

二氟沙星在乙腈溶液中的激光光解研究

李海霞 刘艳成 唐睿智 张鹏 徐宇列 王文锋

¹ (中国科学院上海应用物理研究所嘉定园区 上海 201800)

² (中国科学院大学 北京 100049)

摘要 采用纳秒级激光光解瞬态研究技术,以乙腈作为溶剂,研究在 355 nm 激光作用下产生二氟沙星(DFX)激发三重态,并利用能量转移的实验进一步研究了二氟沙星激发三重态的性质。结果显示,萘普生和二氟沙星的二元体系在 355 nm 激光作用下,二氟沙星首先被激发为其激发三重态(580 nm),二氟沙星激发三重态与萘普生发生激发能转移,产生萘普生激发三重态(440 nm)。通过能量转移的方法确定了二氟沙星在乙腈溶剂中产生的激发三重态在最大吸收波长 580 nm 处的摩尔消光系数为 8,900 dm³/mol·cm。通过改变二氟沙星的浓度测得其激发三重态在乙腈体系中的自衰变速率常数和三重态平均寿命(τ)分别为 5.39×10⁶ s⁻¹ 和 2.8 μs。

关键词 激光光解,激发态三重态,二氟沙星,萘普生

中图分类号 TL13

DOI: 10.11889/j.1000-3436.2015.rj.33.010302

喹诺酮类药物(Quinolones, FQs)是目前广泛应用于治疗各种感染性疾病的广谱、高效、低毒的化学合成药。因其具有抗菌谱广、抗菌活性强、口服吸收好、价格低廉、毒副作用小等优点,在临床上得到了广泛的应用^[1],成为当今世界各国竞相开发生产和应用的重点药物。FQs 类药物都有吡啶酮酰胺结构,该结构可以抑制 DNA 旋转酶,阻断 DNA 的复制,从而产生良好的抗菌作用^[2]。DNA 旋转酶具有催化作用,可以改变 DNA 结构。此酶有两个旋转酶 A 基因编码单位,能使 DNA 链在细菌染色体上断开,并在超螺旋后将染色体重新封接。FQs 通过抵制 DNA 旋转酶 A 亚单位,以抵制细菌 DNA 的复制转录,使细菌不能分裂,从而使脱氧核糖核酸、核糖核酸及蛋白质的合成受到干扰,使细胞不能再进行分裂而起到杀菌的作用。而这种作用对细菌的选择性很高,对人类比较安全,因而 FQs 类药物的发现和应用开创了合成抗菌药的新时代。

FQs 类药物在光照作用下具有光毒性,其光敏毒性反应是药物不良反应中较小的一部分,因此长期为人们所忽视。但是,从 20 世纪 90 年代,人们发现治疗白癜风的 8-甲基补骨脂素能够引起较强的光毒性反应,以及临床上经常使用的一些药物,如

非甾体抗炎药物和 FQs 等,也会导致明显的光毒性反应以后^[3-6],这类药物的光毒性反应逐渐受到人们的关注。

目前,关于 FQs 光敏毒性机理的研究结果主要是通过紫外-可见分光光度法、荧光分光光度法、凝胶电泳、色谱分析等稳态研究方法获得的。稳态研究实验表明,FQs 类药物可以对 DNA 造成光敏损伤,从而引发链的断裂^[4,7]。在无氧条件下,FQs 对 DNA 损伤的能力为:氟罗沙星>洛美沙星>萘啶酸>>诺氟沙星>依诺沙星^[8]。对于氟罗沙星和洛美沙星,造成 DNA 损伤的原因是由于 8 位脱氟反应生成的阳离子造成的^[9],有无氧气的变化对 DNA 的损伤程度影响不明显,这是因为氧气对氟罗沙星和洛美沙星激发三重态的猝灭不明显,相应的单线态氧或超氧阴离子自由基的产量会很低^[10]。而依诺沙星、诺氟沙星和环丙沙星等只有 6 位含氟,氧气能有效地猝灭其三重激发态^[11-14],生成的单线态氧和超氧阴离子自由基可以对 DNA 发生损伤^[7]。因此,在有氧条件下,该类 FQs 类药物对 DNA 的损伤会大大的增强。

