

NGHIÊN CỨU CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUÁ TRÌNH PHÂN HỦY THUỐC KHÁNG SINH SARAFLOXACIN BẰNG QUANG HÓA UV

Đến tòa soạn 12 – 6 – 2014

Lê Trường Giang, Bùi Thị Ngọc Thơm, Đào Hải Yến, Nguyễn Ngọc Tùng

Viện Hóa học, Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Tổng Thị Thanh Thủy

Viện Quy hoạch và Thiết kế Nông nghiệp

Cao Văn Hoàng

Đại học Quy Nhơn.

SUMMARY

STUDY OF FACTORS AFFECTING DECOMPOSITION PROCESS ANTIBIOTIC SARAFLOXACIN BY PHOTOCHEMISTRY

Photolysis of Sarafloxacin in water was investigated under irradiation using a Xenon lamp. The results showed that Sarafloxacin photolysis followed apparent first -order kinetics. Compared with the acidic and basic conditions, the photolysis rate was faster at neutral condition. Although the presence of ion perchlorate did not influence the drug photodegradation, both of sulfate and chloride can markedly decrease the degradation rate of Sarafloxacin because they can competitively absorb photons with Sarafloxacin. Rapid drug dissipation was observed in the presence of additives hydrogen peroxide. The findings were also substantiated by the quantum yield (Φ) calculations. The analytical measurements were carried out with HPLC/PDA.

1. GIỚI THIỆU

Sarafloxacin (SARA) thuộc nhóm floroquinolone(FQ) là thuốc kháng sinh quan trọng, có tác dụng hữu ích cho các bệnh lâm sàng đã từng được dùng một dải rộng cho cả vi khuẩn gram âm và dương [9]. SARA là kháng sinh dùng cho thủy sản chủ yếu là cá, để chữa

nhiều loại bệnh khác nhau như đính nhọt, vi khuẩn, thương hàn [3]. Hiện tại đã tìm thấy một số tác dụng phụ của thuốc, đặc biệt có liên quan đến sự tiếp xúc của da với ánh sáng mặt trời. Ngoài ra một số tác dụng phụ của thuốc khi quá liều có thể gây ra như ảnh hưởng đến chức năng tiêu hóa, nhức đầu, buồn

ngủ, một số trường hợp có thể dẫn đến như tiêu cơ vân, viêm gân, mê sảng, hạ đường huyết gây tử vong.

Cần phải kiểm tra cẩn thận các kháng sinh trong nước để tránh các mối đe dọa tiềm ẩn. Nghiên cứu sự phân hủy của kháng sinh trong môi trường nước tự nhiên là việc rất quan trọng. Theo các nghiên cứu trước đây thì FQ có thể bị phân hủy bởi các quá trình sinh học, hấp phụ và quang hóa. Trong đó quá trình quang hóa có nhiều đặc tính ưu việt hơn hẳn [4].

Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành nghiên cứu sự phân hủy của SARA bằng phản ứng quang hóa, nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình phân hủy của SARA trong môi trường nước.

2. PHƯƠNG PHÁP THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, thiết bị.

Chất chuẩn Sarafloxacin hydrochloride 97,3% (USA). Acetonitrile, Methanol, NaOH, HCl, Na₂SO₄, NaCl, H₂O₂ (Merck).

Máy nước cất siêu tinh khiết hãng Arium Pro. Máy đo pH của hãng Horiba. Máy đo quang phổ tử ngoại khả kiến UV-2900 hãng Hitachi-Nhật. Máy khuấy từ, máy HPLC hãng Waters 2695, cột Ultra Aqueous C18 kích thước 250×3,2mm đường kính hạt nhồi 5μm.

2.2. Thực nghiệm.

Dung dịch chuẩn 1mM SARA được pha trong Metanol giữ ở nhiệt độ 10°C. Một dãy dung dịch chuẩn có nồng độ 0,1-5,0

μM được pha trong H₂O/MeOH (1:1) dùng để dựng đường chuẩn.

