

环丙沙星与氨茶碱作用的拉曼光谱研究

陈蓉, 周光明*, 罗丹, 周家羽

西南大学化学化工学院, 发光与实时分析教育部重点实验室, 重庆 400715

摘要 利用密度泛函理论(density function theory, DFT)的 B3LYP/6-31G(d, p) 基组计算环丙沙星(ciprofloxacin, CIP)的拉曼峰, 与实验拉曼峰相比, 吻合度较高。并对其拉曼峰进行了全面的归属。环丙沙星溶液的表面增强拉曼光谱(surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)与常规拉曼实验结果显示, 以金纳米粒子为基底, 对环丙沙星的拉曼峰有较好的增强效果。探究了结合时间对氨茶碱与环丙沙星混合物的影响, 结果表明随着时间的延迟, 两者之间的作用力加强, 环丙沙星的部分拉曼峰消失。氨茶碱的加入, 影响了环丙沙星的分子结构, 使得环丙沙星拉曼信号减弱, 多处拉曼峰发生改变, 主要是 $1\ 184\ \text{cm}^{-1}$ 处的吡嗪环、 $1\ 252\ \text{cm}^{-1}$ 的 C—F、 $1\ 627\ \text{cm}^{-1}$ 处的 C=C 以及 $1\ 458\ \text{cm}^{-1}$ 处 O—C—O 的振动频率发生了变化; 氨茶碱含量的增加, 对环丙沙星结构的影响更为严重, 其中 $800\sim 1\ 200\ \text{cm}^{-1}$ 处的拉曼峰消失, 当氨茶碱的量超过 $22.5\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 除 $1\ 384\ \text{cm}^{-1}$ 处有微弱信号出现外, 几乎无其他峰出现。表面增强拉曼光谱作为一种常用的分析工具, 具有分析时间短, 灵敏度高优点。实验利用 SERS 技术, 考察氨茶碱与环丙沙星之间的相互作用, 为其药理研究提供了参考。

关键词 环丙沙星; 氨茶碱; 密度泛函理论; 表面增强拉曼光谱

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2020)02-0427-05

引言

环丙沙星作为新一代的喹诺酮类抗生素, 因其抗菌活性强、毒性低、组织穿透能力强等优点, 是当前世界上抗感染药物最佳品种之一^[1]。在临床医学^[2]、水产养殖等多个行业得到了广泛的应用^[3]。氨茶碱是茶碱与乙二胺的复盐, 是一类常规的临床药物。其药理作用主要是源于茶碱, 乙二胺增强其水溶性^[4]。但由于氨茶碱受多种因素的影响, 很容易引发不良反应。而临床上, 氨茶碱与环丙沙星联用的机会非常频繁, 有研究报道喹诺酮类抗菌药物与氨茶碱联合使用, 会引发严重的副作用, 比如心律失常、恶心呕吐等症^[5-6]。研究表明当氨茶碱的血液浓度超过 $20\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 甚至会导致毒性反应^[7]。因此, 深入了解氨茶碱的使用量对环丙沙星的影响, 这对于临床医学来说具有实际意义。

目前有关环丙沙星的研究已有许多的报道, 王佩^[8]等研究了环丙沙星对氨茶碱药物的动力学影响; 何华^[9]等利用荧光光谱对环丙沙星与牛血清白蛋白之间的相互作用进行了研究; 赵进辉^[10]等利用表面增强拉曼光谱, 实现了对鸭肉中环

丙沙星残留的快速检测。而这些仅是对环丙沙星进行定量的检测或研究环丙沙星与蛋白之间的相互作用, 有关于氨茶碱对环丙沙星分子结构影响的研究未见报道。

表面增强拉曼光谱因作为一个高灵敏度的分析工具而获得了巨大的关注与应用。有相关研究表明喹诺酮类抗菌药物与氨茶碱的联用, 会引起严重的副反应, 危及人体健康。实验利用表面增强拉曼光谱技术, 考察了氨茶碱对环丙沙星的影响, 了解两者的作用方式对于药物的混合使用具有重要的理论意义和实践意义。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

