

Joanna ZEMBRZUSKA<sup>1</sup>, Dobrochna GINTER-KRAMARCZYK<sup>2</sup>,  
Izabela KRUSZELNICKA<sup>2</sup>, Irena BUDNIK<sup>1</sup>, Anna ZAJĄC<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instytut Chemii i Elektrochemii Technicznej  
Politechnika Poznańska

<sup>2</sup> Instytut Inżynierii Środowiska  
Politechnika Poznańska

## PRZEMYSŁ FARMACEUTYCZNY – ZNACZĄCE ŹRÓDŁO LEKÓW W POLSCE?

### PHARMACEUTICAL INDUSTRY IN POLAND - SIGNIFICANT SOURCE OF PHARMACEUTICALS IN POLAND?

*The occurrence of pharmaceuticals in aqueous environment has been widely published but the fate of pharmaceutical residues in the environment is still attracting the attention of the scientific community. Due to the widespread use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) this group of drugs is often detected and determined in surface waters, influent and effluent wastewaters as well in drinking waters. Ketoprofen, naproxen, fenoprofen, paracetamol, ibuprofen and tolmetin are well-known representatives of NSAIDs. This work describes the results of a pilot survey study carried out on samples of wastewater collected in polish pharmaceutical plants NSAIDs residues were analyzed by the solid phase extraction with liquid chromatography-tandem mass spectrometry (SPE-LC-MS/MS) method. The results obtained show the presence of ibuprofen, naproxen, paracetamol, ketoprofen and fenoprofen at nanogram per liter levels in wastewater. There was no presence of tolmetin in the test samples.*

## 1. Wprowadzenie

### 1.1. Rynek farmaceutyczny w Polsce

W Polsce od 2004 roku wartość sektora farmaceutycznego odnotowuje tendencje wzrostowe. Dynamika rynku ulegała wahaniom w latach 2004, 2007, 2009 oraz 2012, jednak jej średni bilans wskazuje tendencje wzrostowe [1, 2]. W 2010 r. polski rynek farmaceutyczny znalazł się na 6 miejscu w Europie pod względem ilości sprzedanych leków, który osiągnął wartość 20,1 mld zł. W skali światowej krajowy sektor leków uplasował się na 14 pozycji [3]. Działalność przemysłu farmaceutycznego w tym samym roku przyczyniła się do wytworzenia 0,8% produktu krajowego brutto.

Rynek leków obejmuje segmenty: apteczny oraz szpitalny. W 2010 r. największa sprzedaż leków w Polsce odbywała się za pośrednictwem aptek i wynosiła 86%. Zyski ze sprzedaży leków na receptę, niezależnie od refundacji lub jej braku obejmowały 67% wartości całego rynku, natomiast leków bez recepty stanowiły 19% wartości sektora. Pozostałe 14% stanowił rynek szpitalny.

Na polskim rynku farmaceutycznym dominują leki importowane. Udział wartości leków wyprodukowanych w Polsce w stosunku do całkowitej sprzedaży leków na receptę zarówno w aptekach jak i w szpitalach wynosi ok. 24% [1, 2]. W 2010r. leki importowane stanowiły wartość 3,9 mld PLN w odniesieniu do całkowitej sprzedaży na poziomie 16,3 mld PLN. Statystyki 2011r. wskazują, że Polska za import leków zapłaciła 3,66 mld EUR, natomiast eksport przyniósł zyski w wysokości 1,49 mld EUR. Mimo negatywnego bilansu handlowego, w ciągu ostatnich ośmiu lat eksport leków wzrósł o 29%, natomiast import jedynie o 8,8%. Największymi klientami odbierającymi polskie leki były Niemcy (16,8%), Rosja (10,5%) oraz Włochy (9,4%) [4], natomiast najważniejszymi dostawcami leków do Polski są Niemcy (17,6%), Francja (17%) oraz Wielka Brytania (12,3%) [5].

Polski rynek farmaceutyczny opiera się głównie na produkcji leków generycznych, których udział wynosi 66%, co plasuje nas na pierwszym miejscu produkcji sprzedanej w Europie [6, 7]. Leki w Polsce należą do najtańszych w Europie, ich cena stanowi 44% w odniesieniu do średniej europejskiej. W 2010 r. koszty poniesione z tytułu zakupu leków przypadające na jednego mieszkańca w naszym kraju wynosiły 114 EUR rocznie, co stanowi 52% przeciętnych wydatków, jakie przewiduje Europejski Komisarzy na substancje farmaceutyczne. Polska, w zakresie wydatków na zakup leków, w ocenie firm badawczych, uzyskuje status lidera gałęzi farmaceutycznej i jest najatrakcyjniejszym rynkiem w Europie Środkowo - Wschodniej. Przyczyną tego stanu rzeczy jest starzejące się społeczeństwo, które czyni z naszego kraju 14, co do wielkości światowy rynek substancji farmaceutycznych, 6 w Europie oraz 2 po Rosji w Europie Środkowo-Wschodniej. Ponadto, do utrzymania tak wysokiej pozycji w rankingach sprzedaży leków, przyczynia się tendencja do podejmowania działań samoleczenia (poprzez zakup leków ogólnodostępnych, bez recepty) oraz rosnąca ilość osób cierpiących na cukrzycę i nadciśnienie. Mimo zahamowania tempa rozwoju na rynku w 2012r. wywołanym przez uchwalenie nowych przepisów dotyczących refundacji leków, szacuje się, że sektor ten będzie nadal dynamicznie rość [3].

Polski przemysł lekowy wykazuje również aktywność w sektorze innowacji terapii opartych na rozwiązaniach biotechnologicznych. Do nowoczesnych produktów w tej dziedzinie w naszym kraju zalicza się insulinę ludzką wytwarzaną przez firmę Bioton. Aktualnie również trwają prace nad wdrażaniem technologii niezbędnych do produkcji leków biopodobnych, które są obecnie jednym z kluczowych obszarów zainteresowania firm biotechnologicznych i farmaceutycznych.

Obecnie, na polskim rynku farmaceutycznym prosperuje około 450 firm. Sektor leków w Polsce należy do prywatnego kapitału, których głównym źródłem są inwestorzy zagraniczni. Ponadto, około 70 firm w Polsce prowadzi działalność z zakresu biotechnologii. Polska staje się źródłem zainteresowania, jako potencjalny partner w działalności B+R i badań klinicznych ze względu na dużą populację pacjentów oraz niskie koszty prowadzenia działalności. W 2010r. rynek badań klinicznych w Polsce był największym spośród wszystkich krajów Europy Środkowo-Wschodniej z kapitałem sięgającym ok. 900 mln PLN. Według prognoz firmy PMR, najbliższe lata mogą przynieść rozwój tej działalności nawet o 5% rocznie. Spośród 17 tysięcy nowych badań zarejestrowanych w 2009r. na świecie, w naszym kraju zarejestrowano 469 (co stanowi ok. 2,5%). Polska zajmuje 10

miejsce na świecie w związku z liczbą ośrodków zaangażowanych w prowadzenie badań klinicznych i pierwsze wśród tzw. rynków wschodzących. Badania prowadzone są głównie w zakresie onkologii, kardiologii, diabetologii oraz pulmonologii [8, 9].