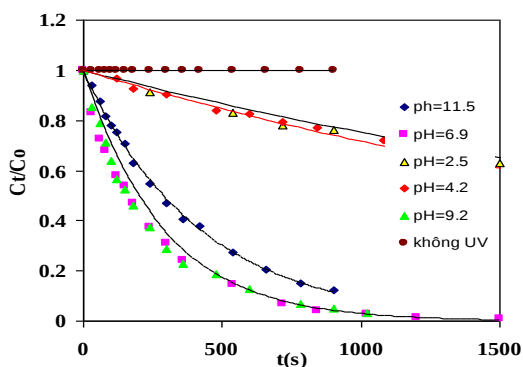
HPLC/PDA với cột tách Aqueous C18 kích thước 250× 3,2mm đường kính hạt nhồi 5μm, pha động là HCOOH 0,5% và ACN tỉ lệ 75/25, chế độ đẳng dòng, với tốc độ 0,5ml/phút, detector PDA tại bước sóng 280nm.

Dung dịch làm việc với nồng độ được chuẩn bị từ dung dịch SARA 0,155mM. pH của dung dịch SARA được điều chỉnh bằng NaOH 0,1M và HClO₄ 0,1M. Cho dung dịch SARA đã được điều chỉnh pH vào bình phản ứng quang hóa, chiếu xạ liên tục bằng đèn UV-254nm, sau mỗi khoảng thời gian nhất định lấy 1ml mẫu cho vào vial dung tích 2ml đo ngay bằng máy HPLC.

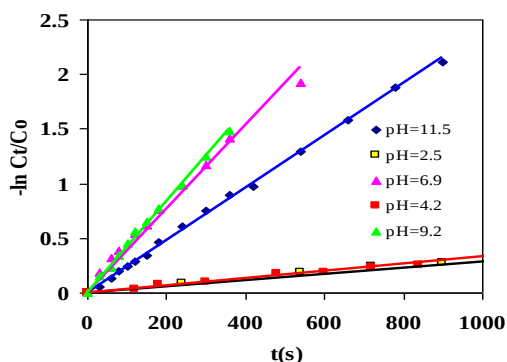
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của pH đến tốc độ quang phân Sarafloxacin

Một số nghiên cứu trước đó đã cho thấy khả năng quang phân của FQ trong môi trường nước phụ thuộc nhiều vào pH của dung dịch. Hằng số tốc độ phản ứng ở mỗi pH khác nhau cũng khác nhau đáng kể. Trong nghiên cứu của chúng tôi ảnh hưởng của pH đến sự phân hủy SARA đã được nghiên cứu tại 5 giá trị pH từ 2,5 đến 11,5. Để xác định bậc phản ứng mỗi giá trị pH được tiến hành khảo sát ở các nồng độ đầu khác nhau của SARA.. Nồng độ còn lại của SARA theo thời gian phản ứng được định lượng bằng máy HPLC/PDA. Kết quả thí nghiệm được trình bày trong hình 1 và 2.



Hình 1. Sự biến đổi nồng độ SARA theo thời gian chiếu xạ UV-254nm và trong bóng tối tại các pH khác nhau; $[SARA]=0,83\mu M$.



Hình 2. Động học phân hủy của SARA khi chiếu xạ UV 254nm tại các pH khác nhau; $[SARA]=0,83\mu M$.

Kết quả nghiên cứu cho thấy tại môi trường trung tính ở pH 6,9 và 9,2 tốc độ phân hủy của SARA nhanh nhất với hằng số tốc độ phản ứng trung bình $k = 4,138.10^{-3}$ lớn hơn 1,7 lần so với môi

Bảng 1. Một số kết quả nghiên cứu động học phân hủy của SARA bằng chiếu xạ UV trong các môi trường pH khác nhau.

