

УДК 544.032.7.615.076.7

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЛЕВОФЛОКСАЦИНА И ЕГО КОМПЛЕКСОВ С ЦИКЛОДЕКСТРИНАМИ С ЛИПОСОМАЛЬНЫМ БИСЛОЕМ И ПОВЕРХНОСТЬЮ КЛЕТОК *Escherichia coli* И *Lactobacillus fermentum*

© 2022 г. Т. Ю. Копнова¹*, Л. Р. Якупова¹, А. А. Скуредина¹, А. С. Тычинина¹,
И. М. Ле-Дейген¹, Д. А. Стрельцов¹, Н. Г. Белогурова¹, Е. В. Кудряшова¹

¹Кафедра химической энзимологии, Химический факультет, Московский
государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия

*e-mail: kopnovataty@gmail.com

Поступила в редакцию 10.08.2022 г.

После доработки 21.08.2022 г.

Принята к публикации 31.08.2022 г.

Исследовано влияние комплексообразования левофлоксацина с различными производными β-циклодекстрина на адсорбцию лекарственного препарата на липосомальном бислое и поверхности грамположительных и грамотрицательных бактериальных клеток. Адсорбция комплекса левофлоксацин-циклодекстрин на поверхности везикул сопровождается уменьшением ζ-потенциала на ~30% для комплекса левофлоксацин-гидроксипропил-β-циклодекстрин и ~20% для комплекса левофлоксацин-метил-β-циклодекстрин, в то время как взаимодействие свободного левофлоксацина с липосомальным бислоем приводит к увеличению ζ-потенциала на ~10% по сравнению со свободными липосомами. Образование комплексов левофлоксацин-циклодекстрин приводит к увеличению эффективности адсорбции в ~2–4 и ~6–10 раз на поверхности *E. coli* и липосом соответственно, при этом сильнее данный эффект выражен для комплекса левофлоксацина с гидроксипропил-β-циклодекстрином. Таким образом, можно предположить, что комплексообразование левофлоксацина с β-циклодекстринами будет приводить к усилению антибактериального действия фторхинолона за счет более эффективной его адсорбции на поверхности клеток и создания высокой локальной концентрации препарата.

Ключевые слова: левофлоксацин, липосомы, адсорбция, *E. coli*, *L. fermentum*

DOI: 10.56304/S0234275822050088

Инфекционные заболевания представляют собой серьезную угрозу для здоровья человека. Антибактериальные препараты занимают одну из главных позиций в терапии инфекций. Одним из наиболее часто используемых лекарственных препаратов является фторхинолон III поколения левофлоксацин (ЛВ), который применяется для лечения широкого спектра бактериальных заболеваний, в том числе и бактериальной пневмонии, вызванной на фоне коронавирусной инфекции [1]. Длительный курс терапии с применением высоких дозировок ЛВ может сопровождаться развитием ряда побочных эффектов: нарушение работы желудочно-кишечного тракта, негативное влияние на центральную нервную систему и появление раздражений кожи [2]. Для улучшения действия ЛВ

и снижения вероятности возникновения побочных эффектов предлагается использование систем доставки на основе циклодекстринов (ЦД).

ЦД являются биосовместимыми нетоксичными соединениями, представляющими собой циклические молекулы из нескольких остатков D-глюкопиранозы. Пространственная структура ЦД напоминает усеченный конус или тор с гидрофильной поверхностью и гидрофобной полостью, куда могут встраиваться различные гидрофобные молекулы лекарств, в том числе и ЛВ [3, 4]. Образование подбных нековалентных комплексов по механизму “гость”–“хозяин” может обуславливать увеличение растворимости и стабильности молекул, улучшение фармакокинетических характеристик, а также снижение вероятности проявления побочных эффектов [5, 6].

На сегодняшний день в медицине используются производные ЦД, полученные путем модификации гидроксильных групп олигосахаридов. Чаще всего

Список сокращений: ГПЦД – гидроксипропил-β-циклодекстрин; ДПФХ – дипальмитоилфосфатидилхолин; КЛ – кардиолипин; ЛВ – левофлоксацин; МЦД – метил-β-циклодекстрин; ЦД – β-циклодекстрин.

