

Poznań, 26.06.2015 r.

**Mgr farm. Piotr Garbacki**

**Streszczenie pracy doktorskiej pt. „Wpływ sterylizacji radiacyjnej na trwałość  
wybranych cefalosporyn”**

Sterylizacja radiacyjna, bazująca na wykorzystaniu promieniowania jonizującego w dawce 25 kGy, może być alternatywnym sposobem uzyskania jałowych substancji leczniczych, jak również preparatów farmaceutycznych. Metoda ta znajduje zastosowanie przede wszystkim w procesie wyjaławiania leków podatnych na rozkład w warunkach podwyższonej temperatury i wilgotności względnej powietrza. Podstawowym ograniczeniem sterylizacji radiacyjnej jest możliwość uszkodzenia wyjaławianego materiału. Konieczne jest więc przeprowadzenie badań pozwalających na ocenę trwałości radiochemicznej każdej substancji, która ma być sterylizowana za pomocą promieniowania jonizującego.

Celem niniejszej pracy jest określenie wpływu promieniowania jonizującego na trwałość i aktywność mikrobiologiczną ceftiofuru sodowego, siarczanu cefkwinomou, cefuroksymu aksetylu, siarczanu cefoseliny, chlorowodoru cefetametu piwoksyli in substantia oraz dichlorowodoru cefepimu jednowodnego w postaci preparatu farmaceutycznego Maxipime, w skład, którego wchodzi także L-arginina.

Badane związki napromieniowano wysokoenergetyczną wiązką elektronów w dawce 25 kGy oraz w dawkach wyższych 50-400 kGy, a następnie poddano badaniom analitycznym, których celem była ocena ewentualnych zmian ich właściwości fizykochemicznych i aktywności mikrobiologicznej.

W pierwszym etapie badań wykorzystano następujące metody bezpośrednie, tzn. nie wymagające wstępnego przygotowania próbki: analiza wagowa i organoleptyczna, metody spektroskopowe (EPR, FT-IR, Raman, XRPD), metoda termiczna (DSC) i inne (SEM).

Analiza wagowa wykazała brak istotnych różnic w masie próbek badanych cefalosporyn przed i po napromieniowaniu co wskazuje, że pod wpływem promieniowania nie powstają lotne produkty rozkładu.

W badaniu organoleptycznym zaobserwowano zależne od dawki pochłoniętego promieniowania, zmiany zabarwienia badanych związków. Postać i zapach badanych leków nie uległy zmianie pod wpływem promieniowania. Tworzenie przez napromieniowane związki przezroczystych i bezbarwnych roztworów dowodzi natomiast, że ekspozycja na promieniowanie nie skutkuje powstawaniem barwnych produktów radiodegradacji, w tym także barwnych wolnych rodników.

Badanie EPR wykazało, że próbki wszystkich cefalosporyn poddanych działaniu promieniowania jonizującego w dawce 25 kGy wykazują obecność wolnych rodników oraz, że ich ilość w badanych związkach wahała się w zakresie od  $3,06 \cdot 10^{15}$  spin/g dla postaci krystalicznej cefuroksymu aksetylu do  $110,6 \cdot 10^{15}$  spin/g dla produktu leczniczego Maxipime zawierającego dichlorowoderek cefepimu jednowodny. Zaobserwowano także, duże różnice w czasie życia wolnych rodników dla poszczególnych antybiotyków. Duża ilość i krótki czas życia wolnych rodników w napromieniowanej próbce produktu leczniczego Maxipime może być związany z obecności wody hydratacyjnej i L-argininy w tym preparacie.

Widma FT-IR i Ramana napromieniowanych próbek ceftiofuru sodowego, cefuroksymu aksetylu w postaci amorficznej i krystalicznej i chlorowodoru cefetamet piwoksylu nie wykazują istotnych różnic w położeniu i kształcie poszczególnych pasm, w odniesieniu do widm zarejestrowanych dla związków nienapromieniowanych. Natomiast zmiany w widmach pozostałych cefalosporyn (siarczanu cefkwinomu, siarczanu cefoseliny i dichlorowodoru cefepimu jednowodnego) wskazują, że strukturą najbardziej podatną na rozkład pod wpływem promieniowania jonizującego jest ugrupowanie  $\beta$ -laktamowe.

Analiza XRPD wskazuje na zmiany stopnia krystaliczności i składu ilościowego dla napromieniowanych próbek cefuroksymu aksetylu krystalicznego, dichlorowodoru cefepimu jednowodnego i chlorowodoru cefetamet piwoksylu. Dla pozostałych antybiotyków stwierdzono brak istotnych różnic w położeniu i intensywności poszczególnych refleksów na ich dyfraktogramach proszkowych.

Analizie DSC poddano próbki cefalosporyn, które posiadały co najmniej jeden endotermiczny pik topnienia (wszystkie poza siarczanem cefkwinomu). Zaobserwowano zależny od dawki promieniowania spadek temperatury topnienia co może być związane z powstawaniem produktów radiolizy. Nie wykazano natomiast korelacji liniowej między temperaturą topnienia oraz entalpią procesu a zastosowaną dawką promieniowania jonizującego.

Oceniając mikrofotografie SEM badanych związków przed i po napromieniowaniu dawką 400 kGy zaobserwowano niewielkie zmiany polegające na większym zbryleniu kryształów lub na zmianie ich wielkości dla próbek ceftiofuru sodowego, siarczanu cefkwinomu, cefuroksymu aksetylu w formie krystalicznej oraz siarczanu cefoseliny. W przypadku pozostałych leków nie zauważono istotnych różnic.

Do oceny zmian zawartości analizowanych związków przed i po napromieniowaniu oraz do wyznaczenia stałych szybkości rozkładu pod wpływem promieniowania zastosowano metody chromatograficzne (HPLC i UHPLC). Zaobserwowano, że po napromieniowaniu nastąpił spadek zawartości wszystkich badanych cefalosporyn, który nie korelował jednak z pochłoniętą dawką promieniowania. Wartości stałych rozkładu wskazują, że najbardziej podatny na rozkład pod wpływem promieniowania jest cefuroksym aksetylu w postaci amorficznej, natomiast największą trwałością charakteryzuje się dichlorowodorek cefepimu jednowodny w preparacie Maxipime.

Równoległe do badań fizykochemicznych przeprowadzono badania mikrobiologiczne. Potwierdzono, że wszystkie próbki poddane działaniu promieniowania jonizującego w dawce 25 kGy wykazują jałowość. Wykazano również, że aktywność bakteriobójcza badanych cefalosporyn po napromieniowaniu nie zmieniła się. Wyjątek stanowi siarczan cefoseliny, dla którego aktywność wobec bakterii Gram-ujemnych zmniejszyła się dwukrotnie.

Podsumowując, wykazano że sterylizacja radiacyjna może być wykorzystana tylko do wyjaławiania ceftiofuru sodowego.