环丙沙星($\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3$)、氨茶碱($\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_{10}\text{O}_4$)、氯金酸(HAuCl_4)、柠檬酸钠($\text{NaC}_6\text{H}_5\text{O}_7\cdot 2\text{H}_2\text{O}$)统购于阿拉丁; 以上试剂均为分析纯, 实验室用水为自制的超纯水, 电阻率为 $18.3\ \text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ 。

Renishaw Invia 拉曼光谱仪(英国雷尼绍公司), 激光波长为 $633\ \text{nm}$, 激光强度为 $1\ \text{mW}$, 拉曼光谱检测波长范围 $0\sim$

收稿日期: 2018-12-06, 修订日期: 2019-04-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(21475014)资助

作者简介: 陈蓉, 女, 1995年生, 西南大学化学化工学院硕士研究生 e-mail: 2244102476@qq.com

* 通讯联系人 e-mail: gmzhou@swu.edu.cn

3 000 cm^{-1} ; UV-2450 紫外-可见分光光度计(岛津), pH 酸度计(上海雷磁 pH SJ-3); 透射电子显微镜(TEM)(德国蔡司)。

1.2 步骤

根据 Lee^[11]的方法制备金纳米基底, 以柠檬酸钠作为还原剂。

环丙沙星溶液的配制: 称取环丙沙星固体 10 mg, 溶解于蒸馏水, 定容至 50 mL, 再将其稀释至浓度为 4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 待用。

氨茶碱溶液的配制: 称取氨茶碱固体 1 mg, 溶解于蒸馏水, 定容至 50 mL, 待用。

SERS 检测: 运用密度泛函理论计算环丙沙星的拉曼峰; 测定环丙沙星固体的常规拉曼光谱与环丙沙星溶液的表面增强拉曼光谱, 并对环丙沙星的拉曼峰进行全面的归属; 分别探究了环丙沙星与氨茶碱的结合时间以及氨茶碱的量对环丙沙星的影响。

2 结果与讨论

2.1 纳米金的表征

实验测定了纳米金的吸收光谱, 结果如图 1 所示。纳米金的吸收峰会受到其形状、聚合度等影响^[12]。由图 1 可知, 纳米金的吸收峰大约在 535 nm 处, 与文献^[13]所报道的金纳米粒子的吸收峰基本一致。图 2 是金纳米粒子的 TEM 扫描图, 其粒径大小在 17 nm 左右。从图中可以看出, 纳米金分散较为均匀, 加上金纳米粒子的比表面较大, 能有效地吸附样品分子。

2.2 环丙沙星的密度泛函理论计算及环丙沙星拉曼光谱研究

密度泛函理论是一种利用量子力学研究多电子体系电子结构的方法, 它在物理和化学领域都有很广泛的应用, 特别是用来研究分子的性质, 是化学领域计算经常使用的方法之一。从图 3 中可以看出, 在 500~3 000 cm^{-1} 拉曼位移之间, 两者峰型的匹配程度较好, 但仍有一些细微的差别。参考《有机结构波谱鉴定》与文献^[14-15]对环丙沙星的拉曼峰进行了相应的归属。其中 355, 410 以及 465 cm^{-1} 处属于 C-H 弯曲振动, 637 cm^{-1} 是环的变形振动, 704 和 753