Na polskim rynku farmaceutycznym dominują inwestorzy zagraniczni, którzy przez ostatnie 20 lat otwierali nowe zakłady oraz uczestniczyli w prywatyzacji już istniejących firm. Największymi zewnętrznymi inwestorami na terenie kraju są Niemcy, Francja oraz Wielka Brytania.

Do największych potentatów finansowych w Polsce należą firmy Sanofi (z Francji), Novartis (ze Szwajcarii), GSK (z Wielkiej Brytanii).

Do rozwoju działalności B+R przyczynia się również wzrost wydatków biznesowych i budżetowych państwa pochodzących m.in. ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz grantów udzielanych przez Narodowe Centrum Nauki i Narodowe Centrum Badań i Rozwoju.

Polska jest uważana za kraj dysponujący wysokim poziomem wiedzy i potencjałem badawczym. Koncentracja polskiego rynku farmaceutycznego na lekach generycznych pozwala na finansowanie rozwoju leków innowacyjnych w fazie przedklinicznej, wymagającej stosunkowo niewielkich nakładów. Coraz więcej firm działających w sektorze krajowym koncentruje swoją uwagę na produkcji leków innowacyjnych, są to zarówno Celon Pharma Sp z o.o., której główną domeną jest sprzedaż leków generycznych jak i Grupa Adamed, Selvita S.A., Blirt S.A., Celther Polska Sp. z o.o., Stern Cells Spin S.A., Proteon Pharmaceuticals S.A., które łączą biotechnologię z farmacją. Ponadto obiecującą gałęzią dla rynku farmaceutycznym w naszym kraju staje się rozwój i produkcja leków biopodobnych [3].

Zachwianie i znaczny spadek sprzedaży leków w Polsce w 2012 roku był wynikiem wprowadzenia niekorzystnej uchwały refundacyjnej. Rok ten przyniósł znaczący spadek sprzedaży, nawet o 8,5% czyli o 2,4 mld PLN, w tym sam rynek apteczny spadł o 2,7 mld PLN, szpitalny natomiast odnotował wzrost o 0,3 mld PLN. W 2011r. powstała panika zakupowa, która znacznie zredukowała liczbę leków refundowanych dostępnych na listach w 2012r., co wywołało 14% spadek konsumpcji leków przez pacjentów. Duży cios finansowy dotknął rynek OTC, który regularnie od trzech lat osiągał średnio 6% wzrost. W obliczu zmian ustawowych nastąpiło obniżenie dynamiki rozwoju do 1%. Hurtownie zredukowały wartość swoich stanów magazynowych o 12%. Koszty serwisowania leków są porównywalne do kosztów w większości krajów UE, natomiast średnie ich ceny znacząco niższe, co w dłuższej perspektywie może skutkować zawirowaniami w systemie dystrybucji i może obniżyć dostępność leków dla pacjentów [10]. Mimo, że każdego roku zwiększa się liczba powstających aptek [11], 2012 rok przyniósł 77% spadek wartości sprzedaży w tym sektorze. Apteki zmniejszyły wielkość zapasów leków refundowanych w magazynie do 15%. Spadek obrotów oraz niższa marża kwotowa uzyskiwana ze sprzedaży leków refundowanych, nie pokrywa kosztów funkcjonowania apteki, co może prowadzić do ograniczenia pacjentom dostępu do leków.

Ministerstwo Zdrowia dopisało do obecnie wdrażanych programów lekowych nowe grupy leków, dzięki czemu Polska uzyskała dostęp do najbardziej pożądaných molekuł stosowanych w leczeniu onkologicznym w Europie. Możliwość ich aplikacji pacjentom jest bardzo zawężona z powodu faktu, że programy ograniczają zakres dostępnych wskazań, nakładając bardzo zaostrome kryteria włączenia pacjentów. Średnie wydatki natomiast na leczenie szpitalne jednego pacjenta w Polsce jest kilkukrotnie niższe niż w innych krajach UE [10]. Rynek szpitalny wzrósł w roku 2012 i osiągnął wartość 3,2 mld zł. Nowa ustawa refundacyjna spowodowała

dwukrotny wzrost wartości recept na leki refundowane, które zapisane zostały do wykupienia przez pacjentów ze 100% odpłatnością, co w praktyce oznacza, że odbiorcy płacą za leki o 650 mln zł rocznie więcej za leki, które mogłyby zostać objęte refundacją. Nowa ustawa przewiduje dla lekarzy szereg dodatkowych obowiązków i kar, co spowodowało zwiększenie o 22% liczbę recept wypisywanych na leki nie objęte refundacją. Od początku 2012r. na liście leków pojawiło się 8 nowych substancji czynnych na dolegliwości związane z pacjentami chorującymi na jaskrę, cukrzycę, reumatoidalne zapalenie stawów, choroby serca i choroby nowotworowe. Spośród 732 paczek leków 68 z nich stanowią leki innowacyjne. Znaczna ilość leków, z powodu niskiej stosunkowo ceny, w porównaniu z krajami UE jest eksportowana za granicę. Współpacenie za leki jest natomiast najwyższe w Europie i wynosi 38% ponadto odnotowano wzrost cen leków OTC o 6%. W ciągu dziewięciu miesięcy 2012r. NFZ wydał na refundację leków o 1,4 mld zł mniej, co spowodowało, że pacjenci pokrywają o 4% więcej wszystkich kosztów związanych z zakupem leków refundowanych niż w stosunku do roku poprzedzającego [10].

Skutki ustawy dotyczącej refundacji leków przełożyły się na kondycję rynku farmaceutycznego w Polsce również w 2013 roku. W styczniu odnotowano 28% wzrost wartości sprzedaży w porównaniu do stycznia 2012r. Przyczyną zwiększonych dochodów była sprzedaż leków refundowanych na recepty pełnopłatne, a także sprzedaż odręczna. Jak wskazują analizy przychody z leków refundowanych wyniosły 833 mln zł, ze sprzedaży odręcznej 1,06 mln zł, natomiast ze sprzedaży leków na recepty pełnopłatne 548 mln zł.