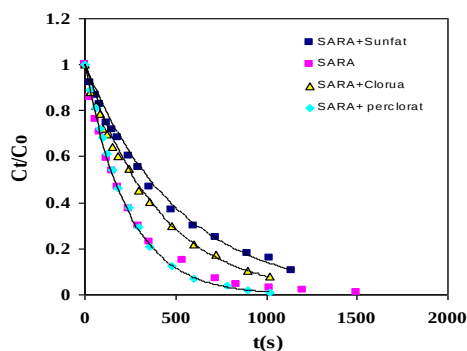
pH	% $^+NH_2RCOOH$	% $^+NH_2RCOO^-$	% $NHRCOO^-$	$k \times 10^{-3} (s^{-1})$	$t_{1/2} (s)$	$\Phi \times 10^{-3}$
2.5	99.96	0.03	0.00	0.285	2429.2	1.190
4.2	98.43	1.56	0.00	0.327	2120.4	1.364
6.9	10.99	87.27	1.74	4.120	168.2	16.736
9.2	0.01	20.07	79.91	4.156	166.8	16.881
11.5	0.00	0.12	99.90	2.320	298.8	7.940

trường kiềm tại pH 11,5 ($k=2,320.10^{-3}$) ngược lại ở môi trường axit pH 2,5 tốc độ quang phân lại chậm hơn rất nhiều so với môi trường trung tính và kiềm, hằng số tốc độ phản ứng ($k=0,285.10^{-3}$) thấp hơn gần 14 lần so với môi trường trung tính và thấp hơn khoảng 8 lần so với môi trường kiềm (Hình 2). Trạng thái tồn tại của ion phân tử là yếu tố ảnh hưởng đến quá trình quang hóa, vì thế có thể giải thích là do ở môi trường axit cấu trúc của SARA bền vững hơn nên khó bị phân hủy hơn, tại môi trường này nhóm axit không bị ion hóa và nhóm amin đã bị proton hóa hoàn toàn, cấu trúc của SARA ở môi trường axit có dạng $^+H_2NRCOOH$.

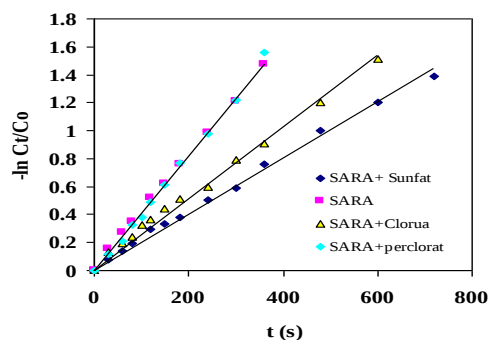
Ngoài ra hiệu suất quang hóa cũng là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự phân hủy của SARA (Bảng 1). Hiệu suất lượng tử của dạng ion lưỡng tính $^+H_2NRCOO^-$ là cao hơn so với dạng anion $NHRCOO^-$ hiệu suất lượng tử của dạng cation $^+H_2NRCOOH$ là thấp nhất. Sự khác nhau về hiệu suất lượng tử của mỗi dạng là lí do dẫn đến sự khác nhau về tốc độ quang phân của SARA theo pH.

3.2. Khảo sát sự ảnh hưởng của các anion vô cơ.

Nhiều nghiên cứu cho thấy ảnh hưởng các ion vô cơ có mặt ở trong nước ngầm, nước thải và nước biển cũng có thể làm ảnh hưởng đến tốc độ phản ứng của phản ứng quang hóa của hợp chất hữu cơ, bởi vậy chúng tôi nghiên cứu sự ảnh hưởng của anion perclorat (ClO_4^-), ion clo (Cl^-) và ion sulfat (SO_4^{2-}) đến quá trình quang phân của Sarafloxacin. Kết quả được trình bày trong hình 3 và 4.



Hình 3. Sự biến đổi nồng độ SARA theo thời gian chiếu xạ UV 254nm khi có mặt các ion vô cơ, $[SARA]=0,83\mu\text{mol/L}$



Hình 4. Động học phân hủy của SARA chiếu xạ UV 254nm khi có mặt ion vô cơ. Qua đồ thị ta thấy tốc độ phản ứng phân hủy SARA giảm đi đáng kể khi có mặt ion Cl^- và SO_4^{2-} , còn ion ClO_4^- thì không ảnh hưởng đến quá trình phân hủy SARA. Sự ảnh hưởng của các ion vô cơ có thể được tóm tắt trong bảng 2.

