

# STERYLIZACJA RADIACYJNA BIORESORBOWALNYCH KOPOLIMERÓW ZAWIERAJĄCYCH LEK CYTOSTATYCZNY

MONIKA MUSIAŁ-KULIK<sup>1,2\*</sup>, KATARZYNA GĘBAROWSKA<sup>1</sup>, HENRYK JANECZEK<sup>1</sup>, MAŁGORZATA PASTUSIAK<sup>1</sup>, JANUSZ KASPERCZYK<sup>1,2</sup>, PIOTR DOBRZYŃSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CENTRUM MATERIAŁÓW POLIMEROWYCH I WĘGLOWYCH, POLSKA AKADEMIA NAUK, UL. M. SKŁODOWSKIEJ-CURIE 34, 41-819 ZABRZE

<sup>2</sup> KATEDRA I ZAKŁAD BIOFARMACJI, ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY, UL. NARCYZÓW 1, 41-200 SOSNOWIEC

\* E-MAIL: MONIKA.MUSIAL-KULIK@CMPW-PAN.EDU.PL

## Streszczenie

Istnieje wiele metod sterylizacji wyrobów medycznych. Jednak najbardziej użytecznymi metodami sterylizacji syntetycznych, bioresorbowalnych polimerów wydają się być promieniowanie gamma oraz napromienianie wiązką elektronów (EB). Celem tej pracy było określenie wpływu wspomnianych metod na trzy rodzaje matryc – zawierających 3%, 5% paklitakselu oraz matryc bez leku. Badane matryce otrzymano z dwóch rodzajów poli(L-laktydo-ko-węglanu trimetyleny) zsyntezowanych w 150°C (P1) oraz 120°C (P2). Nie zaobserwowano znaczących różnic w składzie komonomerów matryc sterylnych i niesterylnych, zawierających paklitaksel, jak i matryc bez leku. Spadek temperatury zeszczenia ( $T_g$ ) wynikał ze zmniejszenia się średniej długości bloków laktydylowych oraz węglanowych, a także utraty  $M_n$  po procesie sterylizacji. Zauważalne były niewielkie różnice we właściwościach fizykochemicznych matryc napromienianych promieniowaniem gamma oraz wiązką elektronów. Otrzymane wyniki pokazują, iż lepszą metodą sterylizacji poli(L-laktydo-ko-węglanu trimetyleny) wydaje się być napromienianie wiązką elektronów.

**Słowa kluczowe:** poli(L-laktydo-ko-węglan trimetyleny), paklitaksel, promieniowanie gamma, napromienianie wiązką elektronów, sterylizacja

[Inżynieria Biomateriałów 118 (2013) 18-22]

## Wprowadzenie

Paklitaksel (PTX), znany od około 40 lat, posiada wiele mechanizmów działania. Zatrzymuje mitozę komórek mięsni gładkich ścian naczyń krwionośnych (SMCs) poprzez łączenie się z  $\beta$ -tubuliną, przez co stabilizuje mikrotubule, ale może też wpływać na komórki układu immunologicznego (komórki 'naturalni zabójcy', komórki dendrytyczne, makrofagi) [1]. Paklitaksel wykazuje antyneoplastyczne oraz antyrestenotyczne właściwości i dlatego hamuje proliferację oraz migrację SMCs [2].

Postęp medycyny i farmacji przyczynia się do poszukiwania nowych zastosowań dla materiałów polimerowych, które składają się głównie z laktydu, glikolidu, węglanu trimetyleny oraz  $\epsilon$ -kapolaktonu. Są one szeroko stosowane jako nici chirurgiczne, zszywki chirurgiczne, śruby kostne, skafoldy w inżynierii tkankowej czy systemy uwalniania leków [3].

