TRANSFORMĂRI FOTOCHIMICE ALE IZONIAZIDEI ÎN MEDIUL ACVATIC

PHOTOCHEMICAL TRANSFORMATION OF ISONIAZID IN AQUEOUS MEDIUM

Angela LIS, ORCID: 0000-0003-1111-7485
Viorica GLADCHI, ORCID: 0000-0002-5847-4466
Elena BUNDUCHI, ORCID: 0000-0003-2275-9918
Universitatea de Stat din Moldova,
Chișinău, Republica Moldova

CZU: 544.526.2:543.645.7:574.5

e-mail: angela.lis@usm.md
e-mail: viorica.gladchi@gmail.com
e-mail: elena.bunduchi@usm.md

The main purpose of this research is to study the photochemical transformations of isoniazid (INH) and its influence on aquatic ecosystems. The spectrophotometric method was used to determine the kinetic parameters of the INH photodegradation. As a result of the research, it was found that INH undergoes direct and induced non-catalytic and catalytic photolysis. Based on the half-life parameter, it was found that INH undergoes photodegradation most quickly in non-catalytic indirect photolysis, then in catalytic, and finally very slowly in direct photolysis. If the results obtained on the model systems are transferred to natural aquatic systems, it can be highlighted that the INH half-life will be 7-8 min. As a result, it was established that INH has negative effects on aquatic ecosystems. It consumes oxidative particles, especially OH radicals, which maintain aquatic systems' self-purification capacity. It also binds Cu(II) ions in complexes with lesser catalytic activity.

Cuvinte-cheie: *fotoliză directă, fotoliză indusă, izoniazidă, sisteme acvatice, transformări fotochimice.*

INTRODUCERE

Republica Moldova se plasează printre țările relativ sărace în ape naturale, de aceea protecția și utilizarea lor rațională rămâne a fi o problemă nu doar la nivel mondial, dar și național. Deșeurile farmaceutice sunt incluse în lista contaminanților care prezintă probleme emergente [1]. Poluarea mediului, în special a apelor de suprafață cu deșeuri farmaceutice poate conduce la dezechilibrul sistemelor ecologice și la efecte negative asupra sănătății populației și hidrobionților. Cele mai negative efecte sunt provocate de acele substanțe care se întâlnesc în concentrații mici în sistemele acvatice, deoarece studiile cu referire la transportul, transformările și influența lor asupra hidrobionților sunt limitate [2]. Studiile cu referire la aceste substanțe au demonstrat că procesele de oxidare avansată, pot să reducă considerabil concentrațiile acestora, chiar până la mineralizarea totală [3]. Dar, reieșind din faptul că stațiile clasice de epurare a apelor reziduale nu

sunt înzestrate cu aceste tehnici avansate, de multe ori deșeurile farmaceutice sunt deversate, cu efluenții de la stațiile de epurare, în apele de suprafață. Fotoliza sensibilizată în prezența peroxidului de hidrogen, ca sursă de radicali OH, este una dintre cele mai eficiente tehnici de degradare a micropoluanților în mediul apos [3]. Reieșind din faptul că sistemele acvatice naturale sunt bioreactoare naturale de tip deschis, în care sunt prezente particule oxidative, inclusiv radicalii OH, precum și pătrund și razele solare, în special în straturile de la suprafață și apele naturale cu o turbiditate mică, este evident că aceste procese decurg și în sistemele acvatice naturale [4].

Izoniazida, de asemenea denumită și hidrazida izonicotinică (HIN), este un antibiotic de prima linie, folosit la tratarea tuberculozei, atât în monoterapie, cât și în combinație cu alte antibiotice, precum rifampicina, încă din 1952 și până în zilele noastre (în combinație cu alte antibiotice). Tuberculoza este o este o boală provocată de bacteria *Mycobacterium tuberculosis* destul de frecventă, în special în țările în curs de dezvoltare, respectiv și în RM [2]. Deși HIN este antibioticul miraculos, care se folosește pe larg în tratarea tuberculozei, s-a demonstrat că are și multe efecte adverse asupra organismului uman, precum *hepatotoxicitate*, respectiv va fi toxică și pentru hidrobionți [5]. Totodată, datorită faptului că este o substanță reducătoare și destul de persistentă în sistemele biologice [6], participă în procesele de oxido-reducere și poate provoca dezechilibrul în sistemele ecologice. Deci prezența HIN în sistemele acvatice de suprafață este inevitabilă, iar studiile cu referire la influența ei și a metaboliților asupra ecosistemelor sunt limitate. De aceea devine important studiul transformărilor fotochimice ale HIN și influența acesteia asupra ecosistemelor acvatice.