二氟沙星^[15-16](DFX)属于第三代 FQs,又叫双氟沙星,是由美国 Abbott 公司于 1984 年合成,首

基金资助:国家自然科学基金项目(21173252)资助

第一作者:李海霞,女,1983 年 4 月出生,2013 年于中国科学院上海应用物理研究所获博士学位,研究方向为化学反应动力学,博士后

通讯作者:王文锋, E-mail: wangwenfeng@sinap.ac.cn

收稿日期:初稿 2014-09-17; 修回 2014-12-05

次于 24 届 ICCAA 会议上报道,我国农业部于 2000 年批准成为国家三类新兽药。其结构式见图 1。

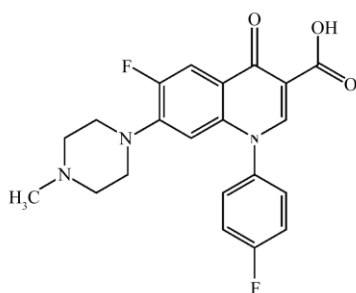


图 1 二氟沙星的结构
Fig.1 Structure of DFX

二氟沙星为畜禽专用药物,该药物现已进入大部分的欧洲国家市场,我国也已经研制成功。二氟沙星在结构上从喹诺酮环的 N-1 位引入了 4-氟苯基,使该药物的抗菌谱进一步扩大,对抗格兰氏阳性菌中尤其是链球菌和绿脓杆菌的活性进一步的增强,对幼年动物的软组织的损伤以及毒副作用减小;在 6 位引入了氨基同时,大大增强了其抗菌活性及对促旋酶的活性,也扩大了抗菌谱;在 7 位引入了甲基哌嗪,这样更增强了对革兰氏阳性菌的活性,同时也改善了对酶的拮抗作用^[17]。

近年来,国内外有关二氟沙星的研究报道已有很多^[18-22],大多数报道是关于二氟沙星在临床医学上的抗药性研究^[23],但是二氟沙星的光化学性质很少有人关注。二氟沙星作为光敏剂其光毒性也是非常重要的研究方面。本文利用激光光解时间分辨技术对二氟沙星在乙腈溶液中的激发三重态性质进行了详细的研究,并通过能量转移的方式测定了二氟沙星三线态在乙腈溶液中的寿命和摩尔消光系数。

1 材料与方法

1.1 药品

本实验中所用试剂,萘普生、乙腈购自 Aldrich 公司产品;二氟沙星购自百灵威化学技术有限公司;纯氮气为 BOC(U.K)公司产品。以上所有试剂均未经进一步纯化,直接使用。实验中所配溶液在使用前均通经不同气体饱和的 30 min,所有实验在 20 °C 的室温下进行操作。

1.2 实验装置与检测方法

本实验中的激光光解装置采用波长为 1064 nm 的晶体激光器(J.K.Lsaers System 2000 Neodymi-

um/YAG),经过三倍频后的激发波长为 355 nm,激光的脉冲宽度为 12 ns,单脉冲能量为 50 mJ。该装置以氙灯作为分析光源,分析光与激光成十字型并且垂直透过 1 cm 样品池,实验中采用了流动样品池,用来排除光辐照稳定产物的干扰,所有的光学信号经单色仪分光后,再用 1P28A 光电倍增管转化为电信号,最后经 Philips PM3311 数字示波器转换后送至计算机进行处理^[24-27]。

2 结果

2.1 二氟沙星的紫外-可见吸收光谱及其 pH 效应的影响

如图 2 所示,DFX 的紫外-可见吸收光谱主要包含两个吸收峰。短波段吸收峰(250–300 nm)主要是由芳香环的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 电子跃迁所引起的^[28-29]。长波段吸收(300–350 nm)主要是由 $n \rightarrow \pi^*$ 电子跃迁(HOMO–LUMO)引起的,该波段的吸收包含两个次级吸收峰,这是由于 DFX 分子与水分子之间形成了分子间氢键,同时分子中 4 位酮基和 3 位羧基形成的分子内氢键所导致的^[28]。从图 2 中可以观察到两个明显的等吸收点,其分别为 318 和 346 nm。在 pH= 3.0–13 之间,DFX 的质子平衡过程包含了 3 位羧基和 4'-N 氨基的质子解离两个过程。

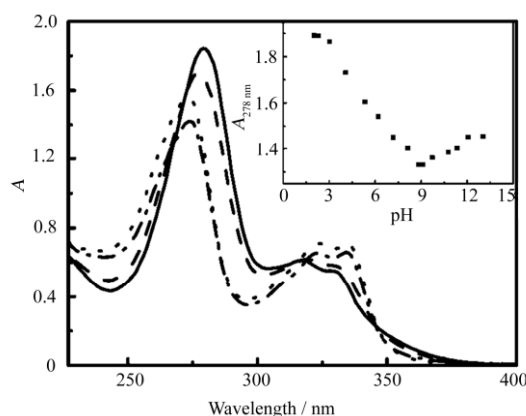


图2 DFX在不同pH值水溶液中的紫外-可见吸收光谱, pH = 3.03 (—), pH = 3.3 (---), pH = 7.17 (·····), pH = 13.4 (-·-·-), 插图为不同pH值水溶液中DFX在292 nm处的吸光度