# RADIATION STERILIZATION OF BIORESORBABLE COPOLYMERS WITH THE CYTOSTATIC DRUG

MONIKA MUSIAŁ-KULIK<sup>1,2\*</sup>, KATARZYNA GĘBAROWSKA<sup>1</sup>, HENRYK JANECZEK<sup>1</sup>, MAŁGORZATA PASTUSIAK<sup>1</sup>, JANUSZ KASPERCZYK<sup>1,2</sup>, PIOTR DOBRZYŃSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CENTRE OF POLYMER AND CARBON AND MATERIALS, POLISH ACADEMY OF SCIENCES, 34 M. SKŁODOWSKIEJ-CURIE STR., 41-819 ZABRZE, POLAND

<sup>2</sup> DEPARTMENT OF BIOPHARMACY, MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, 1 NARCYZÓW STR., 41-200 SOSNOWIEC, POLAND

\* E-MAIL: MONIKA.MUSIAL-KULIK@CMPW-PAN.EDU.PL

## Abstract

There are many methods of sterilization approved for medical devices. However, the most usable methods of synthetic, bioresorbable polymers sterilization seem to be gamma radiation and electron beam irradiation (EB). The aim of this work was to determine the impact of mentioned methods on three types of matrices - containing 3%, 5% of paclitaxel and also drug free matrices. The studied matrices were obtained from two poly(L-lactide-co-trimethylene-carbonates) synthesized at 150°C (P1) and 120°C (P2). No significant differences of comonomers' composition were observed in sterile and non-sterile matrices containing paclitaxel as well as drug free matrices. The decrease of the glass transition temperature ( $T_g$ ) resulted from decrease of the lactidyl and carbonate units' content and the  $M_n$  loss after radiation. Small dissimilarities of physicochemical features between gamma and EB radiated matrices were noticeable. Thus, the obtained data showed that better method of sterilization of poly(L-lactide-co-trimethylene carbonates) seems to be electron beam radiation.

**Keywords:** poly(L-lactide-co-trimethylene carbonate), paclitaxel, gamma irradiation, electron beam radiation, sterilization

[Engineering of Biomaterials 118 (2013) 18-22]

## Introduction

Paclitaxel (PTX), well known for almost 40 years, possesses many sites of action. It inhibits mitosis of smooth muscle cells through binding the  $\beta$ -tubulin and though stabilizing microtubules but can also influence the immune cells (natural killer cells, dendritic cells, macrophages) [1]. Paclitaxel has anti-neoplastic as well as anti-restenotic abilities for as much it inhibits smooth muscle cells proliferation and migration [2].

Advance in medicine and pharmacy contributes to search new applications of polymer materials which are mostly composed of lactide, glycolide, trimethylene carbonate and  $\epsilon$ -caprolactone. They are widely used as sutures, staples, bone screws, scaffolds in tissue engineering or drug delivery systems [3]. Controlled delivery systems of paclitaxel may serve as totally bioresorbable coronary artery stents or anticancer implants.

Systemy kontrolowanego uwalniania paklitakselu mogą służyć jako całkowicie bioresorbowalne stenty tętnic wieńcowych oraz przeciwnowotworowe implanty.

Istnieje wiele metod sterylizacji wyrobów medycznych m.in. cieplne (suche gorące powietrze lub gorąca para wodna np. autoklawowanie), chemiczne (np. tlenek etylenu), ciśnieniowe oraz napromienianie (promieniowanie gamma, promieniowanie X, wiązka elektronów, wiązka jonów) [4]. To zrozumiałe, że wyroby otrzymane z bioresorbowalnych polimerów nie powinny być sterylizowane w wysokiej temperaturze ze względu na pogorszenie się ich właściwości mechanicznych. Tlenek etylenu również nie jest zalecany ze względu na swoje pozostałości. Najbardziej użytecznymi dla syntetycznych polimerów wydają się być metody sterylizacji wykorzystujące promieniowanie gamma oraz wiązkę elektronów (EB).

## Materialy i metody

Dwa rodzaje poli(L-laktydo-ko-węglanu trimetyleny) (PLATMC) zostały zsyntezowane w Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych PAN w Zabrzu przy użyciu  $Zr(Acac)_4$  jako niskotoksycznego inicjatora kopolimeryzacji z otwarciem pierścienia. Reakcja była przeprowadzona w  $150^\circ C$  (P1) oraz w  $120^\circ C$  (P2), stosunek inicjatora do monomerów (I/M) wynosił 1/1000. Paklitaxel (PTX) zakupiono w LC Laboratories®.

Odpowiednią ilość kopolimeru i paklitakselu rozpuszczono osobno w chlorku metylenu (DCM). Następnie te dwa roztwory zmieszano, odgazowano pod zmniejszonym ciśnieniem i wylano na teflonowe formy. Filmy wysuszono w temperaturze pokojowej i pod zmniejszonym ciśnieniem. 10 mm krążki zostały wycięte z filmów. Matryce bez leku zostały również przygotowane zgodnie z procedurą opisaną powyżej.

