

УДК 615.281.9:615.073

В.Н. Леонтьев,

канд. хим. наук, доцент, заведующий кафедрой биотехнологии и биоэкологии Учреждения образования «Белорусский государственный технологический университет»

П.Г. Лукьянчик,

магистр хим. наук, технолог цеха твердых лекарственных форм ООО «Фармтехнология»

О.И. Лазовская,

инженер кафедры биотехнологии и биоэкологии Учреждения образования «Белорусский государственный технологический университет»

V.N. Leontiev,

Candidate of Chemical Sciences, Head of the Department of Biotechnology and Bioecology, Belarusian State Technological University

P.G. Lukuanchyk,

Master of Chemical Sciences, Technologist, the Shop of Solid Dosage Forms, LLC "Pharmtechnology"

O.I. Lazovskaya,

Engineer of the Department of Biotechnology and Bioecology, Belarusian State Technological University

СПЕКТРОФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБИОТИКОВ (Обзор)

SPECTROFLUORIMETRIC ANTIBIOTIC DETECTION (Review)

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

Леонтьев Виктор Николаевич, канд. хим. наук, доцент, заведующий кафедрой биотехнологии и биоэкологии Учреждения образования «Белорусский государственный технологический университет»

Адрес: 220006, г. Минск, ул. Свердлова, д. 13а

Тел.: +37 (517) 327-28-03

e-mail: leontiev@belstu.by

Статья поступила в редакцию: 23.05.2017

Статья принята к печати: 30.06.2017

CONTACT INFORMATION:

Viktor Leontiev, Candidate of Chemical Sciences, Head of the Department of Biotechnology and Bioecology, Belarusian State Technological University

Address: 13a, Sverdlova str., Minsk, 220006, Republic of Belarus

Tel.: +37 (517) 327-28-03

e-mail: leontiev@belstu.by

The article received: May 23, 2017

The article approved for publication: June 30, 2017

Аннотация. В статье рассмотрены основные направления спектрофлуориметрического определения антибиотических лекарственных средств – использование собственной флуоресценции антибиотиков, образование флуоресцирующих продуктов в результате взаимодействия антибиотиков с другими соединениями и применение эффекта тушения флуоресценции специфических красителей антибиотиками. На основании литературных данных авторами обобщена и систематизирована информация о параметрах флуоресцентного анализа различных антибиотиков – длины волн возбуждения и испускания, применяемый реагент и условия реакции, предел обнаружения.

Abstract. The article discusses spectrofluorimetric detection of antibiotic drugs based on the intrinsic fluorescence of antibiotics, the formation of fluorescent products following the interaction of antibiotics with other compounds, and the application of the antibiotic-induced fluorescence quenching of specific dyes. Based on the literature data, the authors summarized and systematized information about parameters of antibiotic fluorescent analysis – the excitation and emission wavelengths, the reagent used and reaction conditions, the detection limit.

Ключевые слова. Антибиотик, собственная флуоресценция, флуоресцирующий продукт, тушение флуоресценции.

Keywords. Antibiotic, intrinsic fluorescence, fluorescent product, fluorescence quenching.

Антибиотики – это химические соединения природного, полусинтетического или синтетического происхождения, обладающие бактериостатическим или бактерицидным действием. В зависимости от химической структуры выделяют следующие группы антибиотиков: β -лактамы, макролидные,

тетрациклины, хинолоны, аминогликозиды, левомицетины, гликопептиды, линкозамиды, антибиотики разных групп [1].

Рост рынка антибиотических лекарственных средств сопряжен с проблемой качества и безопасности фармацевтической продукции. В настоящее

