

STABILIREA STRUCTURII CHIMICE ȘI A MASELOR MOLECULARE A BENZITURONULUI ȘI METIFERONULUI PE BAZA SPECTRELOR DE MASĂ OBȚINUTE PRIN IMPACT ELECTRONIC

Iurie Tihon¹, Vladimir Valica¹, Livia Uncu¹

¹Catedra Chimie farmaceutică și toxicologică

Summary

Chemical structure determination and molecular masses for metiferon and benzituron based on mass spectra method by electronic impact

One of the methods widely used to study the chemical structure and demonstrating molecular weight is the mass spectroscopy method using electron impact ionisation technique. The recording of spectra of *Benzituron* and *Metiferon* was performed on HPLC coupled with mass spectrophotometer *Perkin Elmer Tri Carb 2100 R*. Mass spectral lines characterized by the ratio mass / charge have been investigated and stacked to form the chemical structure and assumption of molecular weight which further assayed by elemental analysis for these substances.

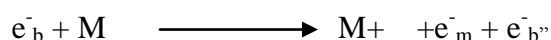
Rezumat

Una din metodele pe larg folosite la studierea structurii chimice și demonstrarea maselor moleculare este metoda spectroscopiei de masă care utilizează tehnica de ionizare prin Impact Electronic. Înregistrarea spectrelor de masă a *Benzituronului* și *Metiferonului* s-a realizat pe spectrofotometrul de masă cuplat cu HPLC *PerkinElmerTriCarb 2100R*. Liniile spectrale de masă caracterizate prin raportul masă/sarcină au fost cercetate și suprapuse pentru constituirea structurii chimice și presupunerea maselor moleculare, ulterior calculate prin analiza elementară pentru aceste substanțe.

Actualitatea

Actualmente metodele spectrale de masă sunt utilizate pe larg pentru demonstrarea structurii chimice ale substanțelor cu conținut de sulf și azot. *Benzituronului* și *Metiferonul* sunt substanțe derivați de izotiouree care în rezultatul ionizării prin impact electronic prezintă linii spectrale specifice (masă/ sarcină) ce corespund elementelor structurale care definesc apartenența la grupa chimică terapeutică și acțiunea farmacologică [1].

Impactul electronic este un procedeu de fragmentare a moleculelor utilizat pentru stabilirea structurii chimice a substanțelor organice. Substanța, prin încălzire este adusă în starea gazoasă, iar pătrunderea acesteia în camera de ionizare este asigurată prin vidarea fiecărui compartiment din spectrometru de masă. Condiția de menținere a probei de analizat sub presiune joasă în procedeu de fragmentare prin impact electronic, este necesară pentru a preveni reacțiile posibile dintre ioni și molecule ionizate. În situația în care aceste interacțiuni sunt posibile, acestea complică interpretarea spectrului de masă. Esența acestui procedeu de fragmentare se bazează pe fragmentarea moleculelor datorită ciocnirii acestora cu un flux îngust de electroni, care este generat de o sursă de filament de Re încălzit de un curent de 200 mA. Electronii sunt îndreptați și accelerați către anod, unde se produce coliziunea cu substanța de analizat, dispersia substanței se realizează sub acțiunea diferenței de potențial 70 eV. Substanța medicamentoasă, care anterior a fost transformată în stare gazoasă prin gradient de temperatură și presiune, capătă o sarcină pozitivă. Ionul molecular format este ulterior direcționat spre analizatorul de masă. Procedeu de ionizare a substanțelor organice prin impact electronic este redată prin următoarea schemă.



unde: e^{-}_b -fluxul de electroni generat de filamentul de Re; e^{-}_m –electronii, care rezultă în timpul coliziunii electronice cu specia moleculară ce se analizează; e^{-}_b electronii, care se emit după coliziunea electronilor cu specia moleculară analizată; M - molecula analizată; M^{+} - ionul molecular [2].

După ionizarea speciei analizate, fragmentarea acesteia în ioni mai mici se produce datorită energiei cinetice mari a electronilor ce induc o creștere a energiei translaționale a moleculei, precum și a celei de vibrație-rotație. În timpul relaxării ionilor moleculari fragmentarea se produce în lanț și se obțin spectre de masă complexe. Procesul de ionizare poate să producă fie ioni moleculari, fie fragmente de ioni, care corespund unei piese mai mici a moleculei analizate, dar pot fi folosite pentru deducerea structurii chimice moleculare. Coliziunea dintre ioni și molecule în camera de ionizare poate fi pusă în evidență prin prezența particulelor cu valori mari m/z , valorile acestora fiind detectate de analizatorul de masă [3].

