

## 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., Gorczyca 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 monoazotan 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

i właściwości wolnorodnikowych monoazotanu izosorbitolu sterylizowanego w wysokiej temperaturze. Znajomość warunków powodujących powstawanie wolnych rodników w leku są istotne z medycznego punktu widzenia. Wolne rodniki leku mogą zmieniać strukturę biomateriałów w tkankach.

## Materiały i metody

Zbadano wolne rodniki powstające w monoazotanie izosorbitolu w wysokiej temperaturze wynoszącej 180°C. Lek poddano działaniu czynnika termicznego w czasie 30 minut. Sterylizacja termiczna monoazotanu izosorbitolu była przeprowadzona zgodnie z obowiązującymi normami. Sterylizację przeprowadzono w suszarce z ciągłym obiegiem suchego powietrza. Strukturę chemiczną monoazotanu izosorbitolu pokazano na RYSUNKU 1. Monoazotan izosorbitolu jest stosowany w chorobach serca [3].

Widma EPR monoazotanu izosorbitolu rejestrowano w dniu sterylizacji termicznej. Pomiary dokonano za pomocą spektrometru EPR Firmy RADIOPAN (Poznań) wykorzystującego promieniowanie mikrofalowe o częstotliwości 9.3GHz. Częstotliwość promieniowania mikrofalowego rejestrowano miernikiem MCM Firmy EPRAD (Poznań). Modułacja pola magnetycznego wynosiła 100 kHz. Dla widm EPR zapisanych w postaci pierwszej pochodnej absorpcji wyznaczono amplitudę (A), intensywność integralną (I) oraz szerokość ( $\Delta B_{pp}$ ) linii EPR. Z warunku rezonansu wyznaczono współczynnik rozszczepienia spektroskopowego g. Analizowano parametry opisujące kształt widm EPR:  $A_1/A_2$ ,  $A_1-A_2$ ,  $B_1/B_2$  oraz  $B_1-B_2$ . Widma EPR monoazotanu izosorbitolu zapisano przy mocach mikrofalowych z zakresu 2.2-70mW.

## Wyniki i dyskusja

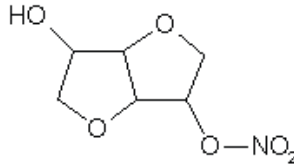
Monoazotan izosorbitolu nie poddany sterylizacji termicznej jest diamagnetyczny i nie daje widm EPR. Brak widm EPR testowanego leku wyjściowego dowodzi wysokiej czystości próbki stosowanej w badaniach. Zanieczyszczenia i defekty sieci molekularnej powodują pojawienie się widm EPR. Dla monoazotanu izosorbitolu nie rejestrowano widm EPR nawet przy dużych wzmocnieniach sygnału oraz przy maksymalnej mocy promieniowania mikrofalowego wytwarzanego przez klystron. Silne sygnały EPR obserwowano dla monoazotanu izosorbitolu sterylizowanego w temperaturze 180°C (RYS.2).

Koncentracja wolnych rodników w monoazotanie izosorbitolu bezpośrednio po sterylizacji termicznej w temperaturze 180 oC wynosiła  $3.1 \times 10^{17}$  spin/g. W monoazotanie izosorbitolu zachodzą silne oddziaływania dipolowe oraz wolne procesy relaksacji spin-sieci. Widma EPR otrzy-

important from medicinal point of view. Free radicals of drug may change structure of biomaterials in tissues.

## Materials and methods

Free radicals formed in isosorbide mononitrate at high temperature of 180°C were examined. The drug was effected by thermal agent for 30 minutes. Thermal sterilization of isosorbide mononitrate was performed according to the



**RYS.1. Struktura chemiczna monoazotanu izosorbitolu [3].**  
**FIG.1. Chemical structure of isosorbide mononitrate [3].**

valid norms. Sterilization was done a hot air oven with air circulation. Chemical structure of isosorbide mononitrate is show in FIGURE 1. Isosorbide mononitrate is used in heart diseases [3].

EPR spectra of isosorbide mononitrate were recorded at day of thermal sterilization. The measurements were done by the use of EPR spectrometer of RADIOPAN Firm (Poznań) with microwave frequency of 9.3GHz. Microwave frequency was measured by MCM recorder of