Fig.2 Uv-Vis absorption spectra of DFX in aqueous solution at different pH values of 3.03 (—), 3.3 (---), 7.17 (·····), 13.4 (-·-·-). The inset shows the variation of 292 nm absorption against different pH values

DFX 的短波吸收峰位于 273 nm,长波吸收峰位于 323 和 336 nm,其摩尔消光系数分别为 33,000 $\text{dm}^3/\text{mol}\cdot\text{cm}$ (273 nm) 和 15,500 $\text{dm}^3/\text{mol}\cdot\text{cm}$ (323 和 336 nm),这个数值和其它的一些 FQs 的摩尔消光

系数相类似^[30-33]。酸度对 DFX 紫外光谱的影响较大。pH 从中性到 pH=3, 紫外光谱红移 8 nm 并且吸收强度明显增强。同时, 宽峰 323 和 336 nm 处的紫外吸收分别蓝移 7 和 5 nm。在 pH=7.5-13 之间主要涉及 DFX 两性离子和阴离子之间的质子平衡过程, 随着 pH 值的增加, 除了长波段的吸光度少有增强, 并没有观察到明显的峰移。根据以上讨论,

3 位羧基的质子解离过程对 DFX 紫外-可见光谱的影响比 4'-N 氨基的质子解离过程要强的多。在 pH=3-7.5 之间, 主要涉及 DFX 阳离子和两性离子之间的质子平衡过程, 通过滴定曲线用 Sigmoidal 公式拟合测得其 pKa 分别为 5.91 ± 0.02 和 9.89 ± 0.02 (插图 2)。

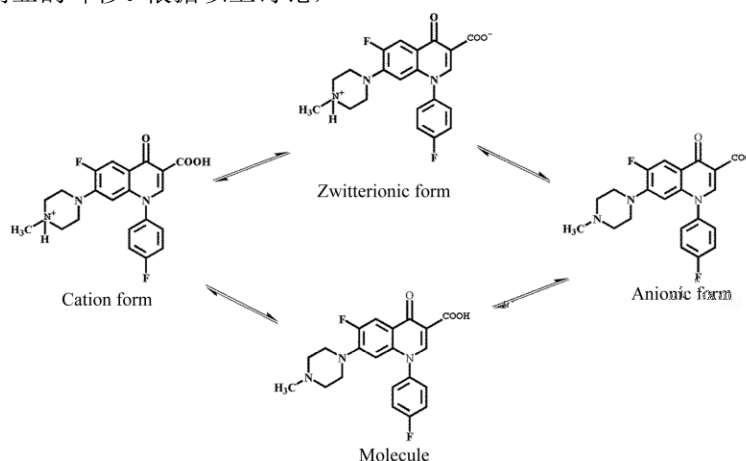


图 3 DFX 在水溶液中的质子平衡过程
Fig.3 Equilibrium between protonated forms of DFX

2.2 二氟沙星的荧光发射光谱及其 pH 值效应的影响

在中性水溶液中, 以 355 nm 作为激发光源测得 DFX 在水溶液中的荧光发射光谱如图 4 所示。

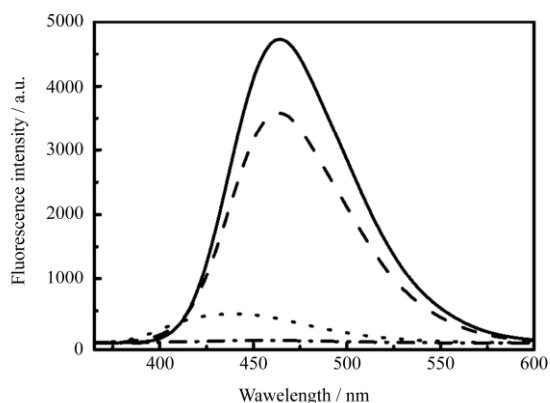


图 4 DFX 在不同 pH 值水溶液中的荧光发射光谱
pH = 3.03 (—), pH = 5.33 (---), pH = 7.17 (·····),
pH = 10.78 (-·-·-)

Fig.4 Fluorescence emission spectra of DFX in aqueous solution at different pH values of 3.03 (—), 5.33 (---), 7.17 (·····), 10.78 (-·-·-)

在 465 nm 处有一个较大宽峰。此峰和其它 FQs 像类似有很大的 Stokes 位移^[30-32]。这个现象的出现是由于分子内 4'-N 位的供电子基团和氟原子的吸

