



ХИМИЯ

УДК 543.426

Влияние мицелл поверхностно-активных веществ на флуоресцентные свойства комплекса иттрия с левофлоксацином

Т. Г. Данилина, Т. Д. Смирнова, А. Д. Брышкина,
Н. А. Левина, Н. В. Неврюева

Данилина Татьяна Григорьевна, аспирант кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, danilina.tatyana.a@gmail.com

Смирнова Татьяна Дмитриевна, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, smirnovatd@mail.ru

Брышкина Анастасия Дмитриевна, студент Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, a.brushkina@yandex.ru

Левина Наталья Алексеевна, студент Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, levina3009@mail.ru

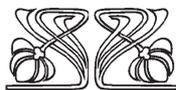
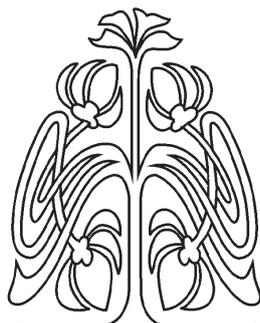
Неврюева Наталья Владимировна, кандидат химических наук, старший преподаватель кафедры общей, биоорганической и фармацевтической химии, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, natasha.k.83@mail.ru

Изучено влияние на флуоресцентные свойства левофлоксацина реакции комплексообразования с ионами иттрия и мицеллярных сред поверхностно-активных веществ. Люминесценция левофлоксацина зависит от кислотности среды и максимальна в кислой среде. Показано, что комплексообразование с ионами иттрия способствует росту собственной флуоресценции левофлоксацина в 2 раза. В слабощелочной среде образование комплекса сопровождается увеличением интенсивности в 1,3 раза и батохромным смещением полосы поглощения в спектрах биологически активного лиганда. Комплексообразование в мицеллярных средах сопровождается дополнительным увеличением сигнала эмиссии в 3 раза. Установлены диапазоны концентраций левофлоксацина, в которых наблюдается линейная зависимость от интенсивности люминесценции исследуемых систем. Найдены оптимальные условия максимального сигнала флуоресценции левофлоксацина в водных и мицеллярных средах поверхностно-активных веществ.

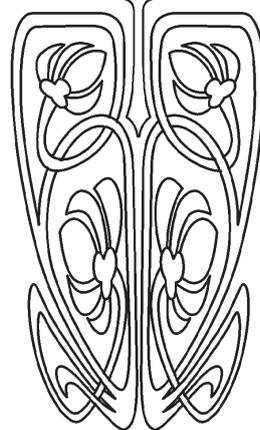
Ключевые слова: флуоресценция, левофлоксацин, комплексообразование с ионами иттрия, мицеллярные среды ПАВ.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-4-372-378>

Антибиотики группы фторхинолонов синтезированы в 80-х годах прошлого столетия путем фторирования и присоединения пиперазина к молекуле хинолона. Химическая модификация хинолонов значительно расширила спектр антибактериальных свойств исходных веществ, благодаря чему вновь синтезированные препараты находят широкое применение в клинике и ветеринарии. Один из представителей фторхинолонов – левофлоксацин (ЛФ) – является



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





левовращающим изомером офлоксацина, а его использование в клинической практике особенно актуально в связи с возможной резистентностью организма к энрофлоксацину.

Широкое и не всегда оправданное применение антибиотиков вызывает необходимость контроля их содержания в разных объектах. В объектах окружающей среды, биологических жидкостях и фармацевтических препаратах левофлоксацин определяют современными хроматографическими методами с привлечением масс-спектрометрических детекторов. В то же время для проведения рутинного анализа не теряют актуальности простые, доступные и экспрессные люминесцентные методики, основанные на измерении интенсивности флуоресценции хелатов металлов иттрия, лантана, лютеция или алюминия. Являясь бидентатными хелатирующими агентами, фторхинолоны проявляют наибольшее сродство к жестким кислотам Льюиса, образуя устойчивые комплексы со многими двухвалентными переходными и трехвалентными ионами металлов [1]. Особый интерес представляет комплексообразование фторхинолонов с ионами металлов диагностического и терапевтического медицинского назначения, такими как Al^{3+} , Gd^{3+} и Y^{3+} .

