

## Autoreferat rozprawy doktorskiej

### *Otrzymywanie, stabilność termiczna oraz właściwości antyoksydacyjne sfunkcjonalizowanych pochodnych fulerenu C<sub>60</sub>*

Promotor: prof. dr hab. Grzegorz Litwinienko

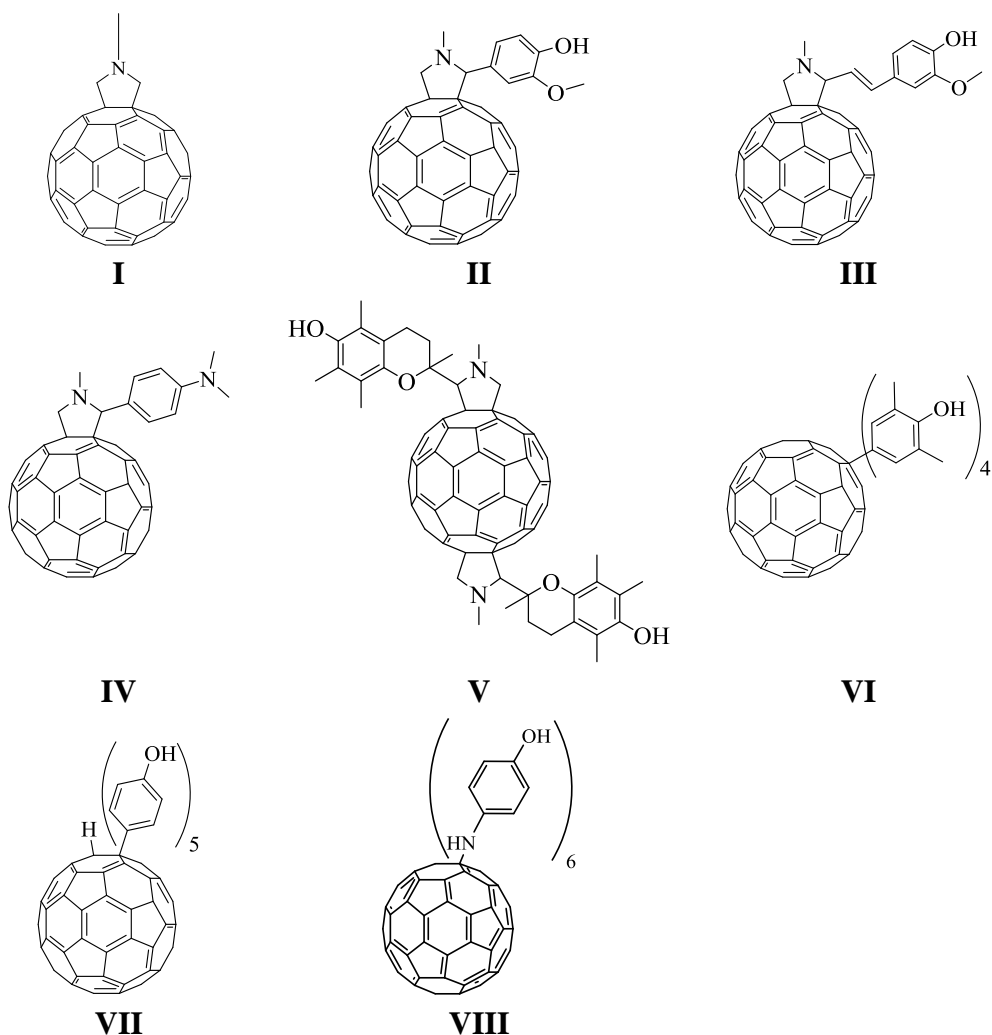
Celem rozprawy doktorskiej była synteza oraz zbadanie właściwości fizykochemicznych związków będących kowalencyjnymi połączeniami fulerenu C<sub>60</sub> z pochodnymi fenolu. Koniugaty takie mogą być potencjalnymi przeciwutleniaczami.