Wartość leków refundowanych w porównaniu do stycznia 2012 r. wzrosła o 33,2%, leków pełnopłatnych o 29,6%, natomiast w sprzedaży odręcznej była wyższa o 23,7% [12].

W porównaniu do analogicznego okresu ubiegłego roku, rynek zanotował wzrost o 536 mln zł. Wzrost ten wynika zarówno z „niskiej bazy” w styczniu 2012, jak również szczytu sezonu zachorowań w styczniu 2013r. [12].

Analizując apteczny rynek leków wydawanych na receptę z 2013r., można zauważyć, że w stosunku do I-go kwartału 2012 roku nastąpił wzrost o 12,8%, natomiast w odniesieniu do analogicznego okresu z 2011r. jest on wartościowo niższy o 4,9%. Powodem jest spadek konsumpcji ilościowej o 3,1%. Największy popyt wśród leków wydawanych na receptę uzyskują klasy testów paskowych stosowanych w cukrzycy. Od 1 stycznia 2013r. obniżono po raz drugi marżę na leki refundowane w obrocie hurtowym. Nadal jednak utrzymuje się tendencja rosnąca dopłat za leki refundowane (I kwartał 2011r. – 37,9%, I kwartał 2012r. – 39,1%, I kwartał 2013r. – 40,3%). Rynek leków sprzedawanych bez recepty – OTC w I kwartale 2013r. wzrósł wartościowo o 18,2% w porównaniu z analogicznym okresem 2012r., do czego przyczynił się wzrost średniej ceny tej grupy leków o 12,9% [12].

Obecnie, jedną z największych grup kapitałowych na rynku ochrony zdrowia w Polsce jest Pelion, czyli dawna Polska Grupa Kapitałowa. Jest ona dostawcą leków zarówno do aptek otwartych jak i szpitali. Niekorzystne tendencje na polskim rynku farmaceutycznym objawiające się niskimi marżami i cenami leków sprawiły, że Grupa Peolion planuje poszerzyć swoją działalność o rynek zagraniczny [12].

Polski rynek farmaceutyczny, wliczając preparaty na receptę- Rx oraz ogólnodostępne - OTC, był wart w 2013 roku 27,6 mld zł. Leki OTC stanowiły 45 proc. tej kwoty. W ciągu ostatnich dwóch lat firmy farmaceutyczne zmniejszyły wpływy z preparatów Rx o 2 mld zł rocznie. Za stratą stoją obniżki cen i spadek sprzedaży ilościowej [13].

## 1.2. Rozwój rynku farmaceutycznego i biotechnologicznego

Przewiduje się, że tempo wzrostu w latach 2011-2016 osiągnie nawet 10,2% rocznie, co może przynieść zyski w wysokości 62 mld PLN. Czynnikiem powodującym rozwój branży są leki dostępne bez recepty. Prognozy wskazują, że czynnikiem wzrostu w najbliższym czasie będą specjalistyczne, drogie leki refundowane, bowiem to ich produkcja dominuje nad lekami OTC w krajach rozwiniętych [14]. Za branżę pokrewną dla przemysłu farmaceutycznego uważa się gałąź biotechnologiczną. W Polsce 50% rynku stanowi biotechnologia stosowana w medycynie, 30% w przemyśle oraz 15% w rolnictwie i działalności związanej ze środowiskiem naturalnym [15]. Innowacyjne firmy prosperujące w tej branży znacznie zasilają budżet państwa. Szacunki wskazują, że w ostatnich latach ich wpływy wygenerowały około 600 mln PLN w stosunku do całej wartości branży osiągnącej ok. 1 mld PLN.

## 1.3. Uregulowania prawne

W Polsce procedurę dopuszczania do obrotu i prowadzenia badań nad nowymi lekami określa ustawa Prawo farmaceutyczne. Przed wprowadzeniem danej substancji farmaceutycznej na rynek musi ona uzyskać tzw. „pozwolenie na dopuszczenie do obrotu” wystawiane przez Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych, które ostatecznie są zatwierdzane przez Ministra Zdrowia. Wyjątek od standardowej procedury posiadają m.in. leki recepturowe oraz produkty lecznicze wykorzystywane do celów naukowych. Czas oczekiwania na wydanie decyzji umożliwiającej wprowadzenie leku do obrotu, od momentu złożenia wniosku do czasu uzyskania decyzji nie powinno przekroczyć okresu 210 dni. W rezultacie całej procedury dana substancja farmakologiczna zostaje wpisana do Rejestru Produktów Leczniczych do Obrotu na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej [14].

## 1.4. Struktura rynku

Produkty farmaceutyczne można podzielić na trzy główne segmenty, tj. leki refundowane, leki na receptę nier refundowane oraz leki sprzedawane bez recepty.

Spśród ponad 30 największych przedsiębiorstw farmaceutycznych działających w Polsce, 16 z nich posiada własne zakłady produkcyjne (tabela 1). Ponad 50% rynku jest w ujęciu wartościowym uzależniona od 10 największych firm. W 2010 roku udział sprzedaży krajowych producentów wyniósł około 25% pod względem sprzedaży, jednakże zmniejszył się w skali ilościowej w latach 2003-2010 z 61% do 47%.

Tab. 1. *Lista największych przedsiębiorstw farmaceutycznych działających na terenie Polski posiadające własne zakłady produkcyjne*

Tab. 1. *List of the largest pharmaceutical companies operating in Poland having their own manufacturing plants*

| Nazwa przedsiębiorstwa | Lokalizacja przedsiębiorstwa         |
|------------------------|--------------------------------------|
| Adamed                 | Pieńków, Pabianice                   |
| Biofarm                | Poznań                               |
| Gedeon Richter         | Grodzisk Mazowiecki                  |
| KRKA                   | Warszawa                             |
| LEK-AM                 | Zakroczym                            |
| Novartis               | Stryków                              |
| Nycomed                | Łyszkowice                           |
| Polfa Tarchomin        | Warszawa (Tarchomin)                 |
| Polfa Warszawa         | Warszawa                             |
| Polpharma              | Starogard Gdański, Duchnice, Sieradz |
| Sanofi-Grupa           | Rzeszów, Chociw                      |
| Servier                | Warszawa                             |
| Teva Group             | Kraków, Kutno                        |
| USP                    | Wrocław                              |
| Valeant Pharma         | Rzeszów, Chociw                      |
| Adamed                 | Pieńków, Pabianice                   |

Pod względem liczby podmiotów prowadzących działalność związaną z produkcją leków i wyrobów farmaceutycznych oraz badaniami w dziedzinie biotechnologii, województwo mazowieckie zdobywa znaczną przewagę nad pozostałymi regionami, gdzie ponad 33% przedsiębiorstw posiada swoje siedziby, następnie plasują się województwa: małopolskie (9,3%), śląskie (8,0%), łódzkie (8,6%), wielkopolskie (7,9%) i pomorskie (7,6%) [18]. Ogółem, w sześciu wymienionych województwach siedzibę posiada 74% wszystkich podmiotów działających w branży [15,16].