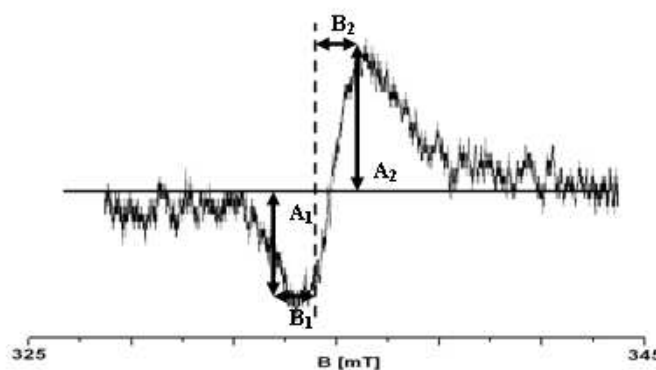
EPRAD Firm (Poznań). Modulation of magnetic field was 100kHz. For the first derivative EPR spectra amplitude (A), integral intensity (I), and linewidth ( $\Delta B_{pp}$ ) of EPR lines were determined. g-Factor was calculated from the resonance condition. The following parameters describing of lineshape of EPR spectra:  $A_1/A_2$ ,  $A_1-A_2$ ,  $B_1/B_2$ , and  $B_1-B_2$ , were analysed. EPR spectra of isosorbide mononitrate were measured at microwave powers in the range 2.2-70mW.

## Results and discussion

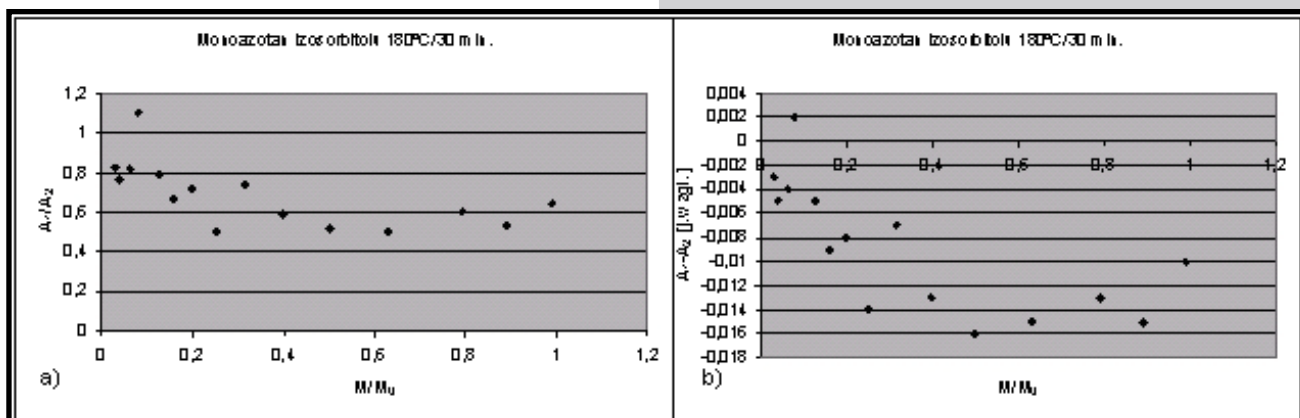
Unsterilized isosorbide mononitrate is diamagnetic and it does not reveal EPR spectrum. The absence of EPR spectrum of the original drug indicates the high purity of the studied sample. Impurities and defects of molecular lattice cause appearance of EPR spectra. For isosorbide mononitrate EPR spectra were not recorded even at high receiver gains and at the maximum microwave power produced by klystron. Strong EPR signals were observed for isosorbide mononitrate sterilized at temperature 180°C (FIG.2).

Free radical concentration in isosorbide mononitrate

directly after thermal sterilization at temperature 180°C was  $3.1 \times 10^{17}$  spin/g. Strong dipolar interactions and slow spin-lattice relaxation processes exist in isosorbide mononitrate. Two weeks after thermal treatment EPR spectra were also obtained for the tested drug. It means that isosorbide mononitrate keeps its paramagnetic properties a long time after sterilization, and its free radicals are extraordinary stable.