MATERIALE ȘI METODE

Reactivi și aparate

Cercetările au fost efectuate în cadrul LCȘ Chimie ecologică și tehnologii chimice moderne, Universitatea de Stat din Moldova. Substanțele utilizate în studiu au fost chimic pure. Izoniazida sub formă de pulbere, a fost furnizată de către Sigma-Aldrich, Germania; în calitate de catalizator s-a utilizat $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ furnizat de către compania Chem Lab; peroxidul de hidrogen (30%, Sigma-Aldrich, Germania) s-a folosit în calitate de oxidant; PNDMA (colorantul 4-nitrozo-N,N-dimetilanilina) furnizat de către Sigma-Aldrich, Germania, folosit în calitate de captator de radicali liberi; pH-metru model WTW Ionlab 720; spectrofotometrul UV-Viz T80+; în calitate de sursă de iradiere s-a folosit lampa policromatică – DRT-400.

Determinarea concentrației de izoniazidă

Pentru determinarea INH a fost folosită metoda spectrofotometrică care se bazează pe absorbția ei proprie și constă în faptul că se determină coeficientul de extincție, care are maximul de absorbție la $\lambda=286$ *nm* (Fig. 1). Pentru determinarea concentrației HIN s-a construit dependența grafică $A^{286} = f(C)$ și s-a obținut următoarea relație (ec. 1) [7]:

$$C(HIN) = \frac{A^{286} - 0{,}0343}{3547} \; (R^2=0{,}9995) \qquad (1)$$

Organizarea experimentului

În scopul izolării și identificării legităților de transformare a HIN în sisteme acvatice, cercetările s-au efectuat în condiții de laborator, pe sisteme model. Pentru aceasta au fost modelate următoarele sisteme: *HIN–H_2O–O_2; HIN–H_2O–O_2–Cu(II); HIN–H_2O–hν; HIN–H_2O–H_2O_2–hν; HIN–H_2O–H_2O_2–Cu(II)–hν; HIN–H_2O–H_2O_2–PNDMA–hν; și HIN–H_2O–H_2O_2–Cu(II)–hν.* Paralel s-au monitorizat concentrațiile de HIN în probele nesupuse iradierii.

Soluțiile au fost preparate folosind apă distilată la pH 6.5-6.9, care a fost monitorizat periodic (înainte și după iradiere). Toate experimentele au fost efectuate în condiții de control al temperaturii, la 20 ºC și la agitare continuă. Soluțiile au fost menținute în condiții aerobe, creând condițiile de modelare cât mai aproape de cele din sistemele acvatice naturale. Probele, 50 mL – preparate conform modelelor menționate mai sus, au fost trecute în pahare de cuarț cu pereți subțiri de 100 mL și supuse iradierii, la lampa DRT-400. Pentru fiecare sistem modelat, pas cu pas, concentrația inițială a unui component a fost variată, iar concentrațiile inițiale ale celorlalți componenți se menținеau constante. În acest fel, fiecare probă a fost supusă iradierii timp de 30 de minute, la fiecare 5 minute, determinându-se concentrațiile substratului.