电子效应引起的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 电子跃迁的同时包含了分子内电荷转移现象所引起的。通过研究发现, 不论是峰的位置还是峰的强度都随 pH 值的改变而有较大变化。当 pH=3 到中性溶液发射峰出现了从 465 nm 到 455 nm 蓝移。当 pH=3 时荧光强度达到了最大值 0.06, 且荧光强度会随着 pH 值的增大而减小。和其它 FQs 类似, 随着溶液碱性的增加荧光强度会逐渐降低, 当 pH>11 时, 基本观察不到荧光强度。这种现象的发生是由于在碱性条件下 4'-N 上出现了孤对电子, 从而发生了分子内电荷转移所导致的。因此这是一个非常有效的建立单线态失活的途径。并且这种现象只出现在有哌嗪环的 FQs 中。无哌嗪环的莫西沙星就没有这种效应^[33]。

由于在水溶液中进行激光实验时产生的水和电子对三线态的研究有一定的影响, 因此为了研究其三线态的性质, 我们选用了乙腈溶剂中做激光光解实验。

2.3 二氟沙星在乙腈溶液中的激光光解研究

图 5 为 N₂ 饱和的 0.1 mM DFX 的纯乙腈溶液经 355 nm 激光激发后 (激光能量 8 mJ) 所测得的瞬态吸收谱。从图 5 可见其最大吸收峰(λ_{\max})位于 580 nm。通过改变溶液气氛发现, 最大吸收峰处的吸收

能被氧气有效的猝灭。在氮气条件下二氟沙星三重激发态的平均寿命为 2.8 μs,而在空气条件下其三重激发态的平均寿命只有 7.62×10⁻² μs,通入纯氧气之后其三重激发态几乎被氧气全部猝灭(如图 6)。

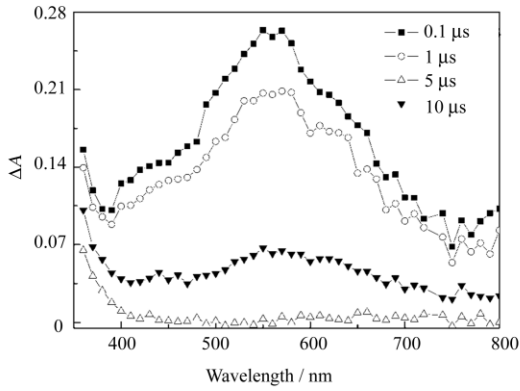


图 5 N₂ 饱和的 1.0×10⁻⁴ mol/L DFX 的乙腈溶液经 355 nm 激光(8 mJ)激发后的瞬态吸收光谱

Fig.5 Transient difference absorption spectra observed after subjecting a nitrogen saturated acetonitrile solution of 1.0×10⁻⁴ mol/L DFX to 8 mJ of 355 nm laser pulse

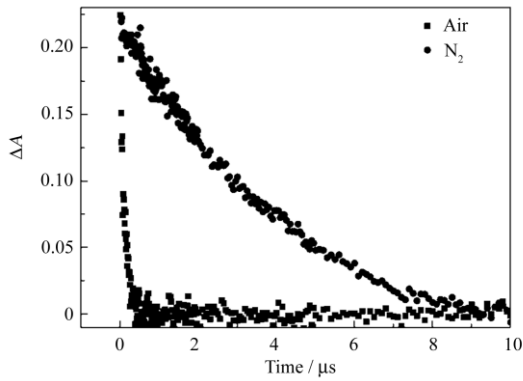


图 6 不同气氛下 580 nm 处的衰减曲线; 激光能量 8 mJ

Fig.6 Decay profiles of the signal at 580 nm obtained after laser excitation of DFX acetonitrile solutions by 8 mJ of 355 nm laser pulse

通过在空气、氧气和氮气不同气氛条件下测得的 ³DFX* 在乙腈溶剂中的自猝灭速率常数均为 3.6×10⁹ mol/L·s,在氧气条件下 DFX 的激发三重态被氧气迅速猝灭,主要是通过能量转移和电子转移的方式进行^[34],通过改变 DFX 测得 ³DFX* 在乙腈溶剂中被氧气猝灭的速率常数为 8.9×10⁹ mol/L·s。初步判定此处为二氟沙星激发三重态的吸收峰。为了进一步验证其三重激发态的位置,本文利用萘普生(NP)作为能量转移剂,进行了能量转移实验,并验证了 DFX 在乙腈中的三重激发态位置为 580 nm。³DFX* 可以被氧气迅速地猝灭,生成单线态氧(¹O₂)

和超氧阴离子自由基(O₂^{·-})(反应 1 至 3)^[35]。³DFX* 也可以被其自身及其他的三重激发态猝灭剂有效地猝灭^[36]。

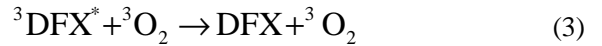
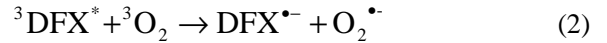
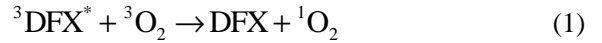