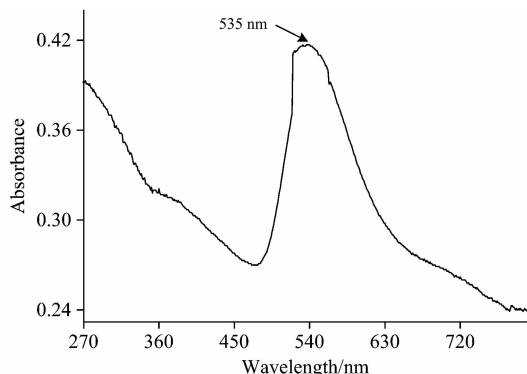


图 1 金纳米粒子的吸收光谱图

Fig. 1 Absorption spectrum of gold nanoparticles

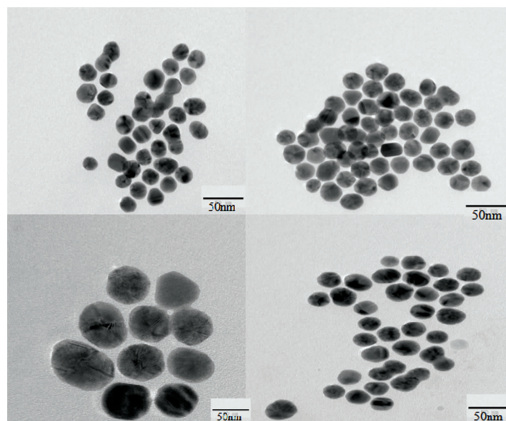


图 2 金纳米粒子的透射电镜图

Fig. 2 TEM of gold nanoparticles

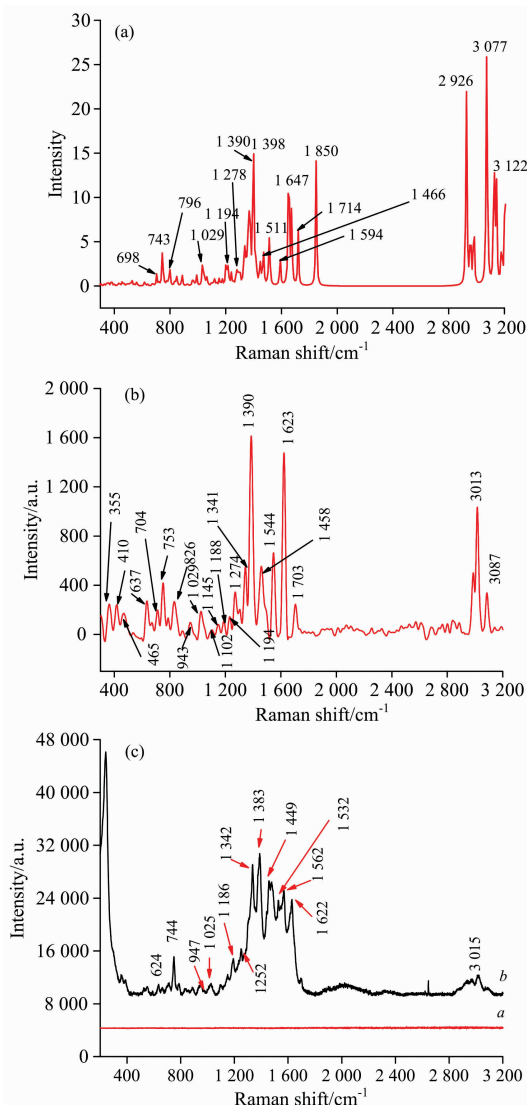


图 3 环丙沙星理论计算值 (a) 和固体的常规拉曼光谱 (b)

Fig. 3 Calculated values of ciprofloxacin (a) and conventional Raman spectra of solids (b) and SERS spectra of ciprofloxacin solution (c)