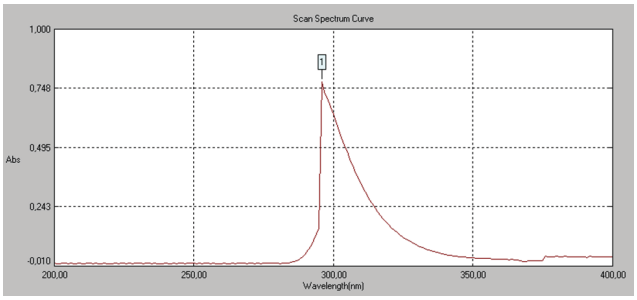


Fig. 1. Spectrul de absorbție al HIN:
[HIN] = 2.18·10^{-4} M, l = 1 cm

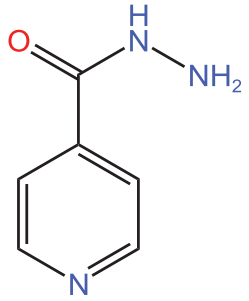


Fig. 2. Formula de structură a HIN

Calculul parametrilor cinetici

Calculul parametrilor cinetici de fototransformare a HIN, a fost realizat după concentrația substratului (conform ec. 4-7), din legitățile pentru reacțiile de ordinul *pseudo-unu* [1,8–10]:

$$W = -\frac{d[C]}{dt} = -\frac{[C]_2-[C]_1}{t_2-t_1} = -k[C] \quad (4)$$

unde, W- vitezele de fototransformare a HIN, M·s^{-1}; $[C]_1$ și $[C]_2$- concentrațiile HIN la timpul t_1 și t_2, respectiv, M; t_1 și t_2- timpul de iradiere, s.

Pentru determinarea ordinilor parțiale de reacție și ale constantei de viteză s-au folosit reprezentările *dublu logaritmice* combinate cu metoda izolării, conform ec. 5:

$$log(W) = log(k) + nlog([R_0]) \quad (5)$$

unde: W – viteza de reacție pentru diferite concentrații inițiale ale HIN; $[R_0]$ – concentrațiile inițiale ale reactanților; k – constantele de viteză; n – ordinile parțiale de reacție.

Din regresia liniară s-au determinat constantele de viteză, conform ec. 6:

$$ln\frac{[C]_t}{[C]_0} = f(t) \quad (6)$$

unde: k - constantele efective de viteză ale HIN, s^{-1}; t – timpul de iradiere, s; $[C]_0$- concentrațiile inițiale ale HIN, M; $[C]_t$- concentrațiile HIN la timpul t, M.

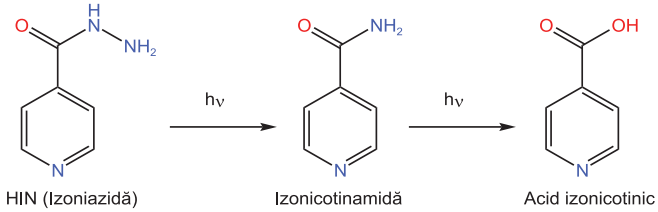
Conform ec. 7 s-a determinat timpul de înjumătățire al HIN:

$$\tau_{1/2} = \frac{ln2}{k} \quad (7)$$

unde, $\tau_{1/2}\tau_{1/2}$-timpul de înjumătățire al HIN, s; k – constantele de viteză ale HIN, s^{-1}.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Din rezultatele practice obținute s-a determinat că HIN nu se supune transformărilor redox sub acțiunea oxigenului dizolvat din apă, în prezența și în absența H_2O_2 și a ionilor de Cu(II). Astfel s-a concluzionat că HIN este un substrat de tip peroxidazic. De aceea în continuare soluțiile modelate s-au supus iradierii la lampa DRT-400. La etapa inițială pentru a determina dacă HIN potențial ar putea să se supună fotolizei directe s-a suprapus spectrul de absorbție al HIN (Fig. 1) cu spectrul de emisie al lămpii DRT-400 [10]. Ulterior s-au modelat cinci soluții cu concentrații diferite de HIN ($3.8\cdot10^{-5}$ M – $3.2\cdot10^{-4}$ M), care s-au supus iradierii succesive la lampa DRT-400. Din rezultatele obținute s-au trasat curbele cinetice și s-au calculat vitezele de fotoliză directă ale HIN (conform ec. 4), Fig. 3. Din Fig. 3 se observă că HIN se supune fotolizei directă, ceea ce se datorează faptului că spectrul de absorbție al acesteia (Fig. 1), având un maxim de absorbție la 286 nm, se suprapune cu spectrul de emisie al lămpii DRT-400, care absoarbe în domeniul 220-600 nm. Datorită faptului că această sursă de iradiere emite fotoni de lumină, care sunt absorbiți de HIN, aceasta degradează cu formarea metaboliților, în special acidul izonicotinic și izonicotinamida, conform ec. 8 [2]:



HIN (Izoniazidă) Izonicotinamidă Acid izonicotinic (8)

Cu toate acestea s-a stabilit că vitezele de degradare ale HIN sunt foarte mici, de ordinul 10^{-8} $M\cdot s^{-1}$, ceea ce se explică prin faptul că soluțiile de HIN sunt foarte diluate și fotonii de lumină se dezactivează la interacțiunea cu moleculele solventului.

