

MC-Transaction on Biotechnology, 2021, Vol. 12, No. 1, e3

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## 文獻回顧：

### 四環素光化學研究

李淑媛<sup>1</sup>、鄭建璋<sup>2</sup>、劉婕怡<sup>2</sup>、梁致遠<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>醒吾科技大學 觀光休閒系(中華民國 台灣 新北市)

<sup>2</sup>銘傳大學 健康科技學院 生物科技學系(中華民國 台灣 桃園市)

#### 中文摘要

四環素類化合物(tetracyclines, TCNs)是一種廣效抗生素，可用於對抗多種微生物。TCNs 應用在家庭醫療、農業、畜牧、水產養殖以預防動物疾病，並提供亞治療生長促進劑之用。大量的研究均指出抗生素會對生態環境產生重大威脅。TCN 自 1948 年使用，之後陸續在動物分離株實驗中觀察到其有抗藥類型，同時也是細菌在進化過程中出現最多抗藥性的抗生素之一。TCNs 對光敏感。其抗菌光動力治療法經藍光或紫光激發，可產生活性氧物質(ROS)進而對微生物細胞執行毒殺，因此 TCNs 的抗菌光動力治療法深具潛力，有助於減少皮膚感染多重耐藥性細菌。另一方面，以黃素單核苷酸(riboflavin-5'-phosphate, FMN)光化學法產生大量活性氧物質對 TCN 作用後能使 TCN 對微生物的失活性大幅下降，可有助於減緩 TCNs 對環境生態的影響。

關鍵字：抗生素、失活、四環素、黃素單核苷酸、活性氧物質

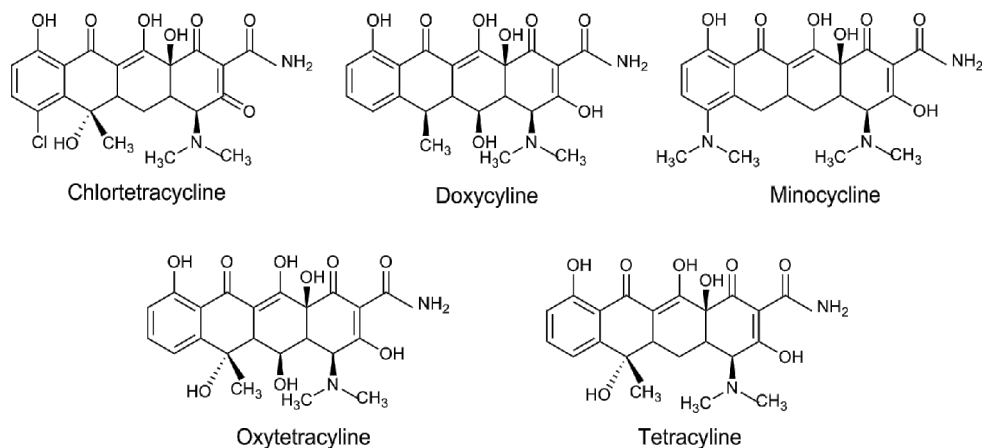
通訊作者：梁致遠[liang121@mail.mcu.edu.tw]

收稿：2021-7-2 修改：2021-8-23 接受：2021-8-26 線上刊出：2021-8-30

#### 一、前言

四環素類化合物(Tetracyclines, TCNs)，是由鏈黴菌屬放線菌門細菌所產生，屬於廣效性抗生素。此化合物的名稱源自於四個環核及其上面不同的官能團的組合。圖一是各種不同 TCNs 的結構，如金黴素(chlortetracycline, CTC)、強力黴素(doxycycline, DC)、米諾環素(minocycline)、土黴素(oxytetracycline)和四環素(tetracycline, TCN)等，四環核上的官能團不同會影響其抗菌能力。TCN 的抗菌力源於可干擾胺醯-tRNA (aminoacyl-tRNA)與細菌核糖體的結合，能抑制微生物的蛋白質合成[1]。TCNs 是一種廣效抗生素，可對抗多種微生物，如革蘭氏陽性和陰性細菌、原生動物、寄生蟲等。同時也被廣泛應用在家庭醫療、農業、畜牧、水

產養殖，以預防動物疾病。TCNs 也可提供亞治療生長促進劑之用，但會殘留動物及植物體內[2]。此外，根據大量的研究指出抗生素會在地下水、海水、飲用水、土壤中產生影響[3]。含有四環素結構的廢棄物對生態系統可造成嚴重威脅[4]。因此如何減少此結構對生態系統的影響，是一項重大課題。TCNs 自 1948 年使用，在動物中觀察到四環素耐藥類細菌且是出現最多耐藥性的抗生素之一[5,6]。動物體內的細菌及抗藥性的細菌可傳給人類[7]，而抗生素耐藥性的問題儼然已嚴重威脅到全球的健康[8]。