Każdy rodzaj matrycy: 0%, 3% oraz 5% PTX był hermetycznie zamknięty i napromieniany przy użyciu wiązki elektronów oraz promieniowania gamma.

Próbki sterylizowano wiązką wysokoenergetycznych elektronów o energii 10 MeV generowaną przez akcelerator elektronowy.  $^{60}Co$  stanowił źródło promieniowania gamma, moc dawki wynosiła 8,28 kGy/h. Oba źródła promieniowania dostarczyły dawkę 25 kGy.

Sterylnie i niesterylne matryce zbadano z wykorzystaniem magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR), różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) oraz chromatografii żelowej (GPC).

Chromatografia żelowa (GPC, Physics SP 8800) posłużyła do zbadania liczbowo średnich mas cząsteczkowych ( $M_n$ ) oraz rozrzutu mas cząsteczkowych (D). Rozpuszczalnikiem był chloroform.

Termiczne właściwości, takie jak temperatura zeszklenia  $T_g$ , temperatura topnienia  $T_m$  oraz entalpia topnienia  $\Delta H_m$  oznaczono za pomocą skaningowego kalorymetru różnicowego (TA DSC 2010, TA Instruments, New Castle, DE). Matryce skanowano dwukrotnie w zakresie  $-50$  do  $200^\circ C$  (szybkość ogrzewania  $20^\circ C/min$ ). Próbki szybko schładzano do  $-100^\circ C$  w ciekłym azocie w celu otrzymania amorficznych kopolimerów. DSC kalibrowano standardami galu i indu.  $T_m$  oraz  $\Delta H_m$  wyznaczono z pierwszego skanu, natomiast  $T_g$  z drugiego.

Zmiany w składzie komonomerów, średniej długości bloków laktydylowych ( $^{L-L}$ ) i węglanowych ( $^{C-C}$ ) określono na podstawie widm  $^1H$  NMR zarejestrowanych przez nadprzewodzący spektrometr magnetycznego rezonansu jądrowego wysokiej rozdzielczości – 600 MHz (AVANCE II Ultra Shield Plus, Bruker).  $CDCl_3$  był rozpuszczalnikiem, tetrametylosilan (TMS) – standard wewnętrzny.

There are many methods of sterilization approved for medical devices as heat (dry heat or moist heat such as autoclaving), chemicals (e.g. ethylene oxide), pressure or irradiation (gamma rays, X rays, electron beam, ion beams) [4]. It is understood that devices made of bioresorbable polymers should not be sterilized at high temperature because of decrease of their mechanical properties. Ethylene oxide is also not recommended due to its residues [5]. The most usable methods for synthetic polymers sterilization seem to be gamma radiation and electron beam irradiation (EB).

## Materials and methods

Two types of poly(L-lactide-co-trimethylene carbonate) (PLATMC) were synthesized at the Centre of Polymer and Carbon Materials, PAScs in Zabrze.  $Zr(Acac)_4$  was used as a low toxic initiator of the ring-opening copolymerization. The reaction was performed at  $150^\circ C$  (P1) and  $120^\circ C$  (P2) with the initiator to monomer molar ratio (I/M) of 1/1000. Paclitaxel (PTX) was purchased from LC Laboratories®.

Appropriate amount of copolymer and paclitaxel were dissolved separately in methylene chloride (DCM). Then the two solutions were mixed, degassed under reduced pressure and cast on Teflon plates. The films were dried at ambient temperature and under reduced pressure afterwards. 10 mm discs were cut from the films. Drug-free matrices were also prepared, according to the procedure described above.

Each kind of matrix: 0%, 3% and 5% of PTX was hermetically sealed and irradiated with the use of electron beam as well as gamma rays.

The samples were sterilized by an electron beam with the accelerating voltage of 10 MeV generated in the electron accelerator.  $^{60}Co$  constituted the source of gamma rays and the dose rate equalled 8.28 kGy/h. Both sources of radiation delivered the radiation dose of 25 kGy.

Sterilized and non-sterilized matrices were studied by means of nuclear magnetic resonance (NMR), differential scanning calorimetry (DSC) and gel permeation chromatography (GPC).

