

[1]. M. C. Advincula, D. Petersen, F. Rahemtulla, R. Advincula, J. E. Lemons: Surface analysis and biocorrosion properties of nanostructured surface Sol-Gel coatings on Ti6Al4V titanium alloy implants. *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* 80B: pp 107–120, 2007.

[2]. J. Marciniak, W. Chrzanowski, A. Kajzer: Gwoździowanie śródszpikowe w osteosyntezie. Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice 2008.

[3]. Hsin-Yi Lin: Short term observations of in-vitro biocorrosion of two commonly used implant alloys. Mississippi State, Mississippi, 2002.

BADANIA FT-IR I EPR ZMIAN STRUKTURY CHEMICZNEJ AMPICYLINY PODCZAS STERYLIZACJI TERMICZNEJ

ANDRZEJ KRZTOŃ^{1*}, BARBARA LISZKA¹, PAWEŁ RAMOS²,
BARBARA PILAWA²

¹CENTRUM MATERIAŁÓW POLIMEROWYCH I WĘGLOWYCH, POLSKA AKADEMIA NAUK,
UL. MARII CURIE SKŁODOWSKIEJ 34, 41-819 ZABRZE, POLSKA

²ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY W KATOWICACH,
WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY Z ODDZIAŁEM MEDYCZYNY LABORATORYJNEJ, KATEDRA BIOFIZYKI,

UL. JEDNOŚCI 8, 41-200 SOSNOWIEC, POLSKA

*MAILTO: ANDRZEJ.KRZTON@CMPIW-PAN.EDU.PL

FT-IR AND EPR STUDIES OF CHANGES OF CHEMICAL STRUCTURE OF AMPICILINE DURING THERMAL STERILIZATION

ANDRZEJ KRZTOŃ^{1*}, BARBARA LISZKA¹, PAWEŁ RAMOS²,
BARBARA PILAWA²

¹CENTRE OF POLYMER AND CARBON MATERIALS, POLISH ACADEMY OF SCIENCES,

34 MARII CURIE SKŁODOWSKIEJ STR., 41-819 ZABRZE, POLAND

²MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA IN KATOWICE, SCHOOL OF PHARMACY AND LABORATORY MEDICINE, DEPARTMENT OF BIOPHYSICS,
8 JEDNOŚCI STR., 41-200 SOSNOWIEC, POLAND

*MAILTO: ANDRZEJ.KRZTON@CMPIW-PAN.EDU.PL

Streszczenie

Zbadano zmiany struktury chemicznej oraz generowanie wolnych rodników w ampicylinie podczas sterylizacji w temperaturach 160°C, 170°C i 180°C. Jako metody badawcze zastosowano spektroskopię FT-IR i EPR. Wykazano, że sterylizacja w temperaturach od 160°C do 180°C prowadzi do zmian struktury chemicznej ampicyliny oraz powoduje powstawanie dużej ilości wolnych rodników w próbce. Widma FT-IR uwiadcniają częściową degradację grupy karboksylowej w trakcie ogrzewania leku. Zależność kształtu widm EPR od mocy mikrofalowej wskazuje na złożony charakter układu centrów paramagnetycznych sterylizowanej ampicyliny.

Słowa kluczowe: ampicylina, sterylizacja termiczna, FT-IR, wolne rodniki, EPR

[*Engineering of Biomaterials*, 89-91, (2009), 154-157]

Abstract

Changes of chemical structure and formation of free radicals in ampicyline during sterilization at temperatures 160°C, 170°C, and 180°C were studied. FT-IR and EPR were applied as experimental methods. It was proved that sterilization at temperatures from 160°C to 180°C lead to changes of chemical structure of the ampicyline and causes formation of high amount of free radicals. FT-IR spectra show that carboxyl groups are partly evolved during heating of this drug. Dependence of lineshape of EPR spectra on microwave power indicates complex character of paramagnetic centers system of ampicyline.