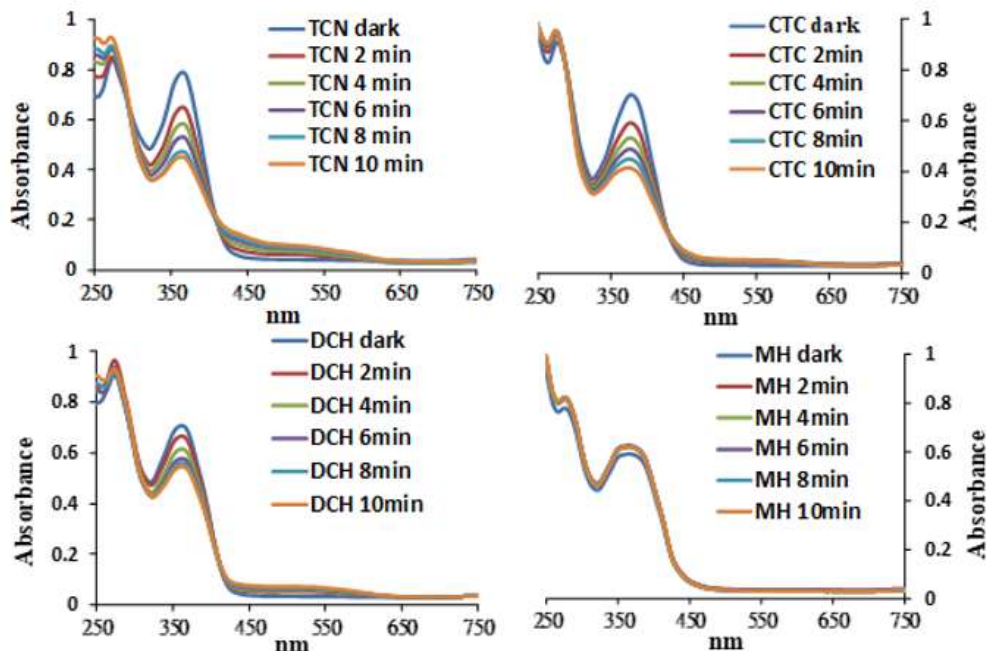
圖一、五種 TCNs 的結構。

服用 TCNs 常見的副作用是光毒性。TCNs 易光敏化，所以服用的常見副作用是光毒性[9]。已有報導使用核黃素(riboflavin)或黃素單核苷酸(FMN)的光解反應，產生活性氧物質裂解 DNA，使大腸桿菌(*E. coli*)、金黃色葡萄球菌(*S. aureus*)和耐甲氧西林金黃色葡萄球菌(MRSA)失活[10-12]。透過四環素光敏化作用產生活性氧物質進而增加細菌的失活能力，值得進一步研究。

## 二、TCNs 照光的反應及表觀解離常數

TCNs 包含的四個連接的六碳環成為一個線性結合的組合，並接有許多官能基，圖一顯示，TCNs 具苯環，苯環具有很強的紫外光吸收能力。結構四環素在水溶液中照射紫外光的場合會產生不穩定[13]。酚類化合物在鹼性環境呈現不穩定狀態，在鹼性水環境中可通過電子轉移，形成酚陰離子[14]。Huang 等人使用不同的可見光，以  $2.0 \text{ mW/cm}^2$  的光強度照射 TCN 溶液(pH7.8) 1-4 小時，TCN 對藍、紅及綠光的敏感度不一，即照光後顯示吸收光譜有其差異性。以 364 nm 吸收峰的降低為例，藍光對 TCN 光解效率高，綠光次之，而紅光的影響力最小[15]。圖二是 0.1 mM TCNs 在 pH 7.8 的條件下，以紫光(405 nm)照射後的吸收光譜圖。結果表明 TCN、CTC 和鹽酸強力黴素(DCH)易受紫光的影響，經照射 10 分鐘後，溶液變紅，但鹽酸米諾環素 (MH) 溶液對紫光不敏感，照紫光後顏色幾乎不變。由圖二顯示，

TCNs 經紫光照射後，在 272 和 364 nm 處有兩個主要吸收峰，而 TCN、CTC 和 DCH 在 364 nm 處的吸收峰明顯降低，但 MH 的光譜並無顯著變化，顯示出 MH 對紫光不敏感。