используются гидроксипропил- β -ЦД (ГПЦД) и метил- β -ЦД (МЦД), поскольку они обладают более высокой растворимостью по сравнению с исходным ЦД [7], кроме того заместитель в ЦД может оказывать влияние как на константу его связывания с лекарствами [8], так и на его взаимодействие с биологическими объектами [9].

Основной мишенью ЛВ является бактериальная ДНК-гираза [10], поэтому для проявления антибактериального действия препарат должен проникнуть в клетку микроорганизма. Клеточная поверхность является сложным многокомпонентным объектом исследования, поэтому многие авторы [11, 12] изучают взаимодействие различных веществ с модельными клеточными мембранами — липосомами. Липосомы — сферические везикулы, образованные различными липидами, чаще всего дипальмитоилфосфатидилхолином и кардиолипином в массовом соотношении 80 : 20 [13]. Данные двухкомпонентные анионные липосомы удобно использовать в качестве моделей клеточной поверхности грамотрицательных бактерий, которые имеют внешний липидный бислой. В случае грамположительных клеток необходимо также учитывать толстый слой пептидогликана [14].

Целью данной работы было изучение влияния двух олигосахаридов (МЦД и ГПЦД) на взаимодействие ЛВ с липосомальным бислоем и клеточной поверхностью грамотрицательных *E. coli* и грамположительных *L. fermentum* бактерий.

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Реагенты: 2-гидроксипропил- β -циклодекстрин, метил- β -циклодекстрин, левофлоксацин — Sigma-Aldrich (США); дипальмитоилфосфатидилхолин, кардиолипин (1,3-бис(sn-3'-фосфатидил)-sn-глицерин — Avanti Polar Lipids (США); HCl — “Реахим” (Россия), таблетки для приготовления 0.02 М натрий-фосфатного буфера с pH 7.4 — “ЭкоСервис” (Россия).

Получение комплексов левофлоксацина с циклодекстринами.

Для получения комплексов ЛВ с ГПЦД и МЦД в мольном соотношении ЛВ : ЦД = 1 : 1 к раствору 0.034М ЛВ (pH 4.0) добавляли требуемое количество раствора ГПЦД или МЦД в соляной кислоте (pH 4.0). Смесь инкубировали в течение часа при температуре 37°C. К раствору липосом и бактериальных культур добавляли раствор комплекса ЛВ с циклодекстринами, доведенный фосфатным буфером до pH 7.4.

Получение малых моноламеллярных липосом.

Смешивали растворы липидов в концентрации 25 мг/мл в хлороформе для получения рас-

твора с массовым соотношением дипальмитоилфосфатидилхолин (ДПФХ) : кардиолипин (КЛ), равным 80% : 20%, и удаляли хлороформ в вакуумном роторном испарителе при температуре 55°C. Образовавшуюся липидную пленку диспергировали в 0.02 М натрий-фосфатном буфере pH 7.4. Далее на этот раствор воздействовали ультразвуком с частотой 22 кГц (3 раза по 200 с) при температуре 50–55°C, используя гомогенизатор (модель 4710, Cole-Parmer Instrument, США).

Изучение адсорбции ЛВ и комплексов ЛВ-МЦД и ЛВ-ГПЦД на поверхности липосом.

К 450 мкл раствора липосом концентрацией 5 мг/мл добавляли требуемое количество раствора комплексов ЛВ или ЛВ-ЦД концентрацией 1 мг/мл для получения растворов с концентрацией лекарственного средства в диапазоне от 40–160 мкг/мл (финальная концентрация липидов составила 3 мг/мл). Объем полученного раствора доводили до 750 мкл 0.02 М натрий-фосфатным буфером. Полученные растворы икубировали в термошейкере в течение 30 мин при 37°C. Далее полученные образцы помещали в диализный мешок Spectra/Por (12–14 кДа) на 30 мин и методом равновесного диализа определяли содержание несвязанного ЛВ спектрофотометрически.