cm^{-1} 归属于环呼吸振动, 826 和 $1\,544\text{ cm}^{-1}$ 为 C—N 的伸缩振动, 943 和 $1\,341\text{ cm}^{-1}$ 归属于 C—H 弯曲振动, 1 029, 1 102, 1 145, 1 184 及 $1\,194\text{ cm}^{-1}$ 是属于吡嗪环呼吸振动, $1\,274\text{ cm}^{-1}$ 归属于 C—F 伸缩振动, $1\,390\text{ cm}^{-1}$ 为 O—C—O 对称伸缩振动, $1\,458\text{ cm}^{-1}$ 属于 O—C—O 的非对称伸缩振动, $1\,623\text{ cm}^{-1}$ 是 C=C 伸缩振动, $1\,703\text{ cm}^{-1}$ 归属于 C=O 伸缩振动, $3\,013$ 和 $3\,087\text{ cm}^{-1}$ 属于 O—H 伸缩振动。而 $3\,000\text{ cm}^{-1}$ 以后的波数区, 环丙沙星理论计算出现的谱峰信息与固体拉曼光谱信息略有不同, 这是由于实验测试的是环丙沙星分子之间作用力的综合表现, 而理论没有考虑到分子间的作用力, 从而导致该区域信号弱。结果如图 3(a) 和 (b) 所示。同时对环丙沙星溶液进行了常规拉曼检测与 SERS 检测, 结果如图 3(c) 所示, 图 3(c) 中 *a* 为环丙沙星溶液的常规拉曼, *b* 是环丙沙星溶液的 SERS 拉曼。从图中可以看到, 环丙沙星的 SERS 光谱图中出现较多拉曼信号较强的峰, 主要集中在 $1\,200\sim 1\,700\text{ cm}^{-1}$ 表明环丙沙星溶液与金纳米粒子混合后, 环丙沙星分子中各官能团的振动获得了较大提升, 拉曼峰得到了很大程度的增强。其中 744, 1 384 和 $1\,627\text{ cm}^{-1}$ 这三处拉曼信号较强, 结合上述的拉曼分析确定是环丙沙星固体拉曼光谱的 753, 1 390 和 $1\,623\text{ cm}^{-1}$, 并与环丙沙星的理论计算值相吻合, 其中 624, 753, 1 029, 1 274 及 $1\,458\text{ cm}^{-1}$ 处的拉曼位移略出现蓝移, 可能在极性溶剂中, 由于 R 带发生蓝移而造成的。拉曼位移 744 cm^{-1} 为环的呼吸振动, $1\,342$ 与 $1\,384\text{ cm}^{-1}$ 处峰信号相对较强, 此处归属为 O—C—O 的伸缩振动, 可作为环丙沙星的表面增强拉曼光谱特征峰, 用于环丙沙星的定性定量分析。而环丙沙星溶液的常规拉曼光谱, 无增强信号出现。从图中可以发现环丙沙星的 SERS 信号强度远远超过其常规拉曼, 表明以金纳米粒子为基底, 环丙沙星的拉曼峰有明显的增强。环丙沙星理论计算值以及实验测试拉曼峰的归属见表 1。

2.3 结合时间对氨茶碱与环丙沙星混合物的拉曼光谱影响

为了探究不同结合时间对环丙沙星与氨茶碱之间拉曼光谱的影响, 研究了不同的结合时间, 氨茶碱与环丙沙星结合后的拉曼光谱。从图 4 中可以看出, 结合时间在 $5\sim 20\text{ min}$ 之间, 环丙沙星与氨茶碱混合后的出峰位置大致相同, 而当 $t=30\text{ min}$, 两者混合物的拉曼峰发生了明显的变化, 其中较为明显的是拉曼位移 1 384 和 $1\,617\text{ cm}^{-1}$ 两处信号增强, 由于过长时间的结合, 氨茶碱对环丙沙星的影响更甚。而 $t=60\text{ min}$ 时, 拉曼位移 1 568, 1 224 和 $1\,170\text{ cm}^{-1}$ 处峰消失, 随着时间的延长, 两者的作用加强, 拉曼信号大大减弱。

2.4 氨茶碱对环丙沙星分子结构的拉曼光谱影响

将氨茶碱溶液加入到环丙沙星溶液中, 结果如图 5 所示。当氨茶碱与环丙沙星体积比按 1:1 混合时, 环丙沙星 947 cm^{-1} 处的 C—H 弯曲振动拉曼峰分裂为 $1\,002$ 和 $1\,020\text{ cm}^{-1}$ 两处峰, 而拉曼位移 744, 1 184, 1 252, 1 342, 1 449, 1 627 和 $3\,015\text{ cm}^{-1}$ 等多处拉曼峰发生蓝移, 这是由于氨茶碱的加入, 使得环丙沙星的结构发生了改变。1 184 cm^{-1} 处的吡嗪环由于氨茶碱大分子部分的撞击, 导致能量增大, 氨茶碱分子中的 $-\text{NH}_2$ 与环丙沙星分子的苯环结合, 使得 $1\,252\text{ cm}^{-1}$ 拉曼位移的 C—F 振动频率加快, 氨茶碱分子结