Фторхинолонам свойственна собственная флуоресценция, которая зависит от природы растворителя, pH среды, концентрации и природы самого фторхинолона [2]. Как правило, интенсивность флуоресценции протонированной формы фторхинолонов больше, чем у цвиттер-иона. В присутствии ионов трехвалентных металлов (Mo, V, W, Al, La, Sc, Y) собственная флуоресценция фторхинолонов в нейтральной и слабокислой среде усиливается за счет образования комплексов [3]. Возрастание сигнала собственной флуоресценции лиганда связано с повышением «жесткости» структуры флуоресцирующего центра. Отсутствие в ионах комплексообразователей электронов на 4f-оболочке или полностью заполненной 4f-оболочки, наличие которых обычно приводит к тушению люминесценции органического лиганда в результате безызлучательных переходов, способствует увеличению сигнала эмиссии. Причины усиления сигнала флуоресценции заключаются в формировании более протяженной плоскостной структуры π - π -сопряжения, значительном уменьшении диссипации энергии возбуждения в результате ингибирования подвижности гидроксильных и карбоксильных групп лиганда.

Дополнительно увеличить интенсивность флуоресценции аналитической системы мож-

но проводя реакцию комплексообразования в мицеллярных средах поверхностно-активных веществ [4].

Целью настоящей работы явилось изучение влияния природы мицелл поверхностно-активных веществ (ПАВ) на флуоресцентные свойства левофлоксацина и его комплексов с ионами Y^{3+} .

Материалы и методы

Реагенты. Левофлоксацин «Sigma-aldrich» (не менее 99% основного вещества), раствор $1.0 \cdot 10^{-3}$ М готовили растворением точной навески в 0.1 М HCl; хлорид цетилпиридиния (не менее 96%) $1 \cdot 10^{-1}$ М; Тритон-х 100, «Sigma» (не менее 99%) $1 \cdot 10^{-1}$ М; Бридж-35 «Acros» (не менее 99%) $1 \cdot 10^{-1}$ М; Твин-80 «Sigma» (не менее 99%), раствор $1 \cdot 10^{-1}$ М; додецилсульфат натрия «AppliChem» (не менее 99%), раствор $1 \cdot 10^{-1}$ М.

Неорганические и органические кислоты, щелочи и соли: кислота уксусная, ГОСТ 61-75, х.ч.; гидроксид натрия, 0,1 М стандарт-титр; аммиак водный, ГОСТ 3760-79, ч.д.а.; вода бидистиллированная ГОСТ 6709-72; иттрия (III) хлорид гексагидрат «AcrosOrganics» (99,0%).

Аппаратура и техника измерений. Спектры флуоресценции регистрировали при помощи спектрофлуориметра LS-55 фирмы «Perkin-Elmer» с источником возбуждения – импульсной ксеноновой лампой. Ширина дифракционной щели возбуждения – 10 нм, флуоресценции – 5 нм. Скорость регистрации спектров – 300 нм/мин. Измерения проводили в кварцевой кювете с толщиной слоя 1 см. Сигнал регистрировали под углом 90° к возбуждающему свету в режиме время-разрешенной флуоресценции, время задержки измерения сигнала составляло 0,03 мс.

Оптическую плотность растворов и электронные спектры поглощения в видимой и УФ-области спектра измеряли на спектрофотометре UV-1800 фирмы «Shimadzu», Япония. Использовали кварцевые кюветы с длиной оптического пути 1 см («Shimadzu»). Оптическую плотность измеряли относительно раствора сравнения, содержащего все компоненты, кроме определяемого.

Значение pH контролировали на pH-метре (pH-673 М) со стеклянным индикаторным электродом и хлоридсеребряным электродом сравнения.

Результаты и их обсуждение

Спектры поглощения левофлоксацина и его комплексов с Y^{3+} . Левофлоксацин в зависимости от кислотности среды в растворе находится в катионной, цвиттер-ионной или анионной форме [2]. В кислой среде при



pH < 5 в результате протонирования кислорода карбонильной группы и азота пиперазинового кольца образуется катионная форма фтохинолона. Хромофор левофлоксацина, включающий

пиперазиновое кольцо и карбоксильную группу, характеризуется в спектре поглощения высокоинтенсивной полосой при 290–300 нм и менее интенсивной при 255 нм (рис. 1).