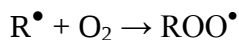
Một số chất hữu cơ có độ hấp thụ mạnh ở bước sóng chiếu xạ sẽ bị phân hủy. Những chất hữu cơ này đầu tiên sẽ bị phân hủy bằng hiệu ứng quang học sau đó chúng sẽ phản ứng với phân tử oxy trong nước chuyển thành các sản phẩm phụ. Sự oxi hóa này bao gồm các bước như sau:

- Bước đầu tạo thành các gốc hữu cơ $\text{R}^\bullet$

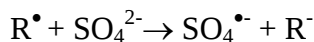
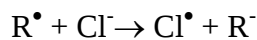
Bảng 2. Ảnh hưởng của các ion vô cơ đến tốc độ quang phân của SARA.

UV-254nm, $[SARA]=0,83\mu\text{M}$, nhiệt độ phản ứng $28\pm0,5^\circ\text{C}$					
Ion vô cơ	[ion vô cơ] (mM)	[SARA] ($\mu\text{mol/L}$)	$k \times 10^{-3}(\text{s}^{-1})$	$t_{1/2}$ (s)	$\Phi \times 10^{-3}$
Cl^-	100,00	0,83	2,568	269,9	10,431
SO_4^{2-}	33,33	0,83	2,029	344,2	8,181
ClO_4^-	100,00	0,83	4,075	170,0	16,552

- Các phản ứng kế tiếp của các gốc hữu cơ $R^\bullet$ hoặc $ROO^\bullet$
- Những phản ứng kết thúc.

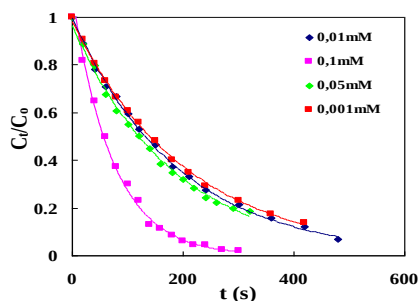


Khi dung dịch có mặt các ion Cl^- và SO_4^{2-} thì tốc độ phân hủy SARA giảm đáng kể. Điều này có thể giải thích là do khi các gốc vô cơ có trong dung dịch xảy ra phản ứng cạnh tranh với SARA và làm cản trở quá trình phân hủy của SARA. Vì vậy mà tốc độ phân hủy của SARA bị giảm đi.

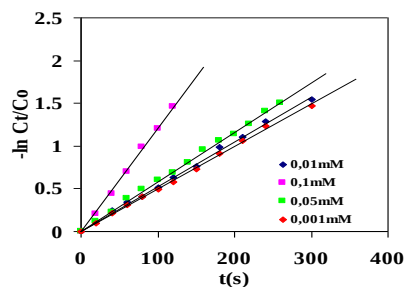


3.3. Khảo sát ảnh hưởng của H_2O_2 .

Các chất như aceton và hydrogen peroxide (H_2O_2) thường được sử dụng để loại bỏ các chất ô nhiễm hữu cơ trong các thiết bị máy móc. Các chất này có thể bị thải vào môi trường và sẽ là một trong những tác nhân ảnh hưởng đến quá trình quang hóa SARA [2],[5]. Tiến hành thí nghiệm quang phân của SARA với nồng độ H_2O_2 tương ứng là 0,1mM, 0,05mM, 0,01mM và 0,001mM. Nồng độ của SARA là $0,83\mu\text{mol/L}$, các thí nghiệm tiến hành ở pH 6,8 nhiệt độ phản ứng $28\pm 0,5^\circ\text{C}$, chiếu xạ bằng đèn UV-254nm. Sau mỗi thời gian nhất định rút ra 1ml mẫu cho vào vial có chứa sẵn 0,5ml MeOH là chất có thể ngăn chặn sự hoạt động của gốc $HO^\bullet$. Kết quả khảo sát được trình bày trong hình 5 và 6.



Hình 5. Sự biến đổi nồng độ SARA theo thời gian chiếu xạ UV 254nm khi có H_2O_2 , $[SARA]=0,83\mu\text{mol/L}$



Hình 6. Động học phân hủy của SARA khi chiếu xạ UV 254nm trong môi trường có H_2O_2 .