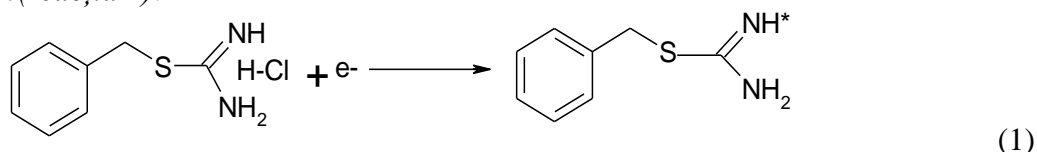
Scopul lucrării constă în utilizarea metodei spectrometrice de masă cu tehnica de ionizare prin impact electronic pentru stabilirea structurii moleculare și a maselor molare a *Benzituronului* și *Metiferonului*.

Materiale și metode

Pentru analiza spectrală de masă a *Benzituronului* și *Metiferonului* au fost utilizate spectrofotometrul de masă cuplat cu HPLC *PerkinElmerTriCarb 2100R LiquidScintillationCounter*. Soluțiile apoase de *Benzituron* și *Metiferon* 10%.

Rezultatele și discuții

Interpretarea spectrului de masă a *Benzituronului* s-a realizat în baza semnalelor analitice reprezentate prin linii spectrale caracterizate prin valoarea masă/sarcină. Din spectrul de masă al *Benzituronului* se observă o fragmentare a celei mai polarizabile legături, cea a atomului de clor, care este legat de baza *Benzituronului*. Picul cu valoarea $m/z=166$ u.c.m. corespunde primei fragmentări $[M-36,5]$ și aparține bazei de *Benzituron*, care este lipsită de o moleculă de acid clorhidric (reacția 1).



Picul de intensitate joasă cu valoarea m/z 167 u.c.m. este un pic metastabil $[(M-36,5)+1]$, care demonstrează prezența legăturii donor acceptor, ce se formează dintre perechea de electroni necuplați ai atomului de azot și protonul de hidrogen din restul acidului clorhidric. Din spectrul de masă se observă că picul acestui fragment este neevidențiat, aceasta ne vorbește despre durata lui de viață relativ scurtă în camera de ionizare și în filtrarea ionică în analizatorul de masă cuadrupolar. (figura 1). Fragmentarea continuă a moleculei de *Benzituron* este demonstrată prin prezența benzii de intensitate medie cu $m/z=123$ u.c.m., ceea ce corespunde fragmentului molecular $[M-79]$, care presupune fragmentarea homolitică prin impact electronic a *Benzituronului* în a două etape când are loc cu formarea tiobenzenuului a cărui masă moleculară corespunde valorii $m/z=123$ u.c.m. (reacția 2).

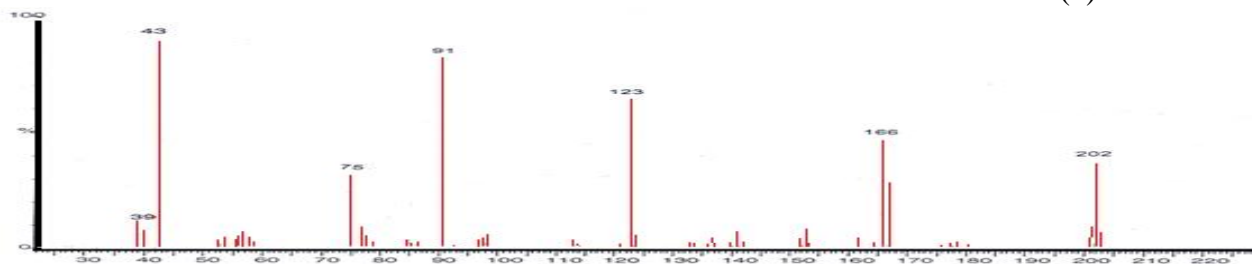
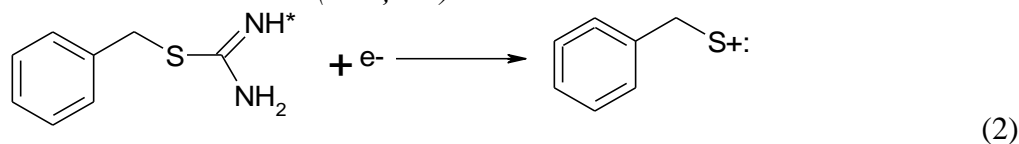
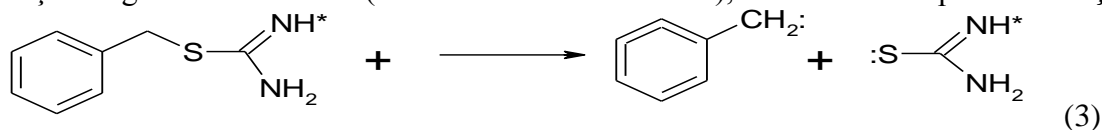
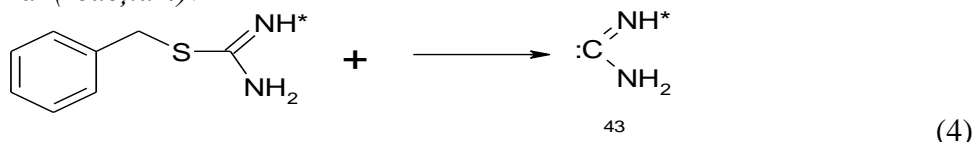