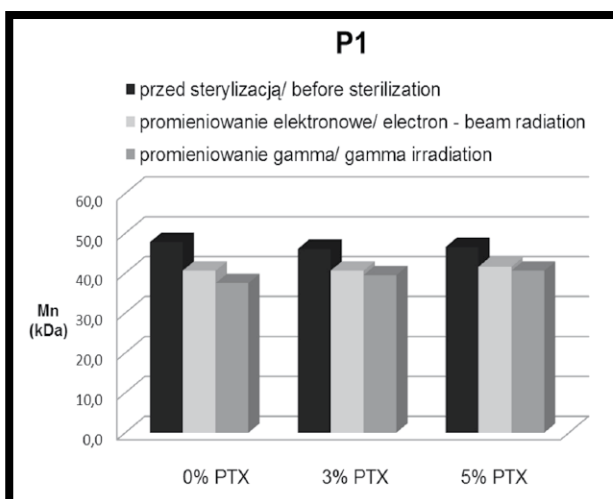
Gel permeation chromatograph (GPC, Physics SP 8800) was employed to study the number average molecular weight ( $M_n$ ) and molecular weight dispersity (D). Chloroform was used as the solvent.

Thermal properties such as glass transition temperature ( $T_g$ ), melting temperature ( $T_m$ ) and melting enthalpy ( $\Delta H_m$ ) were estimated with the use of differential scanning calorimeter (TA DSC 2010, TA Instruments, New Castle, DE). The matrices were scanned twice in the range of  $-50^\circ C$  to  $200^\circ C$  (heating rate of  $20^\circ C/min$ ). The samples were quenched to  $-100^\circ C$  in liquid nitrogen in order to obtain amorphous copolymers. DSC was calibrated using high purity gallium and indium standards.  $T_m$  and  $\Delta H_m$  was obtained from the first scan while  $T_g$  from the second scan.

The changes of copolymers composition, the average length of lactidyl ( $^{L-L}$ ) and carbonate ( $^{C-C}$ ) units were determined from  $^1H$  NMR spectra recorded at superconducting high-resolution nuclear magnetic resonance spectrometer – 600 MHz (AVANCE II Ultra Shield Plus, Bruker).  $CDCl_3$  was the solvent, tetrametylsilane (TMS) – the internal standard.

Celem niniejszej pracy było porównanie wpływu jonizacyjnych metod sterylizacji na bioresorbowalne matryce zawierające paklitaksel. Dwa rodzaje poli(L-laktydo-kowęgłanu trimetyleny) (PLATMC) zsyntezowane w różnych temperaturach: 150°C - P1 (75LA:25TMC) oraz w 120°C - P2 (74LA:26TMC) wykorzystano do przygotowania matryc z 3% oraz 5% paklitakselu, a także matryc niezawierających leku. Oba kopolimery składały się z laktydylowych, jak i węglanowych jednostek, lecz różniły się właściwościami fizykochemicznymi, takimi jak liczbowo średnia masa cząsteczkowa ( $M_n$ ), rozrzut mas cząsteczkowych (D), temperatura zeszczenia ( $T_g$ ) i temperatura topnienia ( $T_m$ ). Kopolimery posiadały niemalże identyczny stosunek komonomerów oraz średnią długość bloków węglanowych, podczas gdy średnia długość bloków laktydylowych była odmienna. Dowiedziono, iż mikrostruktura łańcucha ma wpływ na degradację hydrolytyczną polimerów, ale również na profil uwalniania leku [6,7].

RYS. 1 i 2 prezentują  $M_n$  każdego typu matrycy przed i po procesie sterylizacji za pomocą wiązki elektronów oraz promieniowania gamma. Wszystkie badane materiały wykazywały spadek  $M_n$  bez względu na zawartość paklitakselu i metodę napromieniania. Jakkolwiek, nie zaobserwowano znaczących zmian w rozrzucie mas cząsteczkowych (D). Matryce napromieniane promieniami gamma charakteryzowały się nieznacznie niższymi masami cząsteczkowymi niż matryce sterylizowane EB. Wyższą utratę  $M_n$  obserwowano w przypadku matryc P2 (74LA:26TMC). Spadek  $M_n$  może wynikać z degradacji głównych łańcuchów spowodowanej radiacją [8]. Wszystkie matryce były hermetycznie zamknięte, dlatego też wyklucza się wpływ rodników tlenowych na degradację. Ponadto, spadek  $M_n$  matryc bez paklitakselu był nieco wyższy niż w matrycach z lekiem. Zjawisko to można tłumaczyć zmienioną organizacją łańcuchów polimerowych, wynikającą z obecności cząsteczek leku, a przez to większą ich odpornością na promieniowanie.