图 7 是在通入氮气饱和条件下,0.2 mmol/L DFX 和 2 mmol/L NAP (萘普生)在乙腈溶液中经 355 nm 激光光解后产生的瞬态吸收光谱。由于 NAP 在 355 nm 处无紫外吸收如图 8,因此以 355 nm 激光激发时,几乎所有 355 nm 光首先被 DFX 吸收了。从图中可以看到激光激发后先产生 580 nm 处的较宽吸收峰,随着时间的推移 580 nm 处的吸收峰逐渐降低的同时在 440 nm 处出现一个新的吸收峰,而此处的瞬态吸收峰和 NAP 的三线态吸收峰相吻合^[37]。在没有加入 NAP 时 DFX 的一级衰减速率常数为 2.49×10⁵ s⁻¹,当加入 1.5 mmol/L NAP 后,DFX 的一级衰减速率常数增加到 5.39×10⁶ s⁻¹,并且在 440 nm 处出现 NAP 三线态的特征吸收峰。因此可以推断,在 N₂ 饱和条件下,当 DFX 和 NAP 同时存在时,经 355 nm 激光激发后,能量首先被 DFX 吸收形成 ³DFX*,随着时间推移 ³DFX* 发生能量转移形成 ³NAP*,其能量转移反应可以用方程式(4)表示。

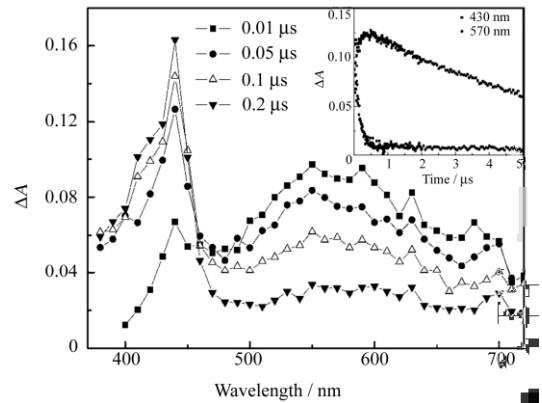


图 7 氮气饱和条件下 0.2 mmol/L DFX 和 2 mmol/L 萘普生在乙腈溶液中经 355 nm 激光激发后得到的瞬态吸收光谱;插图为:(-■-)430 nm 处观察到的 ³NAP* 生成时间分辨曲线;(-●-)570 nm 处观察到的 ³DFX* 的衰减曲线;激光能量 8 mJ
Fig.7 Transient absorption spectra after subjecting a nitrogen saturated acetonitrile solution of 0.2 mmol/L DFX containing 2 mmol/L naproxen by 8 mJ of 355 nm laser pulse
Inset shows the growth of ³NAP* at 430 nm (-■-)and decay of ³DFX* at 570 nm (-●-)

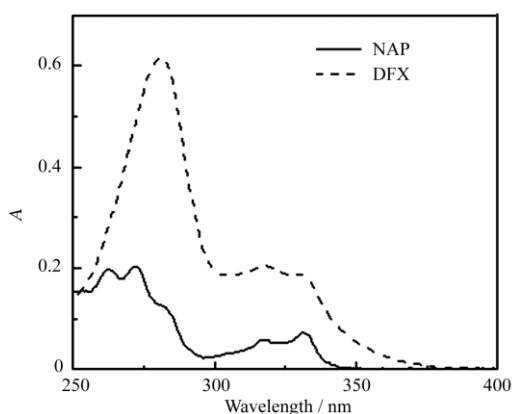


图8 NAP和DFX在乙腈溶液中的紫外-可见吸收光谱
Fig.8 UV-vis absorption spectra of NAP and DFX in a acetonitrile solution



如图7所示,通过能量转移的方法能量从 ${}^3\text{DFX}^*$ 转移到 ${}^3\text{NAP}^*$ 。萘普生激发三重态的位置在440 nm,其激发三重态的能量为259 kJ/mol。从公式(4)中可以知道能量转移速率只决定于 ${}^3\text{DFX}^*$ 和 ${}^3\text{NAP}^*$ 之间的能量差 ΔE_T 。假设DFX和NAP能量转移属于能量垂直传输,那么该反应就符合Sandros公式,见公式(5)^[37-38]。在公式(5)里 k_D 是扩散控制速率常数,为 $1.5 \times 10^{10} \text{ dm}^3/\text{mol}\cdot\text{s}$ ^[39]。通过改变NAP的浓度,可以求得 k_{ET} 为 $8.9 \times 10^9 \text{ dm}^3/\text{mol}\cdot\text{s}$ 。根据公式(5)还可得其 ΔE_T 为 $1.38 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。所以DFX三重激发态在乙腈中的能量为260.38 kJ/mol。其求得的能量非常接近其他FQs的三重激发态能量^[40]。

