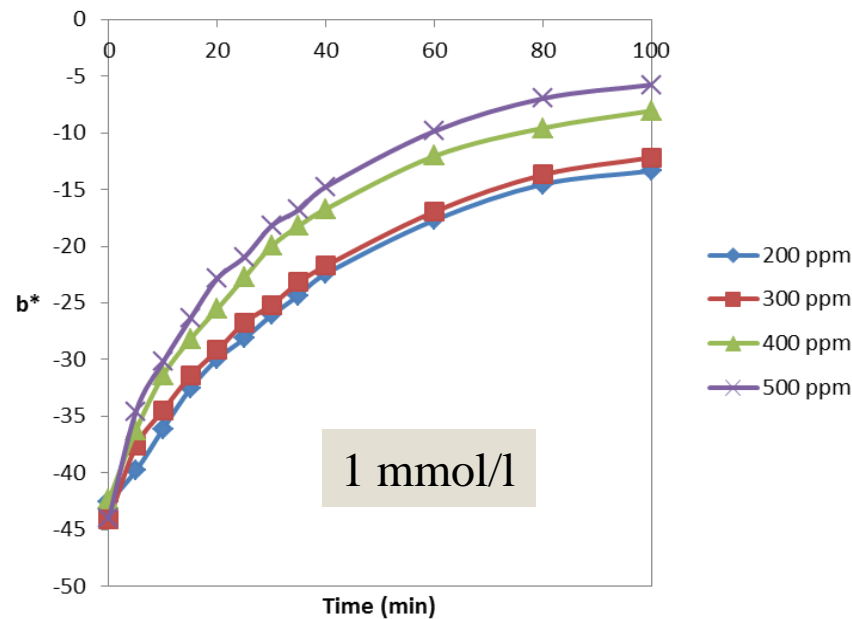
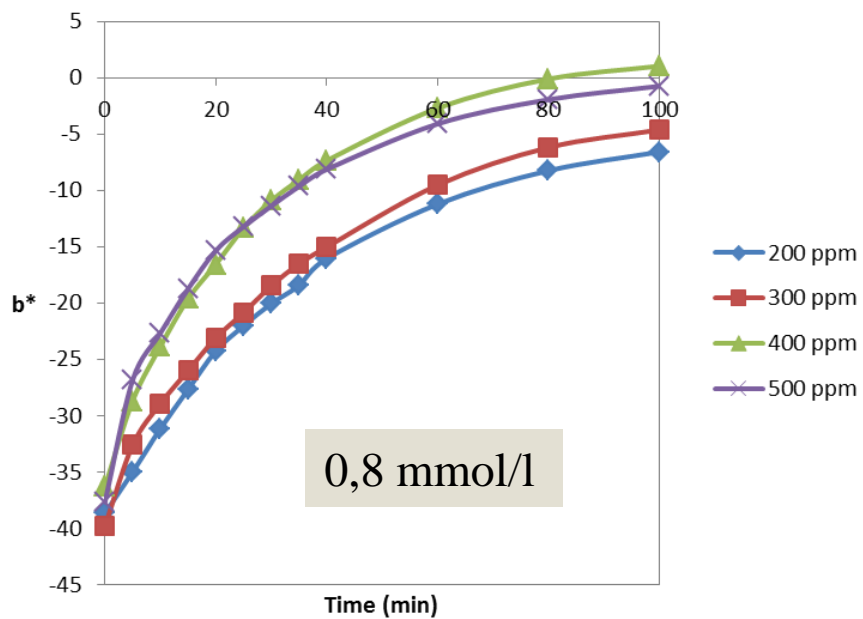