### 1.5. Pozostałości środków farmaceutycznych w środowisku

Wydaje się, że problem obecności leków w środowisku jest tematem starym, gdyż informacje na ten temat zamieszczane są nie tylko w publikacjach naukowych ale również w prasie i programach popularno-naukowych, jednak gdy sięgnąć do historii, to pierwsze wzmianki na temat sięgają początków lat 80-tych XX wieku [17]. Od tego czasu systematycznie w literaturze można znaleźć setki prac na ten temat. Obecności tych zanieczyszczeń w ściekach surowych i oczyszczonych [18, 19], wodach powierzchniowych [20, 21]. Jakich grup leków dotyczą badania? – praktycznie wszystkich, jednak największa uwaga skupiona jest na monitoringu leków z grupy niesteroidowych leków

przeciwzapalnych i przeciwbólowych, antybiotykach, środkach hormonalnych, czy lekach psychotropowych [22, 23]. Na tak olbrzymie przyspieszenie w monitoringu pozostałości środków farmaceutycznych w środowisku ma olbrzymi rozwój technik analitycznych (technik łączonych), głównie technik chromatograficznych łączonych z tandemową spektrometrią mas, pozwalających na wykrywanie związków na bardzo niskich poziomach stężeń, często nie przekraczających dziesiątych części nanograma w litrze.

Monitoring taki ma na celu nie tylko zbieranie informacji na temat poziomu zanieczyszczenia, ale przyczynia się również do oceny wpływu tych związków na szeroko rozumiane środowisko naturalne [22].

## 1.6. Skutki środowiskowe

Leki nie są obojętne dla środowiska i nie znikają w nim. Trafiają one do gleb i wód w związku z czym oddziałują nie tylko na człowieka, ale także na zwierzęta czy rośliny. Organizmy wodne są stale i wielopokoleniowo narażone na działanie farmaceutyków. Z wszystkich leków jako silnie toksyczne wymienić można, m. in. diklofenak, czy propanolol [6]. Negatywne skutki wywołują w środowisku naturalnym także hormony. Nawet niewielkie dawki mogą spowodować zmianę płci u ryb lub płazów. Obecność estrogenów wywołuje u samców ryb bezpłodność albo proces wytwarzania ikry. Obserwuje się także spadek rozwoju zarodków [24]. Leki psychotropowe takie jak np. serotonina zaburzają układ nerwowy a antybiotyki powszechnie stosowane w leczeniu mogą powodować wzrost odporności czynników chorobotwórczych [6]. W badaniach wykazano, że niektóre leki z osobna nie wykazują żadnych bądź wykazują minimalne skutki środowiskowe. Natomiast w połączeniu z innymi środkami tworzą mieszaniny (np. z grupy NLPZ), które mogą powodować zwiększenie działania innych zanieczyszczeń, a co za tym idzie przyczyniają się do znacznych, negatywnych zmian w środowisku naturalnym [25].

Spożywanie wody zanieczyszczonej przez środki farmaceutyczne przyczynia się do zmniejszenia lekooporności organizmu; zostaje zaburzona równowaga wewnętrzna [5].

## 2. Niesteroidowe leki przeciwzapalne w ściekach z zakładów farmaceutycznych

Aby sprawdzić w jakim stopniu zakłady farmaceutyczne mają udział w poziomie zanieczyszczenia ścieków związkami z grupy NLPZ dokonano oznaczeń tych związków w ściekach wypływających z sześciu wytypowanych zakładów farmaceutycznych.

## 2.1. Przygotowanie i oznaczanie pozostałości NLPZ w próbkach ścieków pochodzących z zakładów farmaceutycznych

### 2.1.1. Przygotowanie próbek do analizy LC-MS/MS

Badaniom zostało poddanych sześć zakładów farmaceutycznych. Firma, która przeprowadziła w danym przedsiębiorstwie kontrolę, umożliwiła pobranie prób na potrzeby niniejszej pracy, jednak zabroniła publikacji nazw zakładów. Aby usystematyzować zakłady poddane kontroli, w pracy posłużono się skrótami Z1, Z2, Z3, Z4, Z5 oraz Z6. Każdy zakład ma inną specyfikę produkcji:

Z1 – specjalizuje się w produkcji leków zarówno na receptę jak i bez recepty, a także suplementów diety. Wytwarza przede wszystkim farmaceutyki w formie tabletek, ale także w postaci maści, płynów oraz syropów. Substancjami czynnymi wykorzystywanymi w największych ilościach w zakładzie Z1 są: wodorooasparaginian potasu oraz wodorooasparaginian cynku, a także ekstrakty roślinne.

Z2 - produkuje głównie leki bez recepty, suplementy diety oraz kosmetyki. Wytwarza farmaceutyki w formie tabletek, maści oraz żeli. Najczęściej wykorzystywanymi substancjami czynnymi w zakładzie Z2 są: ekstrakty oraz wyciągi roślinne, a także kwas salicylowy i noniwamid.

Z3 - produkuje głównie leki bez recepty, suplementy diety oraz kosmetyki. Wytwarza farmaceutyki głównie w formie maści, a także tabletek, syropów oraz płynów. Substancjami czynnymi wykorzystywanymi w największych ilościach w zakładzie Z3 są: linomag, euceryna oraz sól emska.

Z4 - produkuje głównie leki bez recepty, suplementy diety oraz kosmetyki. Wytwarza farmaceutyki w formie tabletek, maści oraz żeli. Substancjami czynnymi wykorzystywanymi w największych ilościach w zakładzie Z4 są: ekstrakty oraz wyciągi roślinne, a także kwas salicylowy i noniwamid.

