

Ю. В. Козырина
Yu. V. Kozyrina
Iu.Kozyrina@yandex.ru
Р. А. Зайдуллина
R. A. Zaidullina
zaidullina.regina@urfu.ru
Т. С. Свалова
T. S. Svalova
t.s.svalova@urfu.ru
А. Н. Козицина
A. N. Kozitsina
a.n.kozitsina@urfu.ru
Ю. А. Квашнин
Yu. A. Kvashnin
kvashnin@ios.uran.ru
Е. В. Вербицкий
E. V. Verbitskiy
verbitsky@ios.uran.ru

ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента
РФ Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург
Ural Federal University, Ekaterinburg

**ФЛУОРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХЛОРАМФЕНИКОЛА В ВОДНЫХ
РАСТВОРАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЦЕТИЛЕНПРОИЗВОДНЫХ КАРБАЗОЛА,
АНТРАЦЕНА И ПИРЕНА**
**FLUOROMETRIC DETERMINATION OF CHLORAMPHENICOL IN AQUEOUS
SOLUTIONS USING ACETYLENE DERIVATIVES OF CARBAZOLE, ANTHRACENE
AND PYRENE**

Аннотация: Определение следовых количеств антибиотиков в воде и пище является актуальной задачей современного экологического мониторинга. Настоящее исследование посвящено оценке возможностей флуорометрического определения хлорамфеникола в водных растворах с использованием в качестве сенсорных молекул ацетиленпроизводных карбазола, антрацена и пирена. Показано закономерное снижение интенсивности флуоресценции, обусловленное процессами супрамолекулярного взаимодействия исследуемых флуорофоров с аналитом. Наибольшие перспективы дальнейшего аналитического применения продемонстрировало соединение на основе карбазола, показав в широком линейном диапазоне (0,1–25 мкМ) высокую чувствительность $K_{sv}=17214 \text{ M}^{-1}$ с пределом обнаружения в 1,09 мкМ.

Abstract: Determination of trace amount of antibiotics in water and food is an actual task of modern environmental monitoring. The present research is devoted an assessment of the possibilities of fluorometric determination of chloramphenicol in aqueous solutions using acetylene

derivatives of carbazole, anthracene and pyrene as sensory molecules. A regular decrease in the intensity of fluorescence is shown conditioned by processes of supramolecular interaction of the studied fluorophores with analyte. The greatest prospects for further analytical application demonstrated by the carbazole-based compound, showing in a wide linear range (0,1–25 μM) a high sensitivity of $K_{sv}=17214 \text{ M}^{-1}$ with a detection limit 1,09 μM .

Ключевые слова: флуоресцентный анализ, хлорамфеникол, карбазол, антрацен, пирен.

Keywords: fluorescence analysis, chloramphenicol, carbazole, anthracene, pyrene.

Антибиотики сегодня относят к группе водных экотоксикантов в связи с выраженным и пролонгированным токсическим эффектом на живые организмы водных объектов. Хлорамфеникол – антибиотик широкого спектра действия, применяется в лечении инфекций, вызванных грамположительными, грамотрицательными бактериями и другими группами микроорганизмов (рис. 1).

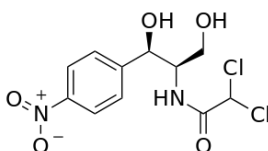


Рис. 1. Структурная формула хлорамфеникола

Сточные воды сельскохозяйственной сферы, обеспечивая поступление хлорамфеникола в водные объекты, аккумулируют его в пищевых продуктах растительного и животного происхождения, вызывая адаптационную устойчивость патогенов, что снижает терапевтический эффект у человека и животных [2]. Главная задача современного экологического мониторинга – разработка чувствительных, точных и быстрых подходов обнаружения антибиотика вне стационарных лабораторий. Но существующие методы – с применением флуоресцентных аптамерных зондов [1], металлоорганическим каркасом на основе Zn (II) [2], легированными азотом графеновыми квантовыми точками [3] и др. – преимущественно лабораторные, необходимо высокотехнологичное оборудование, квалифицированный персонал и дорогостоящие реагенты. Поиск новых сенсорных материалов с улучшенными свойствами осуществляется непрерывно. В частности, производные пирена, антрацена и карбазола представляют особый интерес в качестве материалов для электрохимических и люминесцентных сенсорных устройств благодаря выраженному эффекту внутримолекулярного переноса заряда и расширенным возможностям функционализации поверхности трансдьюсера [6, 7, 8].

Целью настоящей работы являлось сравнение оценки аналитических возможностей применения ацетиленпроизводных антрацена, пирена и карбазола в качестве рецепторных молекул для флуорометрического определения хлорамфеникола в водных растворах.