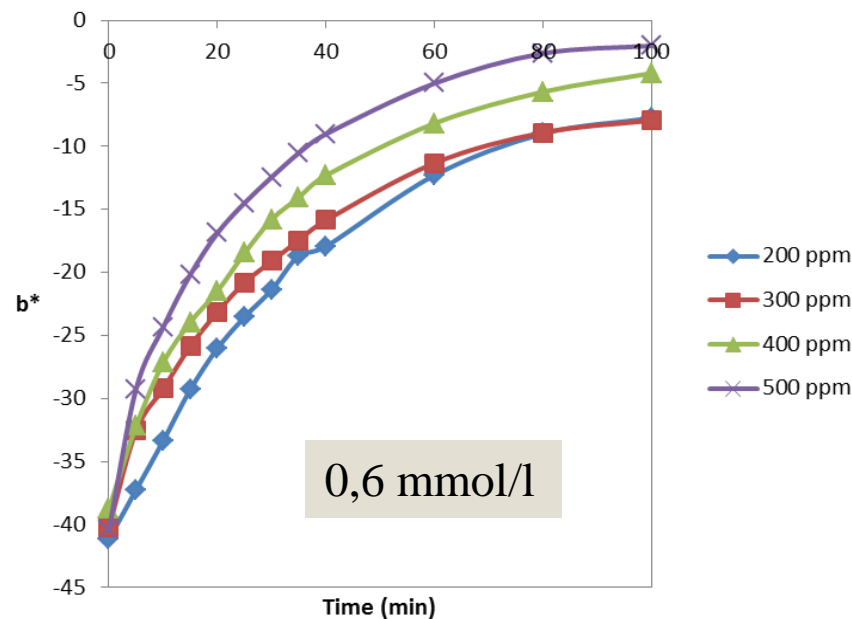
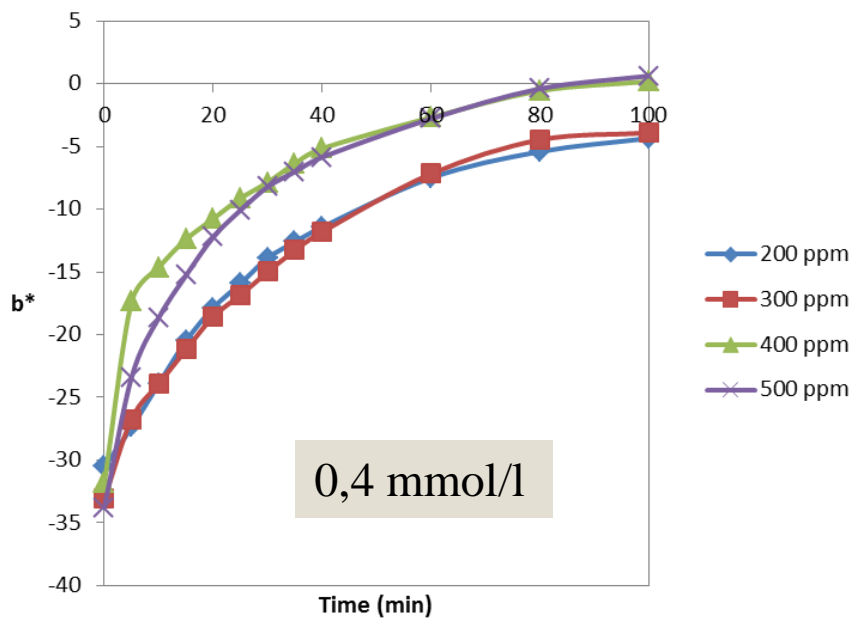
MONITOROVÁNÍ VPHP PROCESU