圖二、以  $2.0 \text{ mW/cm}^2$  紫光照射 TCNs 的吸收光譜圖。TCN：四環素；CTC：金黴素；DCH：鹽酸強力黴素；MH：鹽酸米諾環素

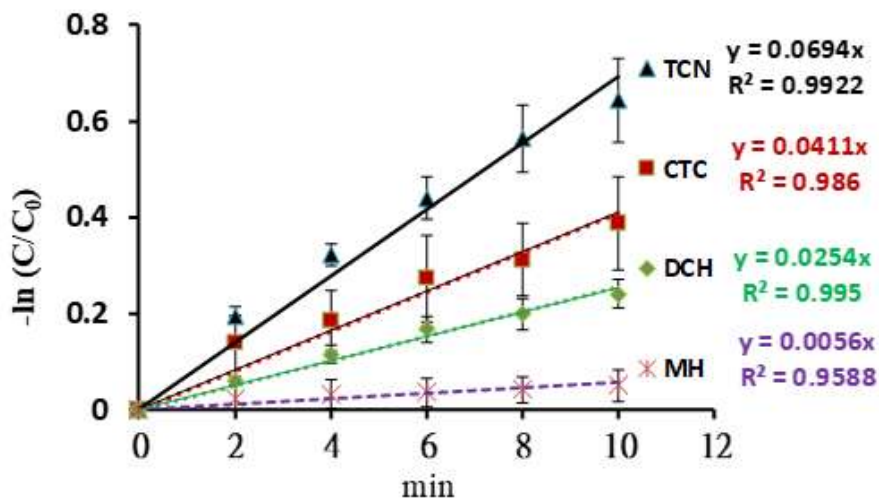
Huang 等人及 Niu 等人以太陽光、紫外光及藍光照射 TCN 及 DC，認為 TCNs 的光解動力學為假定的一級反應<sup>[15-17]</sup>。以圖二檢測到 364 nm 處的變化作計算，方程式(1)是 TCNs 照紫光後假定的一級反應之表觀解離常數，方程式(2)是  $t = 0$  到  $t = t$  的時間積分：

$$-\frac{dC_{TCNs}}{dt} = k_{appa} \times C_{TCNs} \quad (1)$$

$$-\ln\left[\frac{C_{TCNs}}{C_0}\right] = k_{appa} \times t \quad (2)$$

$C_0$  和  $C_{TCNs}$  分別是由開始時的吸光值和  $t$  時間的 TCNs 在 364 nm 的吸光值， $k_{appa}$  是表觀分解的速率常數。圖三是 TCNs 的紫光分解的表觀分解的速率常數。依實驗證明 TCN 對紫光的光敏性最高，其次是 CTC 及 DCH，而 MH 對紫光的分解速率常數則是最低。

### 三、結構四環素對環境的影響



圖三、紫光分解的 TCNs，其表觀分解的速率常數。TCN：四環素； CTC：金黴素； DCH：鹽酸強力黴素； MH：鹽酸米諾環素

含有結構四環素的廢棄物對生態系統構成嚴重威脅<sup>[4]</sup>。然而，TCNs 已經被大量被應用在家禽、牛、羊及豬等的傳染疾病的治療，例如動物農場會將 TCN 等抗生素藥物投入動物的飲水或飼料中，藉此預防動物傳染病的傳播。Winckler 等人的研究指出 TCN 類藥物佔總獸醫用藥量的 50%以上<sup>[18]</sup>。人類或動物經系統給藥後，70%以上的 TCNs 可通過尿液和糞便排出。可怕的是含有 TCNs 的廢棄物，會對生態系統造成嚴重威脅<sup>[4]</sup>。用於醫療或食品業的 TCN 類約 72%會釋入至環境中<sup>[18]</sup>。根據 Hamscher 等人(2001)研究指出在地下水及地表水中偵測到約 0.15  $\mu\text{g/L}$  的 TCN 類殘留。而在土壤及生物性廢肥中分別大約有 86~199  $\mu\text{g/kg}$  和 4.0  $\text{mg/kg}$  的 TCNs 殘留<sup>[19]</sup>。另外，De Liguoro 等人更指出 OTC 在堆肥中殘留可長達五個月之久。由此可見，抗生素在環境中具有穩定且不易降解的特性，由於會在環境中不斷累積，抑制土壤微生物的生長，對環境造成相當大的危害<sup>[20]</sup>。