Niepodstawiony fuleren reaguje m.in. z rodnikami alkoksyłowymi, alkilowymi, tioalkilowymi, lecz w przeciwieństwie do typowych antyoksydantów fenolowych oraz aminowych jest on mało reaktywny względem rodników nadtlennokowych, a to one są głównymi mediatorami peroksydacji zachodzącej w materiałach organicznych. W projekcie planowano otrzymać antyoksydanty, których właściwości byłyby sumą właściwości tworzących je cząsteczek - połączenie antyoksydantów fenolowych, skutecznie redukujących rodniki nadtlennokowe, z rdzeniem C<sub>60</sub>, który efektywnie przyłącza rodniki alkoksyłowe i alkiłowe, może zaowocować powstaniem związków o szerszym spektrum zastosowań oraz bardziej skutecznym działaniu inhibującym autooksydację. Taki przeciwutleniacz powinien wykazywać reaktywność zarówno względem rodników nadtlennokowych jak i innych rodników inicjujących i propagujących utlenianie. Ponadto, biorąc pod uwagę relatywnie dużą masę cząsteczkową otrzymanych pochodnych powinny one wykazywać mniejszą lotność w porównaniu z małowcząsteczkowymi antyoksydantami, co jest istotne ze względu na potencjalne zastosowania.

Eksperymentalną część pracy podzielono na cztery etapy. W pierwszym etapie zaplanowano syntezę pochodnych fulerenu C<sub>60</sub>. Analogi  $\alpha$ -tokoferolu lub inne związki posiadające grupę fenolową zostały przyłączone do rdzenia węglowego cząsteczki C<sub>60</sub> bezpośrednio, bądź przy pomocy innych grup funkcyjnych lub pierścienia pirolidynowego (struktury przedstawia Rysunek 1).

Aktywność przeciwutleniającą otrzymanych związków zbadano podczas nieizotermicznego termoutleniania kwasów tłuszczowych i polimerów używając skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC). Wybrano modelowe układy: kwas linolenowy (LNA), będący przykładem nienasyconego lipidu oraz kwas stearynowy (STA), który jest analogiem węglowodoru nasyconego. Związki te charakteryzują się różną podatnością na utlenianie, zatem pozwalają na przetestowanie potencjalnych właściwości przeciwutleniających pochodnych fulerenu C<sub>60</sub> w różnych warunkach termicznych. LNA jest lipidem nienasyconym i ulega szybkiemu utlenieniu w temperaturze 90 – 120°C, natomiast STA, który jest przykładem lipidu nasyconego, utlenia się z szybkością pozwalającą na

rejestrwanie efektu cieplnego dopiero w temperaturze powyżej 150°C. Natomiast jako modelowy polimer zastosowano polietylen wysokiej gęstości (HDPE). Korzystając z metody Ozawy-Flynn-Walla (OFW) obliczono energię aktywacji ( $E_a$ ) i czynnik przedwykładniczy ( $Z$ ) oraz globalne stałe szybkości utleniania ( $k$ ) w temperaturach 50, 100, 150, 200 oraz 250°C.



Rysunek 1. Wzory otrzymanych pochodnych fulerenu  $C_{60}$ .