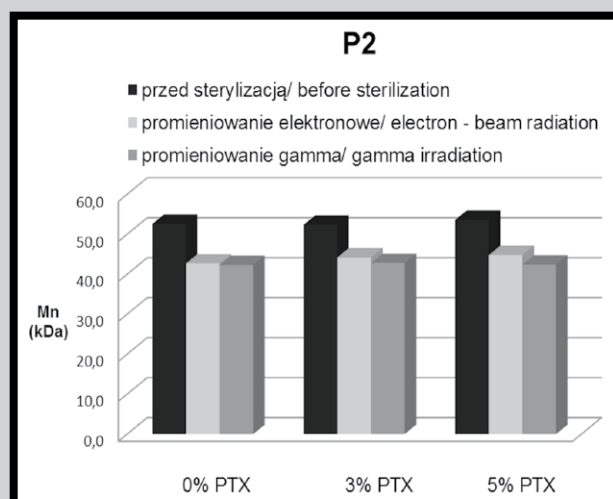


RYS. 1. Porównanie średnich liczbowo mas cząsteczkowych ( $M_n$ ) matryc P1 (0%, 3% oraz 5% PTX) niesterylnych oraz poddanych sterylizacji wiązką elektronów i promieniowaniu gamma.

FIG. 1. Comparison of the number average molecular weight ( $M_n$ ) of non-sterile P1 matrices (0%, 3% and 5% PTX) and matrices after electron beam radiation as well as gamma radiation.

The aim of this study was to compare the influence of ionizing methods of sterilization on paclitaxel-containing bioresorbable matrices. Two kinds of poly(L-lactide-co-trimethylene carbonates) (PLATMC) synthesized at different temperatures: 150°C – P1 (75LA:25TMC) and 120°C – P2 (74LA:26TMC) were applied to prepare matrices with 3% and 5% of PTX as well as drug free matrices. Both copolymers consisted of lactidyl and carbonate units but differed in physicochemical properties such as the average molecular weight, polydispersity index, glass transition temperature ( $T_g$ ) and melting temperature ( $T_m$ ). The copolymers characterized almost the same comonomeric ratio and the average length of carbonate units before irradiation, while they varied in the average lengths of lactidyl units. It was reported that chain microstructure has an impact on hydrolytic degradation of polymers but also on drug release profile [6,7].

FIGs 1 and 2 present  $M_n$  changes of each kind of matrix before and after sterilization with the use of accelerated electrons and gamma rays. All of the studied materials showed decrease of  $M_n$ , regardless of paclitaxel content and methods of radiation. However, no significant changes of dispersity index (D) were observed. The gamma irradiated matrices exhibited slightly lower molecular weight than matrices sterilized with EB. Higher loss of molecular weight is observed in the case of P2 matrices (74LA:26TMC). The decrease of  $M_n$  can result from main-chain degradation caused by the radiation [8]. All of the matrices were hermetically packed thus the impact of free oxygen radicals on chain degradation was excluded [9]. Furthermore,  $M_n$  decrease of matrices without paclitaxel was slightly higher than drug-containing matrices. This occurrence may be explained by different arrangement of polymer chains due to the presence of drug molecules, which influenced their higher resistance to radiation.



RYS. 2. Porównanie średnich liczbowo mas cząsteczkowych ( $M_n$ ) matryc P2 (0%, 3% oraz 5% PTX) niesterylnych oraz poddanych sterylizacji wiązką elektronów i promieniowaniu gamma.

FIG. 2. Comparison of the number average molecular weight ( $M_n$ ) of non-sterile P2 matrices (0%, 3% and 5% PTX) and matrices after electron beam radiation as well as gamma radiation.

