

CZU: 54.06: 547.963.32

CINETICA PROCESELOR DE NITROZARE A AMOXICILINEI CU IONI NITRIȚI ȘI INHIBIȚIA FORMĂRII N-NITROZOAMOXICILINEI

Maria GONȚA, Elena SÎRBU

Universitatea de Stat din Moldova

N-nitrozocompușii sunt substanțe puternic cancerigene și mutagenice formate la interacțiunea dintre diferiți nucleofili (amine, amide) și acidul azotos. Formarea NNC poate fi redusă, minimalizată sau prevenită complet prin prezența unor reagenți care inhibă activitatea agenților de nitrozare sau îi transformă în produși nereactivi. A fost cercetată influența diferiților factori fizico-chimici asupra vitezei procesului de nitrozare a amoxicilinei: variația concentrației de ioni nitriți, variația pH-ului mediului de reacție și concentrația amoxicilinei, capacitatea antioxidantă și inhibitorie a diferiților antioxidanți monomerici și polimeri naturali greșați cu antioxidanți. Conform datelor obținute, toți factorii cercetați au schimbat viteza de reacție a amoxicilinei și ulterior vor putea fi folosiți pentru inhibarea procesului de nitrozare.

Cuvinte-cheie: *NNC-N-nitrozocompuși, AMX-amoxicilină, Qv-cvercetină, inhibiție.*

THE KINETICS OF NITROSATION PROCESSES OF AMOXICILLINE WITH NITRITE IONS AND THE INHIBITION OF N-NITROSAMINE FORMATION

N-nitrosocompounds are highly carcinogenic and mutagenic substances formed by the interaction between different nucleophiles (amines, amides) and the nitric acid. NNC formation can be reduced, minimized or prevented completely by the presence of reagents that inhibit the activity of the nitrosating agents or convert them into non-reactive products.

The influence of different physicochemical factors on the rate of amoxicillin nitrosation was investigated: variation of nitrate concentration, pH variation of the reaction medium and amoxicillin concentration, antioxidant and inhibitory capacity of various monomeric antioxidants and antioxidant grafted natural polymers. According to the obtained data, all the studied factors change the reaction speed of and later they will be used for the inhibition of the nitrosation process.

Keywords: *NNC-N-nitrosocompounds, AMX-amoxicilline, Qv-queretone, inhibition.*

Introducere

Printre numărul mare de substanțe cancerigene un loc important îl ocupă N-nitrozocompușii (NNC), dintre care cca 80% posedă acțiune cancerigenă și induc apariția tumorilor maligne practic în orice organ al organismului uman. N-nitrozaminele sunt substanțe cancerigene care pot pătrunde în organism odată cu produsele alimentare, medicamentele ce le conțin, însă pot fi sintetizate la nivelul tubului digestiv [1].

În cadrul consumului medicamentos uman o clasă importantă, care se supune nitrozării, reprezintă aminele secundare și terțiare, care pot reacționa cu nitritul formând N-nitrosamine, multe dintre care sunt cancerigene. Aminele terțiare prezintă un interes particular, deoarece multe dintre ele se presupune că formează N-nitrozamine cancerigene cunoscute prin reacția cu acidul nitric [2].

Riscul potențial față de sănătatea umană a N-nitrozoderivaților formați prin procesul de nitrozare a medicamentelor a fost întotdeauna un subiect actual. Deși reacția chimică între amine și ioni nitriți poate fi ușor examinată, consecințele biologice sunt dificil de presupus.

N-nitrozarea are loc cu o viteză mai înaltă la participarea agenților de nitrozare de tip Y-NO, care sunt considerați ca generatori de cationi de nitrozoniu-NO⁺. În condiții acide agentul de nitrozare N₂O₃ este format din două molecule de acid nitros și reacționează cu amina neprotonată formând N-nitrozamine. Deci, rata de nitrozare depinde de pH și este direct proporțională cu pătratul concentrației nitritului, cu concentrația aminei și invers proporțională cu bazicitatea aminei. Formarea N-nitrozaminelor prin reacția oxidului de azot gazos (N₂O₃) în condiții neutre sau alcaline are loc de obicei mai rapid decât nitrozarea cu nitriți în condiții acide. În prezența unui anumit anion se formează agenți de nitrozare puternici (NOX). Compușii aminici secundari reprezintă substraturi care se nitrozează cel mai rapid comparativ cu aminele primare și terțiare. În acest caz, formarea NNC are loc cu o viteză mai mică și prin realizarea mecanismelor mai complexe [3].

Multe din N-nitrozaminele formate prin nitrozarea endogenă nu pot fi identificate din cauza metabolismului cu participarea enzimei P-450, care le transformă în ioni de diazoniu ce posedă o reactivitate înaltă [4]. Amoxicilina și alte medicamente antibacteriene sunt amine secundare și posedă o grupare N-H liberă, care se

supune procesului de nitrozare. N-nitrozoaminele formate la nitrozarea medicamentelor aparțin clasei de NNC reactivi, în componența cărora grupa $>N-N=O$ este legată de o grupare carbonil sau de gruparea $>C=NR$. Acești compuși care au efecte mutagene și cancerigene fac parte din clasa N-nitrozoaminelor, N-nitrozouretanilor și N-nitrozourelor [5]. Astfel, nitrozarea endogenă a medicamentelor din această clasă duce la formarea compușilor electrofili reactivi, care au o toxicitate sporită asupra ADN-ului și pot avea efecte toxice, dacă sunt administrate în doze mari sau sunt folosite timp îndelungat [6].