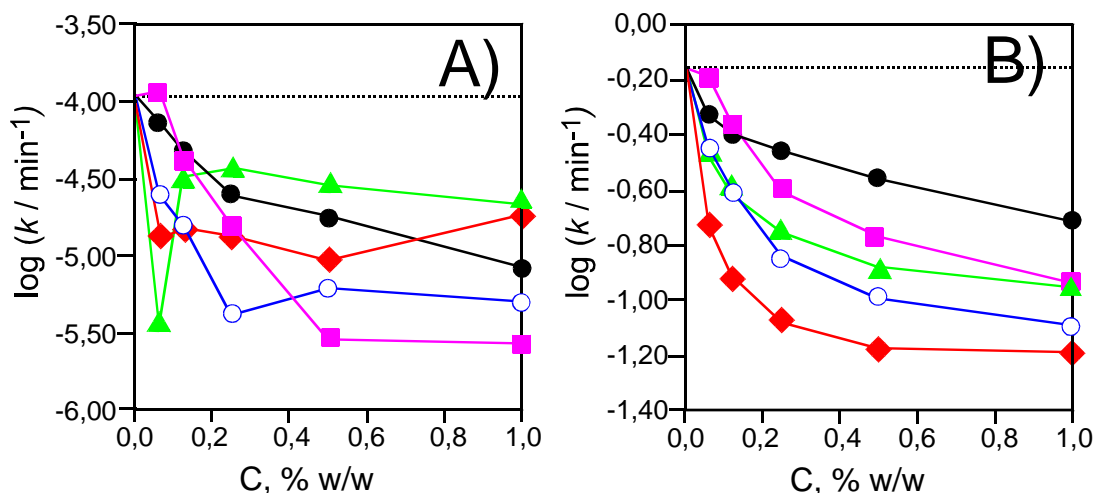
Podczas badań utleniania pierwszego modelu lipidowego, jakim był kwas stearynowy (STA), sprawdzono wpływ zawartości  $C_{60}$  (0-8 mM) na proces autooksydacji i najbardziej wyraźny spadek szybkości utleniania (10-krotny) zaobserwowano dla stężenia 2 mM. W kolejnych seriach pomiarowych monitorowano szybkość termooksydacji STA dla optymalnego (2mM) stężenia zarówno  $C_{60}$  jak i pochodnych **I-VIII**, a także samych fenoli będących częściami składowymi tych pochodnych. Stwierdzono, że dla układów zawierających STA i pochodną **I-VIII** temperatura początku utleniania ( $T_e$ ) jest wyższa o około 10°C niż dla samego STA, a najlepszy efekt antyoksydacyjny można zaobserwować dla STA zawierającego związek **VI** (wzrost  $T_e$  wynosi odpowiednio 26 i 31°C dla  $\beta = 5$  i 10  $K \text{ min}^{-1}$ ). Dodatek samych fenoli do STA nie wpływa zasadniczo na energię aktywacji utleniania co oznacza, że badane fenole nie są przeciwutleniaczami w tym układzie

modelowym, najprawdopodobniej ze względu na ich zbyt dużą lotność. W temperaturach 50 i 100°C tylko pochodne **III**, **V** i **VIII** zmniejszają globalne stałe szybkości utlenienia STA, zatem wykazują działanie antyoksydacyjne, natomiast w 200°C wszystkie pochodne zwiększają stabilność oksydacyjną STA, najlepszy efekt (dziesięciokrotny spadek wartości  $k$ ) zaobserwowano dla próbki zawierającej pochodną **VI**.

Kolejny związek modelowy ulegający utlenieniu to kwasu  $\alpha$ -linolenowy (kwas all-*cis*-9,12,15-oktadekatrienowy, LNA). W tym nienasyconym lipidzie dodatek fulerenu C<sub>60</sub> lub pochodnych **I-VII** nie wpływa znacząco na wartości temperatur początku utleniania LNA (wyjątkiem jest pochodna **VIII**). Również porównanie parametrów kinetycznych utleniania czystego LNA z parametrami wyznaczonymi dla utleniania LNA zawierającego pochodne w stężeniu 2 mM wskazuje, że żaden z dodanych związków nie wykazuje działania antyoksydacyjnego w 50, 100 oraz 150°C. Jedynie pochodna oznaczona numerem **VIII**, w stężeniu 2 mM powoduje wzrost energii aktywacji o ok. 20 kJ/mol i zmniejsza stałą szybkości utleniania obliczoną dla temperatury 50°C o dwa rzędy wielkości, a w 100°C o rząd wielkości w stosunku do niedomieszkowanego LNA.

