

OCENA KONCENTRACJI, TRWAŁOŚCI I TYPU WOLNYCH RODNIKÓW POWSTAJĄCYCH W TRAMADOLU POD WPŁYWEM WYSOKIEJ TEMPERATURY

BARBARA PILAWA, SŁAWOMIR WILCZYŃSKI, PAWEŁ RAMOS, ANNA TOMASIK

ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY W KATOWICACH,
¹KATEDRA I ZAKŁAD BIOFARMACJI, UL. NARCYZÓW 1,
 41-200 SOSNOWIEC, POLSKA
²KATEDRA I ZAKŁAD BIOFIZYKI, UL. JEDNOŚCI 8,
 41-200 SOSNOWIEC, POLSKA

Wpływ wysokiej temperatury na substancje biologicznie czynne jest szczególnie istotny w kontekście termicznej sterylizacji leków. Wysoka temperatura, zabójcza dla mikroorganizmów, może powodować zrywanie się wiązań chemicznych a co za tym idzie powstawanie produktów rozpadu. Wśród produktów rozpadu powstających pod wpływem działania wysokiej temperatury w substancjach leczniczych szczególnie miejsce zajmują wolne rodniki. Ich wyjątkowa pozycja wynika z faktu, iż nawet niewielkie koncentracje wolnych rodników mogą powodować niebezpieczne następstwa podczas farmakoterapii zanieczyszczonymi substancjami leczniczymi. Ważny jest fakt, że wolne rodniki mogą negatywnie wpływać na pacjenta nawet w bardzo niewielkich stężeniach. Dotyczy to zwłaszcza leków podawanych parenteralnie, między innymi tramadolu.

Tramadol jest syntetycznym lekiem przeciwbólowym o opioidowym i nieopiodowym mechanizmie działania [1-2].

Metodą, która pozwala na ilościowe oraz jakościowe pomiary wolnych rodników w termicznie sterylizowanych lekach jest spektroskopia elektronowego rezonansu paramagnetycznego EPR. Sterylizację termiczną tramadolu wykonano w suszarce z wymuszonym obiegiem powietrza w temperaturze 180°C. Czas sterylizacji wynosił 30 minut. Próbkę miały postać sproszkowaną. Pomiary EPR wykonano za pomocą spektrometru elektronowego rezonansu paramagnetycznego na pasmo X (9.3GHz) produkcji RADIOPAN - Poznań. Zastosowano modulację pola magnetycznego wynoszącą 100kHz. Częstotliwość promieniowania mikrofalowego rejestrowano miernikiem MCM 101 produkcji RADIOPAN - Poznań.

Widma EPR rejestrowano w postaci pierwszej pochodnej absorpcji przy wysokim tłumieniu 15dB, aby uniknąć nasycenia mikrofalowego linii. Całkowita moc mikrofalowa wytwarzana przez klistron wynosiła około 2.2mW. Wyznaczono następujące parametry widm EPR: amplitudę linii, szerokość linii oraz współczynnik rozszczepienia spektroskopowego g. Określono również koncentrację wolnych rodników oraz ich stabilność. Wzorcem zewnętrznym służącym wyznaczeniu koncentracji wolnych rodników w termicznie sterylizowanym tramadolu była ultramarina. Natomiast wzorcem pomocniczym na trwale umieszczone w wnęce rezonansowej był kryształ rubinu. Określono także wpływ mocy mikrofalowej na podstawowe parametry widm EPE – amplitudę i szerokość linii EPR.

EVALUATION OF CONCENTRATION, STABILITY AND TYPES OF FREE RADICALS GENERATED IN TRAMADOLE EXPOSED TO HIGH TEMPERATURE

BARBARA PILAWA, SŁAWOMIR WILCZYŃSKI, PAWEŁ RAMOS, ANNA TOMASIK

MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA IN KATOWICE,
¹ DEPARTMENT OF BIOPHARMACY,
 1 NARCYZOW STR., 41-200 SOSNOWIEC, POLAND
² DEPARTMENT OF BIOPHYSICS,
 8 JEDNOŚCI STR., 41-200 SOSNOWIEC, POLAND

Influence of high temperature on biologic active substances is particularly important in context of thermally sterilized drugs. High temperature, lethal for microorganisms, can cause cleavage of chemical bonds and consequent degradation products forming. Among degradation products formed under the influence of high temperature, free radicals are particularly important. Its special status result from fact that even very few free radicals concentrations can cause dangerous sequences during contaminated substances pharmacotherapy. It is important that free radicals even in very few concentrations can have negative influence on patients. It concerns especially parenterally administrated drugs, inter alia tramadole.