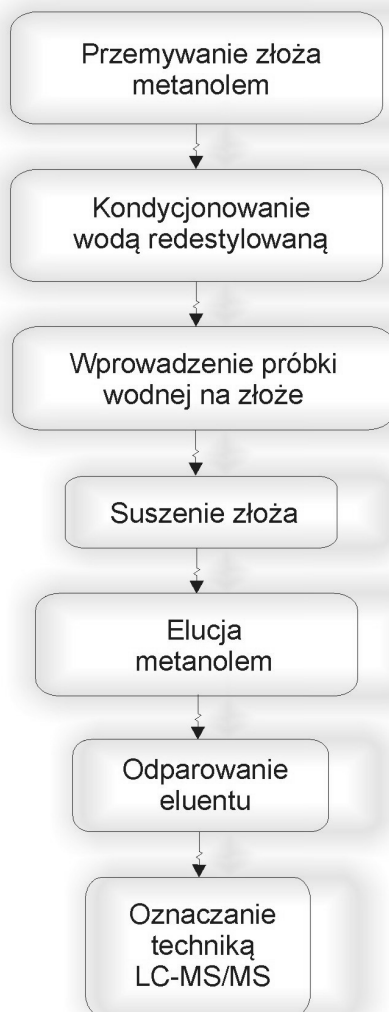
Z5 - produkuje leki zarówno na receptę jak i bez recepty, suplementy diety, produkty stomatologiczne oraz kosmetyki. Wytwarza farmaceutyki w formie tabletek, granulatów, kapsulek miękkich, czopków, maści, kremów, żeli oraz płynów. Substancjami czynnymi wykorzystywanymi w największych ilościach w zakładzie Z5 są przede wszystkim: paracetamol, kwas askorbowy, klotrimazol, acyklowir, salicylan choliney oraz witaminy.

Z6 - produkuje leki zarówno na receptę jak i bez recepty oraz suplementy diety. Wytwarza farmaceutyki przede wszystkim w formie tabletek, ale również w postaci aerozoli oraz syropów. Substancjami czynnymi wykorzystywanymi w największych ilościach w zakładzie Z6 są: paracetamol, omeprazol oraz wyciągi roślinne.

Jedynie w zakładzie Z3 ścieki zostały pobrane zgodnie z przyjętymi standardami - jako mieszanina trzech prób, pobieranych co 30 minut. W przypadku pozostałych zakładów, do analizy została wzięta pierwsza próba, pobrana od razu po rozpoczęciu kontroli.

Do izolacji i zateżenia pozostałości badanych leków zastosowano ekstrakcję do ciała stałego (SPE). Ekstrakcję prowadzono dla objętości próbek wynoszących 500 mL. Aby uwzględnić wpływ matrycy na zawartość analitów w próbce stężenie poszczególnych związków oznaczono techniką dodatku wzorca, tj. przez dodatek wzorca na różnym poziomie stężeń przed etapem ekstrakcji. Dla wymienionych próbek rzeczywistych adsorpcje prowadzono przy pH=7, wykorzystując złożę C18 (J.T. Baker). Zaadsorbowane anality eluowano metanolem, który następnie odparowano pod strumieniem azotu, zaś suchą pozostałość rozpuszczano w fazie początkowej stosowanej do rozdzielania chromatograficznego. Etapy przygotowania próbek ścieków zaprezentowano na rysunku 1.





Rys. 1. Schemat procedury ekstrakcji do ciała stałego

Fig. 1. Diagram of the procedure of solid phase extraction

### 2.1.2. Analiza LC-MS/MS

Analizę jakościową i ilościową badanych ścieków wykonano techniką łączoną LC-MS/MS. W badaniach wykorzystano chromatograf ciekłowy Ultimate 3000 RSLC firmy Dionex. Do rozdzielania badanych leków z grupy NLPZ zastosowano kolumnę Hypersil Gold C18 (100 x 2,1mm x 1,9  $\mu$ m) firmy Thermo Scientific. Jako fazę ruchomą

zastosowano mieszaninę złożoną z metanolu (MeOH) (B) i 5 mM octanu amonu (A). Anality z kolumny eluowano stosując elucję gradientową: 0 min. 30% B, 10 min. 67 % B, 12 min. 100% B. Przepływ fazy ruchomej wynosił 0,25 mL/min. Rozdzielenie chromatograficzne prowadzono w temp. 35°C, objętość wprowadzanej do kolumny próbki wynosiła 5  $\mu$ L. Jako detektor zastosowano tandemowy spektrometr mas API 4000 QTRAP (Biosystems, MDS Sciex, USA). Analizę ilościową przeprowadzono stosując tryb pracy spektrometru masowego MRM (monitorowania wybranych reakcji). Jonizację prowadzono poprzez elektrorozpraszanie (ESI) w trybie jonów ujemnych. Warunki pracy spektrometru masowego: temperatura źródła jonów 400°C, ciśnienie gazu osłonowego 20 psi, ciśnienie gazu w rozpylaczu 50 psi, ciśnienie gazu suszącego 50 psi, napięcie przyłożone do kapilary -4500 V. Monitorowane jony badanych związków w trybie pracy MRM, potencjał fragmentacji (DP) oraz energię zderzeń (CE) przedstawiono w tabeli 2. Identyfikacji badanych leków z grupy NLPZ dokonano na podstawie porównania czasów retencji składnika próbki z czasami retencji wzorców analitycznych, rejestracji widm masowych oraz widma fragmentacyjnego wybranego jonu molekularnego.

Tab. 2. Parametry pracy MS/MS dla poszczególnych związków z grupy NLPZ

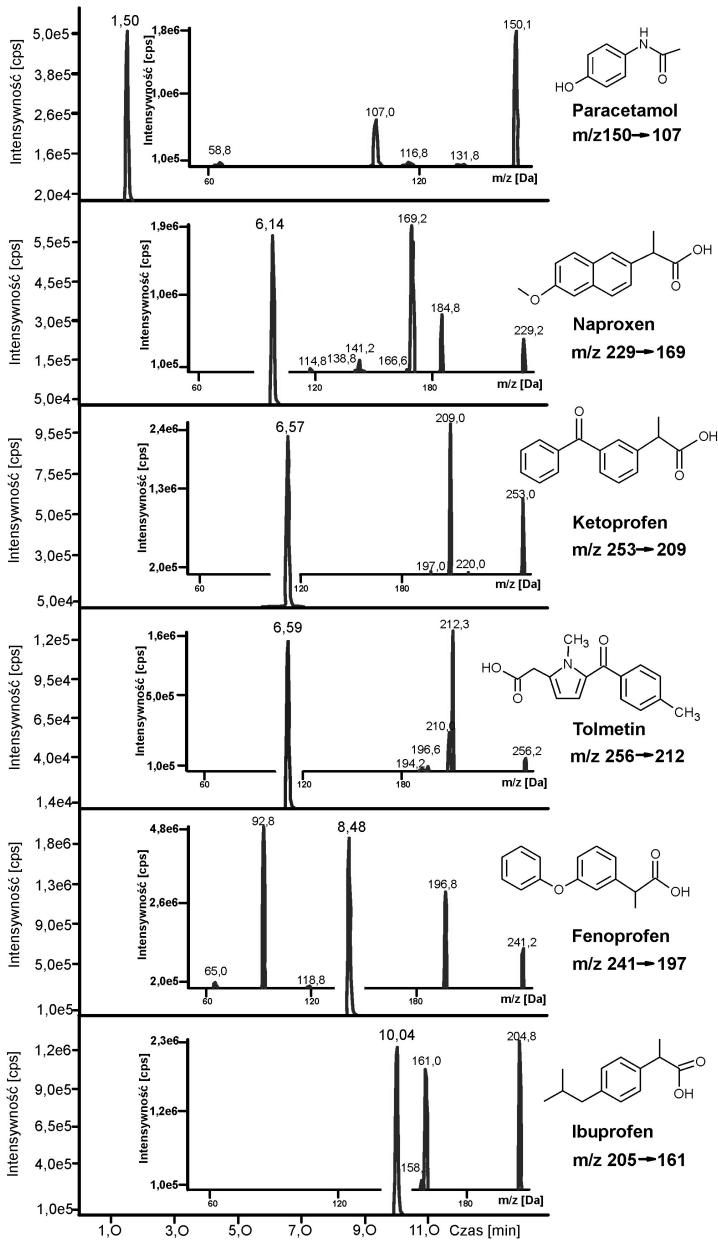
Tab. 2. MS/MS parameters for the acquisition of NSAIDs