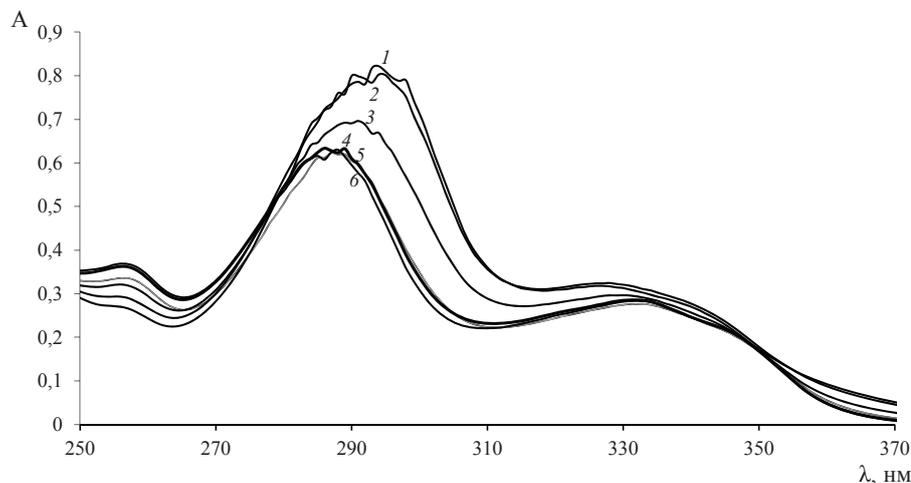


Рис. 1. Спектры поглощения левофлоксацина при pH: 1 – 3; 2 – 5; 3 – 6; 4 – 7; 5 – 8, 6 – 9; $C_{\text{ЛФ}}=1 \cdot 10^{-6}$ М

Fig. 1. Levofloxacin absorption spectra: 1 – pH 3; 2 – pH 5; 3 – pH 6; 4 – pH 7; 5 – pH 8 and 6 – pH 9, $C_{\text{LF}}=1 \cdot 10^{-6}$ М

В кислых средах с увеличением концентрации протонированной формы левофлоксацина максимум поглощения при 300 нм возрастает, в то время как интенсивность полосы при 255 нм уменьшается. В слабокислой, нейтральной и щелочной средах при pH > 5 наблюдается гипохромное и незначительное гипсохромное смещение максимума практически на 8–9 нм, что, по-видимому, связано с диссоциацией карбоксильной группы. Полоса поглощения в спектре левофлоксацина при 335 нм не изменяется во всем интервале pH. Рассчи-

танные нами коэффициенты молярного светопоглощения полос при pH 6–7 равны $\epsilon_{255} = 1.9 \times 10^4$, $\epsilon_{290} = 3.5 \times 10^4$ и позволяют отнести их к π - π^* -переходам в сопряженных системах реагента.

Нами установлено, что в слабощелочной среде (pH 7–8) образование комплексного соединения левофлоксацина с ионами Y^{3+} сопровождается изменениями в спектрах поглощения – увеличением интенсивности в 1,3 раза при $\lambda = 290$ нм и bathochromным смещением максимума на 5 нм (рис. 2). Взаимодействие

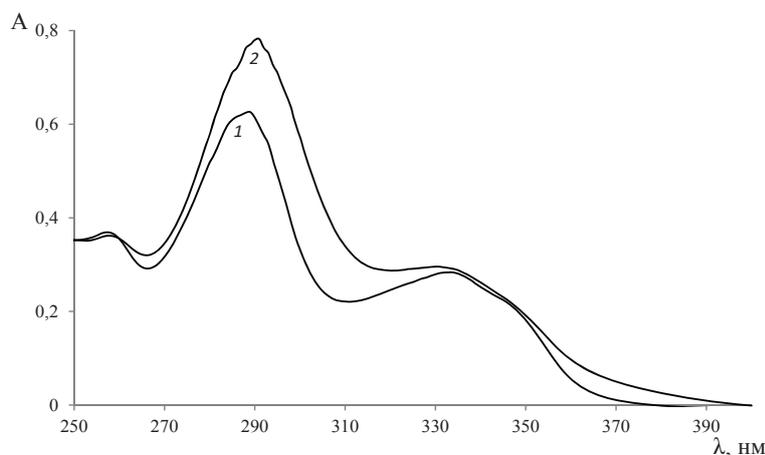


Рис. 2. Спектры поглощения: 1 – ЛФ, 2 – ЛФ – Y^{3+} ; $C_{\text{ЛФ}}=1.0 \cdot 10^{-6}$ М, $C_{Y^{3+}}=1.0 \cdot 10^{-4}$ М, pH 8.0

Fig. 2. Absorption spectra 1 – LF and 2 – LF – Y^{3+} , $C_{\text{LF}}=1.0 \cdot 10^{-6}$ М, $C_{Y^{3+}}=1.0 \cdot 10^{-4}$ М, pH 8.0



иона металла возможно по карбонильному кислороду пиридинового кольца и второму карбонильному кислороду карбоксильной группы антибиотика [2].