УФ-спектры регистрировали на спектрометре УФ- и видимого диапазона AmerSharm Biosciences UltraSpec 2100 pro (Великобритания) трижды в интервале от 200 до 400 нм в кварцевой кювете Hellma Analytics (Германия). Исходные образцы разбавляли 0.02 М натрий-фосфатным буфером (pH 7.4) до концентрации левофлоксацина $\sim 1 \times 10^{-5}$ М.

Определение ζ -потенциала осуществляли методом динамического светорассеяния (DLS). Измерения проводили на оборудовании Zetasizer Nano S., Malvern Instruments Ltd (Великобритания) (4 мВт He-Ne-лазер, 633 нм) в термостатируемой ячейке при 25°C. Автокорреляционные функции флуктуации интенсивности светорассеяния были получены с использованием корреляционной системы Correlator K7032-09 Malvern. Экспериментальные данные обрабатывали с помощью программного обеспечения Zetasizer Software. ζ -потенциал вычисляли усреднением величин, полученных от трех независимых измерений.

Культивирование клеточных (бактериальных) культур.

Колонии штаммов *Escherichia coli* JM109 (J. Messing, США [15]) и *Lactobacillus fermentum* 90T-C4 (“Микроген”, Россия) переносили в 5 мл жидкой среды (Luria-Bertani pH 7.4 для *E. coli* и De Man, Rogosa and Sharpe agar pH 7.4 для *L. fermentum*) и помещали в термостат при 37°C. За 12 ч до эксперимента 500 мкл клеточной культуры помещали в

8 мл соответствующей жидкой питательной среды, и инкубировали при 37°C без перемешивания (ночная культура).

Изучение адсорбции ЛВ и комплексов ЛВ-ЦД на поверхности клеток. По 900 мкл ночной культуры клеток центрифугировали при 3300 g в течение 5 мин и промывали два раза 0.02 М натрий-фосфатным буфером (рН 7.4). К клеточным осадкам добавляли по 200 мкл исследуемого образца заданной концентрации, суспензировали и помещали в термошейкер на 1 ч при 37°C. После инкубации смесь снова центрифугировали при тех же условиях и регистрировали спектры эмиссии флуоресценции супернатанта.

Спектры эмиссии флуоресценции регистрировали в интервале от 400 до 550 нм при длине волны возбуждения 289 нм с помощью флуориметра Varian Cary Eclipse (США). Определяли интенсивность пика с максимумом при 456 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

ЛВ представляет собой синтетический оптический S-(-) изомер офлоксацина. Наличие на противоположных концах молекулы карбоксильной группы ($pK_a = 6.05$) и третичной аминогруппы ($pK_b = 7.90$) в 4-метил-пиперазиновом кольце обеспечивает различное состояние ионизации молекулы ЛВ в зависимости от рН среды (табл. 1) [16].

При физиологическом значении рН (при рН крови равном 7.4) ЛВ преимущественно находится в виде цвиттер-иона и лишь небольшая его часть имеет отрицательный заряд. В то же время при рН 4 ЛВ практически полностью представляет собой катион. Ранее было показано [8], что комплексообразование ЛВ с ЦД происходит эффективнее с нейтральными фрагментами лекарственных молекул. Таким образом, наиболее эффективно комплексообразование ЛВ с ЦД будет происходить в случае, когда одна из функциональных групп не заряжена. Поэтому для получения более стабильных систем ЛВ-ЦД комплексообразование про-

Таблица 1. Состояния ионизации левофлоксацина в зависимости от рН среды [16]

Table 1. Ionization states of levofloxacin depending on the pH of the medium [16]

Ионногенная группа	рН 4.0	рН 7.4
-COO ⁻	0.9%	95.7%
-COOH	99.1%	4.3%
-NMe ⁻	~99.99%	76.0%
-N ⁺ HMe ⁻	~0.01%	24.0%

изводили при рН 4, когда карбоксильная группа ЛВ протонирована. При взаимодействии ЛВ с ЦД -COOH группа погружается в гидрофобную полость ЦД, а положительно заряженный метилпиперазиновый фрагмент ЛВ остается снаружи (рис 1b). Поскольку при переводе в рН 7.4 комплексы ЛВ-ЦД стабильны в течение нескольких часов [8], образование таких систем позволяет зафиксировать положительный заряд ЛВ даже при рН крови. Поскольку при рН 7.4 поверхность бактериальных клеток и модельных липосом отрицательно заряжена можно предположить, что комплексообразование ЛВ с ЦД будет приводить к усилению адсорбции на поверхности данных частиц (рис. 1).