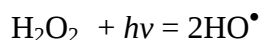
Bảng 3: Sự phân hủy SARA theo nồng độ H_2O_2

$[H_2O_2]$ mM	$k \times 10^{-3}$ (s^{-1})	t(s)	$\Phi \times 10^{-3}$
0,100	11,944	58,0	40,88
0,050	5,761	120,3	19,72
0,010	5,221	132,7	17,87
0,001	4,954	139,9	16,95

Qua bảng 3 và hình 5,6 nhận thấy trong khoảng nồng độ của H_2O_2 từ 0,001mM đến 0,1mM với nồng độ đầu của SARA là $0,83\mu\text{mol/L}$ khi tăng nồng độ H_2O_2 thì tốc độ phản ứng phân hủy tăng. Cụ thể khi nồng độ H_2O_2 tăng từ 0,001mM đến 0,05mM thì hằng số tốc độ tăng không đáng kể tuy nhiên khi nồng độ

H₂O₂ tăng từ 0,05mM đến 0,1mM thì hằng số tốc độ phản ứng tăng gấp đôi.

Điều này được giải thích là do tại bước sóng 254nm H₂O₂ bị phân hủy tạo thành các gốc tự do HO• sự có mặt của các gốc tự do này là tác nhân tấn công chất SARA, làm tốc độ phản ứng phân hủy tăng lên. Nồng độ H₂O₂ càng lớn thì khả năng càng tạo ra nhiều gốc HO•.



Gốc hidroxyyl phản ứng rất nhanh với hầu hết các chất hữu cơ và một số hợp chất vô cơ. Gốc hidroxyyl có thể tấn công các hợp chất hữu cơ theo một trong ba kiểu cơ chế: Lấy đi một nguyên tử hidro, gắn vào nối đôi không bền hoặc chuyển điện tử.

4. KẾT LUẬN

Những kết quả trên đây cho thấy Sarafloxacin có thể được loại bỏ nhanh trong môi trường nước bằng phương pháp quang hóa UV. Các thí nghiệm cũng chỉ ra rằng pH thích hợp để nâng cao hiệu suất quang hóa là trong khoảng 7-9. Sự có mặt của ion chlorua và sulfat làm giảm hiệu quả quá trình quang hóa. Tác nhân oxi hóa H₂O₂ ở nồng độ thích hợp làm tăng tốc độ quá trình phân hủy SARA lên nhiều lần.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Brown. (1996). *Fluoroquinolones in animal health*. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 19, 1-14.
2. Choy, W.K., Chu, W., (2001). *The rate improvement and modeling of trichloroethene photodegradation by acetone sensitizer in surfactant solution*. Chemosphere 44, 943-947

3. Domagala, J. M, L. D. Hann, C. L. Heifetz, M. P. Hutt, T. F. Mich, J. P. Sanchez and M. Solomon (1986) *New structure- activity relationships of the quinolone antibacterials using the target enzyme. The development and application of a DNA gyrase assay*. J. Med. Chem. 29, 394-404.
4. Deivasigamani Prabhakaran, Premasis Sukul, Marc Lamshöft, Mohan Akhila Maheswari, Sebastian Zühlke, Michael Spiteller. *Photolysis of difloxacin and sarafloxacin in aqueous systems*. Chemosphere 77 (2009) 739-746.
5. Fasani, E. Rampi, M. Albin, A. (1999). *Photochemistry of some fluoroquinolones : effect of pH and chloride ion*, Chem, Soc. Perkin Trans, 2, 1901-1907.
6. Iesce, M.R., Graziano, M.L., Cermola, F., Montella, S., di Gioia, L., Stasio, C., (2003). *Effects of sensitizers on the photodegradation of the systematic fungicide triadimenol*. Chemosphere 51, 163-166.
7. Klecak, G., F. Urbach and H. Urwyler (1997) *Fluoroquinolone antibacterials enhance UVA-induced skin tumors*. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 37, 174-181.
8. Sukul, P., Lamshöft, M., Kusari, S., Zühlke, S., Spiteller, M., (2009). *Metabolism and excretion kinetics of C¹⁴-labeled and non-labeled difloxacin in pigs after oral administration, and antimicrobial activity of manure containing difloxacin and its metabolites*. Environmental Research 109, 225-231
9. Wolfson, J. S. and D. C. Hooper (1989) *Fluoroquinolone antimicrobial agents*. Clin. Microbiol. Rev. 2, 378-424