Din acest motiv cercetările au continuat, pe sisteme model mai complexe, în care s-a adăugat H_2O_2, în calitate de sursă de radicali OH. Este cunoscut faptul că la descom-

punerea fotolitică a peroxidului de hidrogen se formează radicalii OH, care sunt cele mai active particule oxidative, prezente în sistemele acvatice naturale [11]. În cazul dat la fel s-au modelat câte cinci soluții, în care succesiv s-a variat concentrația inițială a HIN ($3.8 \cdot 10^{-5}$ M – $3.2 \cdot 10^{-4}$ M, Fig. 3), apoi concentrația inițială a H_2O_2 ($4.0 \cdot 10^{-4}$ M – $2.0 \cdot 10^{-3}$ M, Fig. 4).

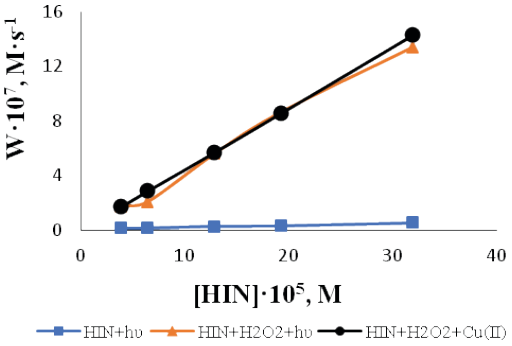


Fig. 3. Variația vitezelor de fotodegradare a HIN la variația concentrației ei inițiale: *[H_2O_2] = $1.2 \cdot 10^{-3}$ M; [Cu(II)] = $1.2 \cdot 10^{-5}$ M [date proprii]*

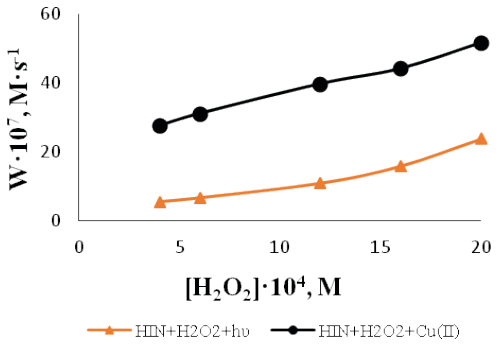


Fig. 4. Variația vitezelor de fotodegradare a HIN la variația concentrației inițiale a peroxidului de hidrogen: *[HIN] = $1.2 \cdot 10^{-4}$ M; [Cu(II)] = $1.2 \cdot 10^{-5}$ M [date proprii]*

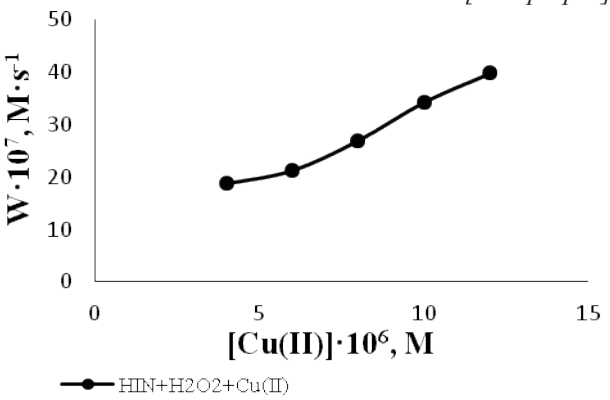


Fig. 5. Variația vitezelor de fotodegradare a HIN la variația concentrației inițiale a ionilor de Cu(II): *[HIN] = $1.2 \cdot 10^{-4}$ M; [H_2O_2] = $1.2 \cdot 10^{-3}$ M [date proprii]*

Din rezultatele obținute s-a constatat că la adăugarea H_2O_2 în sistem vitezele de degradare fotochimică ale HIN au crescut de 13-25 ori, în comparație cu fotoliza directă (Fig. 3). Ceea ce se datorează faptului că radicalii OH generați la fotodescompunerea peroxidului de hidrogen interacționează cu HIN ceea ce conduce la degradarea oxidativă a acesteia, conform mecanismului prezentat în Fig. 6.