表 1 环丙沙星的拉曼位移及归属

Table 1 The Raman displacement and attribution of CIP			
DFT / cm^{-1}	Solid NRS / cm^{-1}	SERS / cm^{-1}	Assignment
	355(m)	352(w)	
	410(m)	396(w)	$\tau(\text{C—H})$
	465(w)		
	637(s)	624(w)	Formation vibration of the ring
698(w)	704(w)		
743(w)	753(s)	744(s)	Ring breathing vibration
796(w)	826(m)	881(w)	$\nu(\text{C—N})$
841(w)			
886(w)			
	943(w)	947(m)	C—H bending
1 029(w)	1 029(m)	1 025(m)	
1 194(w)	1 102(w)	1 091(w)	Pyrazine ring breathing vibration
	1 145(w)	1 144(w)	
	1 188(w)	1 184(m)	
	1 194(w)		
1 278(w)	1 274(m)	1 252(w)	$\nu(\text{C—F})$
	1 341(m)	1 342(s)	$\delta(\text{C—H})$
1 398(vs)	1 390(vs)	1 384(s)	$\nu(\text{O—C—O})$
1 466(w)			
	1 458(s)	1 449(w)	$\nu_{\text{as}}(\text{O—C—O})$
1 511(m)		1 532(w)	$\nu(\text{C—N})$
1 594(w)	1 544(s)	1 562(s)	
1 647(s)	1 623(vs)	1 627(s)	$\nu(\text{C=C})$
1 714(m)	1 703(w)		$\nu(\text{C=O})$
1 850(vs)			
2 926(vs)	3 013(vs)	3 015(w)	
3 077(vs)	3 087(m)		$\nu(\text{O—H})$
3 122(s)			

注: τ : 扭曲振动; ν : 伸缩振动; δ : 变形振动; ν_{as} : 不对称伸缩振动; vs: 超强峰; s: 强峰; m: 中等强度峰; w: 弱峰

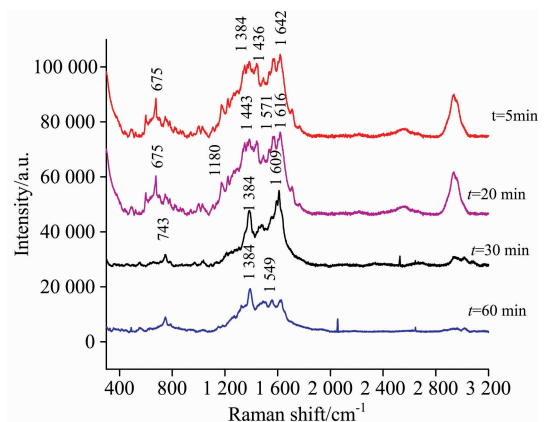


图 4 结合时间对环丙沙星与氨茶碱的影响
Fig. 4 Effect of combined time on ciprofloxacin and aminophylline

构中的碱性官能团 $-\text{NH}_2$ 与环丙沙星分子中的酸性官能团 $-\text{COOH}$ 发生反应, 致使环丙沙星分子的 O—C—O 的振动频率发生变化, 酰胺中 C=O 伸缩振动大概波数范围在