| Związek     | Jon pseudo-molekularny [M-H] <sup>-</sup> | Potencjał fragmentacji | MRM1 <sup>*</sup> | Energia kolizji [V] | MRM2 <sup>**</sup> | Energia kolizji [V] |
|-------------|---|------------------------|-------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| Ibuprofen   | 205                                       | -50                    | 205→161           | -12                 | 205→159            | -8                  |
| Ketoprofen  | 253                                       | -50                    | 253→209           | -12                 | 253→197            | -10                 |
| Fenoprofen  | 241                                       | -40                    | 241→197           | -12                 | 241→93             | -52                 |
| Naproxen    | 229                                       | -45                    | 229→169           | -38                 | 229→185            | -10                 |
| Tolmetin    | 256                                       | -30                    | 256→212           | -10                 | 256→210            | -26                 |
| Paracetamol | 150                                       | -20                    | 150→107           | -24                 | 150→60             | -14                 |

<sup>\*</sup>MRM1 sygnał wykorzystany do określenia zawartości

<sup>\*\*</sup>MRM2 sygnał służący do potwierdzenia identyfikacji

Na rysunku 2 przedstawiono chromatogramy mieszaniny NLPZ oraz widma fragmentacyjne poszczególnych związków: paracetamolu, naproxenu, ketoprofenu, tolmetinu, fenoprofenu i ibuprofenu.

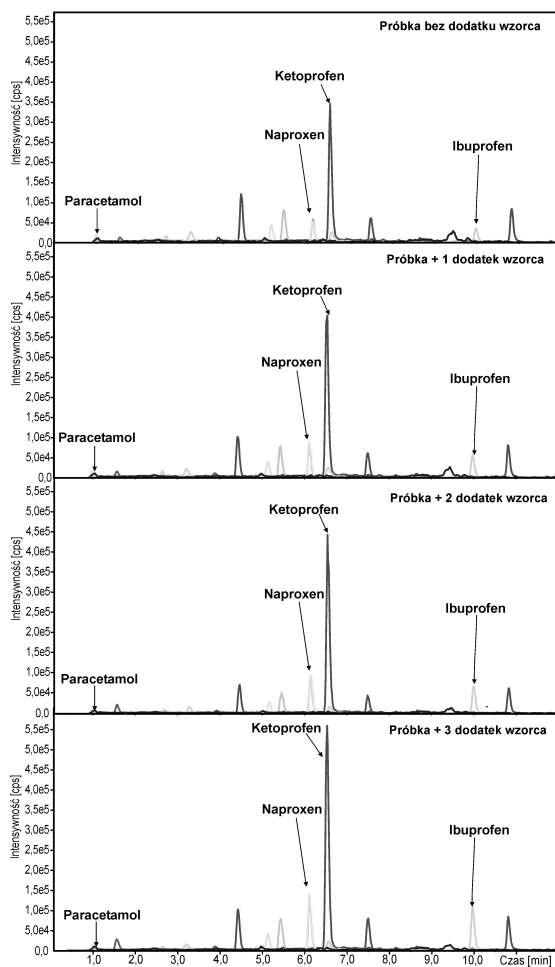


Rys.2. Chromatogramy przejść jon pseudomolekularny → jon fragmentacyjny oraz widma fragmentacyjne badanych leków z grupy NLPZ

Fig. 2. Chromatograms of standard solution (transitions precursor ion → product ion) of 1 μg/mL of each compound and spectra of NSAIDs respectively

## 2.2. Zawartość wybranych NLPZ w ściekach przemysłu farmaceutycznego

Opisaną w punktach 2.1.1. i 2.1.2. procedurę analityczną wykorzystano do wydzielenia, zażęczenia i oznaczenia wybranych przedstawicieli leków z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych i przeciwbólowych. Stężenia zidentyfikowanych leków wyznaczono techniką dodatku wzorca. Na rysunku 3 zaprezentowano przykładowe chromatogramy jakie otrzymano dla ekstraktów próbki ścieków pobranych przy zakładzie Z4. Rysunek obejmuje chromatogramy dla ekstraktów ścieków niewzbogacanych i wzbogacanych mieszaniną wzorcową. Otrzymane stężenia dla poszczególnych leków w badanych próbkach badanych ścieków przedstawiono w tabeli 3.



Rys. 3. Chromatogramy ekstraktów próbki ścieków pobranej z zakładu Z4

Fig. 3. Chromatograms of extracts of wastewater sample from pharmaceutical plant Z4

Tab. 3. Stężenie leków w próbkach ścieków

Tab. 3. The concentration of pharmaceutical in sewage samples

|            | LEK          |             |             |            |              |
|------------|--------------|-------------|-------------|------------|--------------|
|            | Paracetamol  | Ibuprofen   | Naproxen    | Fenoprofen | Ketoprofen   |
|            | [ng/L±SD]    |             |             |            |              |
| <b>Z 1</b> | 2,52±0,21    | 101,08±7,75 | 26,47±1,42  | 15,82±1,32 | nz           |
| <b>Z 2</b> | 2,24±0,19    | 66,31±5,09  | 17,13±0,92  | nz         | nz           |
| <b>Z 3</b> | 174,84±14,80 | 9,44±0,72   | 156,45±8,38 | 1,38±0,11  | nz           |
| <b>Z 4</b> | 11,37±0,96   | 19,10±1,46  | 100,99±5,41 | nz         | 335,11±26,55 |
| <b>Z 5</b> | 16,35±1,38   | 1,15±0,09   | 0,16±0,01   | nz         | nz           |
| <b>Z 6</b> | 1,49±0,13    | 5,06±0,39   | 1,73±0,09   | nz         | nz           |