Спектры люминесценции. Фторхинолоны обладают выраженными флуоресцентными свойствами, которые зависят от кислотности среды.

Как видно на рис. 3, интенсивность флуоресценции левофлоксацина максимальна в кислой среде и уменьшается в щелочной. Установлено, что линейная зависимость интенсивности флуоресценции левофлоксацина от концентрации антибиотика наблюдается в интервале $5 \cdot 10^{-7} - 3 \cdot 10^{-5}$ М и составляет около двух порядков (таблица).

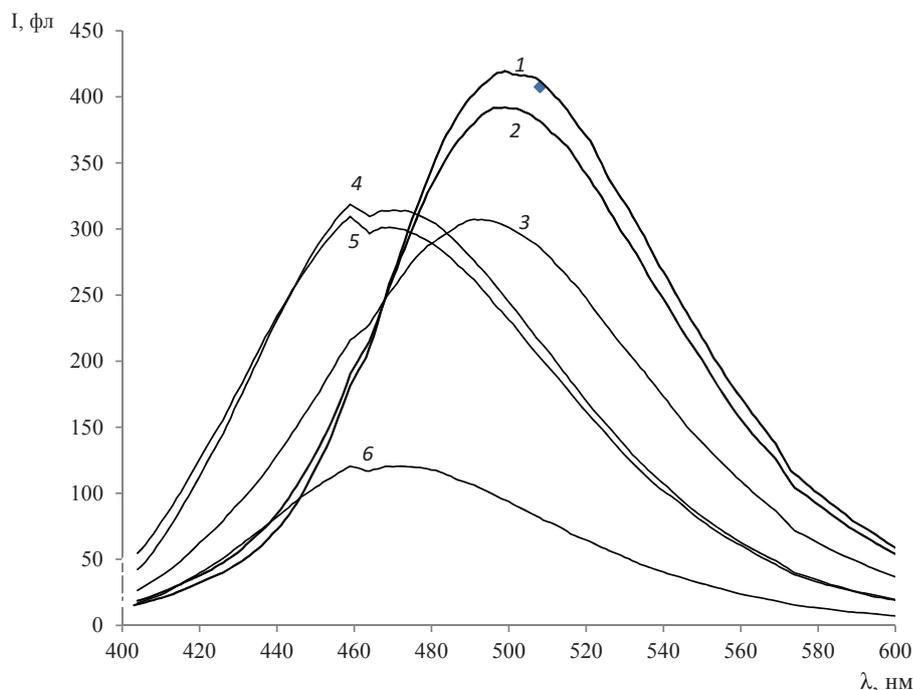


Рис. 3. Спектры флуоресценции левофлоксацина при pH: 1 – 3; 2 – 5; 3 – 6; 4 – 7; 5 – 8; 6 – 9; $C_{\text{ЛФ}} = 10^{-6}$ М, $\lambda_{\text{возб}} = 290$ нм

Fig. 3. Fluorescence spectra of levofloxacin 1 – pH 3, 2 – pH 5, 3 – pH 6, 4 – pH 7, 5 – pH 8, 6 – pH 9; $C_{\text{LF}} = 10^{-6}$ М, $\lambda_{\text{ex}} = 290$ nm

Некоторые метрологические характеристики флуориметрического определения левофлоксацина
Some metrological characteristics of the levofloxacin fluorimetric determination