**TABELA 1. Termiczna charakterystyka sterylnych i niesterylnych matryc.**  
**TABLE 1. Thermal characteristic of sterile and non-sterile matrices.**

Rodzaj matrycy Type of matrice	Przed sterylizacją Before sterilization			Po sterylizacji / After sterilization					
				EB			gamma		
	$T_g$ [°C]	$T_m$ [°C]		$T_g$ [°C]	$T_m$ [°C]		$T_g$ [°C]	$T_m$ [°C]	
P1 0% PTX	44.0	94.0		43.7	90.0		43.3	91.0	
	43.4	101.0		42.0	93.0		42.4	86.0	
	44.4	111.0		43.9	93.9		43.2	101.9	
P2 0% PTX	45.0	148.0	162.0	43.0	147.0	158.6	42.5	147.0	158.1
	46.5	143.0	158.6	44.2	143.9	158.6	44.0	147.6	158.0
	46.2	140.8	159.3	44.0	156.3	156.3	45.8	142.0	157.0

$T_g$  - temperatura zeszklenia (drugi skan DSC) / glass-transition temperature (second DSC scan)  
 $T_m$  - temperatura topnienia (pierwszy skan DSC) /  $T_m$  - melting temperature (first DSC scan)

**TABELA 2. Średnie długości bloków laktydylowych i węglanowych ( $l_{LL}$  i  $l_{TMC}$ ) przed i po sterylizacji matryc P1 oraz P2.**  
**TABLE 2. The average lengths of lactidyl and carbonate units ( $l_{LL}$  and  $l_{TMC}$ ) before and after sterilization of P1 and P2 matrices.**

Rodzaj matrycy Type of matrice	Przed sterylizacją / Before sterilization		Po sterylizacji / After sterilization			
			EB		gamma	
	$l_{LL}$	$l_{TMC}$	$l_{LL}$	$l_{TMC}$	$l_{LL}$	$l_{TMC}$
P1 0% PTX	3.11	1.04	3.10	1.03	3.06	1.02
	3.12	1.04	3.09	1.02	2.98	1.00
	3.11	1.04	3.07	1.03	3.06	1.00
P2 0% PTX	3.65	1.28	3.62	1.27	3.42	1.08
	3.39	1.19	3.25	1.08	3.24	1.02
	3.42	1.20	3.42	1.14	3.17	1.00

Analizy DSC ujawniły, iż matryce wykonane z P1 oraz P2 były semikrystaliczne, ponieważ wszystkie wykazywały endotermie topnienia i temperatury zeszklenia. Termiczna charakterystyka sterylnych i niesterylnych matryc prezentowana jest w TABELI 1. Matryce P2 cechowały się dwoma endotermami topnienia. Chociaż istnieje wiele wyjaśnień takiego zjawiska [10,11] założono, iż matryce P2 zawierały dwie różne formy krystaliczne. Wyższa  $T_m$  była prawdopodobnie związana z kryształami tworzonymi przez jednostki laktydylowe, a niższa  $T_m$  z kryształami zbudowanymi z jednostek laktydylowych oraz węglanowych.

Jako rezultat utraty  $M_n$  napromieniane matryce miały nieco niższe  $T_g$ , niż matryce przed napromienianiem. Ten efekt był bardziej widoczny w matrycach przygotowanych z P2. Temperatury topnienia matryc P1 oraz P2 były niższe po procesie radiacji. Całkowita  $\Delta H_m$  wzrosła w matrycach P2 zawierających paklitaksel po obu typach promieniowania, podczas gdy spośród matryc P1 najwyższą  $\Delta H_m$  obserwowano w matrycach napromienianych promieniami gamma (wyników nie pokazano), bez względu na zawartość leku.

Widma  $^1H$  NMR nie pokazały różnic w udziale jednostek komonomerycznych pomiędzy matrycami P1 przed i po sterylizacji. Napromieniane matryce P2 wyróżniały się wzrostem ilości jednostek laktydylowych i ubytkiem jednostek węglanowych, wartości te były nieznacznie wyższe dla matryc po sterylizacji promieniowaniem gamma. Matryce P1 i P2 cechowały się spadkiem średniej długości bloków laktydylowych  $l_{LL}$  oraz węglanowych  $l_{TMC}$  (TABELA 2). Średnie długości bloków były mniejsze po promieniowaniu gamma, co korespondowało z ubytkiem masy cząsteczkowej. Doniesiono, że promieniowanie gamma powoduje rozerwanie łańcuchów, przez co wpływa również na fizykochemiczne właściwości napromienianych polimerów [9]. Matryce zawierające lek były bardziej wrażliwe na radiację, ponieważ średnie długości bloków  $l_{LL}$  i  $l_{TMC}$  były mniejsze niż matryc bez leku. Jakkolwiek, cząsteczka leku nie uległa zmianie w czasie sterylizacji.