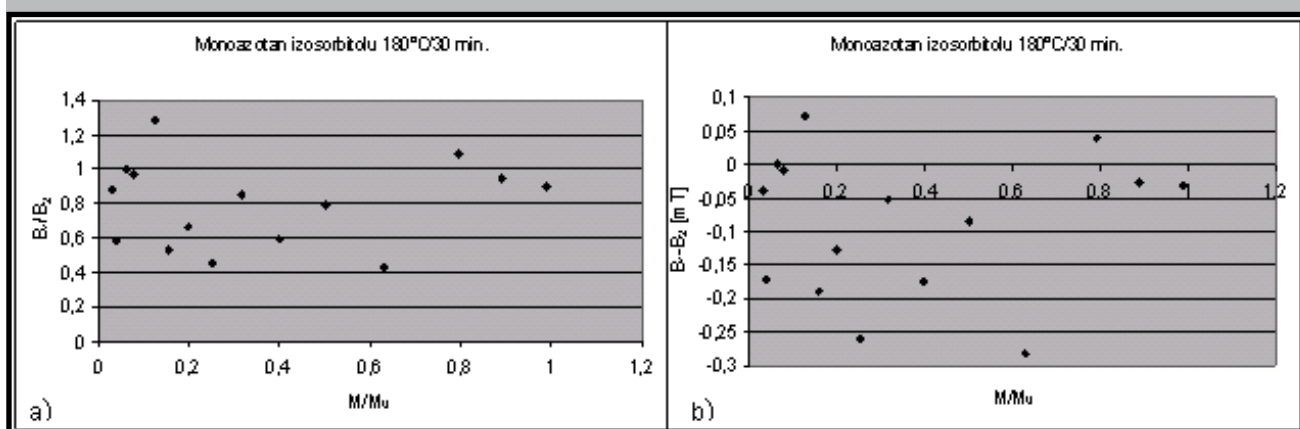


**RYS.2. Widmo EPR monoazotanu izosorbitolu sterylizowanego w temperaturze 180°C zarejestrowane przy mocy mikrofalowej wynoszącej 2.2 mW. Na rysunku zaznaczono analizowane parametry kształtu linii EPR:  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $B_1$  i  $B_2$ .**  
**FIG.2. EPR spectrum of isosorbide mononitrate sterilized at temperature 180 oC recorded at microwave power of 2.2mW. The analysed parameters of lineshape of EPR spectra:  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $B_1$ , and  $B_2$ , were shown.**



**RYS.3.** Wpływ mocy mikrofalowej na parametry (a)  $A_1/A_2$  oraz (b)  $A_1 - A_2$  linii EPR monoazotanu izosorbitolu sterylizowanego termicznie.  $M_0$  – całkowita moc mikrofalowa wytwarzana przez klystron (70mW).  $M$  – moc mikrofalowa stosowana podczas pomiaru widma EPR.

**FIG.3.** Influence of microwave power on parameters (a)  $A_1/A_2$  and (b)  $A_1 - A_2$  of EPR lines of thermally sterilized isosorbide mononitrate.  $M_0$  – total microwave power produced by klystron (70mW).  $M$  – microwave power used during measurement of EPR spectrum.



**RYS.4.** Wpływ mocy mikrofalowej na parametry (a)  $B_1/B_2$  oraz (b)  $B_1 - B_2$  linii EPR monoazotanu izosorbitolu sterylizowanego termicznie.  $M_0$  – całkowita moc mikrofalowa wytwarzana przez klystron (70mW).  $M$  – moc mikrofalowa stosowana podczas pomiaru widma EPR.

**FIG.4.** Influence of microwave power on parameters (a)  $B_1/B_2$  and (b)  $B_1 - B_2$  of EPR lines of thermally sterilized isosorbide mononitrate.  $M_0$  – total microwave power produced by klystron (70 mW).  $M$  – microwave power used during measurement of EPR spectrum.

mano dla testowanego leku także po dwóch tygodniach od obróbki termicznej. Oznacza to, że monoazotan izosorbitolu zachowuje swoje właściwości paramagnetyczne długo po sterylizacji, a jego wolne rodniki są wyjątkowo stabilne. Cechę tą można uznać za negatywną, ponieważ paramagnetyczny monoazotan izosorbitolu wprowadzony do organizmu może oddziaływać negatywnie na tkanki i biomateriały.

Widma EPR monoazotanu izosorbitolu charakteryzują niesymetryczny kształt (RYS.2). Kształt ten silnie zależy od mocy mikrofalowej stosowanej podczas pomiaru linii EPR. Zależność poszczególnych parametrów kształtu widma EPR od mocy mikrofalowej pokazano na RYSUNKACH 3-4. Zmiana parametrów kształtu z mocą mikrofalową dowodzi złożoności układu wolnych rodników w monoazotanie izosorbitolu ogrzewanym w temperaturze 180°C.

## Podsumowanie

Badania metodą EPR wykazały, że monoazotan izosorbitolu sterylizowany w temperaturze 180°C przez 30 minut jest silnie paramagnetyczny. Ze względu na wpływ wolnych rodników na biomateriały w tkankach monoazotan izosorbitolu nie powinien być sterylizowany w tych warunkach.

This feature is the negative one, because of paramagnetic isosorbide mononitrate in organism may negatively interact with tissues and biomaterials.

EPR spectra of isosorbide mononitrate is characterized by unsymmetrical lineshape (FIG.2). This lineshape strongly depends on microwave power used during the measurement of EPR line. The dependences of the following lineshape parameters of the EPR spectra on microwave power are presented in FIGURES 3-4. Changes of the lineshape parameters with microwave power indicate complex character of free radicals system in isosorbide mononitrate heated at temperature 180°C.

## Summary

EPR studies indicate that isosorbide mononitrate sterylized at temperature 180°C for 30 minutes is strong paramagnetic. In consideration of effect of free radicals on biomaterials in tissues isosorbide mononitrate should not be sterilized at these conditions.