Исследование адсорбции ЛВ и его комплексов с ЦД на поверхности липосом.

Для изучения взаимодействий лекарственных форм с поверхностью везикул использовали метод динамического светорассеяния. Показано, что двухкомпонентные анионные липосомы ДПФХ : КЛ (80% : 20% по мас.) имеют ζ -потенциал -21 мВ. Добавление ЛВ (в мольном соотношении липиды : препарат = 1 : 2) не приводит к изменению ζ -потенциала липосом (табл. 2), что может быть связано с нейтрализацией фосфатных групп липидов гетероциклом ЛВ, который также несет -COO⁻ на противоположном конце молекулы.

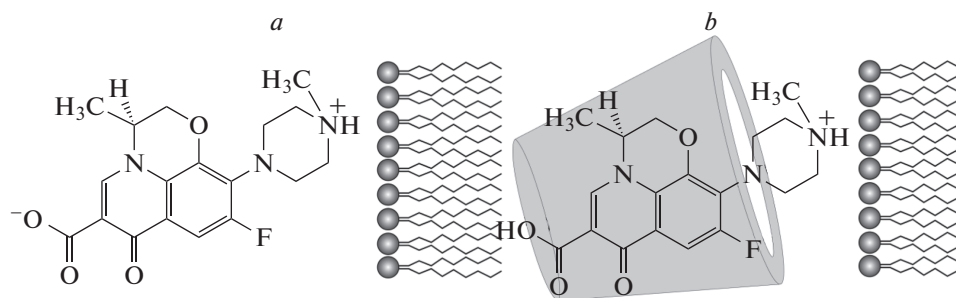


Рис. 1. Схема предполагаемого взаимодействия левофлоксацина (a) и его комплекса с производными циклодекстрина (b) с поверхностью липидного бислоя.

Fig. 1. The scheme of proposed interaction of levofloxacin (a) and its complex with cyclodextrin derivatives (b) with the lipid bilayer surface.

Таблица 2. Значения ζ -потенциалов свободных липосом и с адсорбированным лекарственным препаратом, pH 7.4
Table 2. Values of ζ -potentials of free liposomes and with adsorbed drug, pH 7.4

Определяемый параметр	Липосомы	Липосомы + ЛВ	Липосомы + ЛВ-ГПЦД	Липосомы + ЛВ-МЦД
ζ -потенциал, мВ	-21.2 ± 1.6	-23.6 ± 2.2	-16.2 ± 2.5	-17.2 ± 2.1

Полученные результаты коррелируют с ранее опубликованными данными [17], где мы исследовали липосомальную форму ЛВ и влияние состава липидной матрицы на его микроокружение. Установлено, что включение ЛВ в липосомы ДПФХ : КЛ (80% : 20% по масс.) не приводит к изменениям в ζ -потенциале или в размере везикул. Кроме того, показано отсутствие изменений в гидрофильности микроокружения ЛВ. С помощью метода ИК-спектроскопии Фурье установлено, что ЛВ входит в микроокружение фосфатной группы липидов, вытесняя воду, и не продвигается глубже в гидрофобную область везикул. Таким образом, основные взаимодействия между ЛВ и липидами липосом наблюдаются на границе раздела фаз липид/вода для обеих систем: при включении ЛВ в везикулы и при добавлении ЛВ к “пустым” липосомам. При исследовании влияния ЦД на это взаимодействие в данной работе мы обнаружили, что при добавлении комплексов ЛВ-ЦД к суспензии “пустых” липосом, происходит небольшое увеличение ζ -потенциала.

Это подтверждает наше предположение о возможном механизме взаимодействия препарата и его комплексов с липидным бислоем (рис. 1).