Unele substraturi reprezintă amine terțiare cu un substituent dialchilaminic sau altă grupare, care atacă atomul de azot terțiar. În acest caz, deseori poate avea loc formarea N-nitrozodialchilaminelor volatile și a N-nitrozaminelor rezultate din pierderea unei sau altei grupări alchil-.

Dezvoltarea unei abordări sistematice în cadrul investigației potențialului pericol al medicamentelor nitrozabile trebuie să fie bazată pe două considerații, numite viteza relativă la care medicamentele suferă N-nitrozarea în condiții standard *in vitro* și gradul de cancerogenitate a compușilor nitrozabili pe modelul animalelor de laborator [7].

Multe dintre medicamentele nitrozabile sunt utilizate pe scară largă de către populație. În acest caz, persoanele care administrează aceste medicamente consumă de asemenea alimente care conțin nitriți, cum ar fi, de exemplu, servirea cărnii sau peștelui cu culturi cultivate pe soluri cu deficit de minerale. O astfel de combinație ar putea reprezenta un risc cancerigen semnificativ periculos, deoarece are loc formarea N-nitrozaminelor în stomac [8].

Deși cantitatea de N-nitrozamine formate din aceste medicamente la concentrații mici sunt adesea mici, acest proces nu poate fi considerat ne semnificativ, în special atunci când cantitatea acestora este suplimentată de alte surse cancerigene. Cantitățile de N-nitrozamine formate la nitrozarea unui medicament cu nitriți în stomac ar putea fi de ordinul microgramelor. Acest lucru subliniază necesitatea eliminării nitriților din consumul zilnic, dacă acesta este administrat cu medicamente nitrozabile.

N-nitrozocompușii sunt formați din diferite grupări nitrozabile din componența medicamentelor: dialchil-, alchil-, diaril- și amine secundare ciclice, amine terțiare, N-alchilamide, N-arilamide și hidrazine [9].

Deoarece cantitatea de NNC formați depinde nu doar de structura chimică a medicamentului, dar și de raportul molar medicament-nitrit, pH, temperatură și timpul de reacție, intervalul larg al randamentului obținut în funcție de diferite condiții de reacție nu este surprinzător. O creștere în valoarea pH-ului cu 3 unități peste valorile gastrice normale descrește formarea N-nitrozaminelor cu valori de ordinul 10^2 sau și mai puțin, în timp ce reducerea formării N-nitrozamidelor în acest caz este de ordinul $10^4 - 10^5$. Ca o abordare inițială, pentru a determina *in vitro* gradul de nitrozare a unui medicament, acest proces trebuie să aibă loc în condiții standard.

Pentru nitrozare sunt recomandate următoarele condiții: concentrația medicamentului 10 mM, concentrația nitritului 40 mM, temperatura de reacție 37°C, pH 3-4, timpul de reacție de la 1 și până la 4 ore [10].

Aceste condiții asigură un exces de nitrit pentru a promova reacția, concentrațiile apropiate senzitivității metodelor analitice pentru măsurarea cantității de NNC formați și o temperatură și interval de pH optim pentru majoritatea reacțiilor de nitrozare. Totuși, rezultatele obținute în acest mod nu permit o presupunere cantitativă a ratei de nitrozare și a cantității de NNC formați în stomacul pacienților tratați cu medicamentul nitrozabil; procesul de nitrozare a acestuia depinde de substratul de nitrozare, de natura catalizatorilor și inhibitorilor ce se conțin în stomac, de pH și de alți factori. Pentru a obține informații directe, reacția poate fi desfășurată prin incubarea *in vitro* a sucului gastric uman cu o doză folosită la nitrozare, dar metoda cea mai reușită este măsurarea concentrației produșilor de reacție în probele de suc gastric obținut de la pacienții tratați cu acest medicament [11].

Inhibitorii reacțiilor de N-nitrozare

Formarea NNC poate fi redusă, minimalizată sau prevenită complet prin prezența unor reagenți care distrug rapid agenții de nitrozare sau reduc cantitatea lor până la produși nereactivi. O varietate mare de compuși sintetici sau naturali, compuși simpli sau funcționalizați au demonstrat activitate inhibitorie a reacțiilor de nitrozare. Astfel de reagenți de obicei acționează ca concurenți față de amine, care au rol de substrat pentru speciile de nitrozare. Prin urmare, gradul de inhibiție a nitrozării depinde de câțiva factori:

- concentrația absolută și relativă a speciilor de nitrozare, a inhibitorilor și a aminei;
- rata relativă de interacțiune a agenților de nitrozare cu inhibitorii și cu amina.