DSC analysis showed that P1 and P2 matrices were semicrystalline since all of them exhibited melting endotherms and glass transition temperatures. The thermal characteristics of sterile and non-sterile matrices are presented in TABLE 1. P2 matrices revealed two melting endotherms. Although there are many possible explanations of this phenomenon [10,11], it is assumed that P2 matrices contained two different crystalline forms. The higher  $T_m$  was probably concerned with crystals composed of lactidyl units, while lower  $T_m$  with crystals consisting of both lactidyl and carbonate units.

As a result of  $M_n$  decrease, the radiated matrices showed slightly lower  $T_g$  than non-radiated ones. This effect was more significant in the case of matrices obtained from P2. The melting temperatures of P1 and P2 matrices were lower after irradiation. Total  $\Delta H_m$  of P2 matrices increased in drug-free matrices and decreased in matrices with paclitaxel after both types of radiation, while among P1 matrices the highest  $\Delta H_m$  were observed in gamma irradiated matrices (data not shown), regardless of drug loading.

The  $^1H$  NMR spectra revealed no differences in comonomer molar ratio between all of the P1 matrices before and after sterilization. The P2 matrices distinguished lactidyl units content increase of and carbonate units content decrease after radiation and these values were slightly higher for matrices irradiated with gamma rays. P1 and P2 matrices showed decrease of the average length of lactidyl units  $l_{LL}$  after sterilization as well as the average length of carbonate units  $l_{TMC}$  (TABLE 2). The average block lengths were more reduced after gamma irradiation, which corresponded to the molecular weight loss of the studied matrices. It has been reported that gamma rays induce chain-scission and thus influence the physicochemical properties of irradiated polymers [9]. Drug-loaded matrices were more susceptible to radiation since the average block lengths were lower than  $l_{LL}$  and  $l_T$  of drug free matrices. However, the drug molecule did not change after sterilization.

Nie obserwowano znaczących różnic w składzie jednostek komonomerycznych matryc sterylnych i niesterylnych, zawierających lek i matryc bez leku. Obniżenie się temperatury zeszklenia  $T_g$  wynikało ze spadku średniej długości bloków laktydylowych i węglanowych oraz utraty  $M_n$  po procesie sterylizacji. Otrzymane wyniki pokazują, iż oba kopolimery były bardziej odporne na radiację wiązką elektronową. Mimo to, zauważalne były niewielkie różnice we właściwościach fizykochemicznych matryc sterylizowanych promieniami gamma i EB.

## Wnioski

Dwa rodzaje kopolimerów wykorzystano do otrzymania matryc z 3% i 5% zawartością paklitakselu oraz matryc bez leku, które sterylizowano z użyciem wiązki elektronów oraz promieniowania gama. Dawka promieniowania wynosiła 25 kGy. Wiązka elektronów oraz promieniowanie gamma wpłynęły na średnią liczbowo masę cząsteczkową ( $M_n$ ), właściwości termiczne oraz średnie długości bloków laktydylowych i węglanowych ( $f_{LL}$ ,  $f_{TMC}$ ). Obie metody sterylizacji spowodowały spadek wspomnianych parametrów. Mało istotne zmiany w stosunku komonomerów obserwowano jedynie w przypadku matryc P2. Zawartość paklitakselu spowodowała nieznacznie mniejszy ubytek masy cząsteczkowej i większy spadek średniej długości jednostek laktydylowych ( $f_{LL}$ ) w porównaniu z matrycami bez leku. Uzyskane wyniki pokazują, iż napromienianie wiązką elektronową wydaje się być lepszą metodą sterylizacji poli(L-laktydo-ko-węglanu trimetyleny).

Przeprowadzone badania wskazują na konieczność wyboru odpowiedniej metody sterylizacji materiałów polimerowych, ponieważ podczas procesu sterylizacji może dojść do zmian w ich właściwościach fizykochemicznych. To z kolei determinuje zmiany w procesie degradacji i pośrednio wpływa na profil uwalniania substancji leczniczej.