Экспериментальная часть. В работе использовали следующие реактивы: ацетонитрил (CH_3CN), этиловый спирт ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), гидроксид натрия (NaOH), уксусная (CH_3COOH), фосфорная (H_3PO_4) и борная (H_3BO_3) (Химреактивснаб, Россия). Флуорофоры на основе ацетиленпроизводные карбазола, антрацена и пирена – 3,6-бис[триметилсилилэтинил]карбазол (А), 9,10-бис(триметилсилилэтинил)антрацен (В), 1,3,6,8-тетраakis((триметилсилил)этинил)пирен (С) (рисунок 2) синтезированы сотрудниками Института органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН в соответствии с улучшенными литературными методиками [6, 9, 10].

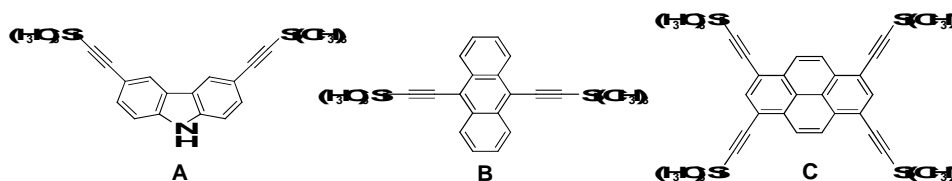


Рис. 2. Структурные формулы исследуемых флуорофоров.

Буферный раствор Бриттона-Робинсона (БРБ) pH ($7,0 \pm 0,1$) приготовлен по стандартной методике. Спектры флуоресценции регистрировали на флуоресцентном спектрофотометре Shimadzu RF-6000 при комнатной температуре. Концентрация рабочего раствора флуорофора в кювете составляла 10^{-5} М. Флуорометрическое титрование осуществляли посредством регистрации спектров эмиссии рабочих растворов, содержащих стандартные добавки хлорамфеникола в рабочем диапазоне концентраций 0 – 25 мкМ. Сравнительную оценку аналитических возможностей флуорофоров проводили по величине предела обнаружения и константы Штерна-Фольмера, рассчитанной по уравнению:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{sv}[Q],$$

Где I_0 и I – интенсивности флуоресценции без и в присутствии хлорамфеникола; K_{sv} – константа Штерна-Фольмера; Q – концентрация хлорамфеникола.

Результаты. Спектры возбуждения и эмиссии, зарегистрированные для каждого исследуемого флуорофора приведены на рисунке 3.

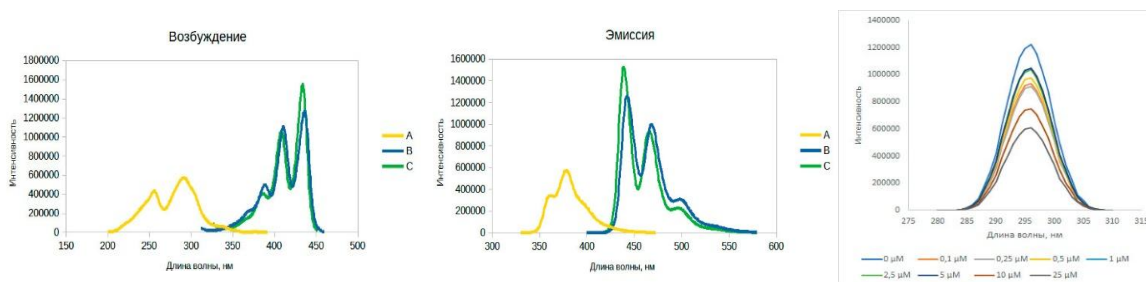


Рис. 3. Спектры возбуждения и эмиссии ацетиленпроизводных карбазола (А), антрацена (В) и пирена (С). Изменение интенсивности флуоресценции ацетиленкарбазола при

флуорометрическом титровании хлорамфениколом в диапазоне концентраций 0-25 мкМ (D) в буфере БРБ.

Все исследуемые соединения характеризуются выраженными фотофизическими свойствами: поглощение в диапазоне 250–400 нм, эмиссия в диапазоне 350–500 нм. Характер спектров поглощения и эмиссии определяется природой полициклического каркаса флуорофора. При добавлении в рабочий раствор хлорамфеникола, во всех случаях имеет место закономерное снижение интенсивности флуоресцентного отклика.

Аналитические характеристики флуорометрического определения хлорамфеникола в модельных водно-органических растворах приведены в таблице 1. Для оценки комплементарности флуорофора к аналиту, рассчитывали величину константы Штерна-Фольмера (см. экспериментальную часть).

Таблица 1. Результаты флуорометрического титрования ацетиленпроизводных карбазола, антрацена и пирена хлорамфениколом, n=3, R=0.95 в ацетонитриле.