N-nitrozarea este de asemenea modificată de aciditatea soluției și de prezența catalizatorilor și a inhibitorilor. Inhibitorii formării NNC cuprind compuși care fie reduc Y-NO la N_2 , N_2O sau NO sau leagă radicalul NO^+ ireversibil. N_2 , N_2O sau NO_2 sunt lipsiți de activitate nitrozabilă, dar NO este transformat în specii nitrozabile în prezența oxigenului, a anionilor sau a anumitor săruri de metale. NO este oxidat rapid la NO_2 ulterior formându-se N_2O_3 ($NO+NO_2 \leftrightarrow N_2O_3$) sau N_2O_4 ($2NO_2 \leftrightarrow N_2O_4$) și capacitatea de nitrozare este rapid restabilă. În prezența halogenilor sau a metalhalogenilor se generează agenții puternici de nitrozare NOX. În condiții anaerobe, formarea NNC din amine și NO este de asemenea catalizată de anumite săruri de metale (Zn, Cu, Fe).

Activitatea inhibitorie a polifenolilor

Compușii fenolici și polifenolici pot reduce nivelul de formare a NNC în funcție de structura acestora și condițiile de reacție. În condiții acide, majoritatea polifenolilor de obicei reacționează cu nitritul mai rapid decât majoritatea compușilor aminici. Efectele de modificare a NNC depind, de asemenea, de substratul aminic, aciditatea mediului și de concentrația relativă a nitritului și a inhibitorului. Efectele inhibitorii sunt evidențiate în special când raportul molar [nitrit]:[Inhibitor] <1 , iar capacitatea de inhibiție crește când acest raport molar este scăzut. În prezența unei concentrații mari de polifenoli, agentul de nitrozare fie este redus complet la NO, fie este transformat în C-nitrozoderivați; astfel, procesul de nitrozare este blocat complet [12].

Material și metode

Determinarea ionilor nitriți

Studiul experimental al procesului de nitrozare pentru amoxicilină a fost efectuat în funcție de diferiți parametri fizico-chimici: după variația concentrației de ioni nitriți, variația pH-ului mediului de reacție. Pentru determinarea ionilor nitriți a fost utilizată metoda Griess [13]. Proba analizată (1 ml) se amestecă cu un volum (2 ml) de reactiv Griess (amestec de volume egale de soluții ale α -naftilaminei și acidului sulfanilic), se agită și se lasă timp de 20-30 de minute la întuneric, după care se măsoară absorbanta la $\lambda=540$ nm față de soluția de comparație (reactiv Griess și apă distilată se ia în raport de 2:1) prin metoda spectrofotometrică [9].

În dependență de concentrația nitritului de sodiu, reactivul Griess dă o colorație de la roz-pal până la roșu-aprins. Respectiv, odată cu creșterea concentrației nitritului de sodium, intensitatea culorii crește, deci are loc și creșterea densității optice a soluției.

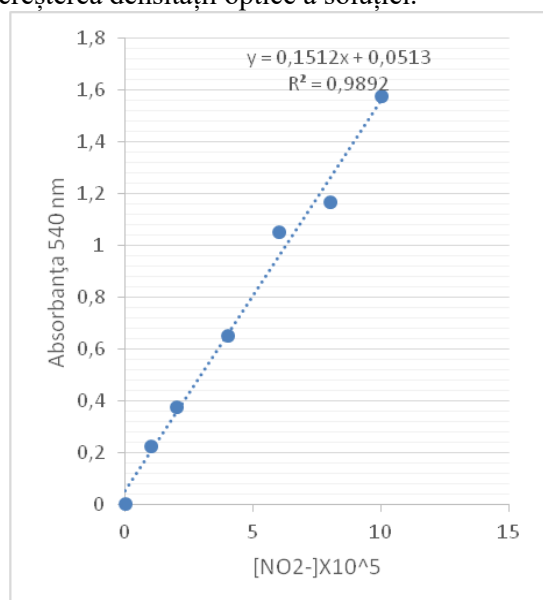


Fig.1. Curba de calibrare la determinarea $[NO_2^-]$, ($\lambda_{max}=540$ nm).

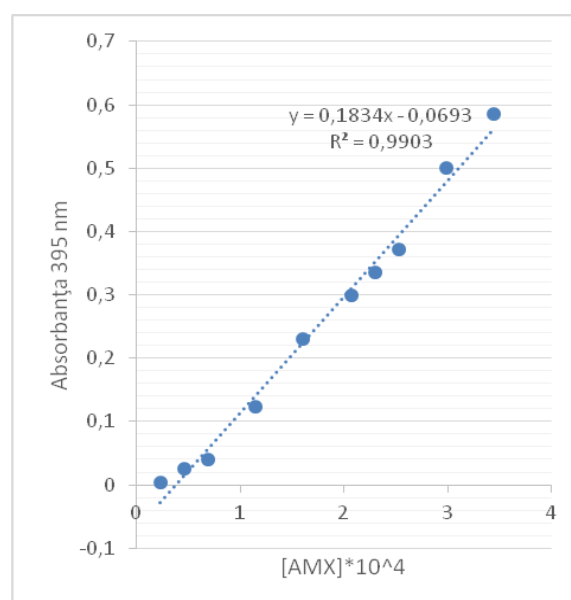


Fig.2. Curba de calibrare pentru determinarea amoxicilinei, ($\lambda_{max}=395$ nm).

Determinarea amoxicilinei: în cadrul procesului dat în baloane cotate de 50 ml s-au preparat 10 soluții de diferită concentrație de amoxicilină, s-au adăugat câte 2 ml amestec de sulfat de cupru și hidroxid de amoniu și s-a adus la cotă cu acid clorhidric.