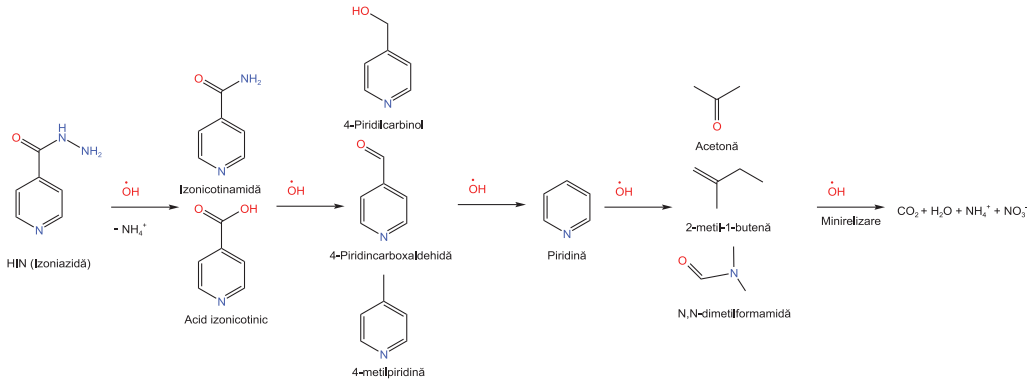


Fig. 6. Mecanismul posibil de degradare al HIN sub acțiunea radicalilor OH (generați la fotodisocierea peroxidului de hidrogen) [12]

La fel din Fig. 4 se observă că odată cu creșterea concentrației de H_2O_2 în sistem vitezele de degradare fotochimică ale HIN cresc. Dacă transferăm rezultatele obținute pe sisteme model, la sistemele reale, unde concentrația H_2O_2 este de ordinul 10^{-6} M [10], iar concentrațiile HIN sunt de ordinul 10^{-10}-10^{-9} M (respectându-se cu aproximație raportul componenților în sistemele acvatice naturale), vitezele de degradare fotochimică vor fi destul de mici, de ordinul 10^{-8}-10^{-7} M·s^{-1}.

În procesele cu participarea H_2O_2 și a radicalilor OH, un rol important îl au ionii metalelor cu valență variabilă, cum ar fi Cu, Fe, Mn ș.a., în special, ionii de Cu(II) datorită faptului că sunt cei mai abundenți, în concentrații de ordinul 10^{-7} M (prezent în apele naturale în diferite forme, solubilă, coloidală și suspendată). Totodată Cu(II) este un microelement esențial care participă în procesele biochimice, respectiv este prezent în toate resursele acvatice [9]. În prezența oxigenului dizolvat în apă, ionii metalelor se află în stare oxidată, participă la activarea oxigenului și peroxidului de hidrogen, care apoi interacționează cu diverse substraturi [4] și contribuie la transformarea acestora. Totodată aceștia catalizează procesul de descompunere al peroxidului de hidrogen în radicali OH [11]. De aceea în ultimul sistem, cel mai complex, s-au adăugat ioni de Cu(II) în concentrații de la $4.0 \cdot 10^{-6}$ M până la $1.2 \cdot 10^{-5}$ M. Din rezultatele practice obținute s-au determinat vitezele de degradare fotochimică la variația concentrației inițiale de HIN (Fig. 3), la variația concentrației inițiale de H_2O_2 (Fig. 4) precum și la variația concentrației inițiale a ionilor de Cu(II) adăugați în sistem (Fig. 5). Din Fig. 3 s-a constatat că la variația concentrației de HIN în sistem, în prezența H_2O_2 și a ionilor de Cu(II), vitezele de degradare fotochimică ale substratului sunt cele mai mari, dar sunt comparabile cu cele obținute în absența ionilor de Cu(II). Aceasta demonstrează că HIN la interacțiunea cu ionii de Cu(II) inițial formează complecși, care ulterior la iradiere degradează cu generare de radicali care contribuie la degradarea ulterioară a substratului.