## Podziękowania

Badania te były finansowane przez Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach.

## Piśmiennictwo

- [1] Eaton G. R., Eaton S. S., Salikhov K. M. (Eds.), Foundations of modern EPR, World Scientific, Singapore, New Jersey, London, Hong Kong 1998  
 [2] G. Bartosz, Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie, PWN, Warszawa 2004

## Acknowledgements

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

## References

- [3] Zejca A., Gorczyca M., Chemia leków, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2004

## BADANIA RHIZOMA CALAMI METODĄ EPR

KATARZYNA PAWŁOWSKA-GÓRAL<sup>1\*</sup>, EWA KURZEJA<sup>1</sup>,  
BARBARA PILAWA<sup>2</sup>, PAWEŁ RAMOS<sup>2</sup>

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

<sup>1</sup>KATEDRA I ZAKŁAD ŻYWNOSCI I ŻYWIENIA,

<sup>2</sup>KATEDRA BIOFIZYKI,

UL. JEDNOŚCI 8, 41-200 SOSNOWIEC, POLSKA,

MAILTO: KGORAL@SUM.EDU.PL

### Streszczenie

Przeprowadzono badania Rhizoma calami z zastosowaniem spektroskopii elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) na pasmo X (9.3 GHz). Porównano koncentrację i właściwości centrów paramagnetycznych w próbkach wyjściowych oraz sterylizowanych parą wodną. Wykazano, że wolne rodniki występują w obydwu badanych próbkach roślinnych. Ciągłe nasycenie mikrofalowe linii EPR wykazało jednorodny rozkład wolnych rodników oraz wolne procesy relaksacji spin-sieć w Rhizoma calami.

**Słowa kluczowe:** Rhizoma calami, sterylizacja, wolne rodniki, spektroskopia EPR

[Inżynieria Biomateriałów, 89-91, (2009), 160-162]

### Wstęp

Surowce zielarskie oraz przyprawy mogą być zanieczyszczone przez bakterie, grzyby, wirusy i pasożyty [1]. Suche zioła zawierają głównie bakterie tlenowe Bacillus, bakterie beztlenowe Clostridium oraz grzyby pleśniowe Aspergillus, Penicillium, Rizopus i Fusarium [1]. Celem usunięcia mikroorganizmów zioła poddawane są procesowi sterylizacji. Najczęściej stosowaną metodą jest w tym przypadku sterylizacja parowa [1]. Optymalny proces sterylizacji nie powinien generować dużej ilości wolnych rodników w próbce. Wolne rodniki stanowią przyczynę wielu niepożądanych reakcji biochemicznych w organizmie człowieka [2]. Celem prezentowanej pracy jest określenie wpływu procesu sterylizacji parowej na wolne rodniki w Rhizoma calami. Zawartość wolnych rodników w Rhizoma calami jest szczególnie ważna dla ziół stosowanych w kosmetyce.

## EPR STUDIES OF RHIZOMA CALAMI

KATARZYNA PAWŁOWSKA-GÓRAL<sup>1\*</sup>, EWA KURZEJA<sup>1</sup>,  
BARBARA PILAWA<sup>2</sup>, PAWEŁ RAMOS<sup>2</sup>

MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA IN KATOWICE, SCHOOL OF PHARMACY AND LABORATORY MEDICINE,

<sup>1</sup>DEPARTMENT OF FOOD AND NUTRITION,

<sup>2</sup>DEPARTMENT OF BIOPHYSICS,

28 JEDNOŚCI STR., 41-200 SOSNOWIEC, POLAND

MAILTO: KGORAL@SUM.EDU.PL

### Abstract

Rhizoma calami was examined by electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy at X-band (9.3 GHz). Concentration and properties of paramagnetic centers in the original sample and sample sterilized by water vapour were compared. It was stated that free radicals exist in both the studied plant samples. Continuous microwave saturation of EPR lines proved homogeneous distribution of free radicals and slow spin-lattice relaxation processes in Rhizoma calami.

**Keywords:** Rhizoma calami, sterilization, free radicals, EPR spectroscopy

[Engineering of Biomaterials, 89-91, (2009), 160-162]

### Introduction

Herbal materials and spices may be contaminated by bacterium, fungi, viruses, and parasites [1]. Dry herbs contain mainly oxygen bacterium Bacillus, nonoxygen bacterium Clostridium and mildew fungus Aspergillus, Penicillium, Rizopus and Fusarium [1]. Herbs are sterilized to remove microorganisms. The most popular method in this case is sterilization by water vapour [1]. Optimal sterilization process should not produce high amount of free radicals. Free radicals are the source of negative biochemical reactions in human organism [2]. The aim of this work was to determine effect of vapour sterilization process on free radicals in Rhizoma calami. Free radical content in Rhizoma calami is especially important for herb used in cosmetics.