據報導，TCN 是大腸桿菌進化過程中抗藥性最高的菌株之一<sup>[6]</sup>。雖然 TCNs 早在 1948 年使用，但常在動物中可產生並分離對 TCNs 的抗藥性菌株<sup>[5, 6]</sup>。結構四環素經畜牧業廢水排放至河川或土壤造成汙染，這些殘留物可能對人類健康有危害並且可能引起過敏反應。此外這結構的長期殘留，可能會助長對四環素結構具抗藥性基因的細菌<sup>[21]</sup>。另外，也發現動物身上產生的抗藥性菌株—大腸桿菌可感染於人類<sup>[7]</sup>。因此減低結構四環素殘留及減少其對生態微生物的影響至關重要。

#### 四、TCN 光降解反應

TCNs 在紫外光區 272 nm 及 364 nm 具有強烈的吸收峰，TCNs 溶液經紫外光照射，表現不穩定<sup>[13]</sup>。波長較短的光，如紫外光，具有高能量，可以被結構四環素吸收，從而引發光化學反應。另有研究指出 TCNs 以模擬態的陽光照射後產生活性氧物質，進而降解<sup>[22]</sup>。服用 TCNs 藥物其光毒性是眾所周知的副作用，TCN 的

光毒性，部分原因是經照紫外光產生單態氧<sup>[9]</sup>，引出激發態及活性氧物質，形成 TCN 光敏化及不穩定性，進而產生光降解反應<sup>[22, 23]</sup>。抗生素產生的光化學反應在自然水體環境中降解，陽光照射是重要的原因之一<sup>[24]</sup>。Huang 等人使用高壓液相層析儀及質譜儀證明 TCN 經藍光(462 nm)照射後可生成活性氧物質並改變結構<sup>[15]</sup>。TCN 在藍光照射產生的光氧化過程及活性氧物質產生。TCN 光氧化反應經電子移轉、羥基化、醇氧化及水解後產生光解產物<sup>[15]</sup>，光解後的 TCN 產物，其分子量為 458.44 g/mol，分子式為 C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>。

TCNs 光解反應時，大多數 TCNs 礦化不完全，轉化為中間產物，帶給微生物更高的逆境風險<sup>[25]</sup>。Huang 等人指出 TCN 在藍光照後產生光敏化作用，其光產物對微生物的毒性反應更加劇烈，可降低 30% 的多重抗藥性大腸桿菌(MDR *E. coli*)<sup>[15]</sup>。因此，TCN 排放至環境後經光解作用，將對生態造成嚴重衝擊。如何將 TCNs 降解成對微生物無毒性，讓生態不受干擾及影響，是一件重大課題。

在 TCN 中加入金屬光敏劑，如二氧化鈦<sup>[26-28]</sup>、鈦酸鋇<sup>[29]</sup>、和亞鐵或三價鐵/過氧化氫<sup>[30]</sup>金屬硫化物<sup>[31, 32]</sup>，金屬氧化物<sup>[33-36]</sup>，金屬有機骨架<sup>[37, 38]</sup>，非金屬化合物<sup>[39-42]</sup>及鈳酸鈾/三氧化鈾<sup>[43]</sup>等方法，並經紫外光照射後可分解之。此方法受限於紫外光的輻射和重金屬都有毒性。另一方面，在核黃素溶液中 TCN 以氬燈或石英鹵素燈照射且經 40 分鐘處理後，其降解後的產物之抗菌能力會降低約 22%<sup>[44]</sup>。因此，抗生素降解後如何處理到對環境無害的方法是當務之急，也是進一步的研究重點。

核黃素和 FMN 是人體所需要的維生素<sup>[45]</sup>。FMN 是由核黃素磷酸化後產生。FMN 和核黃素同樣對光具有敏感性<sup>[46]</sup>。核黃素和 FMN 分別在紫外光<sup>[45, 47]</sup>、紫光<sup>[48]</sup>和藍光<sup>[10-12]</sup>照射後，可轉為光激發的三重態，同時產生活性氧物質<sup>[46, 49]</sup>。Liang 等人使用核黃素照藍光的方法產生活性氧物質，以致進一步降解結晶紫(CV)，讓結晶紫的抗菌能力大幅下降<sup>[11]</sup>。同樣地，以 2.0 mW/cm<sup>2</sup> 藍光照射含 TCN 及 FMN 的溶液一小時後，成功地將 TCN 降解成 C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 的化合物。降解後的 TCN 殺菌能力大減，仍保有 93.2% 的大腸桿菌，抗菌能力大幅降低，提供了一種對環境友善無害的廢水處理方式<sup>[16]</sup>。