Pentru a înțelege mai bine cinetica fotolizei HIN, pentru toate sistemele au fost calculate ordinile parțiale de reacție, constantele efective de viteză și timpul de înjumătățire

ale substratului (Tabelul 1). Din calculele efectuate s-a determinat că ordinul parțial de reacție după HIN la fotoliza directă este fracționar, ceea ce indică asupra faptului că procesul de fotoliză directă decurge după un mecanism radicalic, fapt confirmat în cercetările anterioare [3]. Din punct de vedere al mecanismului, acest comportament se poate interpreta ca o concurență între două procese, contribuția cărora depinde de concentrația substratului și de sursa de iradiere. În cazul fotolizei indusă necatalitică și catalitică s-a determinat că degradarea fotochimică a HIN decurge după reacții de ordinul doi și depind de concentrațiile substratului, a peroxidului de hidrogen și a ionilor de Cu(II), precum și de radiațiile emise. Constantele efective ale vitezei de reacție s-au dovedit a fi de ordinul 10^{-6} s^{-1} pentru fotoliza directă și de ordinul 10^{-3} s^{-1} pentru fotoliza indusă catalitică (valoarea constantei de viteză fiind cea mai mare) și necatalitică.

Tabelul 1

Parametrii cinetici ai proceselor de fotoliză directă și indusă necatalitică și catalitică ai HIN [date proprii]

Sistemul	**k, s^{-1}**	**$\tau_{1/2}$**	**Ecuația matematică a vitezei de reacție**
HIN–H_2O–hυ	$9.26 \cdot 10^{-6}$	20 h 47 min 33 s	$W = k[HIN]^{0.7}$
HIN–H_2O–H_2O_2–hυ	$3.75 \cdot 10^{-3}$	3 min 4 s	$W = k[HIN][H_2O_2]^{0.8}$
HIN–H_2O–H_2O_2–Cu(II)–hυ	$1.52 \cdot 10^{-3}$	7 min 36 s	$W = k[HIN][H_2O_2]^{0.3}[Cu(II)]^{0.4}$

După parametrul timpul de înjumătățire s-a determinat că HIN se supune predominant fotolizei induse necatalitice. În prezența ionilor de Cu(II) timpul de înjumătățire al HIN crește aproximativ de două ori, ceea ce încă o dată demonstrează că HIN leagă ionii de Cu(II) în complecși, care au activitate catalitică mai puțin pronunțată. Cel mai mare timp de înjumătățire s-a determinat pentru sistemul supus fotolizei directe, care s-a dovedit a fi de 200 și respectiv 400 ori mai mare comparativ cu fotoliza indusă catalitică și necatalitică. Dacă transferăm rezultatele obținute pe sisteme model, la sisteme reale, putem constata că HIN ajungând în sistemele acvatice, se supune degradării în special prin fotoliza indusă catalitică, deoarece ionii de Cu(II) sunt prezenți în apele naturale. Astfel, HIN are efecte negative asupra ecosistemelor acvatice, pe de o parte consumă particulele oxidative (în special radicalii OH), care asigură capacitatea de autopurificare a sistemelor acvatice, iar pe de altă parte leagă ionii de Cu(II) în complecși cu activitate catalitică mai scăzută.

CONCLUZII

În rezultatul cercetărilor s-a constatat că HIN se supune fotolizei directă și indusă necatalitică și catalitică. Viteza de fotoliză depinde direct proporțional de concentrația inițială a HIN și mai evident de concentrațiile de H_2O_2 și a ionilor de Cu(II) adăugați în sistem. Au fost calculați parametrii cinetici precum constantele efective ale vitezelor de

reacție, timpul de înjumătățire precum și propuse ecuațiile matematice ale vitezelor de degradare ale HIN.

A fost stabilit că după parametrul timpul de înjumătățire HIN se supune fotodegradării cel mai rapid la fotoliza sensibilizată necatalitică, urmată de catalitică și cel mai lent, practic neglijabil la fotoliza directă. Dacă se transferă rezultatele obținute pe sistemele model la sisteme acvatice naturale se poate evidenția că $\tau_{1/2}$ a HIN va fi de 7-8 min.