Tramadole is a synthetic drug that acts analgesic with opioid and non-opioid effect [1,2].

EPR spectroscopy brings information about types and amount of free radicals in thermally sterilized drugs. Thermal sterilization of tramadole was performed in hot air oven with air circulating at 180°C. Sterilization was performed during 30 minutes. Powdered samples were analyzed. Measurements of EPR spectra were done by the use of EPR spectrometer produced by RADIOPAN Firm (Poznań). Modulation of magnetic field of 100kHz was applied. Microwave frequency was evaluated using MCM 101 frequency recorder produced by RADIOPAN - Poznań. The first-derivative EPR spectra were recorded with high microwave power attenuation 15dB to avoid the microwave saturation. Total microwave power produced by klystron was about 2.2mW. The following EPR parameters were determined: amplitude, linewidth and g-factor. Free radicals concentration and stability were also evaluated. Ultramarine was used as reference of paramagnetic centers concentration. A ruby crystal, permanently placed in resonance cavity, was the second reference. Influence of microwave power on basic EPR parameters: amplitude and linewidth of EPR lines were tested.

For not heated tramadole EPR spectra were not observed. It indicates absence of stabile paramagnetic centers in initial substance. EPR spectra of the studied drug sterilized at 180°C have asymmetric, broad lines what indicates strong spin-spin magnetic interactions in thermally sterilized tramadole. These interactions causing broadening EPR lines and are characteristic for close located free radicals in molecular structure of the drug.

Dla tramadolu nie poddanego obróbce termicznej, nie obserwowano widm EPR. Oznacza to, że w badanej substancji leczniczej nie występują trwałe centra paramagnetyczne.

Widma EPR badanego leku sterylizowanego w temperaturze 180°C stanowią asymetryczne szerokie linie (RYS. 1), co wskazuje na silne oddziaływania magnetyczne spin-spin w sterylizowanym termicznie tramadolu. Oddziaływania te poszerzają linie EPR i są charakterystyczne dla wolnych rodników położonych blisko siebie w strukturze molekularnej leku.



RYS. 1. Widmo EPR tramadolu rejestrowane przy tłumieniu 15 dB w dniu sterylizacji termicznej w temperaturze 180°C. B – indukcja pola magnetycznego.

FIG. 1. EPR spectrum of tramadol recorded at 15dB microwave power attenuation in the day of sterilization at 180°C temperature. B – magnetic field induction.

Zarejestrowano wpływ mocy mikrofalowej na amplitudę i szerokość linii EPR. Taki charakter zmian (RYS. 2) wskazuje, że wolne rodniki w termicznie sterylizowanym tramadolu są rozmieszczone jednorodnie w całej objętości próbki. Zaobserwowano wpływ czasu przechowywania na koncentrację wolnych rodników (proporcjonalną do wartości amplitudy linii EPR) w termicznie sterylizowanym tramadolu (RYS. 3). Ilość wolnych rodników maleje w kolejnych dniach pomiarowych. Zjawisko to może być związane z procesami rekombinacji pomiędzy blisko siebie położonymi wolnymi rodnikami oraz interakcji z paramagnetycznym tlenem atmosferycznym.

Nie zaobserwowano wpływu czasu przechowywania na szerokość linii EPR tramadolu.

Wyznaczono współczynnik rozszczepienia spektroskopowego g świadczący o typie wolnych rodników znajdujących się w próbce. Otrzymany wynik $g=0,0027$ sugeruje, że niesparowane elektrony zlokalizowane są na atomach tlenu. Nie zaobserwowano wpływu czasu przechowywania na średni współczynnik rozszczepienia spektroskopowego g .