Wyraźnie widoczny efekt inhibicyjny C<sub>60</sub> oraz jego pochodnych podczas utleniania nasyconych węglowodorów oraz brak takiego efektu podczas termooksydacji lipidu polinienasyconego można wyjaśnić różnymi stosunkami stałych szybkości  $k_{inh}$  do stałych propagacji  $k_p$ . Działanie przeciwutleniające jest efektywne i widoczne jako czas indukcji wtedy, gdy stała szybkości  $k_{inh}$  jest kilkaset razy większa niż  $k_p$ . W zależności od  $k_p$  dla lipidu lub węglowodoru, ta sama cząsteczka może zachowywać się jak dobry przeciwutleniacz ( $k_{inh}/k_p > 1000$ ) lub może wykazywać brak aktywności przeciwutleniającej ( $k_{inh}/k_p \ll 1000$ ). Na podstawie tych rozważań wywnioskowano, że pochodne mogą skutecznie zwiększać stabilność oksydacyjną materiałów ulegających wysokotemperaturowemu utlenianiu, na przykład polimerów, dlatego kolejnym (trzecim) układem był polietylen wysokiej gęstości HDPE, ulegający utlenieniu w temperaturze powyżej 180°C. Obecność C<sub>60</sub> lub jego koniugatów **II**, **III**, **VI**, **VII** powoduje wzrost wartości  $T_e$  w porównaniu z utlenianiem czystego polimeru, co jest szczególnie widoczne dla pochodnych (wartości  $T_e$  są około 30 - 40°C wyższe niż dla czystego HDPE). Dodatek pochodnych powoduje również wzrost energii aktywacji utleniania HDPE, z wartości  $129 \pm 7$  kJ/mol dla HDPE bez dodatków do  $134 \pm 6$  kJ/mol dla pochodnej **III**,  $140 \pm 3$  kJ/mol dla **VI**, gdy ich zawartość wynosi 0,065% wag./wag., oraz do  $154 \pm 4$  kJ/mol dla **II** i  $148 \pm 4$  kJ/mol dla **VII** (dla stężeń odpowiednio 0,25% i 1%).

Wartości globalnych stałych szybkości utleniania kompozytów HDPE (stęż. 0,5%) w 100°C układają się w szereg: C<sub>60</sub> > **II** > **VI** > **VII** > **III**. Natomiast w 200°C kolejność jest inna: **VI** > **II** > **III** > C<sub>60</sub> > **VII**. Zmiany takie można zaobserwować również dla pozostałych kompozytów HDPE (Wykres 1). Zmiana kolejności stabilności oksydacyjnej przy wzroście temperatury od 100°C do 200°C może być związana z przejściem przez temperaturę izokinetyczną ( $T_{iso}$ ) tj. temperaturę, w której stałe szybkości dwóch procesów są takie same. Przykładowo HDPE zawierający 1% pochodnych **VI** i **VII** wykazuje inwersję globalnych stałych szybkości utleniania. W 100°C **VII** jest bardziej aktywnym inhibitorem niż **VI**, podczas gdy w 200°C pochodna **VI** jest bardziej aktywna niż **VII**. Zatem ocena reaktywności tylko na podstawie wartości  $E_a$  może prowadzić do błędnych konkluzji, a porównanie wartości stałych szybkości reakcji jest bardziej miarodajne.



Wykres 1. Porównanie wartości  $\log(k/\text{min}^{-1})$  obliczonych dla HDPE (linia kropkowana) oraz HDPE zawierającego:  $C_{60}$  (■) lub pochodne: II (○), III (▲), VI (◆), VII (●) w temperaturze 100°C (panel A) i 200°C (panel B).

W pracy podjęto również próbę skorelowania aktywności pochodnych z ich budową, opierając się głównie na wartościach entalpii dysocjacji wiązania O-H fenoli tworzących koniugaty.