Ca rezultat s-a stabilit că HIN are efecte negative asupra ecosistemelor acvatice, pe de o parte consumă particulele oxidative (în special radicalii OH), care asigură capacitatea de autopurificare a sistemelor acvatice, iar pe de altă parte leagă ionii de Cu(II) în complecși cu activitate catalitică mai scăzută.

Referințe:

1. LIS, Angela. Fotoliza directă a cisteinei şi tioureei în soluţii apoase. În: *Studia Universitatis Moldaviae (Seria Ştiinţe Reale şi ale Naturii)*, 2016, nr. 6(96), pp. 133-141. ISSN 1814-3237.
2. Nejumal, K. K., Rayaroth, M. P., Dineep, D., Aravind, U. K., Aravindakumar, C. T. Photochemical oxidative degradation studies of isoniazid in aqueous medium. In: *Materials Today: Proceedings*, 2020. doi:10.1016/j.matpr.2020.06.583.
3. Rodrigues-Silva et al. Study of isoniazid degradation by Fenton and photo-Fenton processes, by-products analysis and toxicity evaluation. In: *J Photochem Photobiol A Chem*, 2022, vol. 425, 113671. doi: 10.1016/j.jphotochem.2021.113671.
4. Duca, Gh., Travin, S. Reactions' Mechanisms and Applications of Hydrogen Peroxide. In: *American Journal of Physical Chemistry*, 2020, vol. 9, no. 2, pp. 36–44. doi: 10.11648/j.ajpc.20200902.13.
5. Liu, N. et al. Gut microbiota affects sensitivity to immune-mediated isoniazid-induced liver injury. In: *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2023, vol. 160, p. 114400. doi: 10.1016/j.biopha.2023.114400.
6. Erwin, E. R., Addison, A. P., John, S. F., Olaleye, O. A., Rosell, R. C. Pharmacokinetics of Isoniazid: The Good, The Bad, and The Alternatives. In: *Tuberculosis*, 2019, vol. 116, pp. S66–S70. doi:10.1016/j.tube.2019.04.012.
7. Safavi, A., Karimi, M., Hormozi Nezhad, M., Kamali, R., Saghir, N. Sensitive indirect spectrophotometric determination of isoniazid. In: *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2004, 60(4), pp. 765–769. doi:10.1016/s1386-1425(03)00288-9.
8. GLADCHI, V., LIS, A. Fototransformarea acidului folic în soluții apoase. In: *Integrare prin cercetare și inovare: Ştiinţe ale naturii și exacte, 10-11 noiembrie 2022, Chișinău*. Chisinau, Republica Moldova: Centrul Editorial-Poligrafic al USM, 2022, SNE, pp. 154-157. ISBN 978-9975-62-469-5.

9. Duca, Gh., Lis, A., Gladchi, V., Travin, S. Indirect photolysis of cysteine and thiourea in the aquatic environment. In: *Inorganica Chim Acta*, 2023, vol. 557, p. 121682. doi: 10.1016/j.ica.2023.121682.
10. LIS, Angela, GLADCHI, Viorica, DUCA, Gheorghe, TRAVIN, Sergey. Sensitized photolysis of thioglycolic acid in aquatic environment. In: *Chemistry Journal of Moldova*, 2021, nr. 1(16), pp. 46-59. ISSN 1857-1727.
11. TRAVIN, Sergey, DUCA, Gheorghe, GLADCHI, Viorica. Self-purification of aquatic media from hexachlorocyclohexane in a radical process. In: *Chemistry Journal of Moldova*, 2019, nr. 1(14), pp. 47-53. ISSN 1857-1727.
12. Xia, Y., Feng, J., Fan, S., Zhou, W., Dai, Q. Fabrication of a multi-layer CNT-PbO2 anode for the degradation of isoniazid: kinetics and mechanism. In: *Chemosphere*, 2020, 128069. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.12.

Notă: *Lucrarea a fost efectuată în cadrul proiectului 20.80009.5007.27 ”Mecanisme fizico-chimice a proceselor redox cu transfer de electroni implicate în sistemele vitale, tehnologice şi de mediu”, finanţat de ANCD.*