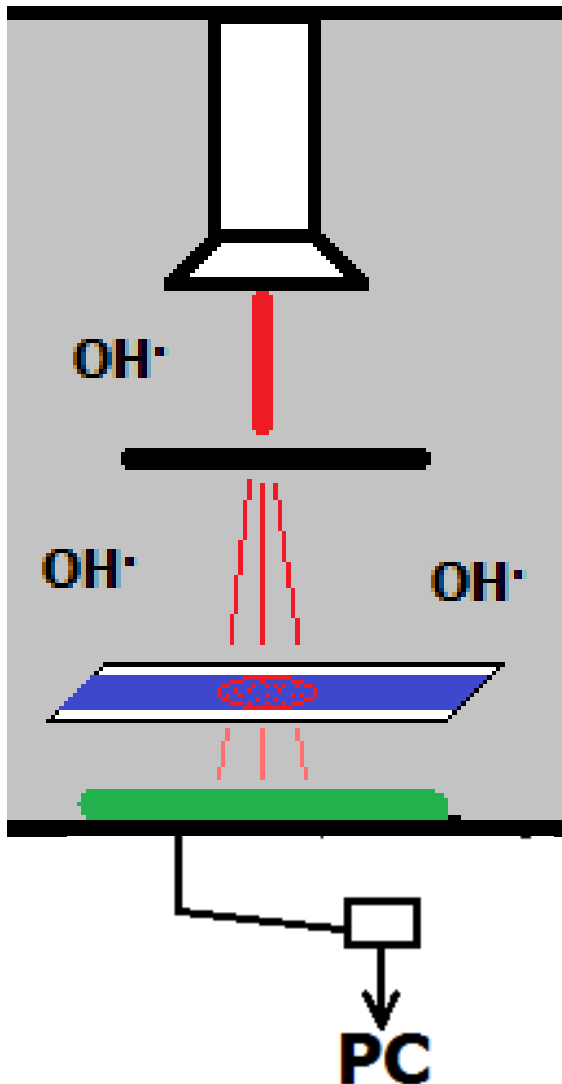
UV-Vis

Transmisní mód





KONSTRUKCE SENZORU



LED dioda, paprsek s vlnovou délkou 660nm

Rozptylka

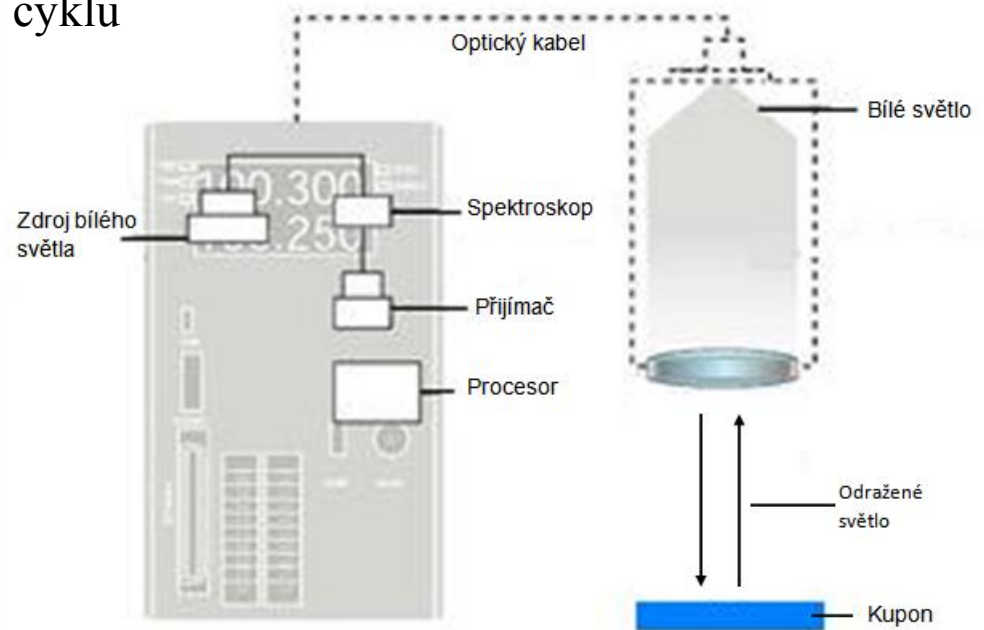
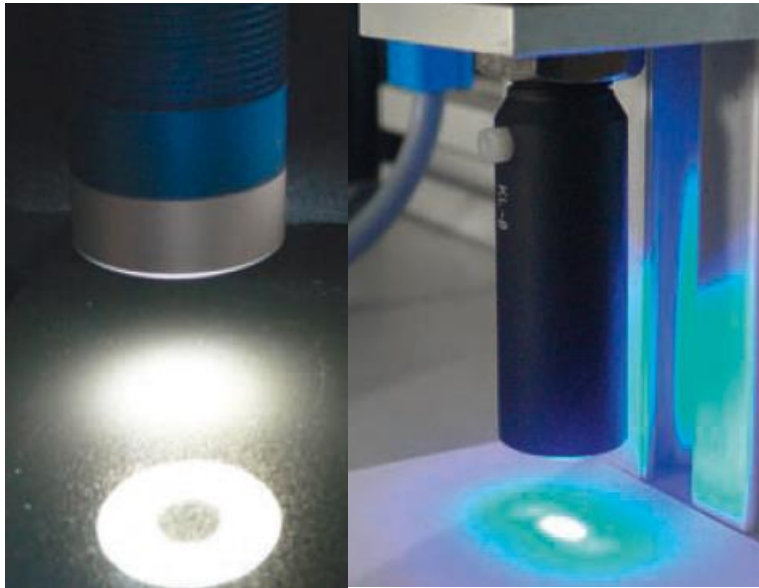
Nitrocelulózová vrstva se zakotvenou Methylenovou modří