Флуорофор	Длина волны эмиссии, $\lambda_{эм}$ нм	Параметры линейной регрессии $I=(k\pm\Delta k)\cdot C_{ХА}+(b\pm\Delta b)$	ПО, мкМ	K_{sv}, M^{-1}
А	377	$I_0/I=(0,017\pm 0,003)\cdot C_{ХА}+(1,04\pm 0,02)$	1,09	17214
В	442	$I_0/I=(0,0004\pm 0,0006)\cdot C_{ХА}+(1,003\pm 0,009)$	94,7	405
С	439	$I_0/I=(0,01\pm 0,04)\cdot C_{ХА}+(1,1\pm 0,7)$	77,7	7946

Наилучшие аналитические характеристики флуорометрического определения хлорамфеникола показало ацетиленпроизводное карбазола в качестве рецепторной молекулы. Величина константы Штерна-Фольмера указывает на высокую комплементарность аналита к рецептору, по-видимому, обусловленную донорно-акцепторным характером межмолекулярного взаимодействия.

Заключение. В настоящей работе проведена сравнительная оценка возможностей применения ацетиленпроизводных антрацена, пирена и карбазола в качестве рецепторных молекул для флуорометрического определения хлорамфеникола в водных растворах. Все исследуемые флуорофоры обладают выраженными фотофизическими свойствами. Наилучшие пределы обнаружения хлорамфеникола до 1,09 мкМ были достигнуты при использовании в качестве рецепторной молекулы 3,6-бис[триметилсилилэтинил]карбазола. Полученные результаты станут основой для разработки сенсорного устройства для экспресс-обнаружения хлорамфеникола в объектах окружающей среды и продуктах питания.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента РФ проект МК-392.2022.1.3

Список литературы

1. Balbi H. J. Chloramphenicol: A Review // *Pediatrics in Review*. 2004. Vol. 25, iss. 8. P. 284–288. <https://doi.org/10.1542/pir.25-8-284>.
2. Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: A review / I. Michael, L. Rizzo, C. S. McArdell et al. // *Water Research*. 2013. Vol. 47, iss. 3. P. 957–995.
3. Improved conductivity of flower-like MnWO₄ on defect engineered graphitic carbon nitride as an efficient electrocatalyst for ultrasensitive sensing of chloramphenicol / A. T. E. Vilian, S. Y. Oh, M. Rethinasabapathy et al. // *Journal of hazardous materials*. 2020. Vol. 399. P. 122868. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122868>.
4. Fluorescence studies of the interaction between chloramphenicol and nitrogen-doped graphene quantum dots and determination of chloramphenicol in chicken feed / T. Hweiyan, H.-C. Hu, C.-C. Hsien et al. // *Journal Chinese Chemical Society Taipei*. 2019. Vol. 67, iss. 1. P. 1–8. <https://doi.org/10.1002/jccs.201900124>.
5. Molecularly imprinted polymer functionalized flower-like BiOBr microspheres for photoelectrochemical sensing of chloramphenicol / Z. Zhang, H. Zhou, C. Jiang et al. // *Electrochimica Acta*. 2020. Vol. 344. P. 136161. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.136161>.
6. Trimethylsilyl Group Assisted Stimuli Response: Self-Assembly of 1,3,6,8-Tetrakis(trimethylsilyl)ethynyl)pyrene / F. Xu, T. Nishida, K. Shinohara et al. // *Organometallics*. 2017. Vol. 36, iss. 3. P. 556–563. <https://doi.org/10.1021/acs.organomet.6b00781/>.
7. Photoluminescence and Electroluminescence of 9,10-Bis(silylethynyl)anthracene / K. Takahashi, R. Hazuku, D. Nishioka et al. // *Journal of Photopolymer Science and Technology*. 2005. Vol. 18, iss. 1. P. 65–68.
8. D'Ischia M., Napolitano A., Pezzella A. Pyrroles and their Benzo Derivatives: Applications // *Comprehensive Heterocyclic Chemistry III*. 2008. Vol. 3. P. 353–388. <https://doi.org/10.1016/B978-008044992-0.00304-7>.
9. Coordination-Driven Self-Assembly of Metallamacrocycles via a New Pt^{II} Organometallic Building Block with 90° Geometry and Optical Sensing of Anions / S. Shanmugaraju, A. K. Bar, K.-W. Chi et al. // *Organometallics*. 2010. Vol. 29, iss. 13. P. 2971–2980. <https://doi.org/10.1021/om100202c>.
10. Synthesis, characterisation and optical spectroscopy of platinum(II) di-yne and poly-yne incorporating condensed aromatic spacers in the backbone / M. S. Khan, M. R. Al-Mandhary, M. K. Al-Suti et al. // *Dalton Trans*. 2004. Vol. 15. P. 2377–2385. <https://doi.org/10.1039/B405070C>.