Keywords: ampicyline, thermal sterilization, FT-IR, free radicals, EPR

[*Engineering of Biomaterials*, 89-91, (2009), 154-157]

Wstęp

Zmiany struktury chemicznej substancji leczniczej oraz generowanie wolnych rodników podczas sterylizacji mogą stanowić przyczynę nieskuteczności leku oraz wystąpienia efektów ubocznych w organizmie podczas farmakoterapii [1]. Wolne rodniki mogą dodatkowo niszczyć implanty w organizmie. Celem niniejszej pracy jest znalezienie optymalnych warunków sterylizacji termicznej ampicyliny. Zmiany struktury chemicznej analizowano metodą FT-IR. Wolne rodniki badano metodą elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR).

Introduction

Changes of chemical structure of drugs and formation of free radicals during sterilization may be responsible for inefficacy of the drugs and appearance of side effects in organism during pharmacotherapy [1]. Additionally free radicals may destroy implant in organism. The aim of this work is to find optimal conditions of thermal sterilization of ampicyline. Changes of chemical structures of ampicyline were analysed by FT-IR method. Free radicals were studied by electron paramagnetic resonance (EPR) method.

Materiały i metody

Wykonano badania ampicyliny sterylizowanej termicznie w różnych warunkach. Zgodnie z obowiązującymi normami, ampicylinę ogrzewano w temperaturze 160°C przez 120 minut, 170°C przez 60 minut oraz 180°C przez 30 minut. Sterylizację przeprowadzono w suszarce z ciągłym obiegiem suchego powietrza. Strukturę chemiczną ampicyliny pokazano na RYSUNKU 1 [2]. Ampicylina jest antybiotykiem stosowanym w stanach zapalnych [1-2].

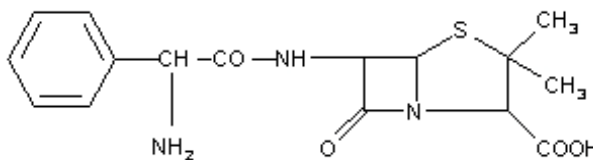
Widma FTIR rejestrowano techniką DRIFT na spektrometrze firmy Bio-Rad model FTS 165, z użyciem przystawki Praying Mantis firmy Harrick, uśredniając 256 skanów w zakresie od 4000 do 400 cm^{-1} i z rozdzielczością 4 cm^{-1} . Próbkę ampicyliny przed pomiarem ucierano z bromkiem potasu w stosunku masowym 5/100.

Widma EPR dla próbek sproszkowanych mierzono z wykorzystaniem spektrometru Firmy RADIOPAN (Poznań) na pasmo X (9.3GHz) z modulacją pola magnetycznego wynoszącą 100kHz. Wyznaczono amplitudę (A), intensywność integralną (I) oraz szerokość (ΔB_{pp}) linii EPR. Analizowano kształt linii EPR rejestrowanych w szerokim zakresie mocy mikrofalowych 2.2-70mW. Wyznaczono koncentracje wolnych rodników w leku. Wzorcem koncentracji była ultramaryna.

Wyniki i dyskusja

Widma FT-IR ampicyliny wyjściowej i sterylizowanej w temperaturach 160°C, 170°C i 180°C porównano na RYSUNKU 2.

Zmiany w widmach FT-IR obserwowano dla każdej



RYS.1. Struktura chemiczna ampicyliny [2].
FIG.1. Chemical structure of ampicillin [2].

Materials and methods

Ampicillin sterilized at different conditions was examined. Ampicillin was heated according to the known norms at temperature 160°C for 120 minutes, 170°C for 60 minutes, and

180°C for 30 minutes. Sterilization was performed in hot air oven with air circulation. Chemical structure of ampicillin is presented in figure 1 [2]. Ampicillin is the antibiotic used in inflammatory states [1-2].