Fotočlánek, převádí světelný na elektrický signál

Analogově digitální převodník

Návrh monitorovacího zařízení

externí kolorimetr napojený na počítač s
pevnou sondou v dekontaminované
prostoře připojenou optickým kabelem
pod sondou umístěný jednorázový kupon
pro sledování dekontaminačního cyklu



“DECONTAMINATION TAILORING”

DEKONTAMINACE SE PROVÁDÍ RŮZBÝMI POSTUPY JEJICHŽ VÝBĚR ZÁVISÍ:

A/ CO JE ZNEČIŠŤUJÍCÍ LÁTKOU

B/ JAKÉ JE DEKONTAMINOVANÉ PROSTŘEDÍ

1/ DEKONTAMINACE “NEPLÁNOVANÉ” (HAVÁRIE ATP.)



JAPONSKO:
T. ÚTOKY V METRU

USA:
ANTHRAXOVÉ T. ÚTOKY



**RIZIKO
MATERIÁLOVÉHO
POŠKOZENÍ
AKCEPTOVÁNO**

2/ DEKONTAMINACE V PROSTORECH PŘEDEM K TAKOVÉMU ÚČELU URČENÝCH

“DECONTAMINATION TAILORING”

PŘÍPRAVA PROSTOR PRO
DEKONTAMINACI VPHP

- MATERIÁLY VYUŽITÉ PRO KONSTRUKCI PROSTOR KOMPATIBILNÍ S VPHP
- VYBAVENÍ PROSTOR KOMPATIBILNÍ S VPHP
- VPHP TECHNIKA + VYBAVENÍ

Dekontaminace velkých prostor

Impuls pro dekontaminaci velkých prostor

Japonsko, Tokio 1995 ¹

10x 900 ml Sarin

12 mrtvých

50 těžce poškozených

1000 s občasnými problémy zraku

USA Washington D.C., 2001 Amerithrax ²

5 mrtvých, 17 poškozených

Celková škoda překročila 1 miliardu \$



Definice „velkých prostor“

Venkovní prostor s komplexní geometrií a vysokou strategickou důležitostí,
Elký pohyb lidí, vysoké riziko teroristických útoků, průmyslových havárií, nebo
infekčních epidemií

Vládní a státní správy, poštovní úřady, nemocnice, hotely)
průmyslové stavby,

Dopravní infrastruktura (letišť, nádraží)