Аналитическая система / Analytical system	Диапазон концентраций, М / Range of concentration, M	R ²	Уравнение прямой / Straight line equation
Собственная флуоресценция левофлоксацина / Levofloxacin's own fluorescence	$5 \cdot 10^{-7} - 3 \cdot 10^{-5}$	0,995	$Y = -0.81x + 7.24$
Левофлоксацин – Y ³⁺ / Levofloxacin – Y ³⁺	$1 \cdot 10^{-7} - 3 \cdot 10^{-5}$	0,991	$Y = -0.60x + 6.20$
Левофлоксацин – Y ³⁺ – ДДС / Levofloxacin – Y ³⁺ – DDS	$1 \cdot 10^{-8} - 2 \cdot 10^{-5}$	0,991	$Y = -0.42x + 5.40$

Влияние комплексообразования. Возрастание интенсивности флуоресценции левофлоксацина в 2 раза в присутствии ионов Y³⁺ ($\lambda_{\text{возб}} = 292$ нм, $\lambda_{\text{фл}} = 580$ нм, рис. 4) установлено в нейтральной и слабощелочной средах. Интенсивность флуоресценции комплекса левофлоксацина с ионами Y³⁺ зависит от кислотности среды и максимальна при pH 8. В присутствии ионов Y³⁺ диапазон

концентраций левофлоксацина, где сохраняется линейная зависимость от интенсивности флуоресценции, незначительно расширяется и уменьшается значение нижнего предела определения антибиотика (см. таблицу).

Влияние мицелл ПАВ. Известно, что интенсивность люминесценции флуоресцирующего центра возрастает при переходе от гомогенных

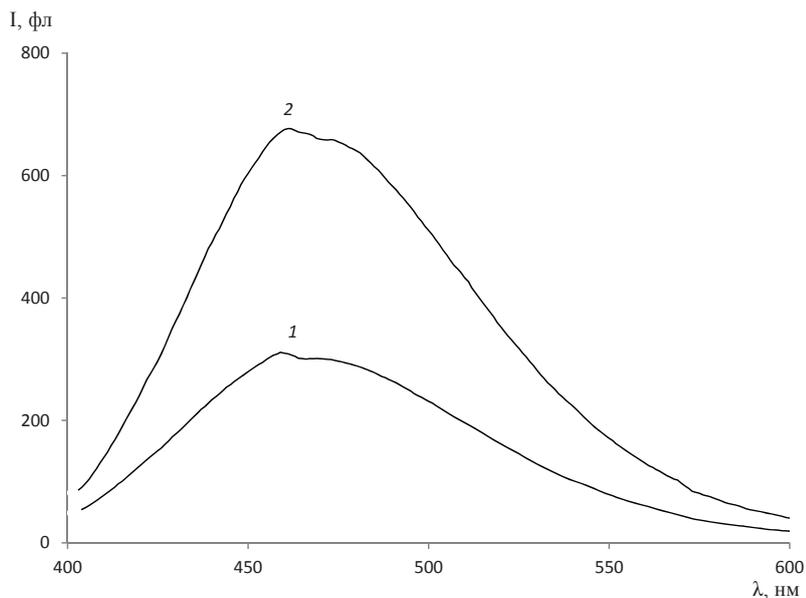


Рис. 4. Спектры флуоресценции: 1 – ЛФ и 2 – ЛФ – Y^{3+} , $C_{ЛФ} = 1.0 \cdot 10^{-6}$ М, $C_{Y^{3+}} = 1.0 \cdot 10^{-4}$ М, pH = 8, $\lambda_{возб} = 292$ нм
Fig. 4. Fluorescence spectra: 1 – LF and 2 – LF – Y^{3+} , $C_{LF} = 1.0 \cdot 10^{-6}$ M, $C_{Y^{3+}} = 1.0 \cdot 10^{-4}$ M, pH = 8, $\lambda_{ex} = 292$ nm

растворов к микрогетерогенным организованным средам – мицеллярным растворам ПАВ. Роль мицелл как нанореакторов состоит в концентрировании и сближении компонентов реакции, увеличении устойчивости и «жесткости» структуры хелата, защите его от влияния тушителей [4]. Нами изучено влияние природы мицелл

ПАВ на интенсивность сигнала флуоресценции хелата левофлоксацина с ионами Y^{3+} . Показано, что мицеллы катионных (хлорида цетилпиридиния) и неионогенных ПАВ (Тритон-Х100 и Бридж-35) практически не влияют на флуоресценцию комплекса (рис. 5). Установлено, что в среде мицелл анионных ПАВ, додецилсульфата