$$k_{ET} = k_D \times \exp(-\Delta E_T/RT) \quad (5)$$

在能量转移实验中通过改变萘普生的浓度,测定了580 nm DFX三重激发态的表观衰减速率,求得 ${}^3\text{DFX}^*$ 和 ${}^3\text{NAP}^*$ 双分子反应速率为 $8.9 \times 10^9 \text{ dm}^3/\text{mol}\cdot\text{s}$ 。如果所有受激发的DFX三重激发态全部转移给NAP生成NAP三重激发态,那么 $[{}^3\text{DFX}^*] = [{}^3\text{NAP}^*]$,但是,通常只有一部分 ${}^3\text{DFX}^*$ 转化为 ${}^3\text{NAP}^*$,并符合公式(6)。假定转化率为 $(k_1 - k_0) / k_1$,其中 k_0 和 k_1 分别为不加萘普生和加入萘普生之后的反应速率常数。

$$(k_1 - k_0) \times [{}^3\text{DFX}^*] = [{}^3\text{NAP}^*] k_1 \quad (6)$$

根据公式(6)同时测定了580 nm和430 nm的光吸收值。文献[37]中430 nm NAP的三重激发态的摩尔消光系数为 $9,500 \text{ dm}^3/\text{mol}\cdot\text{cm}$,利用公式(7)计算得出DFX三重激发态在乙腈中的摩尔消光系数为 $8,900 \text{ dm}^3/\text{mol}\cdot\text{cm}$ 。

$$\epsilon_{580\text{nm}} = \epsilon_{430\text{nm}} \frac{k_1 - k_0}{k_1} \frac{\text{Absorbance}_{580\text{nm}}}{\text{Absorbance}_{430\text{nm}}} \quad (7)$$

3 结果

研究结果表明二氟沙星包含了多个质子结合位点,因此在水溶液中其酸碱平衡组分很复杂,本文通过紫外可见吸收光谱和荧光发射光谱方法确定了3位的羧基和哌嗪环上4'位的氨基是最主要的两个质子的结合位点,在中性水溶液中二氟沙星的主要组分形态是两性离子。

利用纳秒级激光光解瞬态吸收光谱装置,在乙腈溶剂中,以萘普生作为能量接受体,验证了二氟沙星的三重激发态的位置,利用能量转移的方式研究了二氟沙星激发三重态的产生机制和光化学性质。测定了二氟沙星在乙腈溶液中的衰变反应速率常数和摩尔消光系数,同时测定了萘普生与二氟沙星激发三重态能量转移反应的速率常数。根据本文的研究结果可以得出结论:二氟沙星在乙腈溶液中具有很高的摩尔消光系数,激发三重态能量以及较长的激发三重态寿命,因此在乙腈体系中,二氟沙星可以作为一个很好的激发三重态能量给体,用于研究其他化合物的激发三重态性质。

参考文献

- 1 Wolfson J S, Hooper D C. Fluoroquinolone Antimicrobial Agents [J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 1989, **2**(4): 378-424.
- 2 Chu D T W, Fernandes P B. Structure-Activity-Relationships of the Fluoroquinolones [J]. *Antimicrob Agents Ch*, 1989, **33**(2): 131-135.
- 3 张婷,屠曾宏. 氟喹诺酮类药物的光毒性 [J]. *世界临床药物*, 2003, **24**(3): 167-170.
ZHANG Ting, TU Zenghong. The phototoxicity of fluoroquinolone [J]. *World Clinical Drugs*, 2003, **24**(3): 168-170.
- 4 Lipsky B A, Baker C A. Fluoroquinolone toxicity profiles: A review focusing on newer agents [J]. *Clinical Infectious Diseases*, 1999, **28**(2): 352-364.
- 5 Stahlmann R, Lode H. Toxicity of quinolones [J]. *Drugs*, 1999, **58**(37-42).
- 6 Condorelli G, De Guidi G, Giuffrida S, et al. Molecular mechanisms of photosensitization induced by drugs XII. Photochemistry and photosensitization of rifloxacin: An

