

Zastosowanie wodorowęglanu amonu jako porogenu pozwoliło na uzyskanie założonej porowatości i odpowiedniego z punktu widzenia fiksacji z tkanką kostną rozkładu wielkości porów.

Podziękowania

Praca finansowana w ramach projektu Nr. 103/GRE/2007/02.

Piśmiennictwo

- [1] K. Anselme, *Biomaterials* 2000, 21(7):667.
 [2] S. Fujibayashi, M. Neo, H. M. Kim, T. Kokubo And T. Nakamura, *Biomaterials* 25 (2004); 443.
 [3] L. J. Gibson And M.F. Ashby, In "Cellular Solids: Structure And Properties", 2nd Edn. (1997); Pp.1.

Conclusions

Results proved that powder metallurgy process allows to fabricate porous titanium without oxides and nitrogen formations. It was revealed that ammonium carbonate is a very good porogen and creates complex porosity in titanium samples. That kind of microstructure is thought to be favourable for cell overgrowing and fixation.

Acknowledgements

This study was supported by grant No.103/GRE/2007/02.

References

- [4] Itala Ai, Ylanan Ho, Ekholm C, Karlsson Kh, Aro Ht. *J Biomed Mater Res* (2001); 58:679–83.
 [5] F. Li, Q. L. Feng, F. Z. Cui, H. D. Li And H. Schubert, *Surf. Coat. Technol.* 154 (2002); 88.
 [6] Orturn E.M. Pohler, *Injury, Int. J. Care Injured* 31 (2000); S-1x-13.

WŁAŚCIWOŚCI WOLNORODNIKOWE GAMMA NAPROMIENIOWANYCH STAŁYCH POSTACI LEKÓW

SŁAWOMIR WILCZYŃSKI^{1*}, BARBARA PILAWA¹,
MARTA PTASZKIEWICZ², JAN SWAKOŃ², PAWEŁ OLKO²

¹ KATEDRA I ZAKŁAD BIOFIZYKI,
WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY Z ODDZIAŁEM MEDYCYNY LABORATORYJNEJ, ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY W KATOWICACH,
UL. JEDNOŚCI 8, 41-200 SOSNOWIEC, POLSKA

² ZAKŁAD FIZYKI RADIACYJNEJ I DOZYMETRII,
INSTYTUT FIZYKI JĄDROWEJ PAN,
UL. RADZIKOWSKIEGO 152, 31-342 KRAKÓW, POLSKA

* E-MAIL: SWILCZYNSKI@SUM.EDU.PL

W nowoczesnej medycynie opracowano i rozwinięto szereg metod wyjąławiania substancji leczniczych. Jedną z nich jest sterylizacja poprzez gamma napromieniowanie. Wyjąławianie za pomocą promieniowania jonizującego jest metodą stosowaną przeważnie w odniesieniu do produktów termolabilnych, ponieważ promieniowanie to, tylko nieznacznie podnosi temperaturę wyjąławianych substancji [1-7]. Metoda ta ma także duże uzasadnienie ekonomiczne, między innymi ze względu na możliwość sterylizacji produktów w ich docelowych opakowaniach. Jest więc coraz szerzej stosowana na międzynarodowym rynku leków [3, 6-7].

Jałowość produktu nie jest terminem absolutnym oznaczającym, że prawdopodobieństwo znalezienia na lub/i w nim zdolnego do życia mikroorganizmu wynosi zero. To, jakie produkty można uznać za jałowe, opisują Normy Polskie i Europejskie, normy ISO oraz normy branżowe. Napromieniowanie leków, czy innych produktów medycznych, promieniowaniem jonizującym o odpowiedniej dawce i w odpowiednich warunkach prowadzi do osiągnięcia stanu sterylności [1-4].

FREE RADICALS PROPERTIES OF GAMMA IRRADIATED SOLID FORMS OF DRUGS

SŁAWOMIR WILCZYŃSKI^{1*}, BARBARA PILAWA¹,
MARTA PTASZKIEWICZ², JAN SWAKOŃ², PAWEŁ OLKO²

¹ DEPARTMENT OF BIOPHYSICS,
SCHOOL OF PHARMACY AND LABORATORY MEDICINE,
MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA IN KATOWICE,
8 JEDNOŚCI STR., 41-200 SOSNOWIEC, POLAND

² DEPARTMENT OF RADIATION PHYSICS AND DOSIMETRY,
INSTITUTE OF NUCLEAR PHYSICS, PAS,
152 RADZIKOWSKIEGO STR., 31-342 CRACOW, POLAND

* E-MAIL: SWILCZYNSKI@SUM.EDU.PL

In modern medicine a number of methods pharmaceutical substances sterilization processes were developed. One of them is gamma irradiation. Radiosterilization is usually used for thermolabile products because gamma rays causes only small temperature rise in sterilized substances [1-7]. This method also brings economic profits because it is possible to sterilize drugs in their final containers. This is the reason why it is more actively used now that any time in international market of drugs [3, 6-7].