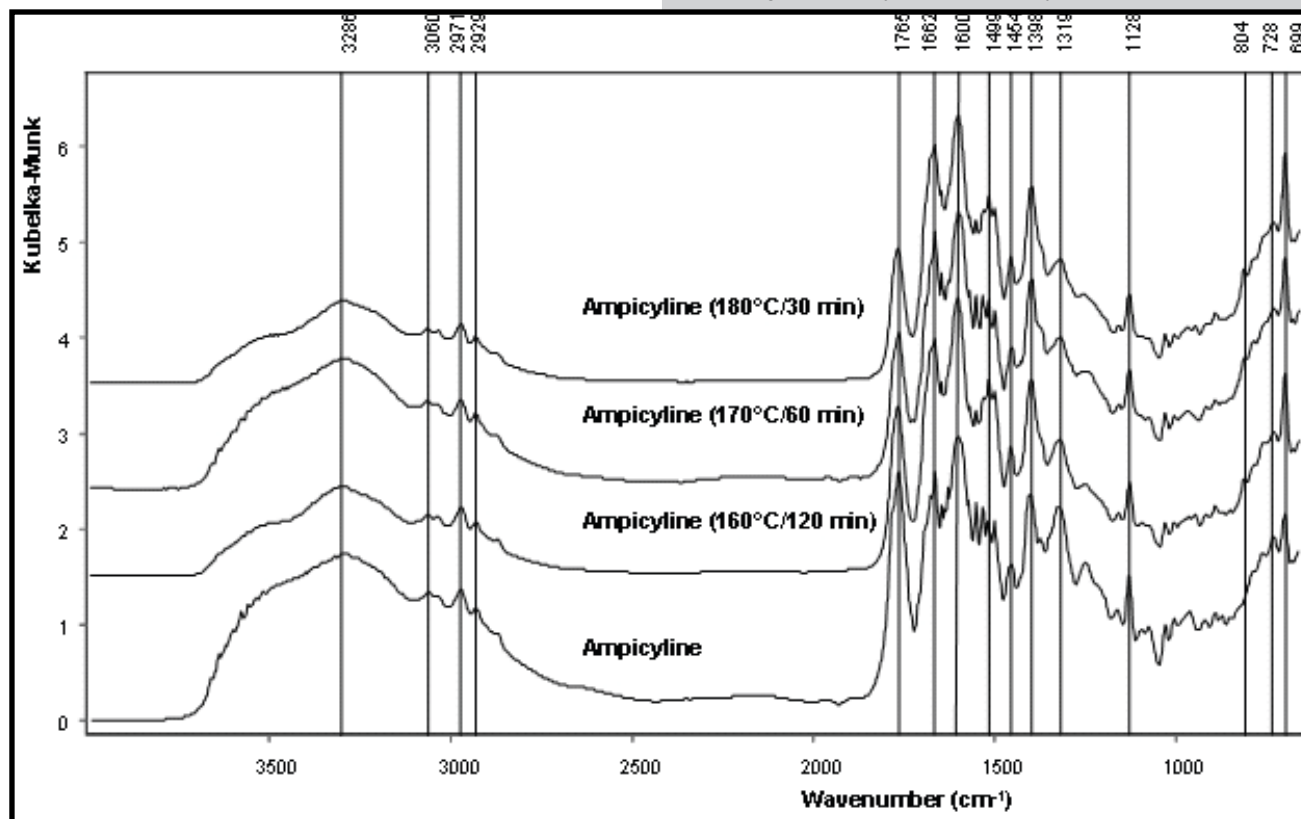
FT-IR spectra were recorded with a FTS-165 Bio-Rad spectrometer, using of Harrick Praying Mantis diffuse reflectance accessory, by co-adding 256 scans in the range 4000-650 cm^{-1} at a resolution of 2 cm^{-1} . The samples were mixed with potassium bromide in the proportion 5/100 by weight.

EPR spectra of powdered samples were measured by an X-band (9.3GHz) spectrometer with magnetic modulation of 100kHz of RADIOPAN Firm (Poznań). Amplitude (A), integral intensity (I), and linewidth (ΔB_{pp}) of EPR lines were determined. Lineshape of EPR spectra at the wide range of microwave power of 2.2-70mW was analysed. Concentration of free radicals in the drug was determined. Ultramarine was the reference.

Results and discussion

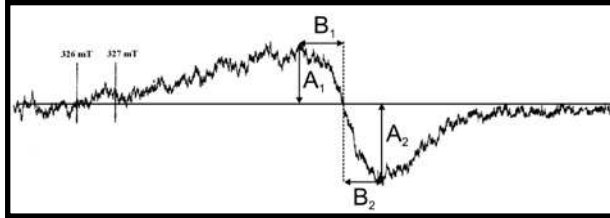
FT-IR spectra of the original ampicillin and ampicillin sterilized at 160°C, 170°C and 180°C, were compared to in FIGURE 2.