1 600 cm^{-1} 左右, 导致 1 449 cm^{-1} 处拉曼信号减弱, 1 600 cm^{-1} 处拉曼信号增强。氨茶碱分子影响了环丙沙星中的 C=C 的振动频率, 使得 1 627 cm^{-1} 处的拉曼峰发生改变。而 1 384 和 1 569 cm^{-1} 没有发生移动, 与环丙沙星溶液的 SERS 相比, 拉曼信号强度减弱, 表明氨茶碱与环丙沙星有一定程度的结合, 氨茶碱的加入影响了环丙沙星的分子结构, 使得拉曼信号减弱。当两者按照体积比为 2 : 1 混合时, 峰的强度减弱较为明显, 随着氨茶碱含量的逐渐增加, 对环丙沙星结构的影响更为严重。其中 744, 1 184 和 1 252 cm^{-1} 拉曼峰消失, 947 cm^{-1} 蓝移, 1 449 cm^{-1} 峰分裂为 1 442 和 1 488 cm^{-1} 两处峰, 进一步说明了氨茶碱分子的部分官能团与环丙沙星分子的官能团结合, 使得环丙沙星的拉曼峰型发生改变。而 1 384 cm^{-1} 处的峰信号增强, 这是二者结合后酰

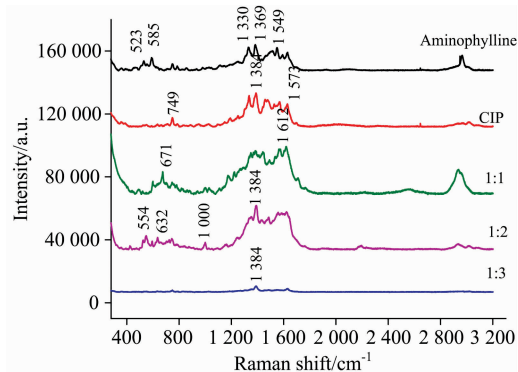


图 5 环丙沙星与氨茶碱的拉曼光谱

Fig. 5 Raman spectra of ciprofloxacin and aminophylline

胺中的 C—N 伸缩振动在此处有拉曼峰信号, 发生了峰的重叠, 导致信号增强。当二者体积比例按 3 : 1 混合时, 即氨茶碱的量进一步增加到 22.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 除 1 384 cm^{-1} 处有一点信号出现外, 其他峰几乎无增强信号, 说明氨茶碱的量达到 22.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 环丙沙星分子的结构受到了严重的影响^[7], 其药效也将直接受到影响。

3 结论

实验计算了环丙沙星(ciprofloxacin, CIP)的理论拉曼光谱峰, 环丙沙星溶液的表面增强拉曼光谱结果显示, 以金纳米粒子为基底, 环丙沙星的拉曼增强信号较强。结合环丙沙星的理论计算值以及实验测定的拉曼光谱, 对环丙沙星做了全面的归属。探究了不同结合时间对氨茶碱与环丙沙星混合物的影响, 结果表明结合时间超过 20 min 后, 环丙沙星与氨茶碱混合物的拉曼信号减弱, 随着结合时间的延长, 两者之间的作用力加强, 环丙沙星有部分的拉曼峰消失。当氨茶碱与环丙沙星混合后, 多处拉曼峰发生改变, 其中 1 184 cm^{-1} 处的吡嗪环、1 252 cm^{-1} 处的 C—F、1 627 cm^{-1} 处的 C=C 及 1 458 cm^{-1} 处 O—C—O 的振动频率发生变化; 随着氨茶碱含量的逐渐增加, 其中 800~1 200 cm^{-1} 拉曼峰消失; 而当氨茶碱的量超过 22.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 环丙沙星的拉曼峰除 1 384 cm^{-1} 处 C—N 振动有微弱信号出现外, 其他峰几乎无增强信号出现。利用 SERS 技术具有分析时间短, 灵敏度高等优点, 考察了氨茶碱与环丙沙星之间的相互作用, 这对临床药物的混合使用而言是有必要的。