1) http://en.wikipedia.org/wiki/Tokyo_subway_sarin_attack

2) http://en.wikipedia.org/wiki/2001_anthrax_attacks

Mobilní VPHP GENERÁTOR

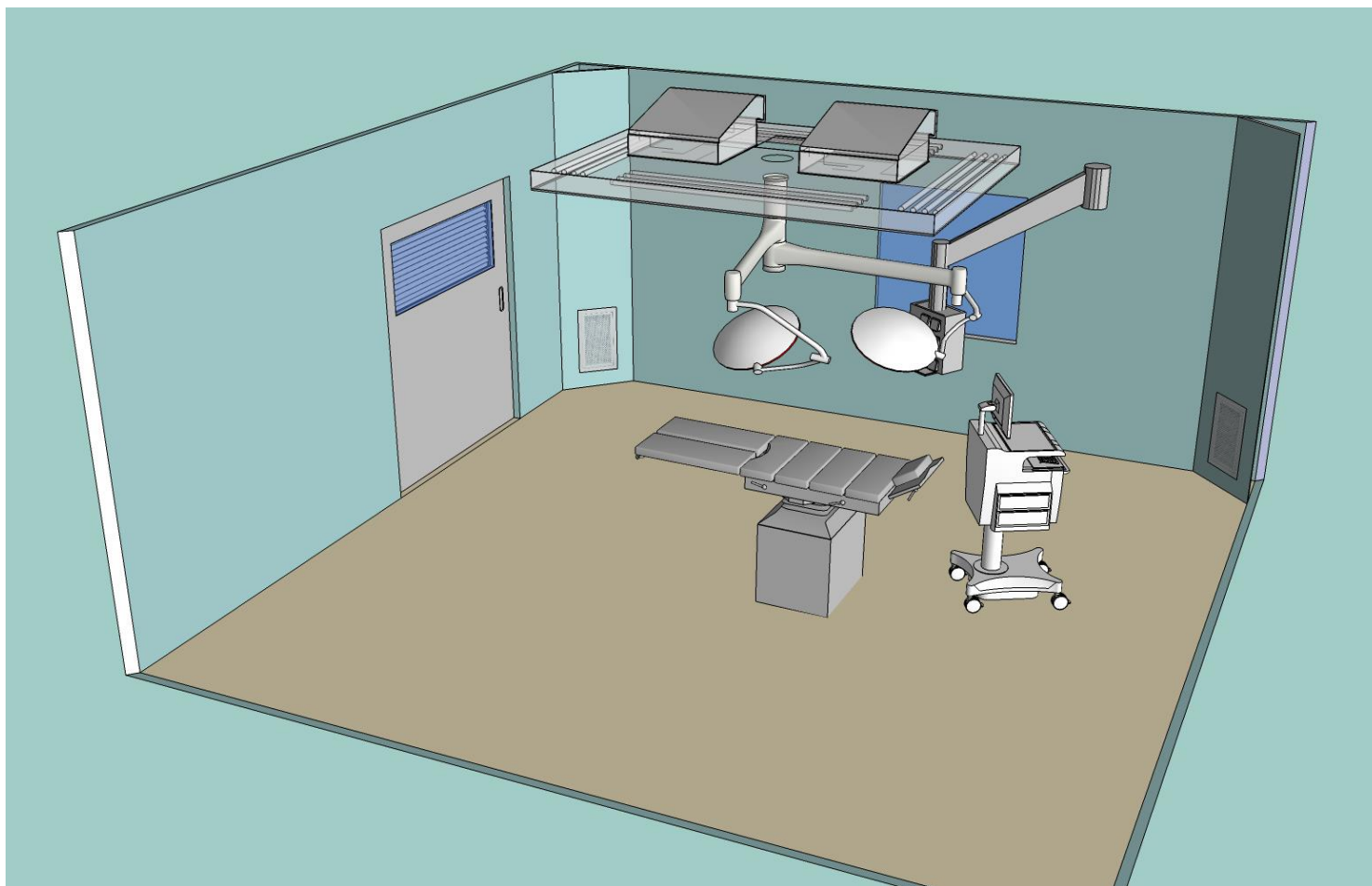
puriter

Vyvíječ par peroxidu vodíku

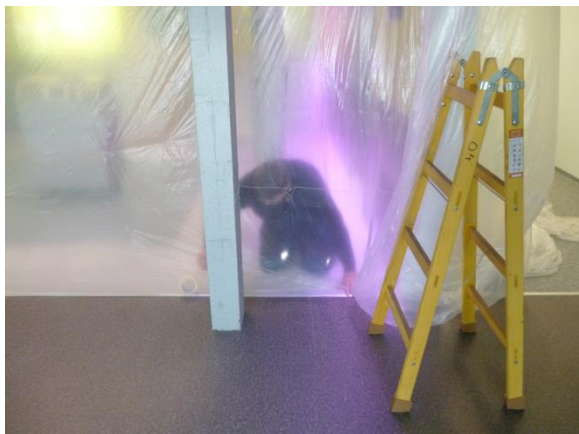


MATERIÁLOVÁ KOMPATIBILITA – KOMPLEXNÍ ŘEŠENÍ

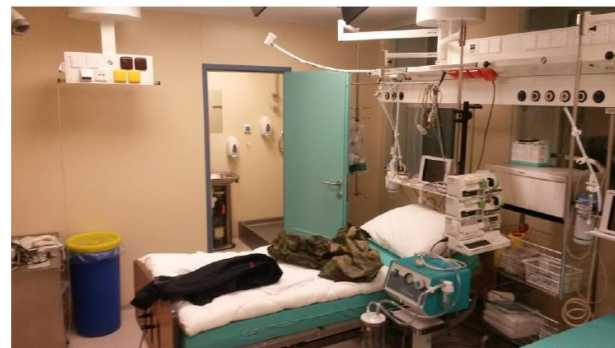
“ DATABÁZE KOMPATIBILNÍCH MATERIÁL“ S VPHP PROCESEM
ZAŘÍZENÍ ZNAČENO **VPHP RESIST**



PŘÍPRAVA PROSTOR K DEKONTAMINACI VPHP PROCESEM