## Podziękowania

Pracę zrealizowano w ramach badań finansowanych przez Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach (KNW-1-027/D/2/0) oraz Narodowe Centrum Nauki (NN 405 682 340).

No significant differences of comonomers' composition were observed in sterile and non-sterile matrices containing paclitaxel as well as drug free matrices. The decrease of the glass transition temperature ( $T_g$ ) resulted from decrease of the average lactidyl and carbonate block length and the  $M_n$  loss after radiation. The obtained data showed that both copolymers were more resistant to EB radiation. Nevertheless, small dissimilarities of physicochemical features between gamma and EB radiated matrices were noticeable.

## Conclusions

Two kinds of copolymers were used to obtain matrices with 3%, 5% of PTX and drug free matrices that were sterilized with the use of electron beam as well as gamma rays. The radiation dose was 25 kGy. Electron beam radiation and gamma rays influenced the number average molecular weight ( $M_n$ ), thermal properties and the average length of lactidyl and carbonate units ( $f_{LL}$ ,  $f_{TMC}$ ). Both methods of sterilization caused decrease in all of the mentioned parameters. The insignificant changes of comonomeric ratios were observed only in P2 matrices. Paclitaxel content caused less significant molecular weight decrease and higher decrease of the average length of lactidyl units ( $f_{LL}$ ) as compared to matrices without drug. The obtained data showed that electron beam radiation seems to be a better method of sterilization for poly(L-lactide-co-trimethylene carbonates).

Research indicated the necessity of selecting an appropriate sterilization method of polymeric materials, since during the sterilization process some changes of their physicochemical properties may occur. This in turn determines the changes of the degradation process and indirectly affects the drug release profile.

## Acknowledgments

*This study has been financially supported by Medical University of Silesia in Katowice (Grant No: KNW-1-027/D/2/0) and National Science Centre (Grant No: NN 405 682 340).*

## Piśmiennictwo

- [1] Javeed A., Asharf M., Riaz A., Ghafoor A., Afzal S., Mukhtar M.M.: Paclitaxel and immune system. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 38 (2009) 283-290.
- [2] Kraitzer A., Kloog Y., Zilberman M.: Approaches for prevention of restenosis. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 85B (2008) 583-603.
- [3] Nair L. S., Laurencin Ct.: Biodegradable polymers as biomaterials. *Progress in Polymer Science* 32 (2007) 762-798.
- [4] Edlund U., Albertsson A.-C.: Degradable Polymer Microspheres for Controlled Drug Delivery. *Advances in Polymer Science* 2002 (157) 67-112.
- [5] Mendes G.C.C., Brandão T.R.S., Silva C.L.M.: Ethylene oxide sterilization of medical devices: A review, *American Journal of Infection Control* 35 (2007) 574-58.
- [6] Hua J., Gębarowska K., Dobrzyński P., Kasperczyk J., Wei J., Li S.: Influence of chain microstructure on the hydrolytic degradation of copolymers from 1,3-trimethylene carbonate and L-lactide. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 47 (2009) 3869-3879.

## References

- [7] Jelonek K., Kasperczyk J., Li S., Dobrzyński P., Jarząbek B.: Controlled poly(L-lactide-co-trimethylene carbonate) delivery system of cyclosporine A and rapamycin – the effect of copolymer chain microstructure on drug release rate. *International Journal of Pharmaceutics* 414 (2011) 203-209.
- [8] Loo S.C.J., Ooi C.P., Boey Y.C.F.: Radiation effects on poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) and poly(L-lactide) (PLLA). *Polymer Degradation and Stability* 83 (2004) 259-265.
- [9] Montanari L., Cilurzo F., Valvo L., et al.: Gamma irradiation effect on stability of poly(lactide-co-glycolide) microspheres containing clonazepam. *Journal of Controlled Release* 75 (2001) 317-330.
- [10] Qiu Z., Motonori Komura M., Takayuki Ikehara T., Toshio Nishi.: DSC and TMDSC study of melting behaviour of poly(butylene succinate) and poly(ethylene succinate). *Polymer* 44 (2003) 7781-7785.
- [11] Turska E., Janeczek H.: Liquid-induced crystallization of poly(2,6-dimethyl-1,4-phenylene ether). *Polymer* 19 (1978) 81-84.