Fig. 1. Spectrul de masă al *Benzituronului* obținut prin impact electronic

Cel de al patrulea pic cu valoarea $m/z=91$ u.c.m. demonstrează că *Benzituronul* este un compus aromatic substituit cu catene liniare în α , iar legăturile α - β se rup cu formarea cationului benzilic și a fragmentului tioureic (cu valoarea $m/z=75$ u.c.m.), care este stabil potrivit *reacției 3*:



Picul spectrului de masă al *Benzituronului* cu valoarea m/z 43 u.c.m. corespunde fragmentului molecular ureic, care se desprinde foarte ușor de molecula *Benzituronului* datorită intensității mari (*reacția 4*).



Picurile 39, 41, 53, 56, 77, 86, 153 sunt picuri metastabile, care nu au o valoare analitică, de regulă ele pot întruni fragmentele sus identificate plus, alte fragmente ionice din molecula *Benzituronului*.

Interpretarea spectrului de masă a *Metiferonului*-a realizat după același algoritm de descifrare spectrală.

Din spectrul de masă al *Metiferonului* se observă fragmentarea moleculei în fragmente cu următoarele valori: m/z 41, 62, 74, 87, 109, 126. u.c.m. Picul cu valoarea $m/z=126$ u.c.m. (*reacția 5*) obținut din prima fragmentare corespunde fragmentului dimetoxifosfat [M-90], iar banda cu valoarea $m/z=109$ u.c.m. corespunde dimetiloxifosfitului (*figura 2*).

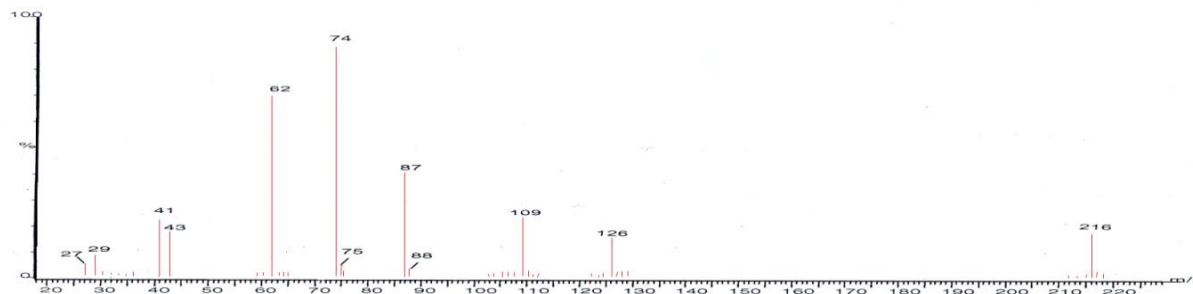
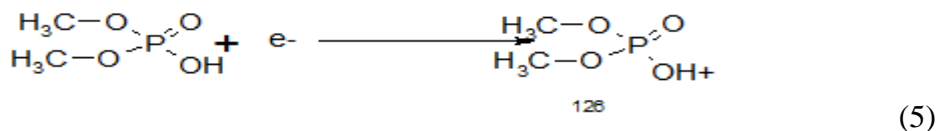
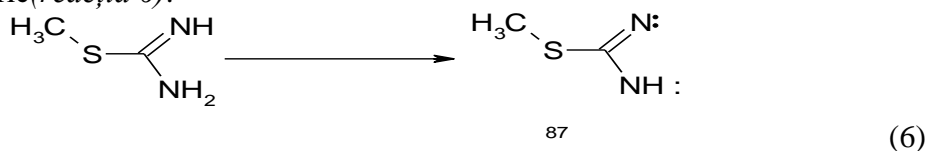
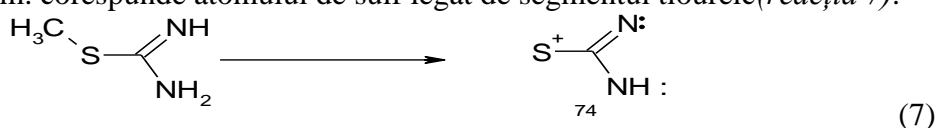