Rezultate și discuții

Procesul de nitrozare a amoxicilinei în funcție de pH-ul mediului

În studiul procesului de transformare a nitriților în funcție de variația pH-ului, procesul de nitrozare a amoxicilinei cu ioni nitriți a fost studiat la 20°C, în soluții apoase ce conțineau: nitrit cu concentrația de $1 \cdot 10^{-4}$ M, amină (amoxicilină) cu concentrația de $1 \cdot 10^{-3}$ M și soluție tampon citrat-fosfat. În cadrul studiului practic pH-ul mediului de reacție a fost variat în intervalul: 1,5; 2,6; 3,6; 4,6. Concentrația nitritului a fost determinată timp de 30 de minute de reacție pentru fiecare pH.

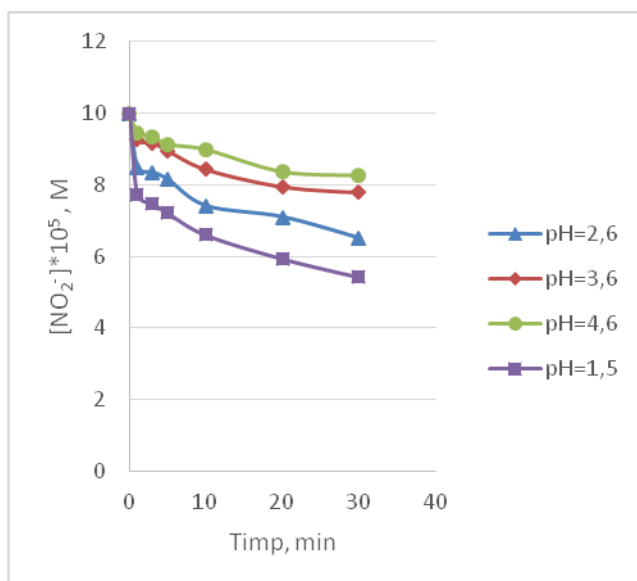


Fig.3. Variația $[\text{NO}_2^-]$ în funcție de pH.
 $[\text{Amx}]=1 \times 10^{-3}$ M; $[\text{NO}_2^-]=1 \times 10^{-4}$ M, $t=20^\circ\text{C}$

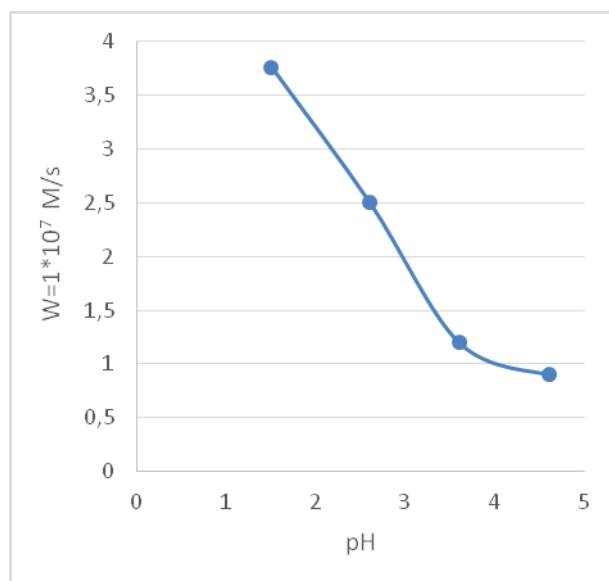
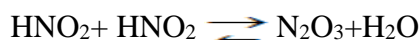


Fig.4. Variația vitezei de consum a NO_2^- la nitrozarea AMX în funcție de pH.

Conform datelor obținute (Fig.3,4), pH-ul mediului exercită o influență considerabilă asupra procesului de nitrozare al amoxicilinei. Astfel, la un pH mic, gradul de nitrozare este mai mare comparativ cu un pH mai mare. Viteza de consum a ionilor nitriți crește odată cu mărirea $[\text{H}^+]$ în intervalul de pH: 1,5-4,6. Deci, viteza procesului scade odată cu mărirea pH-ului de la $3,76 \times 10^{-7}$ M/s la 9×10^{-8} M/s. Prin urmare, reacția de nitrozare a amoxicilinei este acid-catalizată. Stomacul oferă un mediu adecvat, cu gradul de pH scăzut, care favorizează interacțiunea aminelor cu nitritul.



Studiul procesului de nitrozare a amoxicilinei după variația concentrației de nitrit în sistem

În studiul procesului de nitrozare a AMX după variația concentrației de nitrit, concentrația medicamentului a fost de $1 \cdot 10^{-3}$ M, pH=2,6. pH-ul mediului soluției a fost creat prin utilizarea soluției tampon citrat-fosfat. În cadrul studiului s-au utilizat soluții de nitrit cu concentrațiile: 1×10^{-4} M; $1,2 \times 10^{-4}$ M; 6×10^{-5} M. S-a studiat influența concentrației ionilor de nitrit asupra procesului de nitrozare a amoxicilinei; $[\text{AMX}]=1 \cdot 10^{-3}$ M, pH=2,6; $t=20^\circ\text{C}$;

Conform datelor obținute, s-a observat că odată cu mărirea concentrației nitritului are loc și creșterea conținutului de agenți de nitrozare. Deci, formarea NNC depinde de concentrația nitritului în sistem (Fig.5,6).