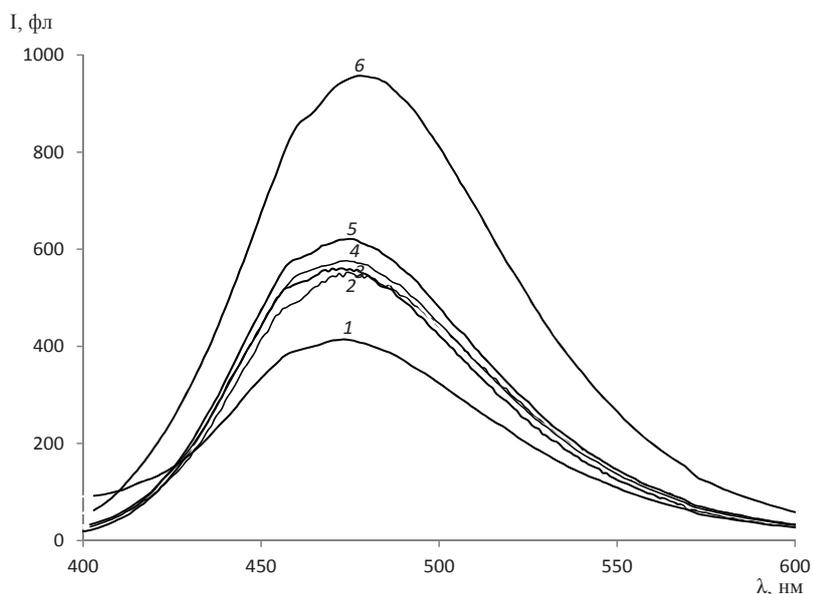


Рис. 5. Спектры флуоресценции комплекса Y^{3+} -ЛФ в мицеллярных растворах: 1 – Твин-80; 2 – Бридж-35; 3 – без ПАВ; 4 – ЦПХ; 5 – ЦТАБ; 6 – ДДС; $C_{ЛФ} = 1.0 \cdot 10^{-6}$ М, $C_{Y^{3+}} = 1.0 \cdot 10^{-3}$ М; pH = 8, $\lambda_{возб} = 292$ нм
Fig. 5. Fluorescence spectra of Y^{3+} -LF complex in micellar solutions: 1 – Tween-80; 2 – Bridge-35; 3 – without surfactant; 4 – CPCl; 5 – CTAB; 6 – DSD; $DDS = 1.0 \cdot 10^{-6}$ M, $C_{Y^{3+}} = 1.0 \cdot 10^{-3}$ M; pH = 8, $\lambda_{ex} = 292$ nm



натрия наблюдается увеличение интенсивности флуоресценции в 2 раза. При этом диапазон концентраций левофлоксацина, в котором наблюдается линейная зависимость интенсивности эмиссии комплекса, составляет практически три порядка, нижняя граница определяемых концентраций уменьшается в 10 раз (см. таблицу) [4]. Возрастание интенсивности эмиссии комплексов в среде додецилсульфата натрия связано с его эффективной сольбилизацией, которой способствовали электростатические взаимодействия между остаточным положительным зарядом хелата и отрицательно заряженной поверхностью мицеллы. Более «жесткая» структура флуоресцирующего центра, удаление молекул воды из ближайшего окружения лиганда и экранирование его от посторонних тушителей способствовали увеличению интенсивности флуоресценции в присутствии мицелл анионных ПАВ в 2 раза.

Выводы

Установлено, что флуоресцентные свойства левофлоксацина зависят от кислотности среды. Собственная флуоресценция антибиотика максимальна в кислой среде при $\text{pH} < 5$.

Увеличить сигнал флуоресценции в 2 раза возможно связывая левофлоксацин в комплекс с ионами Y^{3+} . Максимальный сигнал эмиссии наблюдается в нейтральной и слабощелочной средах.

Реакции комплексообразования в мицеллярной среде додецилсульфата натрия сопровожда-

ются дополнительным увеличением интенсивности люминесценции в 3 раза.

Показано, что линейная зависимость интенсивности флуоресценции комплекса левофлоксацина с ионами Y^{3+} от концентрации антибиотика наблюдается в широком диапазоне концентраций от $1 \cdot 10^{-8}$ до $2 \cdot 10^{-5}$ М, которая позволяет предположить возможность использования исследуемой аналитической системы для определения фторхинолона в биологических жидкостях, продуктах питания и объектах окружающей среды.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-03-01029).