Wszystkie przedstawione dane wskazują, że wysoka temperatura (180°C) powoduje generowanie się dużej ilości wolnych rodników. Asymetryczne, złożone linie EPR wskazują na istnienie kilku typów wolnych rodników w tramadolu poddanemu obróbce termicznej. Poszerzenie dipolowe linii EPR sugerują niewielkie odległości pomiędzy wolnymi rodnikami. Nasylenie mikrofalowe widm EPR wskazuje na jednorodne rozmieszczenie wolnych rodników w sterylizowanym termicznie tramadolu. Wraz z czasem przechowywania koncentracja wolnych rodników maleje.

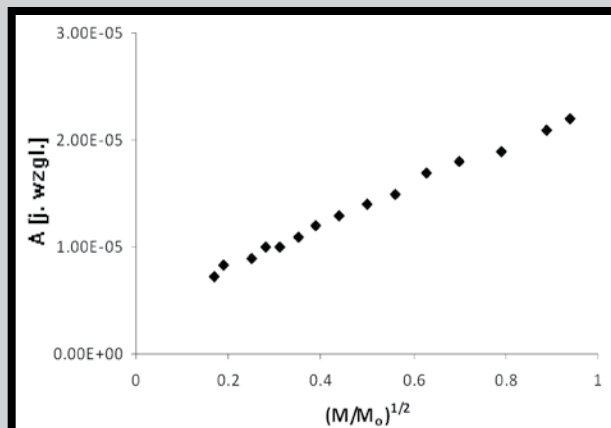
[Inżynieria Biomateriałów, 81-84, (2008), 63-64]

Piśmiennictwo

- [1] Podlewski J.K., Chwalibogowska-Podlewska A., Leki współczesnej terapii, Split Trading, Warszawa, 2008.
[2] Zejc A., Gorczyca M., Chemia leków, PZWL, Warszawa 2002.

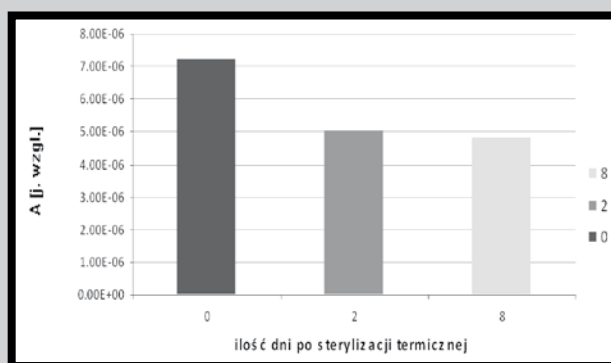
References

- [1] Podlewski J.K., Chwalibogowska-Podlewska A., Leki współczesnej terapii, Split Trading, Warszawa, 2008.
[2] Zejc A., Gorczyca M., Chemia leków, PZWL, Warszawa 2002.



RYS. 2. Wpływ mocy mikrofalowej na amplitudę A linii EPR sterylizowanego tramadolu.

FIG. 2. Influence of microwave power on amplitude A in sterilized tramadol.



RYS. 3. Wpływ czasu przechowywania na koncentrację wolnych rodników w termicznie sterylizowanym tramadolu.

FIG. 3. Influence of storage time on free radicals concentration in thermally sterilized tramadol.

Influence of microwave power on EPR line amplitude was observed. This kind of relationship indicates that free radicals in thermally sterilized tramadol are homogeneously located in whole sample volume. Influence of sample storage on free radicals concentration (proportionally to amplitude value) was observed. This phenomenon can be related with recombination processes between close located to each other free radicals and interactions with paramagnetic oxygen molecules.

Influence of time of storage on EPR linewidths was not observed. g -factor, free radical type determining, was evaluate. Determined result $g=2.0027$, suggest that unpaired electrons are located on oxygen atoms. Influence of time of storage on average g -factor value was not observed. All presented data point that high temperature (180°C) cause big amount of free radicals creating. Asymmetric, complex EPR lines indicate on few types of free radicals existing in tramadol expose to high temperature. Dipole boarded EPR lines suggest little distance between free radicals. Microwave saturation of EPR lines indicates homogeneous distribution of free radicals in thermally sterilized tramadol. Free radicals concentration decrease with increasing time of storage.

[Engineering of Biomaterials, 81-84, (2008), 63-64]