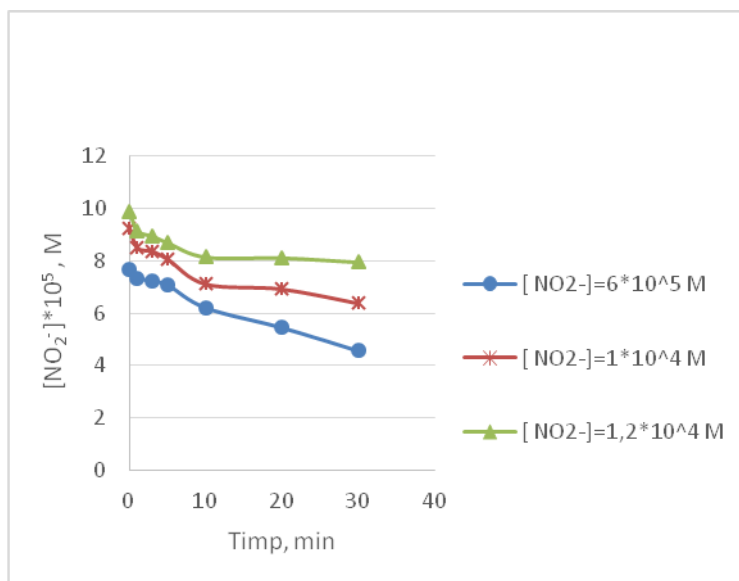


Fig.5. Variația NO_2^- la nitrozarea AMX la diferite concentrații de NO_2^- , $[\text{AMX}] = 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $\text{pH} = 2,6$; $t = 20^\circ \text{C}$.

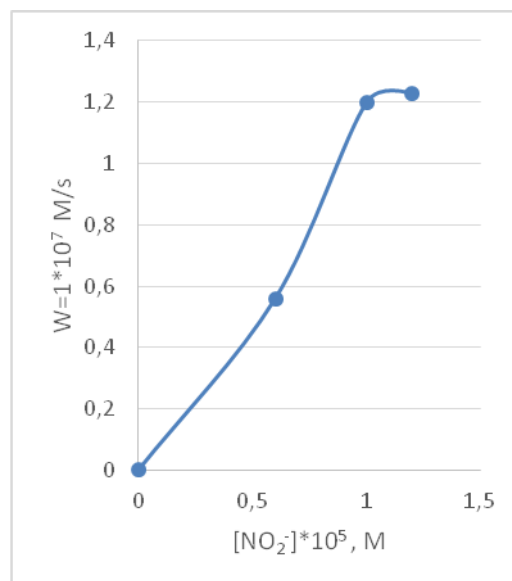


Fig.6. Variația vitezei de consum a NO_2^- la nitrozarea AMX în funcție de $[\text{NO}_2^-]$.

Studiul procesului de nitrozare a amoxicilinei după variația concentrației de amină (amoxicilină) în sistem

A fost studiat procesul de nitrozare a AMX utilizând diferite concentrații de amină (amoxicilină), la un pH acid de 2,6 care a fost menținut cu soluția tampon citrat-fosfat, concentrația nitritului fiind de $1 \times 10^{-4} \text{ M}$, iar concentrațiile aminei variind de la $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ până la $5 \times 10^{-3} \text{ M}$. Analizând datele obținute în figurile 7 și 8, menționăm că viteza de nitrozare a AMX crește proporțional cu creșterea concentrației acesteia, în limitele $1,25 \times 10^{-7} \text{ M/s}$ până la $4,49 \times 10^{-7} \text{ M/s}$.

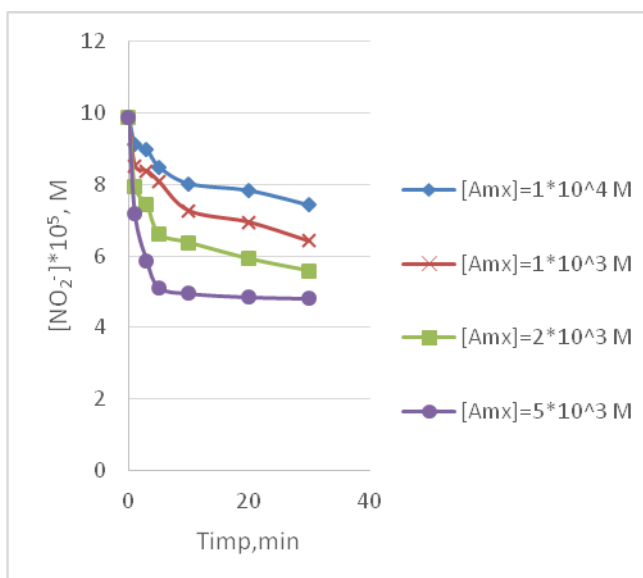


Fig.7. Variația $[\text{NO}_2^-]$ în funcție de $[\text{AMX}]$. $[\text{NO}_2^-] = 1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $\text{pH} = 2,6$; $t = 20^\circ \text{C}$;