nz – nie znaleziono

Z danych zawartych w tabeli 3 można wysunąć jedyny, niepokojący dla stanu środowiska wniosek, że źródło leków na polskim rynku (przemysł farmaceutyczny) jest znacznym ogniwem zanieczyszczającym środowisko wodne związkami z grupy NLPZ. Niestety we wszystkich próbkach ścieków pobranych na odpływach z zakładów farmaceutycznych wykryto wszystkie, najczęściej stosowane i szeroko dostępne leki, takie jak: paracetamol, ibuprofen oraz naproksen. Ich stężenia mieściły się w zakresie od 0,16 ng/L (naproksen – Z5) do 174,84 ng/L (paracetamol – Z3). Zakład Z3 jest jedynym, który wprowadza ze ściekami do kanalizacji tak duże ilości paracetamolu. Poza tym lekiem, który ta firma wprowadza w porównywalnej ilości naproxen (156,45 ng/L) i wartość ta też jest maksymalną jaką oznaczono dla tego leku w badanych ściekach. W żadnych przebadanych próbach nie wykryto tolmetinu, natomiast fenoprofen oznaczono w dwóch zakładach Z1 (15,82 ng/L) oraz Z3 (1,38 ng/L). Ketoprofen wykryto jedynie w jednym zakładzie – Z4 (335,11 ng/L), z tym, że lek ten osiągnął najwyższe z wyznaczonych stężeń wszystkich leków. W ocenie wkładu zakładów farmaceutycznych w stopień zanieczyszczenia ścieków lekami z grupy NLPZ należy pamiętać, że w oznaczonych ilościach tych leków znajduje się jakaś część związana z zazywaniem różnych preparatów zawierających badane leki przez pracowników tych firm. Niewątpliwie oznaczane ilości leków będą się zmieniać w dwóch „sezonach”, jednym związanym z sezonem jesienno-zimowym, i tu większy ich udział mogą mieć pracownicy, i drugi związany z profilem produkcji i jego końcem. W przypadku tego drugiego „sezonu” najprawdopodobniej w ściekach będzie najwięcej tego leku, którego produkcja w danej chwili trwa lub została właśnie zakończona i następuje czyszczenie linii produkcyjnej. W kontekście powyższego należy nadmienić, że próby do badań zostały pobrane w okresie jesienno-zimowym.

Analizując wyniki zawarte w tabeli 3 należy również zastanowić się, czy wprowadzane ze ściekami do kanalizacji ilości leków z grupy NLPZ stanowią znaczny udział w ich sumarycznym stężeniu w takich ściekach i w środowisku wodnym. Aby odpowiedzieć na to pytanie porównano otrzymane wyniki z wynikami opublikowanymi przez Zembrzuską i współpracowników, dotyczące obecności pozostałości NLPZ w ściekach komunalnych [26] (tabela 4) oraz w rzece Warcie [21] (tabela 5).

Tab. 4. Stężenie leków w próbkach ścieków [26]

Tab. 4. The concentration of pharmaceutical in sewage samples [26]

| Rodzaj pobieranej próbki | Miejsce poboru próbki     | związek   |            |            |           |          |             |
|--------------------------|---------------------------|-----------|------------|------------|-----------|----------|-------------|
|                          |                           | ibuprofen | ketoprofen | fenoprofen | naproxen  | tolmetin | paracetamol |
|                          |                           | [ng/l±SD] |            |            |           |          |             |
| Oczyszczalnia ścieków    | Ścieki surowe             | 4000 (3)  | 2500 (3)   | 62,8 (4)   | 2700 (3)  | 76 (3)   | 51400 (3)   |
|                          | Komora denitryfikacyjna   | 48 (2)    | 163 (1)    | 60 (3)     | 490 (1)   | 7,0 (5)  | 28,4 (2)    |
|                          | Komora nityfikacyjna      | 36,6 (3)  | 95,2 (3)   | 51 (2)     | 145 (2)   | 6,0 (3)  | 26,3 (3)    |
|                          | Odbiornik przed filtracją | 37,5 (2)  | 91,7 (3)   | 14,8 (3)   | 114,5 (2) | 6,6 (3)  | 17,2 (3)    |
|                          | Odbiornik po filtracji    | 47 (3)    | 95,2 (0,5) | 28,3 (4)   | 99,8 (4)  | 6,0 (5)  | 21,2 (4)    |

Tab. 5. Rozkład stężenia NLPZ Warcie w 2012 roku (Poznań) [21]

Tab. 5. NSAIDs in the River Warta, Poznań in 2012[21]

| Rodzaj próbki | Miesiąc     | Ketoprofen | Ibuprofen  | Fenoprofen | Naproxen   | Paracetamol |
|---------------|-------------|------------|------------|------------|------------|-------------|
|               |             | [ng/l±SD]  |            |            |            |             |
| Warta 2012    | marzec      | 2,00±0,16  | 23,20±1,78 | 7,10±0,59  | 12,10±0,65 | 4,60±0,39   |
|               | kwiecień    | 1,80±0,14  | 28,50±2,19 | 6,10±0,51  | 65,00±3,48 | 13,50±1,14  |
|               | maj         | 12,30±0,97 | 25,00±1,92 | 5,30±0,44  | 8,20±0,44  | 67,60±5,72  |
|               | czerwiec    | 41,40±3,28 | 99,30±7,62 | 19,10±1,59 | 12,60±0,68 | 51,60±4,37  |
|               | lipiec      | 12,30±0,97 | 16,80±1,29 | 18,10±1,50 | 14,70±0,79 | 2,90±0,25   |
|               | sierpień    | 0,40±0,03  | 13,10±1,00 | 9,00±0,75  | 9,60±0,51  | 18,60±1,57  |
|               | wrzesień    | 5,20±0,41  | 20,00±1,55 | 3,40±0,28  | 54,70±2,93 | 9,50±0,80   |
|               | październik | 2,50±0,20  | 22,10±1,70 | 1,10±0,09  | 11,10±0,59 | 3,30±0,28   |
|               | listopad    | 2,90±0,23  | 25,90±1,99 | 1,30±0,11  | 13,00±0,70 | 3,90±0,33   |
|               | grudzień    | 20,70±1,64 | 34,40±2,64 | 9,10±0,76  | 13,70±0,73 | 107,20±9,08 |

Porównując dane otrzymane podczas badań ścieków z zakładów farmaceutycznych z danymi dotyczącymi zawartości pozostałości NLPZ w nieoczyszczonych ściekach komunalnych (tabela 4) można stwierdzić, że strumień tych zanieczyszczeń w ściekach komunalnych głównie zależy od funkcjonowania ludności. Gdyby jednak zakłady farmaceutyczne wprowadzały swoje ścieki wprost do wód powierzchniowych (tabela 5), zapewne ich strumień znacząco wpłynąłby na stopień zanieczyszczenia wód lekami z grupy NLPZ. Oczywiście powyższe stwierdzenia mogą mieć jedynie charakter pogłębiony, gdyż nie są to badania prowadzone w jednakowym czasie oraz próbki wody rzecznej jak i ścieków pochodzą z Poznania, natomiast próby ścieków z zakładów farmaceutycznych pochodzą z obszaru Polski.