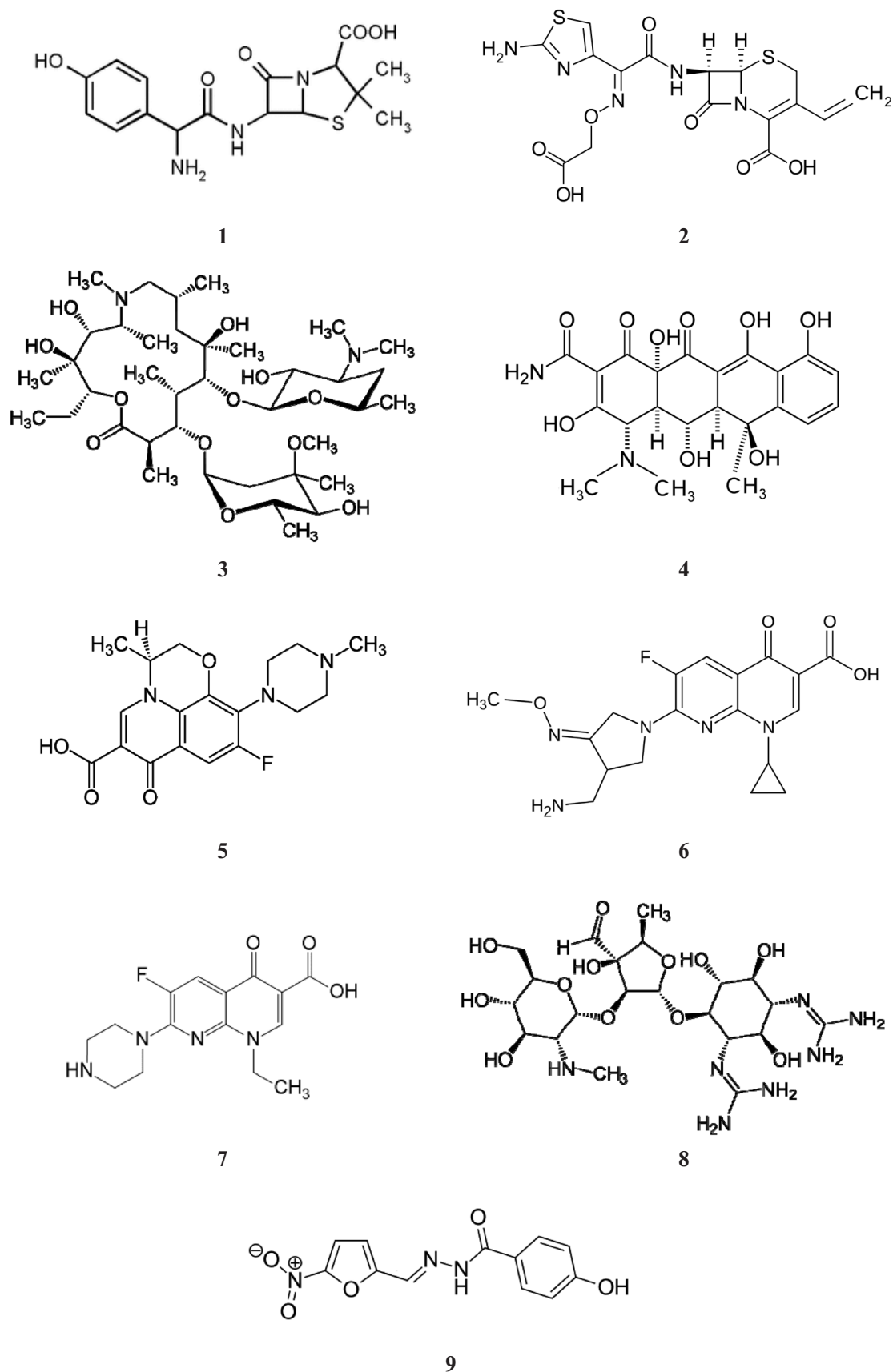


Рис. Химические структуры антибиотиков
 1 – амоксициллин; 2 – цефиксим; 3 – азитромицин; 4 – окситетрациклин; 5 – левофлоксацин;
 6 – гемифлоксацин; 7 – эноксацин; 8 – стрептомицин; 9 – нифуроксазид

время для анализа антибиотиков применяют микробиологические, химические и физико-химические методы [2]. Особое место среди физико-химических методов занимает флуоресцентная спектроскопия, обладающая высокой точностью, селективностью и чувствительностью [3].

Основными направлениями флуоресцентного анализа антибиотических лекарственных средств являются:

- использование собственной флуоресценции антибиотиков;
- образование флуоресцирующих продуктов в результате взаимодействия антибиотиков с другими соединениями;
- применение эффекта тушения флуоресценции специфических красителей антибиотиками [4].

Использование собственной флуоресценции антибиотика, например, амоксициллина, является наиболее простым и быстрым методом, позволяющим получать достоверные результаты [5].

Однако некоторые антибиотики обладают слабой собственной флуоресценцией или вовсе ею не обладают, поэтому используют химические реагенты для получения флуоресцирующих продуктов. При этом химические реагенты могут быть как нефлуоресцирующими соединениями, например, нитрат кадмия или этилацетоацетат для анализа амоксициллина [5; 6], так и флуоресцентными метками, например, натриевая соль 8-гидрокси-1,3,6-пирентрисульфоновой кислоты или натриевая соль 1,2-нафтохинон-4-сульфоновой кислоты для анализа цефиксима [7; 8]. Кроме того, цефиксим можно определять по тушению флуоресценции комплекса тербиум(III)-данофлоксацин [9].