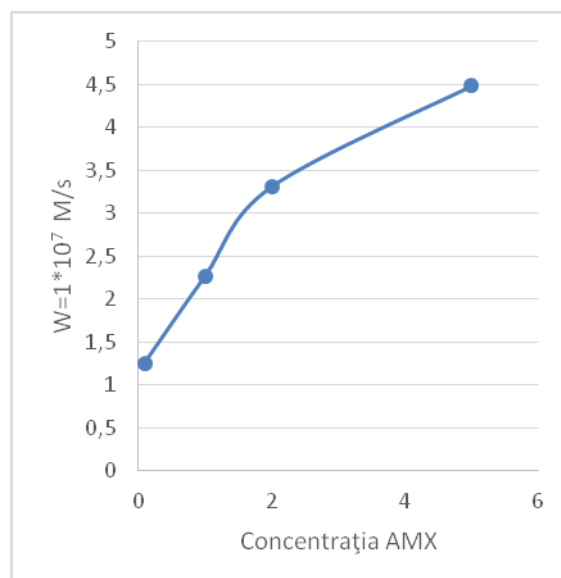


Fig.8. Variația vitezei de consum a ionilor nitriți în funcție de AMX.

Procesul de nitrozare a amoxicilinei a fost studiat la fel după variația concentrației de amoxicilină. S-a măsurat absorbanta în sistem după maximul de absorbție al substratului de nitrozare în funcție de diferiți parametri.

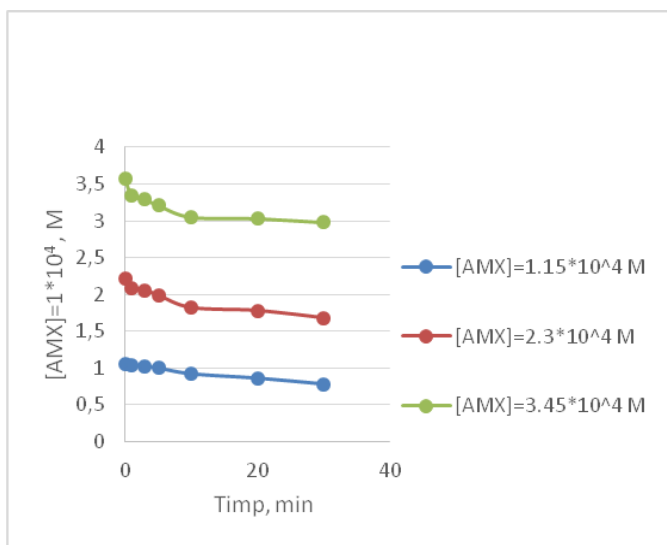


Fig.9. Curbe cinetice de variație a $[AMX]$ la nitrozarea acesteia cu NO_2^- . $[NO_2^-]=1 \times 10^{-4} M$; $pH=2,6$, $t=20^\circ C$.

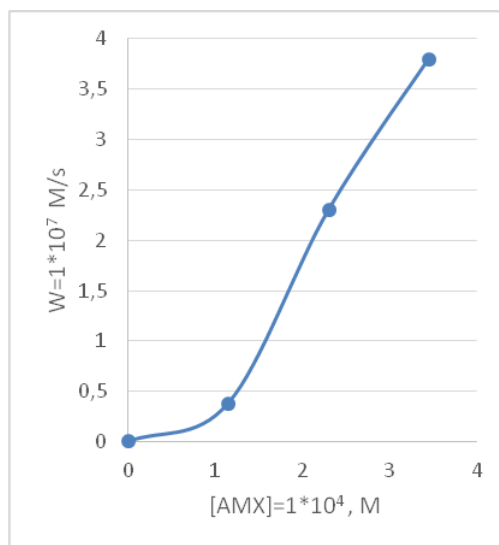


Fig.10. Variația vitezei de nitrozare a AMX în funcție de $[AMX]$.

Observăm aceleași legități cinetice, iar viteza de nitrozare a AMX crește odată cu creșterea concentrației de AMX. Dacă comparăm vitezele de nitrozare a amoxicilinei după variația $[NO_2^-]$ și $[AMX]$, constatăm că prima în condiții similare este mai înaltă (Fig.9,10).

Studiul procesului de nitrozare a amoxicilinei cu nitriți ioni în prezența antioxidantului natural cvercetină

S-a stabilit că cvercetină și alți polifenoli din clasa flavonoizilor au proprietate de a inhiba procesele de nitrozare în produsele farmaceutice. Pentru a reduce procesul de nitrozare a amoxicilinei, în cadrul cercetărilor experimentale s-a utilizat cvercetină cu diferite concentrații.

Analizând figurile 11 și 12, menționăm că la nitrozarea amoxicilinei cu nitrit în prezența cvercetinei s-a observat că consumul de NO_2^- crește odată cu creșterea concentrației de cvercetină, iar concentrația remanentă de NO_2^- în sistem scade. Astfel, constatăm că agenții de nitrozare, care se formează din nitriți, interacționează cu cvercetină, astfel concentrația lor în sistem scade mai mult. Cu cât mai mare este concentrația de cvercetină, cu atât crește viteza de consum a nitriților în sistem. Mecanismul de inhibiție a cvercetinei constă în proprietatea acesteia de a se nitroza cu cationul de nitrozoniu, inhibând nitrozarea medicamentului.