References

- [1] LI Lu, LIU Fei, CHEN Hong-han(李璐, 刘菲, 陈鸿汉). Chinese Journal of Chromatography(色谱), 2013, 31(6): 567.
- [2] XIAO Shu-rong, LI Shi-liang(萧抒蓉, 李世良). Journal of North Pharmacy(北方药学), 2018, (2): 121.
- [3] LI Xiao-ling, HUANG Xiang-rong, WAN Yi-wen, et al(李小玲, 黄向荣, 万译文, 等). Chinese Fishery Quality and Standards(中国渔业质量与标准), 2013, 3(4): 25.
- [4] LI You-lun, LUO Yong-ai(黎友伦, 罗永艾). Herald of Medicine(医药导报), 2005, 24(9): 807.
- [5] LIN Wen-liang(林文亮). Strait Pharmaceutical Journal(海峡药学), 2010, 22(9): 156.
- [6] PAN Ji-qun, DING Guo-wei(潘骥群, 丁国伟). Jiangsu Medical Journal(江苏医药), 1996, (9): 609.
- [7] SONG Li-xin, WEI Chun-hua(宋立新, 魏春华). Heilongjiang Medicine Journal(黑龙江医药), 2006, 19(3): 211.
- [8] WANG Pei, LI Yu-zhen, CHEN Er-zhang, et al(王佩, 李玉珍, 陈尔璋, 等). Chinese Journal of Hospital Pharmacy(中国医院药学杂志), 1994, 14(1): 12.
- [9] HE Hua, YU Jun-sheng, XU Shan-ping, et al(何华, 于俊生, 徐珊萍, 等). Acta Pharmaceutica Sinica(药学学报), 2001, 36(7): 549.
- [10] ZHAO Jin-hui, LI Yao, YUAN Hai-chao, et al(赵进辉, 李耀, 袁海超, 等). Journal of Instrumental Analysis(分析测试学报), 2017, 36(5): 701.
- [11] Lee P C, Meisel D. J. Phys. Chem., 1982, 86: 3391.
- [12] Scallan K, Lucas D, Koshland C. Epidemiology, 2006, 17(6): S493.
- [13] ZHANG Lu-tao, ZHOU Guang-ming, LUO Dan, et al(张璐涛, 周光明, 罗丹, 等). Chemical Journal of Chinese Universities(高等学校化学学报), 2018, 39(8): 1662.
- [14] Gao X, Butler I S, Kremer R. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2005, 61(1-2): 27.
- [15] Baranski R, Baranska M. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(12): 4491.

Raman Spectroscopy Study on the Interaction of Ciprofloxacin with Aminophylline

CHEN Rong, ZHOU Guang-ming*, LUO Dan, ZHOU Jia-yu

Key Laboratory of Luminescence and Real-time Analysis of the Ministry of Education, School of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract The Raman peak of Ciprofloxacin (CIP) was calculated by the density functional theory (DFT) B3LYP/6-31G(d, p) basis set, compared with the experimental Raman peak. The degree of fit is high. And its Raman Peak has been fully vested. The surface enhanced Raman spectroscopy (SERS) and conventional Raman experiments of ciprofloxacin showed that the gold nanoparticles were used as the substrate to enhance the Raman peak of ciprofloxacin. The effect of binding time on the mixture of aminophylline and ciprofloxacin was explored. The results showed that the interaction between the two increased with time, and the partial Raman peak of ciprofloxacin disappeared. The addition of aminophylline affected the molecular structure of ciprofloxacin, which caused the haloxixine Raman signal to weaken and many Raman peaks to change, mainly pyrazine ring at 1 184 and 1 252 cm^{-1} . The vibration frequency of C—F at Raman, C=C at 1 627 cm^{-1} and O—C—O at 1 458 cm^{-1} changed; the increase of aminophylline content had a more serious effect on the structure of ciprofloxacin, of which the Raman peak at 800~1 200 cm^{-1} disappeared. When the amount of aminophylline exceeded 22.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, almost no other peak appeared except for the weak signal at 1 384 cm^{-1} . As a commonly used analytical tool, surface-enhanced Raman spectroscopy has the advantages of short analysis time and high sensitivity. The experiment used SERS technology to investigate the interaction between aminophylline and ciprofloxacin, and provided a reference for its pharmacological research.

Keywords Ciprofloxacin; Aminophylline; Density function theory; Surface-enhanced Raman spectroscopy

(Received Dec. 6, 2018; accepted Apr. 25, 2019)

* Corresponding author