На рисунке представлены химические структуры некоторых антибиотических веществ, количественное определение которых возможно с помощью метода флуоресцентной спектроскопии.

Параметры флуоресцентного анализа данных антибиотиков приведены в таблице.

Таблица

Параметры флуоресцентного анализа антибиотиков

Антибиотик	Параметр	Направление флуоресцентного анализа			
		Собственная флуоресценция	Образование флуоресцирующего вещества		Тушение флуоресценции другого вещества
β-лактамы антибиотики (пенициллины)					
Амоксициллин [5; 6]	Реагент	–	$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$	Этилацето-ацетат	–
	Условия реакции	Раствор в метаноле	Раствор в метаноле	Кислая среда, нагревание	–
	$\lambda_{\text{возб}}/\lambda_{\text{исп}}$	362/442 нм	367/450 нм	467/503 нм	–
	Предел обнаружения	36 мг/л	18 мг/л	420 нг/мл	–
β-лактамы антибиотики (цефалоспорины)					
Цефиксим [7; 8; 9]	Реагент	–	Натриевая соль 1,2-нафтохинон-4-сульфоновой кислоты	Натриевая соль 8-гидрокси-1,3,6-пирентрисульфоновой кислоты	Комплекс тербиум(III)-данофлоксацин
	Условия реакции	–	Щелочная среда	Раствор в метаноле	Раствор в метаноле
	$\lambda_{\text{возб}}/\lambda_{\text{исп}}$	–	520/600 нм	480/520 нм	347/545 нм
	Предел обнаружения	–	2,02 нг/мл	4,2 нг/мл	0,13 нг/мл
Макролидные антибиотики					
Азитромицин [10]	Реагент	–	Эозин G		–
	Условия реакции	–	Раствор в этаноле		–
	$\lambda_{\text{возб}}/\lambda_{\text{исп}}$	–	480/550 нм		–
	Предел обнаружения	–	38 нг/мл		–

Таблица (продолжение)

Антибиотик	Параметр	Направление флуоресцентного анализа		
		Собственная флуоресценция	Образование флуоресцирующего вещества	Тушение флуоресценции другого вещества
Тетрациклины				
Окситетрациклин [11]	Реагент	–	Eu(III)-ионы	
	Условия реакции	–	Нейтральная среда	
	$\lambda_{\text{возб}}/\lambda_{\text{исп}}$	–	412/615 нм	
	Предел обнаружения	–	0,1 мкг/мл	
Хинолоны				
Левифлоксацин [12, 13]	Реагент	–	Дихлордиоксихинон	
	Условия реакции	Раствор в этаноле	Раствор в метаноле	
	$\lambda_{\text{возб}}/\lambda_{\text{исп}}$	290/489 нм	285/485 нм	
	Предел обнаружения	0,46 нг/мл	12 нг/мл	
Гемифлоксацин [14]	Реагент	–	7,7,8,8-тетра-ци- анохинодиметан	Хлоранило- вая кислота
	Условия реакции	–	Раствор в ацетонитриле	
	$\lambda_{\text{возб}}/\lambda_{\text{исп}}$	–	260/441 нм	339/390 нм
	Предел обнаружения	–	7,38 нг/мл	0,86 нг/мл
Эноксацин [15]	Реагент	–	–	Дофамин
	Условия реакции	–	–	Ацетатный буферный раствор
	$\lambda_{\text{возб}}/\lambda_{\text{исп}}$	–	–	290/317 нм
	Предел обнаружения	–	–	2 нг/мл
Аминогликозиды				
Стрептомицин [16]	Реагент	–	Сафранин	
	Условия реакции	–	Раствор в хлороформе	
	$\lambda_{\text{возб}}/\lambda_{\text{исп}}$	–	524/556 нм	
	Предел обнаружения	–	1,2 нг/мл	
Антибиотики разных групп				
Нифуроксазид [17]	Реагент	–	Этилацетоацетат	
	Условия реакции	–	Катализатор H ₂ SO ₄ , нагревание	
	$\lambda_{\text{возб}}/\lambda_{\text{исп}}$	–	340/390 нм	
	Предел обнаружения	–	0,01 нг/мл	

Как видно из таблицы, анализ большинства антибиотиков основан на реакции образования флуоресцирующих продуктов. Кроме того, флуоресцентная спектроскопия, являясь высокочувствительным методом, позволяет детектировать очень низкие концентрации веществ (например, предел обнару-

жения нифуроксазида составляет 0,01 нг/мл), что в перспективе может быть использовано для количественного определения других лекарственных средств.