Sterility is not absolute term meaning that probability finding on or/and in it viable forms of life equals zero. Which products can be defined as sterile are described by Polish Norms, European Norms, ISO norms and brand norms. Irradiation of drugs or other medical products by gamma rays in proper dose and conditions leads to its sterility [1-4]. Radiosterilization as a method of solid form of drugs sterilization has a lot of advantages. First of all isothermal course of sterilization process. During gamma irradiation sterilize substance has no direct contact with chemical compounds. This is the reason why in finally sterilized material there is no chemical contaminations [7]. Besides it is possible to sterilized finally packed products – because of high

Za gamma napromieniowaniem, jako metodą sterylizacji stałych postaci leków, przemawia szereg zalet tej metody. Przede wszystkim izotermiczność procesu wyjaławiania. Gamma napromieniowanie jest procesem, w którym wyjaławiana substancja nie ma bezpośredniego kontaktu z żadnymi odczynnikami chemicznymi. W związku z tym, w finalnie wysterylizowanym materiale nie pozostają żadne zanieczyszczenia chemiczne [7]. Ponadto można napromieniowywać już zapakowane produkty - ze względu na wysokie zdolności przenikania promieniowania gamma - co jest niezwykle korzystne z ekonomicznego punktu widzenia [3,6,7]. Produkty medyczne wyjaławiane radiacyjnie nie są w żadnym stopniu radioaktywne [7]. Za wysoką skutecznością tej metody sterylizacji przemawia fakt, że wszystkie mikroorganizmy są w mniejszym lub większym stopniu wrażliwe na promieniowanie gamma [8].

Pomimo coraz szerszego zastosowania radiosterylizacji, nie ma spójnych przepisów, które precyzyjnie i jednoznacznie regulowałyby zagadnienia radiosterylizacji na międzynarodowym rynku leków. Wymagania dotyczące sterylizacji radiacyjnej są różne w poszczególnych krajach [7].

Według normy PN-EN 552 produkt medyczny powinien być napromieniowany dawką nie mniejszą niż 25kGy, a odpowiednią dawkę sterylizacyjną wybiera główny wytwórca wyrobu medycznego na podstawie prac eksperymentalnych [9]. Ważne jest jednak zwrócić uwagę, że już dawka 25 kGy może powodować zmiany w strukturze chemicznej cząsteczki. Konsekwencją zmiany struktury chemicznej napromieniowanych substancji (niezależnie od pochłoniętej dawki) może być [1]:

- zanieczyszczenie sterylizowanej próbki produktami rozkładu,
- powstawanie toksycznych pochodnych,
- zmiany parametrów farmakokinetycznych sterylizowanej substancji.

Każda taka zmiana dyskwalifikuje substancję leczniczą z możliwości sterylizacji radiacyjnej. Wśród produktów rozkładu zanieczyszczających radiacyjnie wyjaławiane substancje mogą znajdować się bardzo niebezpieczne wolne rodniki. Znajomość układu wolnych rodników w substancjach poddanych działaniu promieniowania gamma jest więc niezwykle istotna dla doboru metody i parametrów sterylizacji poszczególnych leków. Metodą, która pozwala na ilościowe i jakościowe pomiary wolnych rodników w gamma napromieniowanych substancjach leczniczych jest spektroskopia elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR).

Widma EPR badanych substancji leczniczych rejestrowano w temperaturze pokojowej dla próbek w powietrzu. Dla przykładowych leków, celem wyjaśnienia wpływu tlenu na charakter zmian w układzie wolnych rodników, rejestrowano widma EPR dla próbek w atmosferze argonu.