- unusual photodegradation path for the antibacterials containing a fluoroquinolone-like chromophore [J]. *Photochemistry and Photobiology*, 1999, **70**(3): 280-286.
- 7 Martinez L J, Sik R H, Chignell C F. Fluoroquinolone antimicrobials: Singlet oxygen, superoxide and phototoxicity [J]. *Photochemistry and Photobiology*, 1998, **67**(4): 399-403.
 - 8 Albin A, Monti S. Photophysics and photochemistry of fluoroquinolones [J]. *Chemical Society Reviews*, 2003, **32**(4): 238-250.
 - 9 Fasani E, Negra F F B, Mella M, *et al.* Photoinduced C-F bond cleavage in some fluorinated 7-amino-4-quinolone-3-carboxylic acids [J]. *Journal of Organic Chemistry*, 1999, **64**(15): 5388-5395.
 - 10 Cuquerella M C, Miranda M A, Bosca F. Generation of detectable singlet aryl cations by photodehalogenation of fluoroquinolones [J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2006, **110**(13): 6441-6443.
 - 11 Liu Y C, Zhang P, Li H X, *et al.* Ciprofloxacin Photosensitized Oxidation of 2'-Deoxyguanosine-5'-Monophosphate in Neutral Aqueous Solution [J]. *Photochemistry and Photobiology*, 2012, **88**(3): 639-644.
 - 12 Liu Y C, Zhang P, Li H X, *et al.* Photochemical properties and phototoxicity of Pazufloracin: A stable and transient study [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-biology*, 2013, **118**: 58-65.
 - 13 Zhang P, Li H X, Liu Y C, *et al.* Photochemical Properties and Reactions with Biomolecules of 4'-N-Acetyl Derivative of Norfloxacin [J]. *Zeitschrift fur Physikalische Chemie-International Journal Of Research In Physical Chemistry & Chemical Physics*, 2011, **225**(8): 843-857.
 - 14 Li H X, Zhang P, Liu Y C, *et al.* Photophysical properties of gatifloxacin in aqueous solution by laser flash photolysis and pulse radiolysis [J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 2012, **81**(1): 40-45.
 - 15 Inui T, Taira T, Matsushita T, *et al.* Pharmacokinetic properties and oral bioavailabilities of difloxacin in pig and chicken [J]. *Xenobiotica*, 1998, **28**(9): 887-893.
 - 16 刘开永, 李英伦, 胡延秀. 二氟沙星的研究概况 [J]. *中国兽药杂志*, 2004, **38**(6): 27-31.
LIU Kaiyong, LI Yinglun, HU Tingxiu. A general summary on the applications and studies of difloxacin [J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2004, **38**(6): 27-31.
 - 17 李彬彬, 侯玉泽, 樊建红, 等. 兽用抗菌药盐酸二氟沙星的研究及其残留检测 [J]. *上海畜牧兽医通讯*, 2008, **6**: 75-77.
 - LI Binbin, HOU Yuze, FAN Jianhong, *et al.* The residues study on a veterinary antibacterial drug of difloxacin [J]. *Shanghai Uanimal Husbandry and Veterinary Communications*, 2008, **6**: 75-77.
 - 18 Adams A R, Haines G R, Brown M P, *et al.* Pharmacokinetics of difloxacin and its concentration in body fluids and endometrial tissues of mares after repeated intragastric administration [J]. *Canadian Journal of Veterinary Research-Revue Canadienne De Recherche Veterinaire*, 2005, **69**(3): 229-235.
 - 19 Atef M, El-Banna H A, Abd El-Aty A M, *et al.* Pharmacokinetics of difloxacin in goats [J]. *Deutsche Tierarztliche Wochenschrift*, 2002, **109**(7): 320-323.
 - 20 Ding F K, Cao J Y, Ma L B, *et al.* Pharmacokinetics issue residues of difloxacin in crucian carp (*carassius auratus*) after oral administration [J]. *Aquaculture*, 2006, **256**(1-4): 121-128.
 - 21 Frazier D L, Thompson L, Trettien A, *et al.* arison of fluoroquinolone pharmacokinetic parameters after treatment with marbofloxacin, enrofloxacin, and difloxacin in dogs [J]. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2000, **23**(5): 293-302.
 - 22 Heinen E. Comparative serum pharmacokinetics of the fluoroquinolones enrofloxacin, difloxacin, marbofloxacin, and orbifloxacin in dogs after single oral administration [J]. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2002, **25**(1): 1-5.
 - 23 丁焕中, 曾振灵, 杨桂香, 等. 二氟沙星在鸡体内的药物代谢动力学及生物利用度研究 [J]. *中国兽医科技*, 2004, **34**(6): 20-24.
DING Huanzhong, ZENG Zhenling, YANG Guixiang, *et al.* Study on pharmacokinetics and bioavailability of difloxacin in chickens [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science and Technology*, 2004, **34**(6): 20-24.
 - 24 Yao S D, Sheng S G, Cai J H, *et al.* Nanosecond pulse-radiolysis studies in china [J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 1995, **46**(1): 105-109.
 - 25 Wang W F, Luo J A, Yao S D, *et al.* Pulse-radiolysis studies of the interaction of hydroxy-cinnamic acid-derivatives with oxidizing oh adducts of pyrimidine [J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 1995, **46**(1): 41-45.
 - 26 Xu Y L, Liu Y C, Li H X, *et al.* Pulse radiolysis and laser flash photolysis study of balofloxacin [J]. *Nuclear Science and Techniques*, 2013, **24**(S1): S010312.
 - 27 Liu Y C, Li H X, Cui R R, *et al.* Pulse radiolysis of