Список литературы

1. Roy S. M., Roy D. R. Levofloxacin capped Ag-nanoparticles : A new highly selective sensor for cations under joint experimental and DFT investigation // Spectrochim. Acta. A. 2017. Vol. 179. P. 178–187.
2. Полищук А. В., Карасева Э. Т., Медков М. А., Карасев В. Е. Фторхинолоны: состав, строение и спектроскопические свойства // Вестник ДВО РАН. 2005. № 2. С. 128–137.
3. Kaur K., Singh B., Malik A. K. Chemiluminescence and spectrofluorimetric methods for determination of fluoroquinolones : a review // Anal. Lett. 2011. Vol. 44, № 9. P. 1602–1639.
4. Штыков С. Н. Химический анализ в нанореакторах : основные понятия и применение // Журн. аналит. химии. 2002. № 10. С. 1018–1028.

Образец для цитирования:

Данилина Т. Г., Смирнова Т. Д., Брышклина А. Д., Левина Н. А., Неврюева Н. В. Влияние мицелл поверхностно-активных веществ на флуоресцентные свойства комплекса иттрия с левофлоксацином // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 4. С. 372–378. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-4-372-378>

The Effect of Surfactant Micelles on the Fluorescent Properties of a Complex of Yttrium with Levofloxacin

T. G. Danilina, T. D. Smirnova, A. D. Bryshkina, N. A. Levina, N. V. Nevryueva

Tatyana G. Danilina, <https://orcid.org/0000-0001-7956-2716>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, danilina.tatyana.a@gmail.com

Tatyana D. Smirnova, <https://orcid.org/0000-0002-3391-1092>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, smirnovatd@mail.ru

Anastasia D. Bryshkina, <https://orcid.org/0000-0001-7662-9399>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, a.brushkina@yandex.ru

Natalya A. Levina, <https://orcid.org/0000-0002-0128-9921>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, levina3009@mail.ru

Natalya V. Nevryueva, <https://orcid.org/0000-0002-3457-1317>, Saratov State Medical University, 112 Bolshaya Kazachya St., Saratov 410012, Russia, natasha.k.83@mail.ru

The effect of complexation with yttrium ions and micellar media of surfactants on the fluorescent properties of levofloxacin was studied. The luminescence of levofloxacin depends on the acidity of the medium



and is maximum in an acidic medium. It was shown that complexation with yttrium ions promotes the growth of the intrinsic fluorescence of levofloxacin by a factor of 2. In a weakly alkaline medium, complex formation is accompanied by an increase in intensity of 1.3 times and a bathochromic shift of the absorption band in the spectra of the biologically active ligand. Complexation in micellar media is accompanied by an additional increase in the emission signal by 3 times. The concentration ranges of levofloxacin in which there is a linear dependence on the luminescence intensity of the studied systems are established. The optimal conditions for the maximum fluorescence signal of levofloxacin in aqueous and micellar media of surfactants are found.

Keywords: fluorescence, levofloxacin, complexation with yttrium ions, micellar surfactant media.

Acknowledgements: *This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project No. 18-03-01029).*

References

1. Roy S. M., Roy D. R. Levofloxacin capped Ag-nanoparticles: A new highly selective sensor for cations under joint experimental and DFT investigation. *Spectrochim. Acta A.*, 2017, vol. 179, pp. 178–187.
2. Polishchuk A. V., Karaseva E. T., Medkov M. A., Karasev V. E. Fluoroquinolones: composition, structure and spectroscopy properties. *FEB RAS*, 2005, no. 2, pp. 128–137 (in Russian).
3. Kaur K., Singh B., Malik A. K. Chemiluminescence and spectrofluorimetric methods for determination of fluoroquinolones: a review. *Anal. Lett.*, 2011, vol. 44, no. 9, pp. 1602–1639.
4. Shtykov S. N. Chemical analysis in nanoreactors: main concepts and applications. *Anal. Chem.*, 2002, no. 10, pp. 1018–1028 (in Russian).

Cite this article as:

Danilina T. G., Smirnova T. D., Bryshkina A. D., Levina N. A., Nevryueva N. V. The Effect of Surfactant Micelles on the Fluorescent Properties of a Complex of Yttrium with Levofloxacin. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 4, pp. 372–378 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-4-372-378>