Fig.2. Spectrul de masă al *Metiferonului* obținut prin ionizare chimică

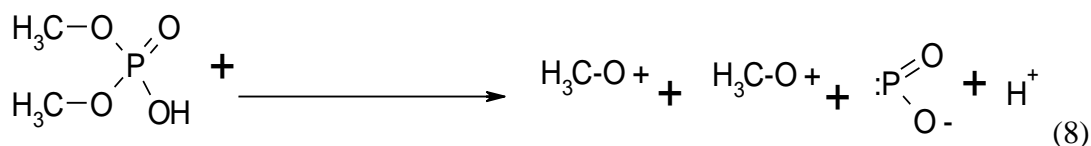
Al treilea pic cu valoarea $m/z=87$ u.c.m. de intensitate medie corespunde segmentului metilen tiouric (*reacția 6*).



Din spectrul de masă al *Metiferonului* se observă, că picul cu cea mai mare intensitate $m/z=74$ u.c.m. corespunde atomului de sulf legat de segmentul tioureic (*reacția 7*).



Din spectrul de masă al *Metiferonului*, se observă un pic îngroșat cu valoarea $m/z=62$ u.c.m., care corespunde celor două fragmente metoxi (31+31). Picurile metastabile cu valorile $m/z=41$ u.c.m. și $m/z=43$ u.c.m. nu au o valoare analitică, ele reprezintă fragmente asociate din diferite părți ale moleculei *Metiferonului* (*reacția 8*).



Prin identificarea fiecărui ion molecular, care corespunde maselor molare, s-a demonstrat structura chimică a *Benzituronului* și *Metiferonului*

Concluzii

Reconfirmarea structurii chimice și a maselor moleculare ale *Benzituronului* și *Metiferonului* s-a realizat în baza spectrelor de masă care conțin informații ample analitice despre construirea scheletului molecular al acestor substanțe.

Bibliografie

1. Beckett A.H., Stenlake J.B. *Practical Pharmaceutical Chemistry*. London: Athlone, 1988. 320 p.
2. Benninghoven, A.; Rudenauer, F.G.; Werner, H. *Secondary ion mass spectrometry: basic concepts, instrumental aspects, applications and trends*. John Wiley and Sons, New York, NY, 1978, 1262 p.
3. Tihon Iu. Spectroscopia de masă a *Benzituronului* și *Metiferonului*. În: Buletinul academiei de științe a Moldovei, 2010, nr. 1(24), p.123-126.

STUDIUL DINAMICII REZISTENȚEI BACTERIENE LA AZITROMICINĂ

Mihail Anton¹, Livia Uncu¹, Olga Burduniuc², Vladimir Valica¹,
Olga Suvorchina³, Iurie Tihon¹

¹Catedra Chimie Farmaceutică și Toxicologică; ²Centrul Național Științifico-practic de Medicină Preventivă; ³Laboratorul Analiză, standardizare și controlul medicamentelor a CȘDM

Summary

Study of the dynamics of bacterial resistance to azithromycin

The antimicrobial resistance is a negative phenomenon that continuously reduces the spectrum of action and the arsenal of antibacterial preparations used in therapy. According to WHO forecasts, some infections successfully treated today, soon could become mortal again. In this context, WHO has adopted a series of measures to prevent and control the antimicrobial resistance, including the European Antimicrobial Resistance Surveillance System.

This paper represents a pharmacological monitoring study of the antimicrobial resistance that, in parallel with the EARSS, provides a full image of the development of bacterial resistance to Azithromycin, updates the spectrum of action of this antibiotic, and detects trends and future development of the antimicrobial resistance to Azithromycin and its use in therapeutics.

Rezumat

Antibioticorezistența este un fenomen nefast care reduce în continuu spectrul de acțiune și arsenalul preparatelor antibacteriene utilizate în terapie. Conform prognozelor OMS, în curând ar putea deveni din nou mortale unele infecții tratate cu succes în prezent. În acest context OMS a adoptat o serie de măsuri de prevenire și combatere a rezistenței antimicrobiene, printre care și Sistemul European de Supraveghere a Rezistenței Antimicrobiene.

Lucrarea dată prezintă un studiu de monitoring farmacologic al antibioticorezistenței, care, în paralel cu sistemul EARSS, oferă un tablou integral al dezvoltării rezistenței bacteriene la Azitromicină, actualizează spectrul de acțiune al acestui antibiotic, precum și depistează tendințele de dezvoltare a antibioticorezistenței și perspectivele de utilizare a Azitromicinei în practica terapeutică.