W kolejnym etapie projektu przeprowadzono badania kinetyki autooksydacji kumenu w temperaturze 30°C na podstawie ubytku tlenu. Zgodnie z doniesieniami potwierdzono brak aktywności pochodnych I oraz IV, które nie zawierają grup fenolowych. Koniugaty fulerenu  $C_{60}$  z fenolem, Troloxem® oraz *o*-metoksyfenolem (odpowiednio, pochodne VII, V i II), dla których uzyskane wartości stałych szybkości inhibicji (stała przerywania propagacji,  $k_{\text{inh}}$ ) wynoszą poniżej  $10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ , można zaliczyć do umiarkowanych antyoksydantów. Pozostałe badane pochodne (III, VIII, VI) można zaliczyć do aktywnych antyoksydantów interwencywnych ( $k_{\text{inh}} > 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ). Najbardziej aktywna pochodna, koniugat  $C_{60}$  z sześcioma resztami aminofenolu, wykazała również dobre właściwości antyoksydacyjne podczas utleniania styrenu a wyznaczona stała  $k_{\text{inh}} = (4,2 \pm 0,72) \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  była siedmiokrotnie niższa od  $k_{\text{inh}}$  dla modelowego antyoksydanta, jakim był 2,2,5,7,8-pentametylo-6-hydroksychroman (PMHC).

Prowadzone w ostatnim etapie pracy eksperymentalnej badania aktywności antyoksydacyjnej w micelach linolanu metylu z Tritonem X-100 w temperaturze 37°C zostały ograniczone do pochodnej  $C_{60}$  z sześcioma resztami *p*-aminofenolowymi oraz substratu użytego do syntezy pochodnej (*p*-aminofenol) ze względu na zbyt niską rozpuszczalność pozostałych związków w tym układzie. W pH 4,0 *p*-aminofenol nie jest aktywnym antyoksydantem interwencywnym, choć posiada właściwości retardacyjne. Natomiast koniugat z *p*-aminofenolem charakteryzuje się umiarkowanymi właściwościami antyoksydacyjnymi ( $\tau_{\text{ind}} = 7,5 \text{ min}$ ,  $k_{\text{inh}} 6200 \pm 300 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ). W pH 7,0 obydwa związki skutecznie hamują utlenienie miceli. Wyznaczony współczynnik stechiometryczny dla tego koniugatu,  $n = 17$ , jest o ok. 30% wyższy niż wynikający z prostego sumowania sześciu addentów aminofenolowych. Zarówno *p*-aminofenol, jak i jego pochodna z fulerem wykazują synergizm addytywny z PMHC w pH 4,0 oraz 7,0.

Wyniki badań zostały opublikowane w następujących artykułach:

1. Czochara, R., Ziaja, P., Piotrowski, P., Pokrop, R., Litwinienko, G., Fullerene C<sub>60</sub> as an inhibitor of high temperature lipid oxidation, *Carbon*, **2012**, 50, 3943-3946.
2. Czochara, R., Kusio, J., Symonowicz, M., Litwinienko, G., Fullerene C<sub>60</sub> Derivatives as High-Temperature Inhibitors of Oxidative Degradation of Saturated Hydrocarbons, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, **2016**, 55, 9887-9894.
3. Czochara, R., Kusio, J., Litwinienko, G., Fullerene C<sub>60</sub> conjugated with phenols as new hybrid antioxidants to improve the oxidative stability of polymers at elevated temperatures, *RSC Advances*, **2017**, 7, 44021-44025.
4. Czochara, R., Grajda, M., Kusio, J., Litwinienko, G., Expanding the antioxidant activity into higher temperatures – fullerene C<sub>60</sub> conjugated with  $\alpha$ -tocopherol analogue as a hybrid antioxidant in saturated lipid systems. *Bulgarian Chemical Communications*, **2018**, 50, C, 268-274
5. Czochara, R., Kusio, J., Litwinienko, G., Fullerene C<sub>60</sub> conjugated with *N,N*-dimethylaniline - a hybrid antioxidant acting at high temperature. *Bulgarian Chemical Communications*, przyjęta do druku.

Ponadto, część wyników jest przedmiotem postępowania w Urzędzie Patentowym RP (zgłoszenie patentowe nr **P.414754**): „Środek zwiększający stabilność oksydacyjną materiałów wrażliwych na utlenianie oraz sposób zwiększania stabilności oksydacyjnej materiałów wrażliwych na utlenianie” (autorzy: Robert Czochara, Jarosław Kusio, Michał Symonowicz, Grzegorz Litwinienko).