### 3. Wnioski

Z przeprowadzonych badań wynika, że zakłady farmaceutyczne są jednym z bezpośrednich ogniw, które przyczynia się do obecności pozostałości NLPZ w ściekach i pośrednio w wodach powierzchniowych.

Badania zostały wykonane przy finansowym wsparciu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego projekt badawczy 03/31/DSPB/0276/Alokacja 503213

### Bibliografia

- [1] KPMG i PMR: Polski rynek farmaceutyczny. Kondycja i perspektywy rozwoju do 2011 roku w opinii największych firm farmaceutycznych. Rynek OTC w Polsce wróci na ścieżkę wzrostu w latach 2013-2016, 2008
- [2] <http://www.termedia.pl/Rynek-OTC-w-Polsce-wroci-na-sciezke-wzrostu-w-latach-2013-2016,10658.html>
- [3] BUSINESS MONITOR INTERNATIONAL. *Sektor farmaceutyczny w biotechnologiczny w Polsce*. 2012. Polska Agencja Informacji i Inwestycji Zagranicznych S.A. Invest in Poland
- [4] Główny Urząd Statystyczny 2012
- [5] A WORLD PHARMACEUTICAL MARKET REPORT. Espicom Business Intelligence. 2012
- [6] Raport na temat ustawy o refundacji leków. *Implementacja oraz wpływ na uczestnictwo rynku*, IMS 2011, 18
- [7] Ginter- Kramarczyk D., Zajac A., Kruszelnicka I., Zembrzuska J., Budnik I. Teraźniejszość i przyszłość produktów leczniczych w społeczeństwie i środowisku. *Przemysł Chemiczny*, 2013, 92 (5), 596-600
- [8] Go Global! Polish Pharma. *Raport o innowacyjności polskiego sektora farmaceutyczno-medycznego*. Grupa Inicjatywna Go Global! Polish Pharma 2012. 54-56

- [9] Producenci leków stawiają na Polskę. *Dziennik Gazeta Prawna*, 21 października, 2011
- [10] Obraz rynku farmaceutycznego w Polsce dziesięć miesięcy po wprowadzeniu ustawy refundacyjnej – wpływ jej zapisów na Polski przemysł farmaceutyczny. Co z tego wynika dla pacjenta i płatnika, Michał Pilkiewicz, Country Manager, IMS Health, Polska, 2012
- [11] Główny Urząd Statystyczny, 2013
- [12] CP INVESTMENTS| Raport Kwartalny, 2013
- [13] <http://www.rynekapteki.pl/dystrybucja/pharmaexpert-szacuje-wartosc-rynku-lekow-w-2013-na-27-7-mld-zl,5613.html>
- [14] Pharmaceutical biotechnology in Poland: current conditions and forecasts, PMR 2011
- [15] Sektor farmaceutyczny i biotechnologiczny w Polsce, Departament Gospodarczej Polska Agencja Informacji i Inwestycji Zagranicznych S.A, Warszawa 2011
- [16] Główny Urząd Statystyczny, 2011
- [17] Hao, Ch., Clement, R., Yang, P. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry of bioactive pharmaceutical compounds in the aquatic environment – a decade’s activities. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007, 387. 1247-1257
- [18] Lopez de Alda, M.J., Diaz-Cruz, S., Petrovic, M., Barcelo, D. Liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry of selected emerging pollutants (steroid sex hormones, drugs and alkylphenolic surfactants) in aquatic environment. *J. Chromatogr. A*, 2003, 1000, 503-526
- [19] Sosnowska, K., Szyszko-Grochowiak, K., Gołaś, J. Leki w środowisku – źródła, przemiany, zagrożenia, *Krakowska Konferencja Młodych Uczonych*, 2009, 395-404
- [20] Khalaf, H., Salste, L., Karlsson, P., Ivarsson, P., Jass, J., Olsson, P. In vitro analysis of inflammatory responses following environmental exposure to pharmaceuticals and inland waters. *Sci. Total Environ.* 2009, 407 1452-1460
- [21] Zembrzuska, J., Budnik, I. Monitoring of selected steroidal anti-inflammatory drugs residues in the River Warta. *PhD Interdisciplinary Journal, Special Issue- Biotech Conference*, 2013, 01 85-90
- [22] Santos L. H. M. L. M., Araujo, A.N., Fachini, A., Pena, A., Delerue-Matos, C., Montenegro, M.C.B.S.M. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *J. Haz. Mat*, 2010, 175 45-95
- [23] Petrovic, M., Fare, M., Lopez de Alda, M., Perez, S., Postigo, C., Kock, M., Radjenovic, J., Gros, M., Barcelo, D. Recent trends in the liquid chromatography-mass spectrometry analysis of organic contaminants in environmental samples. *J. Chromatogr. A*, 2010, 1217 4004-4017
- [24] Zajęc, A. Kruszelnicka I., Ginter-Kramarczyk D., Zembrzuska J. Regulacje prawne normujące wartości dopuszczalnych stężeń oraz sposoby usuwania i unieszkodliwiania substancji farmaceutycznych wprowadzanych do oczyszczalni ścieków. *Zaopatrzenie w wodę, Jakość i ochrona wód*, wyd. PZITS. 2012, (I) 165-176



- [25] Zając, A. Zembrzuska, J. Budnik, I. Kruszelnicka, I. Ginter-Kramarczyk, D. Droga farmaceutyków w środowisku przyrodniczym na terenie województwa wielkopolskiego – źródła występowania, obecność, zagrożenia, Konferencja *Produkcja, ekonomia, zarządzanie, marketing i ochrona środowiska – jak to się robi w Wielkopolsce*, Gniezno, 2013, 177-192
- [26] Zembrzuska, J. Kruszelnicka, I. Ginter-Kramarczyk, D. Ścieżka biodegradacji leków przeciwbólowych – ibuprofenu w ściekach COŚ w Poznaniu. *Zaopatrzenie w wodę, Jakość i ochrona wód*, wyd. PZITS. 2012, (II) 699-720