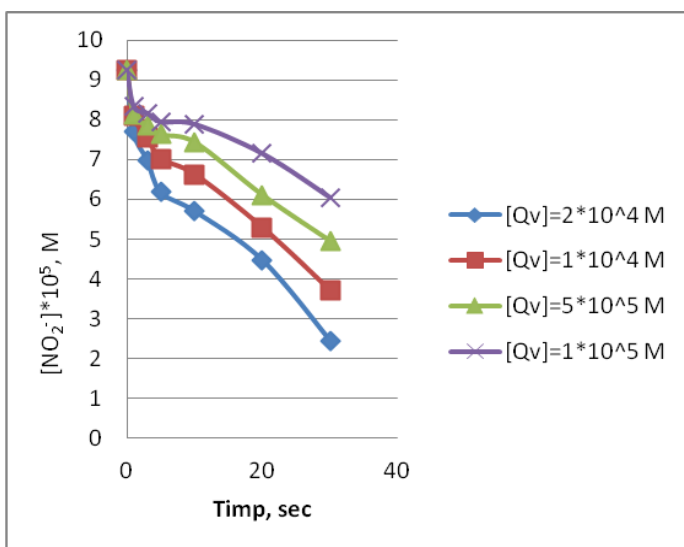


Fig.11. Variația $[NO_2^-]$ în funcție de $[Qv]$ (după nitrit).

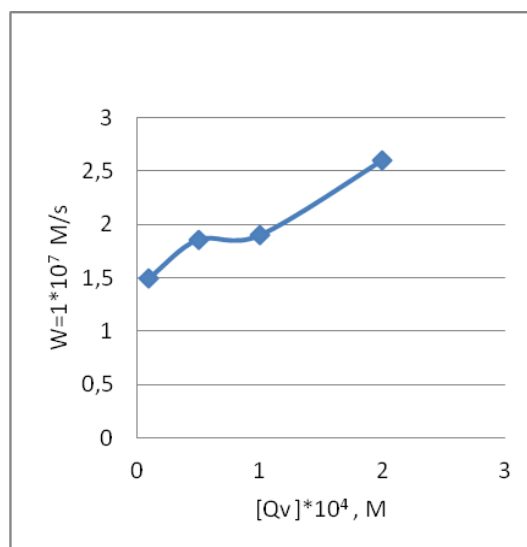


Fig.12. Variația vitezei de consum a ionilor NO_2^- în funcție de concentrația antioxidantului.

S-a studiat procesul de nitrozare a Amx, în prezența cvercetinei, după variația de [AMX]

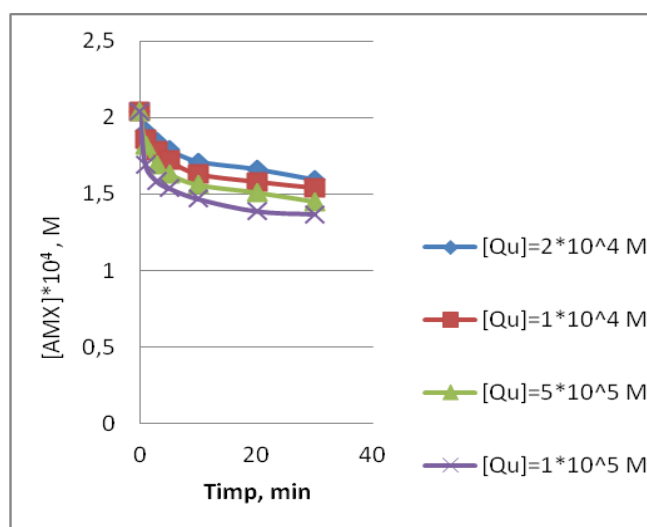


Fig.13. Variația [AMX] în cadrul procesului de nitrozare a acesteia în prezența Qv. $[\text{NO}_2^-]=1 \times 10^{-4}$ $[\text{AMX}]=1 \times 10^{-3}$, $\text{pH}=2,6$, $t=20^\circ\text{C}$.

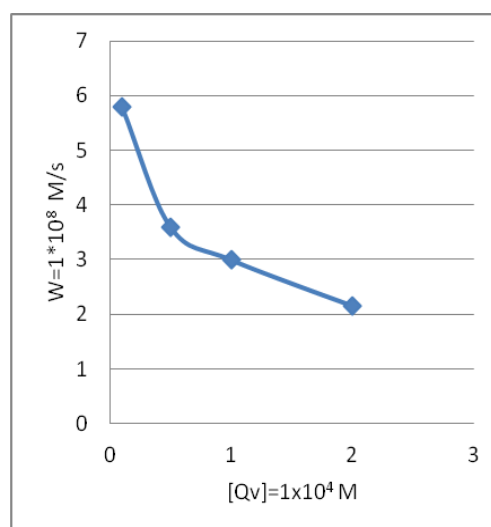


Fig.14. Variația vitezei de consum a AMX la nitrozarea acesteia la diferite concentrații de Qv.

Studiind variația concentrației de amină (amoxicilină) în cadrul nitrozării cu nitrit în prezența cvercetinei (Fig.13), constatăm că amina se consumă cu mult mai puțin comparativ cu sistemul fără cvercetină, ceea ce denotă că cvercetina are o reactivitate mai mare față de agentul de nitrozare decât amoxicilina. Cu cât concentrația de cvercetină crește, cu atât se mărește [AMX], iar viteza de consum a acesteia se micșorează (Fig.14).