MVOJENSKÝ PROSTOR TICHONÍN (ČR) PRO PACINTY S ONEMOCNĚNÍM EBOLOU (VPHP – DECONT)



ZÁVĚR

Biologicky aktivní látky – vysoce problematická oblast pro ŽP

Nutnost zamezení jejich nekontrolovaného vstupu

Speciální dekontaminační postupy

Připravené prostory pro práci s nimi

Havárie, dekontaminace „naslepo“

Kolorimetrie

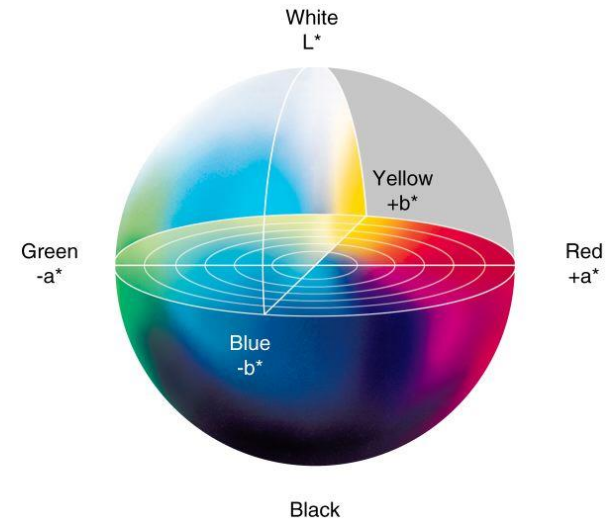
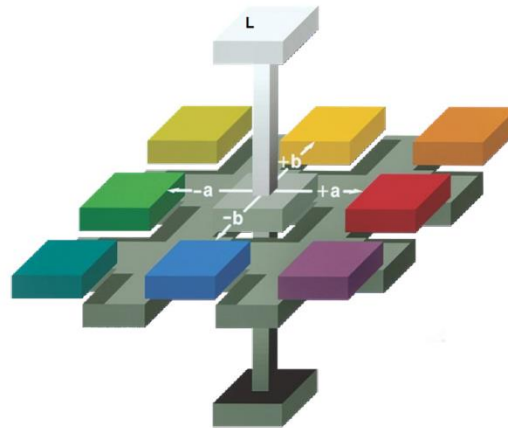
- measurement of colour
- colour – aspect of visual perception