При определении количества связавшегося ЛВ на везикулах (рис. 2) установлено, что при увеличении концентрации препарата, количество адсорбированного ЛВ также увеличивается. При этом этот эффект выражен несколько сильнее для комплекса ЛВ-ГПЦД: количество адсорбированного лекарственного препарата увеличивается в ~10 раз, тогда как для комплекса ЛВ-МЦД – в ~6 раз. По всей видимости, это объясняется тем, что заместитель в ГПЦД содержит гидроксильную группу, доступную для образования дополнительных водородных связей с поверхностью липосом.

Влияние связывания ЛВ с производными ЦД на адсорбцию лекарства на бактериальные клетки:

Поверхность бактериальных клеток организована значительно сложнее, чем липосомальные везикулы. Бактерии, подразделяющиеся на грамположительные и грамотрицательные, различаются по строению клеточной стенки. Так, грамотрицательные бактерии имеют две мембраны, между которыми находится слой пептидогликана и периплазматическое пространство. Внешняя мембрана грамотрицательных клеток довольно сложно структурирована и содержит липосахариды, порины, мембранные белки, липопротеины и др. Грамположительные клетки имеют только одну мембрану, поверх которой находится толстый слой пептидогликана. Основной компонент клеточной стенки грамположительных бактерий – муреин (40–90%), дополнительные – белки, липиды, тейхоевые кислоты и тейхуроновые кислоты [18].

В данной работе исследуются грамотрицательные *E. coli* и грамположительные *L. fermentum* бактериальные клетки. Методом динамического светорассеяния установлено, что клетки обоих штамма при pH 7.4 характеризуются отрицательным значением ζ -потенциала (-35.5 ± 5.6 мВ и -11.2 ± 0.3 мВ для *E. coli* и *L. fermentum* соответственно). Таким образом, возможна адсорбция лекарственных форм ЛВ на поверхности бактерий по аналогичному механизму, который был ранее предложен для липосом.

На рис. 3 представлены кривые адсорбции ЛВ на клеточных мембранах *E. coli* и *L. fermentum*. Установлено, что при низких концентрациях лекарственного препарата его адсорбция примерно

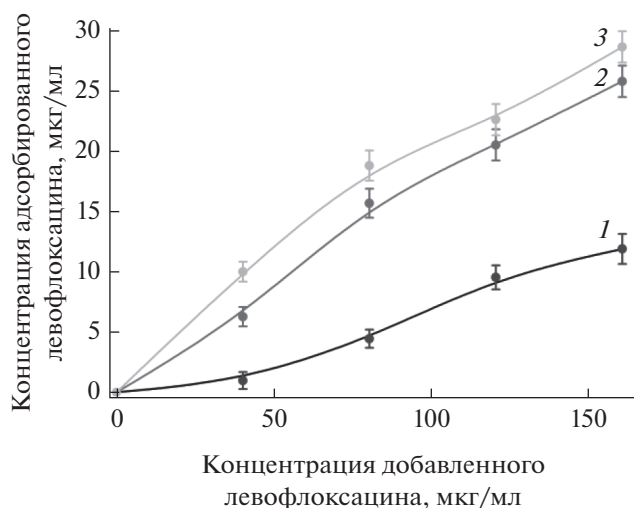


Рис. 2. Зависимость количества адсорбированного левофлоксацина (1), комплекса левофлоксацина с метил-β-циклодекстрином (2) и комплекса левофлоксацина с гидрохипропил-β-циклодекстрином (3) на липосомах от начальной концентрации лекарственного препарата в системе; pH 7.4; 37°C; c_0 (липосом) = 3 мг/мл.

Fig. 2. Dependence of adsorbed levofloxacin (1), complex of levofloxacin with methyl-β-cyclodextrin (2) and complex of levofloxacin with hydroxypropyl-β-cyclodextrin (3) on liposomes versus the initial concentration of the drug in the system; pH 7.4; 37°C; c_0 (liposomes) = 3 мг/мл.