Anumiți compuși fenolici (resorcinolul sau cvercetina) pot forma N-nitrozoderivați care acționează ca agenți de nitrozare puternici. Efectele compușilor fenolici asupra nitrozării depinde nu doar de structura lor, dar și de mediul de reacție, natura substratului aminic și de concentrația relativă a nitritului și a fenolilor [7]. Efectele inhibitoare sunt studiate când raportul molar [nitrit]:[compus fenolic]<1, și inhibiția crește când acest raport este în descreștere. În prezența unei concentrații mari de compuși fenolici, agentul de nitrozare este fie complet redus la NO, fie este transformat în C-nitrozoderivați, astfel încât nitrozarea este complet blocată. Cataliza nitrozării poate avea loc cu participarea compușilor fenolici care pot forma C-nitrozoderivați cu raportul molar [nitrit]:[Qv]>1 [4].

Concluzii

În procesul de studiere a legăturilor cinetice de consum al nitriților la nitrozarea amoxicilinei s-a constatat că viteza de nitrozare a AMX cu ioni nitriți depinde de pH, în intervalul 1,5-4,6. Odată cu creșterea pH-ului mediului are loc micșorarea vitezei procesului de nitrozare a amoxicilinei. În acest context, constatăm că în calitate de agent de nitrozare participă cationul de nitrozoniu (H_2ONO^+), care se formează în mediul acid din nitriți ioni. Procesul de nitrozare a amoxicilinei cu nitriți ioni depinde de concentrația agenților de nitrozare formați și a substratului de nitrozare. La fel a fost studiat procesul de nitrozare a AMX după consumul substratului de nitrozare (AMX) prin metoda spectrofotometrică. Viteza de consum după variația [AMX] a procesului studiat în prezența cvercetinei este cu mult mai mică decât viteza de consum a ionilor nitriți în aceleași condiții experimentale. Astfel, constatăm că inhibiția procesului de nitrozare a AMX se realizează în rezultatul micșorării concentrației agenților de nitrozare datorită interacțiunii acestora cu cvercetina.

Referințe:

- GONTA, M., DUCA, Gh. *Chimia ecologică a nitraților, nitriților și NNA*. Chișinău: CEP USM, 2009, p.268.
- LOEPPKY, R.N., JIANZHENG, Shi, BARNES, Ch.L., GEDDAM, S. A Diazonium Ion Cascade from the Nitrosation of Tolazoline, An Imidazoline-Containing Drug. In: *Chemical Resources Toxicological*, 2008, no21, p.295-307.
- BRYAN, N.S., GRISHAM, M.B. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples. In: *Free Radicalic Biological Medication*, 2007, no.43(5), p.645-657.

4. ANDREWS, A.W., FORNVALT, J.A., LIJINSKI, W. Nitrosation and Mutagenicity of Some Amine Drugs. In: *Toxicology and applied pharmacology*, 2005, no.52, p.237-244.
5. BRAMBILLA, G., MARTELLI, A. Genotoxic and carcinogenic risk to humans of drug-nitrite interaction products. In: *Mutation Research*, 2007, no.635, p.17-52.
6. ANDREWS, A.W., FORNVALT, J.A., LIJINSKI, W. Nitrosation and Mutagenicity of Some Amine Drugs. In: *Toxicology and applied pharmacology*, 2005, no.52, p.237-244.
7. BRAMBILLA, G., MARTELLI, A. Genotoxic and carcinogenic risk to humans of drug-nitrite interaction products. In: *Mutation Research*, 2007, no.635, p.17-52.
8. VELJOVIC-JOVANOVIC, S., MORINA, F.R.Y., SACHIKO, H. and UMEO, T. Interactions between (+)-Catechin and Quercetin during Their Oxidation by Nitrite under the Conditions Simulating the Stomach. In: *Journal of agricultural and food chemistry*, 2014, no.62, p.4951-4959.
9. ANDREWS, A.W., FORNVALT, J.A., LIJINSKI, W. Nitrosation and Mutagenicity of Some Amine Drugs. In: *Toxicology and applied pharmacology*, 2005, no.52, p.237-244.
10. LIYAN, Z., KOSARAJU, Sh.L. Biopolymeric delivery system for controlled releas of polyphenolic antioxidants. In: *European polymer Journal*, 2007, no.43(7), p.2956-2966.
11. BRAMBILLA, G., MARTELLI, A. Genotoxic and carcinogenic risk to humans of drug-nitrite interaction products. In: *Mutation Research*, 2007, no.635, p.17-52.
12. LIYAN, Z., KOSARAJU, Sh.L. Biopolymeric delivery system for controlled releas of polyphenolic antioxidants. In: *European polymer Journal*, 2007, no.43(7), p.2956-2966.
13. GARCIA-ROBLEDO, E., CORZO, A., PAPASPIROU, S. A fast and direct spectrophotometric method for the sequential determnation of nitrate and nitrite at low concentrations in small volumes. In: *Marine Chemistry*, 2014, no.162, p.30-36.

Date despre autori:

Maria GONȚA, doctor habilitat, profesor universitar, Facultatea de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova.

E-mail: mvgonta@yahoo.com

Elena SÎRBU, doctorandă, Școala doctorală Științe Chimice, Universitatea de Stat din Moldova.

E-mail: e.sirbu@inbox.ru

Prezentat la 19.06.2018