Pomiary widm EPR badanych leków wykonano za pomocą spektrometru elektronowego rezonansu paramagnetycznego typu SE/X z modulacją pola magnetycznego 100kHz (RADIOPAN, Poznań). Częstotliwość promieniowania mikrofalowego rejestrowano miernikiem typu MCM 101 (EPRAD, Poznań).

Widma EPR rejestrowano w postaci pierwszej pochodnej absorpcji stosując promieniowanie mikrofalowe o mocy wynoszącej 2 mW, dla której nie obserwujemy nasycenia mikrofalowego sygnału. Całkowita moc mikrofalowa wytwarzana przez kłistron wynosiła 70 mW.

penetrating abilities – what is very advantageous for economic point of view [3,6,7]. Products sterilized by irradiation are not radioactive [7]. This method is so efficient because all microorganisms are more or less radiosensitive [8]. Though more frequent using radiosterilization there are no compact regulation which unequivocally and precisely regulate radiosterilization problems on international market of drugs. Radiosterilization requirements are varied in different countries [7]. According to PN-EN 552 norm medical product should be irradiated with dose at least 25 kGy, and proper sterilization dose is chosen by main product producer based on experimental works [9]. But it is important that even dose of 25kGy can cause changes in chemical structure of molecule. Changes of chemical structure irradiated molecule can result with (independently from absorbed dose):

- decontamination of sterilized sample with degradation products
- creating toxic derivatives
- changes of pharmacokinetics parameters in sterilized substance.

Every such change disables medical substance from possibility of radiosterilization.

Among decomposition products contaminating radiosterilized substances very dangerous free radicals can be present. Information about free radicals systems in radiosterilized substances is very important to determine method and parameters drug sterilization. EPR spectroscopy is method which brings information about types and amount of free radicals in radiosterilized drugs. EPR spectra of studied drugs were recorded at room temperature. For exemplary drugs, to explain influence oxygen on free radicals system changes, EPR spectra were recorded in argon atmosphere.

Measurements of spectra were done by the use of electron paramagnetic resonance spectrometer SE/X type produced by RADIOPAN Firm (Poznań) with modulation of magnetic field of 100kHz. Microwave frequency was evaluated using MCM 101 frequency recorder produced by RADIOPAN - Poznań. The first-derivative EPR spectra were recorded with low microwave power 2mW to avoid the microwave saturation. Total microwave power produced by klystron was about 70mW.

In presented studies samples were gamma irradiated by THERATRON 780E containing isotope ^{60}Co . According to PN-EN 552 norm dose of gamma irradiation absorbed by all samples were 25kGy.

The performed spectroscopic studies shows that dose of 25kGy generate free radicals in all tested substances. Visible differences in free radicals concentrations in different substances were observed. For example the lowest free radicals concentrations characterize irradiated penicillin derivatives: piperacillin, ampicillin and crystal penicillin and the highest free radicals concentrations – only a slight resistant against gamma irradiation were obtained for irradiated aminoglycoside antibiotics: sisomicin, tobramycin, and paromomycin.

It is important that free radicals concentrations in the studied gamma irradiated antibiotics decrease with increasing of storage time. Interactions with oxygen may be responsible for decrease of free radicals concentrations and kinetics of this phenomena can be describe by exponential functions. Performed studies point that free radicals concentrations decay in irradiated sample can be described by exponential

W prezentowanych badaniach próbki zostały gamma napromieniowane przy użyciu aparatu kobaltowego THERATRON 780E zawierającego izotop kobaltu ^{60}Co . Zgodnie z normą PN-EN 552 [9] dawka promieniowania pochłonięta przez wszystkie badane antybiotyki wynosiła 25kGy.

Przeprowadzone pomiary wskazują, dawka 25 kGy powoduje powstawanie wolnych rodników niezależnie od substancji leczniczej. Zarejestrowano natomiast wyraźne różnice w koncentracji wolnych rodników dla różnych substancji leczniczych. Przykład mogą stanowić tu pochodne penicyliny (piperacylina, ampicylina, penicylina krystaliczna) gdzie zarejestrowano najniższe koncentracje wolnych rodników oraz antybiotyki aminoglikozydowe (sisomicyna, tobramycyna, paromomycyna), które okazały się najmniej odporne na promieniowanie gamma – najwyższe koncentracje wolnych rodników wśród badanych próbek.