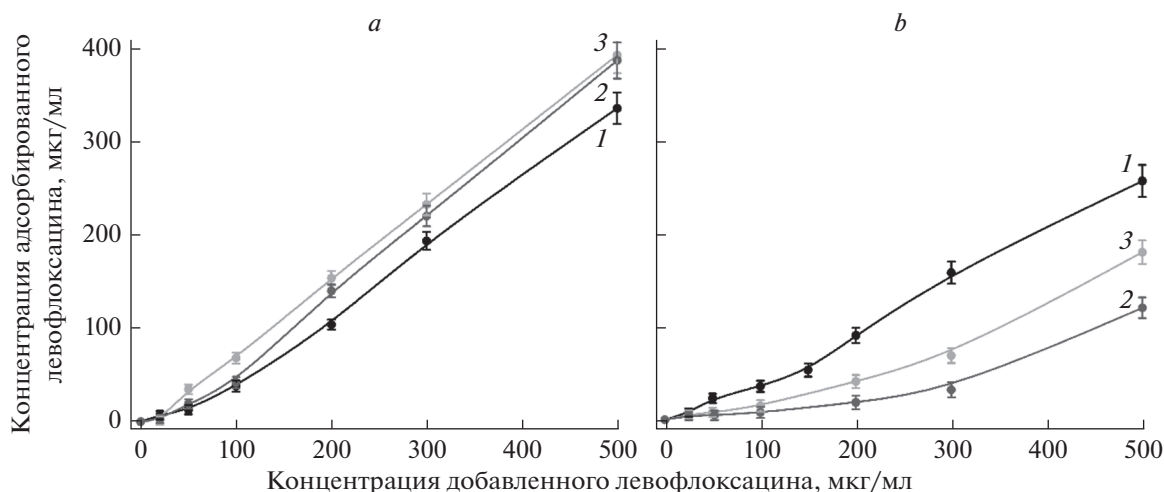


Рис. 3. Зависимость количества адсорбированного левофлоксацина (1), комплекса левофлоксацина с метил- β -циклодекстрином (2) и комплекса левофлоксацина с гидроксипропил- β -циклодекстрином (3) на поверхности клеток *E. coli* JM109 (a) и *L. fermentum* 90T-C4 (b) от начальной концентрации лекарственного препарата в системе; pH 7.4; 37°C; c_0 (бактериальных клеток) $\approx 7 \times 10^8$ КОЕ/мл.

Fig. 3. Dependence of adsorbed levofloxacin (1), complex of levofloxacin with methyl- β -cyclodextrin (2) and complex of levofloxacin with hydroxypropyl- β -cyclodextrin (3) on the surface of *E. coli* JM109 (a) and *L. fermentum* 90T-C4 (b) cells versus the initial concentration of the drug in the system; pH 7.4; 37°C; c_0 (bacterial cells) $\approx 7 \times 10^8$ CFU/mL.

Таблица 3. Тангенсы угла наклона функций адсорбции лекарственных форм ЛВ на бактериальных клетках *E. coli* JM109 и *L. fermentum* 90T-C4; pH 7.4; $\sim 7 \times 10^8$ КОЕ/мл

Table 3. The slopes of the adsorption functions of drug dosage forms on *E. coli* JM109 and *L. fermentum* 90T-C4 bacterial cells; pH 7.4; $\sim 7 \times 10^8$ CFU/mL

tg α	ЛВ	ЛВ-МЦД	ЛВ-ГПЦД
<i>E. coli</i> JM 109	0.37	0.44	0.73
<i>L. fermentum</i> 90T-C4	0.36	0.10	0.14

одинаковая для обоих штаммов. При высоких концентрациях фторхинолона он адсорбируется лучше на грамотрицательных бактериях, что может быть связано с более низким ζ -потенциалом поверхности клеток *E. coli*.

Как было указано выше, адсорбция ЛВ на липосомах происходит эффективнее, когда ЛВ находится в форме комплекса с ГПЦД или МЦД. В случае клеточной поверхности данный эффект в значительной степени зависит от строения клеточной стенки. Так, для *E. coli* наблюдается усиление адсорбции ЛВ в 2 и 4 раза соответственно в комплексе с МЦД и ГПЦД соответственно (рис. 3, табл. 3). Напротив, для *L. fermentum* образование комплексов ЛВ-ЦД приводит к ухудшению связывания ЛВ на бактериях. Возможно, данный эффект связан с тем, что на поверхности лактобактерий находится пептидогликан, который обуславливает их более “гладкую” поверхность, в связи с чем комплексы ЛВ-ЦД в меньшей степени “удерживаются” на клетках.