It was observed differences between FT-IR spectra of the original ampicillin and ampicillin sterilized at tempera-



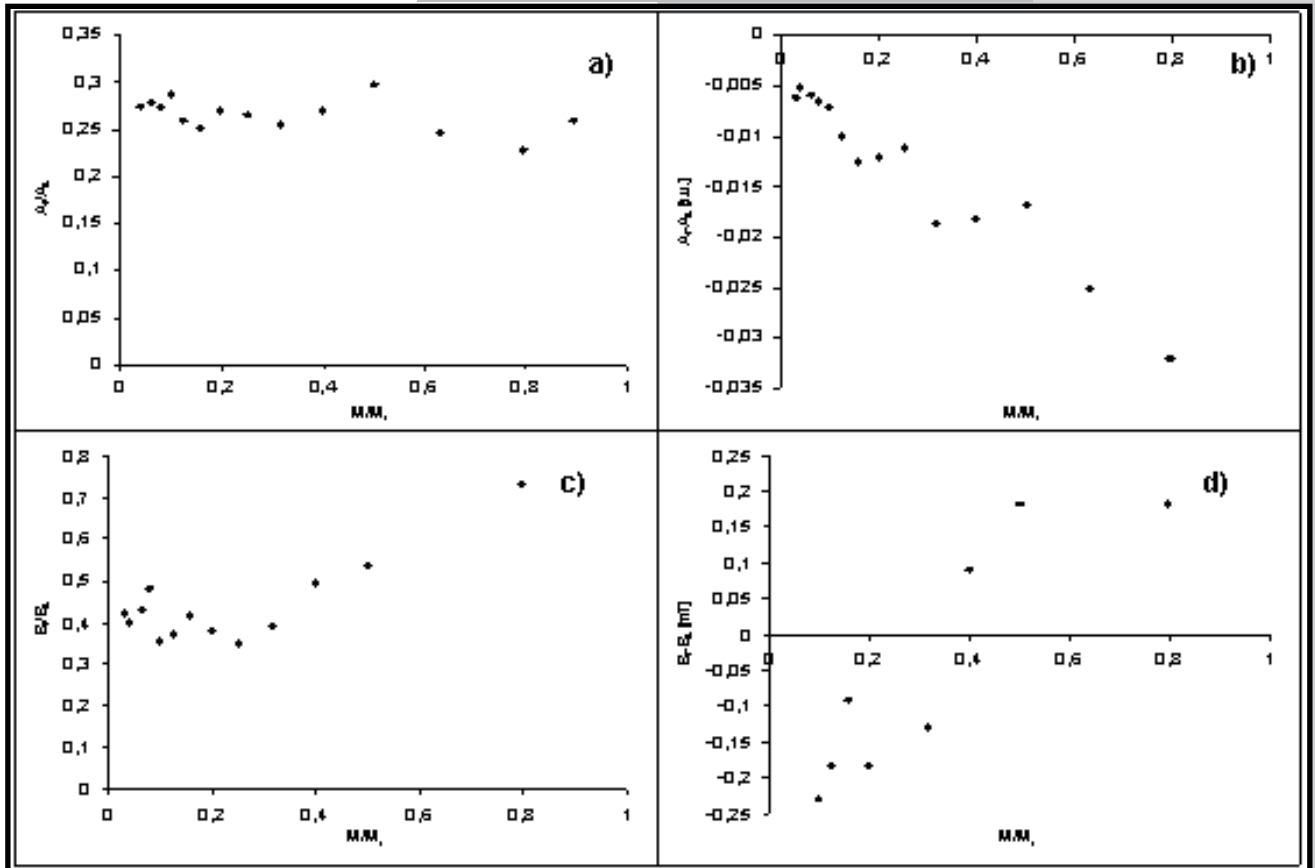
RYS.2. Widma FT-IR ampicyliny niesterylizowanej i sterylizowanej w temperaturach: 160°C, 170°C i 180°C.
FIG.2. FT-IR spectra of unsterilized ampicillin and ampicillin sterilized at temperatures: 160°C, 170°C, and 180°C.