Работа выполнена в рамках задания «Разработать научно-методические основы количественного

определения действующих веществ в лекарственных средствах методами колебательной и флуоресцентной спектроскопии» подпрограммы «Фармакология и фармация» Государственной программы научных исследований «Химические технологии и материалы» на 2016–2020 годы (Постановление Совета Министров Республики Беларусь № 483 от 10 июня 2015 г.).

Список литературы

1. Харкевич Д.А. Фармакология. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2006: 750.
[Kharkevich D.A. Pharmacology. Moscow: GEOTAR-Media; 2006: 750 (in Russian).]
2. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. М.: МГУ; Наука; 2004: 528.
[Egorov N.S. Fundamentals of the doctrine of antibiotics. Moscow: MSU; Science; 2004: 528 (in Russian).]
3. Векшин Н.Л. Флуоресцентная спектроскопия биополимеров. Пушино: Фотон-век; 2014: 188.
[Vekshin N.L. Fluorescence spectroscopy of biomacromolecules. Pushchino: Photon-vek; 2014: 188 (in Russian).]
4. Lakowicz J.R. Principles of Fluorescence Spectroscopy. New York: Springer Science; 2006: 960.
5. Navarro P.G., El Bekkouri A., Reinoso E.R. Spectrofluorimetric study of the degradation of α -amino β -lactam antibiotics catalysed by metal ions in methanol. *The Analyst*. 1998; 123(11): 2263–2266.
6. El Walily A.F., Gazy A.A., Belal S.F. et al. Selective spectrofluorimetric determination of phenolic β -lactam antibiotics through the formation of their coumarin derivatives. *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 1999; 20(4): 643–653.
7. Elbashir A.A., Ali Ahmed S.M., Aboul-Enein H.Y. New spectrofluorimetric method for determination of cephalosporins in pharmaceutical formulations. *J. of Fluorescence*. 2012; 22(3): 857–864.
8. Ali Ahmed S.M., Elbashir A.A., Suliman F.E.O. et al. New spectrofluorimetric method for determination of cephalosporins in pharmaceutical formulations. *The J. of Biological and Chemical Luminescence*. 2013; 28(5): 734–741.
9. Manzoori J.L., Amjadi M., Soltani N. et al. Spectrofluorimetric determination of cefixime using terbium-danofloxacin probe. *Iranian J. of Basic Medical Sciences*. 2014; 17(4): 256–262.
10. Abdelmageed O.H., Kashaba P.Y., Darwish I.A. Spectrofluorimetric determination of macrolide antibiotics using eosin-G dye. *Bulletin of Pharmaceutical Sciences*. 2006; 29(2): 388–409.
11. Yegorova A., Vityukova E., Beltyukova S. et al. Determination of citrate in tablets and of oxytetracycline in serum using europium (III) luminescence. *Microchemical Journal*. 2006; 83(1): 1–6.
12. Da Silva A.P., Luna A.S., Da Silva Costa T.M. et al. Spectrofluorimetric determination of levofloxacin in pharmaceuticals and human urine. *International Journal of Life science and Pharma Research*. 2012; 2(1): 147–158.
13. Shah J., Jan M.R., Ullah I. et al. Sensitive spectrofluorimetric method for determination of fluoroquinolones through charge-transfer complex formation. *American J. of Analytical Chemistry*. 2013; 4(10): 521–530.
14. Moussa B.A., Mahrouse M.A., Hassan M.A. et al. Spectrofluorimetric determination of gemifloxacin mesylate and linezolid in pharmaceutical formulations: Application of quinone-based fluorophores and enhanced native fluorescence. *Acta Pharmaceutica*. 2014; 64(1): 15–28.
15. Xiao Y., Wang J.W., Feng X.G. et al. Study on fluorescence quenching mechanism of enoxacin and its determination in human serum and urine samples. *J. of Analytical Chemistry*. 2007; 62(5): 438–443.
16. Omar M.A., Nagy D.M., Hammad M.A. et al. Highly sensitive spectrofluorimetric method for determination of certain aminoglycosides in pharmaceutical formulations and human plasma. *AAPS PharmSciTech*. 2013; 14(2): 828–837.
17. El-Zaher A.A., Mahrouse M.A. A validated spectrofluorimetric method for the determination of nifuroxazide through coumarin formation using experimental design. *Chemistry Central J*. 2013; 7(1): 1–12.