Сравнивая влияние заместителя в ЦД на адсорбцию комплексов ЛВ-ЦД важно отметить, что ГПЦД обеспечивает наилучшие показатели для двух видов бактерий. Возможно, это связано с наличием большего количества гидроксильных групп (по сравнению с МЦД), которые способствуют образованию большего количества водородных связей с поверхностью клеток, тем самым усиливая адсорбцию ЛВ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложен возможный механизм взаимодействия ЛВ и комплексов ЛВ-ЦД с модельной липосомальной мембраной и поверхностью грамположительных и грамотрицательных бактериальных клеток, согласно которому адсорбция ЛВ происходит за счет электростатических взаимодействий положительно заряженного пиперазинового фрагмента ЛВ и отрицательно заряженной поверхностью мембраны. Важную роль в данных взаимодействиях играет комплексообразование ЛВ с

ЦД. Оно приводит к усилению адсорбции лекарственного препарата на поверхности грамотрицательных бактерий (в ~2–4 раза) и липосомальных везикул (~6–10 раз). В обоих случаях данный эффект выражен сильнее для комплекса ЛВ-ГПЦД, что позволяет предположить, важную роль образования водородных связей в адсорбции. Полученные результаты создают основу для дизайна высокоэффективных систем доставки лекарств с целью усиления антибактериального действия препарата.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена с использованием ИК-Фурье спектрометра Tensor 27 Bruker и спектрометра кругового дихроизма Jasco J-815 при поддержке программы развития МГУ.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №22-24-00604.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yin S., Huang M., Li D., Tang N. Difference of coagulation features between severe pneumonia induced by SARS-CoV2 and non-SARS-CoV2. *J. Thromb. Thrombolysis*, 2020, 3–6. <https://doi.org/10.1007/s11239-020-02105-8>
2. Anderson V.R., Perry C.M. Levofloxacin. *Drugs*, 2008, 68(4), 535–565. <https://doi.org/10.2165/00003495-200868040-00011>
3. Le-Deygen I.M., Skuredina A.A., Kudryashova E. V. Drug delivery systems for fluoroquinolones: New prospects in tuberculosis treatment. *Russ. J. Bioorganic Chem.*, 2017, 43(5), 487–501. <https://doi.org/10.1134/S1068162017050077>
4. Eleftheriadou K., Üstündağ Okur N., Siafaka P., Özcan Bülbül E. An update on cyclodextrins as drug vehicles for antimicrobial applications. *J. Pharm. Technology*, 2020, 1(1), 18–25. <https://doi.org/10.37662/jpt.2020.3>
5. Davis M.E., Brewster M.E. Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2004, 3(12), 1023–1035. <https://doi.org/10.1038/nrd1576>
6. Raut S.Y., Manne A.S.N., Kalthur G., Jain S., Mutalik S. Cyclodextrins as Carriers in Targeted Delivery of Therapeutic Agents: Focused Review on Traditional and Inimitable Applications. *Curr. Pharm. Des.*, 2019, 25(4), 444–454. <https://doi.org/10.2174/1381612825666190306163602>
7. Loftsson T., Jarho P., Måsson M., Järvinen T. Cyclodextrins in drug delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.*, 2005, 2(2), 335–351. <https://doi.org/10.1517/17425247.2.1.335>
8. Misiuk W., Jozefowicz M. Study on a host–guest interaction of hydroxypropyl- β -cyclodextrin with ofloxacin. *J. Mol. Liq.*, 2015, 202, 101–106. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2014.12.029>
9. Tychinina A.S., Skuredina A.A., Le-Deygen I.M., Kudryashova E.V. Influence of Substituents in β -Cyclodextrin on the Interaction of Levofloxacin- β -Cyclodextrin Complexes with Liposomal Membrane. *Colloid J.*, 2021, 83(6), 794–801. <https://doi.org/10.1134/S1061933X21060168>
10. Norrby S.R. Levofloxacin. *Expert Opin. Pharmacother.*, 1999, 1109–119. <https://doi.org/10.1517/14656566.1.1.109>
11. Le-Deygen I.M., Skuredina A.A., Safronova A.S., Yakimov I.D., Kolmogorov I.M., Deygen D.M., Burova T. V., Grinberg N.V., Grinberg V.Y., Kudryashova E.V. Moxifloxacin interacts with lipid bilayer, causing dramatic changes in its structure and phase transitions. *Chem. Phys. Lipids*, 2020, 228104891. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMPHYSLIP.2020.104891>
12. Lian T., Ho R.J.Y. Trends and Developments in Liposome Drug Delivery Systems. *J. Pharm. Sci.*, 2001, 90(6), 667–680. <https://doi.org/10.1002/JPS.1023>
13. Marom M., Azem A. The Use of Cardiolipin-Containing Liposomes as a Model System to Study the Interaction Between Proteins and the Inner Mitochondrial Membrane. *Methods Mol. Biol.*, 2013, 1033, 147–155. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-487-6_10
14. Pazos M., Peters K. Peptidoglycan. *Subcell. Biochem.*, 2019, 92, 127–168. https://doi.org/10.1007/978-3-030-18768-2_5
15. Yanisch-Perron C., Vieira J., Messing J. Improved M13 phage cloning vectors and host strains: nucleotide sequences of the M13mpl8 and pUC19 vectors. *Gene*, 1985, 33(1), 103–119. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(85\)90120-9](https://doi.org/10.1016/0378-1119(85)90120-9)
16. Gonzalez J. Spectrofluorimetric determination of levofloxacin in tablets, human urine and serum. *Talanta*, 2000, 52(6), 1149–1156. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(00\)00484-7](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(00)00484-7)
17. Ле-Дейген И.М., Сафронова А.С., Колмогоров И.М., Скуредина А.А., Кудряшова Е.В. Влияние состава липидной матрицы на микроокружение левофлоксацина в липосомальных формах. *Биоорганическая химия*, 2022, 48(4), 1–11. <https://doi.org/10.31857/S0132342322040145>
18. Шлегель Г. Общая микробиология, перевод с немецкого Л.В. Алексеевой, канд. биол. наук Г.А. Куреллы, канд. мед. наук Н.Ю. Несытовой. / Г. Шлегель, Москва: “МИР”, 1987, 567