Ważną obserwacją płynącą z niniejszych badań jest fakt, że koncentracja wolnych rodników w analizowanych substancjach leczniczych maleje ze wzrostem czasu przechowywania napromieniowanej próbki. Zjawisko to spowodowane jest prawdopodobnie oddziaływaniem z tlenem a jego kinetykę, można satysfakcjonująco opisać funkcją eksponencjalną. Badania wskazują, że spadek koncentracji wolnych rodników w próbce może to być opisany zależnością jednoeksponencjalną – jeden typ wolnych rodników, bądź dwueksponencjalna – dwa typy wolnych rodników. Ocena współczynników występujących w równaniach opisujących zmiany ilościowe w układzie wolnych rodników gamma napromieniowanych substancji leczniczych wskazują, że najszybszy spadek ilości wolnych rodników jest charakterystyczny dla gamma napromieniowanych antybiotyków pochodnych penicyliny: piperacyliny, ampicyliny i penicyliny krystalicznej.

Ponadto analiza parametrów spektroskopowych (zależności amplitudy linii i szerokości linii od mocy mikrofalowej) wskazuje, że wolne rodniki w badanych substancjach rozmieszczone są jednorodnie.

Metodą ciągłego nasycenia mikrofalowego linii EPR wykazano, że wolne rodniki w badanych lekach poddanych działaniu promieniowania gamma różnią się szybkością procesów relaksacji spin-sieć. Oddziaływania magnetyczne spin-sieć zachodzą stosunkowo najszybciej w penicylinie krystalicznej, ampicylinie i piperacylinie.

Dla wszystkich analizowanych leków zarejestrowano stosunkowo szerokie linie EPR. Szerokie linie wskazują na niewielkie odległości pomiędzy wolnymi rodnikami w gamma napromieniowanych lekach.

[Inżynieria Biomateriałów, 81-84, (2008), 52-54]

function – one type of free radicals in the sample or by biexponential function – two types of free radicals in irradiated sample. Evaluation of parameters describing free radicals amount changing with storage time increasing in gamma irradiated substances point that the fastest decrease of free radicals concentrations is characteristic for penicillin derivatives: piperacillin, ampicillin and crystal penicillin. Besides EPR spectra parameters analysis (influence of microwave power on amplitude and linewidth of EPR lines) indicate on free radicals homogenous distribution.

It was stated, using continuously microwave power saturation method, that free radicals in studied gamma irradiated drugs differ with spin – lattice relaxation processes. The fastest spin – lattice magnetic interactions proceed in piperacillin, ampicillin and crystal penicillin.

For all analyzed drugs relatively broad EPR lines were recorded. Broad EPR lines point out on small distance between free radicals in gamma irradiated drugs.

[Engineering of Biomaterials, 81-84, (2008), 52-54]

Piśmiennictwo

References

- [1] Basly JP, Longy I, Bernard M. ESR identification of radiosterilized pharmaceuticals: latamoxef and ceftriaxone. *Int J Pharm* 1997; 158: 241 – 245.
- [2] Basly JP, Basly I, Bernard M. ESR spectroscopy applied to the study of pharmaceuticals radiosterilization: cefoperazone. *J Pharm Biomed Anal* 1998; 17: 871 – 875.
- [3] Basly JP, Basly I, Bernard M. Influence of radiation treatment on dobutamine. *Int J Pharm* 1998; 170: 265 – 269.
- [4] Gibella M, Crucq AS, Tilquin B, Stocker P, Lesgards G, Raffi J. Electron spin resonance of some irradiated pharmaceuticals. *Radiat Phys Chem* 2000; 58: 69 – 76.
- [5] Varshney L, Dodke PB. Radiation effect studies on anticancer drugs, cyclophosphamide and doxorubicin for radiation sterilization. *Radiat Phys Chem* 2004; 71: 1103 – 1111.
- [6] Fauconnet AL, Basly JP, Berdard M. Gamma radiation induced effects on isoproterenol. *Int J Pharm* 1996; 144: 123 – 125.
- [7] Basly JP, Basly I, Bernard M. Electron spin resonance identification of irradiated ascorbic acid: Dosimetry and influence of powder fineness. *Anal Chim Acta* 1998; 372: 373 – 378.
- [8] Farkas J. Microbiological of irradiated foods. *Int J Microbiol* 1989; 9: 1 – 45.
- [9] PN-EN 552. Sterylizacja wyrobów medycznych. Walidacja i rutynowa kontrola sterylizacji metodą napromieniowania. Warszawa: Polski Komitet Normalizacyjny; 1999.