CIELAB colour space:

L^* = brightness

a^* = green → red

b^* = blue → yellow



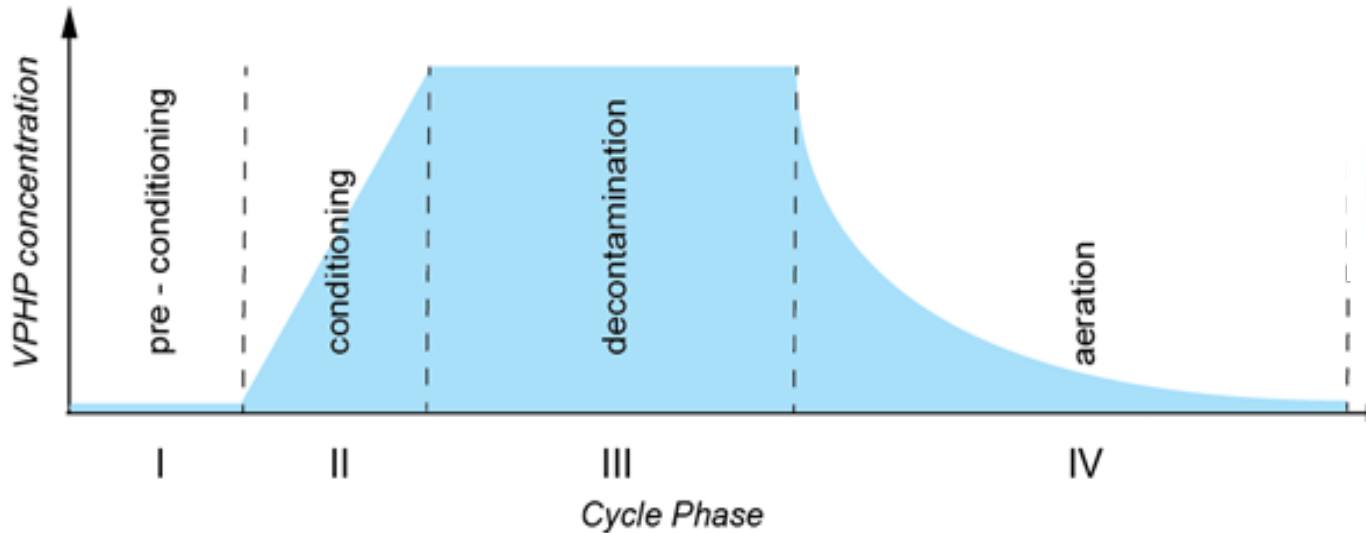
HunterLab ColourQuest XE



Sino Age Development Technology SC 80

Decontamination in Pharma-Industry

- **Decontamination:** removal of contaminants such as microorganisms from surfaces
- **Decontamination process with Vapor Phase H₂O₂ (VPHP)**



- **Biological Indicators (BIs)**
 - Bacterial spores (*Geobacillus stearothermophilus*) on a suitable carrier wrapped in Tyvek[®]
 - Quality parameter: D-value → time to reduce the population of the test organism by 90%