Interaction of Levofloxacin and its Cyclodextrin Complexes with Liposomal Bilayer and Cell Surface of *Escherichia coli* and *Lactobacillus fermentum*

T. Yu. Kopnova^{a, #}, L. R. Yakupova^a, A. A. Skuredina^a, A. S. Tychinina^a,
I. M. Le-Deygen^a, D. A. Streltsov^a, N. G. Belogurova^a, and E. V. Kudryashova^a

^aDepartment of Chemical Enzymology, Faculty of Chemistry,
Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

[#]e-mail: kopnovataty@gmail.com

Abstract—The effect of complex formation of levofloxacin with various derivatives of β -cyclodextrins on the adsorption of the former on the liposomal bilayer and the surface of gram-positive and gram-negative bacterial cells has been studied. The adsorption of the levofloxacin-cyclodextrin complex on the surface of the vesicles was accompanied by a decrease in the ζ -potential by $\sim 30\%$ for the levofloxacin-hydroxypropyl- β -cyclodextrin complex and $\sim 20\%$ for the levofloxacin-methyl- β -cyclodextrin complex compared to free liposomes, while the interaction of free levofloxacin with the liposomal bilayer led to an increase in ζ -potential by $\sim 10\%$. The formation of levofloxacin-cyclodextrin complexes resulted in a growth of the adsorption efficiency by ~ 2 – 4 times on the surface of the *E. coli* cells and ~ 6 – 10 times on liposomes; this effect was more pronounced for the levofloxacin-hydroxypropyl- β -cyclodextrin complex. Thus, it can be assumed that the complex formation of levofloxacin with β -cyclodextrins will lead to an increase in the antibacterial action of fluoroquinolone due to its more effective adsorption on the cell surface and a higher local concentration.

Keywords: levofloxacin, liposomes, adsorption, *E. coli*, *L. fermentum*