- sparfloxacin in neutral aqueous solution [J]. Nuclear Science and Techniques, 2013, **24**(S1): S010311.
- 28 Park H R, Oh C H, Lee H C, *et al.* Spectroscopic properties of fluoroquinolone antibiotics in water-methanol and water-acetonitrile mixed solvents [J]. Photochemistry and Photobiology, 2002, **75**(3): 237-248.
- 29 Buxton G V, Greenstock C L, Helman W P, *et al.* Critical-review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen-atoms and hydroxyl radicals (OH/O) in aqueous-solution [J]. Journal of Physical and chemical reference data, 1988, **17**(2): 513-886.
- 30 Sortino S, De Guidi G, Giuffrida S, *et al.* pH effects on the spectroscopic and photochemical behavior of Enoxacin: A steady-state and time-resolved study [J]. Photochemistry and Photobiology, 1998, **67**(2): 167-173.
- 31 Cuquerella M C, Bosca F, Miranda M A. Photonucleophilic aromatic substitution of 6-fluoroquinolones in basic media: Triplet quenching by hydroxide anion [J]. Journal of Organic Chemistry, 2004, **69**(21): 7256-7261.
- 32 Lorenzo F, Navaratnam S, Allen N S. Formation of secondary triplet species after excitation of fluoroquinolones in the presence of relatively strong bases [J]. Journal of the American Chemical Society, 2008, **130**(37): 12238-12239.
- 33 Stahlmann R. Clinical toxicological aspects of fluoroquinolones [J]. Toxicology Letters, 2002, **127**(1-3): 269-277.
- 34 Navaratnam S, Claridge J. Primary photophysical properties of ofloxacin [J]. Photochemistry and Photobiology, 2000, **72**(3): 283-290.
- 35 Lorenzo F, Navaratnam S, Edge R, *et al.* Primary photophysical properties of moxifloxacin-A fluoroquinolone antibiotic [J]. Photochemistry and Photobiology, 2008, **84**(5): 1118-1125.
- 36 Martinez L J, Scaiano J C. Characterization of the transient intermediates generated from the photoexcitation of nabumetone: a comparison with naproxen [J]. Photochemistry and Photobiology, 1998, **68**(5): 646-651.
- 37 Sandros K, Backstrom H L J. Transfer of triplet state energy in fluid solutions 2. further studies of quenching of biacetyl phosphorescence in solution [J]. Acta Chemica Scandinavica, 1962, **16**(4): 958-963.
- 38 Gorman A A, Hamblett I, Jensen N H. Reversible triplet energy-transfer between neo-alloocimene and anthracene [J]. Chemical Physics Letters, 1984, **111**(3): 293-296.
- 39 Bensasson R V, Gramain J C. Benzophenone triplet properties in acetonitrile and water-reduction by lactams [J]. Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions I, 1980, **76**: 1801-1810.
- 40 Lhiaubet-Vallet V, Cuquerella M C, Castell J V, *et al.* Triplet excited fluoroquinolones as mediators for thymine cyclobutane dimer formation in DNA [J]. Journal of Physical Chemistry B, 2007, **111**(25): 7409-7414.

Laser flash photolysis studies on difloxacin in acetonitrile solution

LI Haixia^{1,2} LIU Yancheng^{1,2} TANG Ruizhi^{1,2} ZHANG Peng^{1,2} XU Yulie^{1,2} WANG Wenfeng¹

¹(Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Jiading Campus, Shanghai 201800, China)

²(Graduate University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China)

ABSTRACT The photochemistry of difloxacin in acetonitrile was investigated using laser flash photolysis. Energy transfer method was also used to estimate the properties of the triplet state of difloxacin. The results showed that excitation of the solution containing difloxacin and naproxen upon 355 nm laser flash produced the triplet of difloxacin at 580 nm firstly. Subsequently, the excitation energy of triplet difloxacin was transferred to naproxen generating triplet naproxen. Characteristic absorption of the triplet state of naproxen at 440 nm was recorded. By means of transfer of excitation energy, the molar absorption coefficients of triplet difloxacin were determined to be 8,900 dm³/mol·cm at 580 nm. Through changing the concentration of difloxacin, the self-decay rate constant and triplet lifetime for difloxacin in acetonitrile solution were observed to be $5.39 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$ and 2.8 μs .

KEYWORDS Laser flash photolysis, Triplet state, Difloxacin, Naproxen

CLC TL13