próbki ampicyliny sterylizowanej w wymienionych temperaturach. Przejawiały się one głównie zmniejszeniem intensywności względnej pasm absorpcji z maksimum w 1765, 1319 i 1240 cm^{-1} odpowiadającej kolejno drganiom rozciągającym w grupie C=O i drganiom rozciągającym i deformacyjnym w grupie C-O i O-H. Wskazuje to na proces dekarboksylacji ampicyliny podczas sterylizacji. Podczas ogrzewania ampicyliny w temperaturze 170°C i 180°C obserwowany zakres zmian w strukturze był mniejszy niż dla próbki ogrzewanej w temperaturze 160°C. Wskazuje to na rozstrzygający



RYS.3. Widmo EPR ampicyliny sterylizowanej w temperaturze 180°C zarejestrowane przy mocy mikrofalowej wynoszącej 2.2mW. Pokazano analizowane parametry kształtu linii: A₁, A₂, B₁ i B₂.
FIG.3. EPR spectrum of ampicyline sterilized at temperature 180°C recorded at microwave power of 2.2mW. The analysed lineshape parameters: A₁, A₂, B₁, and B₂, are shown.

tures mentioned above. Changes of FT-IR spectra for sterilized ampicyline samples were manifested by decreasing of relative intensity of the absorption bands at 1765 cm^{-1} as well as at 1319 and 1240 cm^{-1} corresponding to the stretching vibrations of the C=O groups and stretching and deformation vibrations of the C-O i O-H groups, respectively. It show that decarboxylation take place during



RYS.4. Wpływ mocy mikrofalowej na parametry (a) A₁/A₂, (b) A₁-A₂, (c) B₁/B₂, (d) B₁-B₂, linii EPR ampicyliny sterylizowanej termicznie w temperaturze 180°C. M₀-całkowita moc mikrofalowa wytwarzana przez kłystron (70 mW). M-moc mikrofalowa stosowana podczas pomiaru widma EPR.

FIG.4. Influence of microwave power on lineshape parameters (a) A₁/A₂, (b) A₁-A₂, (c) B₁/B₂, (d) B₁-B₂, EPR lines of ampicyline thermally sterilized at temperature 180°C. M₀-total microwave power produced by klystron (70mW). M-microwave power used during measurement of EPR spectrum

parametr czasu na zmiany struktury ampicyliny w trakcie sterylizacji, w badanym zakresie temperatur.

Zgodnie z oczekiwaniami widm EPR nie rejestrowano dla wyjściowej próbki ampicyliny. Widma EPR obserwowano dla ampicyliny sterylizowanej termicznie (RYS.3). Koncentracja wolnych rodników w ampicylinie sterylizowanej w temperaturach 160°C, 170°C i 180°C wynosi odpowiednio: 3.9×10^{17} spin/g, 3.5×10^{17} spin/g i 5.0×10^{17} spin/g. Stwierdzono zależność kształtu widm EPR ampicyliny sterylizowanej termicznie od mocy mikrofalowej (RYS.4), co dowodzi obecności kilku grup wolnych rodników w próbce. Właściwość ta jest zgodna z danymi FT-IR, które wskazują na to, iż kilka różnych wiązań chemicznych ulega zerwaniu podczas ogrzewania ampicyliny

sterilization. However, in heating of the ampicyline at 170°C and 180°C, scale of observed structural changes was in a less degree then for sample heated at 160°C. It make obvious that for studied temperature range the time is a decisive parameter for structural changes of the ampicyline during sterilization.

As was expected EPR spectra were not recorded for the original sample of ampicyline. EPR spectra were observed for thermally sterilized ampicyline (FIG.3). Concentrations of free radicals in ampicyline sterilized at temperatures 160°C, 170°C, and 180°C are: 3.9×10^{17} spin/g, 3.5×10^{17} spin/g and 5.0×10^{17} spin/g, respectively. It was stated that lineshape of EPR spectra of thermally sterilized ampicyline depend on microwave power (FIG.4), and it indicates existence of sev-

Podsumowanie

Badania FT-IR i EPR wykazały, że sterylizacja w wysokich temperaturach wynoszących od 160°C do 180°C powoduje znaczne zmiany struktury chemicznej ampicyliny. Pomimo tego iż sterylizacja ta prowadzi do skutecznego niszczenia mikroorganizmów w leku, nie jest ona wskazana w przypadku ampicyliny. Jedynie krótka sterylizacja w temperaturze 180°C nie powoduje znaczących zmian struktury. W przypadku ampicyliny można więc zalecić sterylizację termiczną w temperaturze 180°C przez 30 minut. Metody FT-IR i EPR mogą być stosowane do optymalizacji procesu sterylizacji termicznej substancji leczniczych.

Podziękowania

Badania te były finansowane przez Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach i Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych PAN w Zabrze.

eral groups of free radicals in the sample. It is in agreement with FT-IR data about breaking of several types of chemical bonds during heating of ampiciline.

Summary

FT-IR and EPR studies demonstrated that sterilization at high temperatures from 160°C to 180°C causes considerable changes of chemical structure of ampiciline. In spite of thermal sterilization effectively destroys microorganisms in drug, it is not preferable to ampiciline. Only short sterilization at temperature 180°C does not change significantly of the structure. Thus, for ampiciline thermal sterilization at temperature 180°C for 30 minutes is recommended. FT-IR and EPR methods may be used for optimalization of thermal sterilization process of drugs.

Acknowledgements

This study was supported by Medical University of Silesia in Katowice.

Piśmiennictwo

[1] Barteczko I. (Red.), Farmacja stosowana, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2002

References

[2] Zejca A., Górczyca M., Chemia leków, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2004

POWSTAWANIE WOLNYCH RODNIKÓW PODCZAS ROZKŁADU TERMICZNEGO MONOAZOTANU IZOSORBITOLU

PAWEŁ RAMOS, BARBARA PILAWA*, MAŁGORZATA KAWKA

ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY W KATOWICACH,
WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY Z ODDZIAŁEM MEDYCZYNY LABORATORYJNEJ, KATEDRA BIOFIZYKI,
UL. JEDNOŚCI 8, 41-200 SOSNOWIEC, POLSKA,
*MAILTO: BPILAWA@SUM.EDU.PL

Streszczenie

Wykonano badania wolnych rodników generowanych w monoazotanie izosorbitolu pod wpływem wysokiej temperatury. Wyznaczono metodą elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) koncentrację wolnych rodników w próbce. Zbadano wpływ mocy mikrofalowej na kształt widm EPR monoazotanu izosorbitolu. Analizowano procesy relaksacji spin-spin i spin-sieć. Określono wpływ czasu przechowywania próbki po rozkładzie termicznym na wolne rodniki w leku.

Słowa kluczowe: monoazotan izosorbitolu, rozkład termiczny, wolne rodniki, spektroskopia EPR
[Inżynieria Biomateriałów, 89-91, (2009), 157-160]

Wstęp

Substancje lecznicze w wysokiej temperaturze mogą ulegać rozkładowi. Zmianom struktury chemicznej towarzyszy generowanie wolnych rodników, które charakteryzuje wysoka reaktywność ze względu na zawartość niesparowanych elektronów [1-2]. Celem pracy jest określenie koncentracji

FORMATION OF FREE RADICALS DURING THERMAL DECOMPOSITION OF ISOSORBIDE MONONITRATE

PAWEŁ RAMOS, BARBARA PILAWA*, MAŁGORZATA KAWKA

MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA IN KATOWICE, SCHOOL OF PHARMACY AND LABORATORY MEDICINE, DEPARTMENT OF BIOPHYSICS,
8 JEDNOŚCI STR., 41-200 SOSNOWIEC, POLAND,
*MAILTO: BPILAWA@SUM.EDU.PL

Abstract

Studies of free radicals formed in isosorbide mononitrate upon high temperature were performed. Free radical concentration in the sample was determined by electron paramagnetic resonance (EPR) method. Influence of microwave power on lineshape of EPR spectra of isosorbide mononitrate was examined. Spin-spin and spin-lattice relaxation processes were analysed. The effect of storage time of the sample on free radicals in the drug was determined.

Keywords: isosorbide mononitrate, thermal decomposition, free radicals, EPR spectroscopy
[Engineering of Biomaterials, 89-91, (2009), 157-160]

Introduction

Drugs at high temperatures may be decomposed. Changes of chemical structure is accompanied by free radicals formation, which are very active because of unpaired electrons contents [1-2]. The aim of this work was to determine concentration and properties of free radicals in isosorbide mononitrate sterilized at high temperature. Knowledge about conditions at which free radicals are formed in drug is very