## 五、細菌耐藥性的危害

全球抗微生物耐藥性發展組織(AARE)於 2012 年指出，自 163 個美國醫療中心分離的菌株，最常見及可鑑別的細菌，以 55.5% 為 *S. aureus* 為最，其次是 5.9% 的 *E. coli* 和 5.5% 的克雷伯氏菌<sup>[50]</sup>，另一方面，耐藥性革蘭氏陰性病原菌中，如具廣效性乙內醯胺分解酶(ESBLs)的 *E. coli*，六年中即增加 9%<sup>[50]</sup>。*E. coli* 是一種常見於工業環境和動物消化系統中的革蘭氏陰性菌，也是檢測環境的指標性微生物<sup>[12]</sup>。同時也是重要的人類病原體，能產生多種毒素並伴隨多種病徵，諸如胃腸炎、尿路感染、腦膜炎、腹膜炎和敗血症<sup>[6, 51]</sup>。*S. aureus* 是常見的革蘭氏陽性致病菌，也

是主要的人類病原菌之一，存在於人類及動物的皮膚和鼻粘膜組織；亦是醫院普遍常見的病原菌，會導致廣泛性的毒素並伴隨著各種疾病[52]。該菌可也容易引起傷口感染，進而誘發危及生命的疾病，如菌血症、肺炎和心內膜炎等。從金黃色葡萄球菌中可演化出青黴素裂解酶，如 MRSA。MRSA 可對青黴素產生抗藥性，同時也可抵抗其他常用的抗生素[53]，其抗藥性來自於菌株可轉錄製造 PBP2a 的 *mecA* 基因，對  $\beta$ -lactam 類抗生素親和力降低，故而成為具有抗藥性的 MRSA [54]。青黴素使用不久後，抗藥性的 MRSA 即於 1961 年出現[55]。MRSA 是衛生保健及社區發病的重要病原菌[56]。據報導，美國在 2005 年約有 20,000 名住院患者死於 MRSA 感染，至今此一趨勢仍持續擴大中[57]。此外，動物研究中也發現了新的 MRSA 菌株，且可感染於人類[58]。開發新型抗生素至臨床使用，往往須耗時數十年光陰。因此，對抗 MRSA 的新療法是很重要且具急迫性的。進一步研究 TCNs 是否可以通過可見光產生光敏化反應及生成活性氧物質，所產生的活性氧物質對微生物的失活可扮演何種角色，是一個值得持續關注的議題。

## 六、TCN 抗菌光動力治療法

抗菌光動力治療法(antibacterial photodynamic inactivation of bacteria, aPDI)是運用光敏感物質迅速在菌體累積，經特定波長的光源激發，產生單態氧及活性氧物質對微生物細胞進行毒殺，也可進一步地有效控制抗藥性細菌[59]。aPDI 治療方式的主要優點與細菌的抗藥模式無關。aPDI 治療已成為治療皮膚和軟組織感染(skin and soft tissue infections, SSTIs)的一種潛在的替代或輔助方法[60, 61]，能有效降低患者的皮膚感染多重抗藥性細菌[62]。活性氧物質包括過氧化氫 ( $H_2O_2$ )、羥基自由基 ( $\bullet OH$ )、超氧陰離子自由基 ( $O_2^{\bullet -}$ )、單態氧(singlet oxygen,  $^1O_2$ )以及過氧自由基 ( $ROO\bullet$ )等等[63]。活性氧物質是氧化或還原反應的中間產物，能導致細胞老化、組織損傷、發炎以及動脈粥樣硬化[64, 65]。aPDI 通過光敏劑的光反應作用可形成二種型態，型態一是產生  $O_2^{\bullet -}$  及  $\bullet OH$ ；型態二是產生單態氧( $^1O_2$ ) [66]。Zhang 等人以電子自旋(ESR)技術偵測 TCN 經可見光照射後主要產生  $O_2^{\bullet -}$  及  $H_2O_2$  [67]。TCN 經光反應產生  $O_2^{\bullet -}$  對 TCN 的光降解非常重要[15, 17]。

Liang 等人及 Wong 等人證明核黃素或 FMN 對藍光敏感，經藍光照射，核黃素光解反應產生電子轉移，產生活性氧物質[46]，能夠降解結晶紫染料[11]、對 *E. coli* 及 MRSA 產生失活[10, 12, 48]。TCNs 如地美環素(demeclocycline, DMC) [68, 69]、DC [68, 69]、CTC [70]、OTC [69]及 TCN [68, 71]等，使用紫外光作為光源，激發 TCNs 產生活性氧物質，以 aPDI 方式應用在 *E. coli* 失活。He 等人(2018)使用紫光(415 nm)及紫外光 A (365 nm)作為光源，照射 DMC 後，能使革蘭氏陽性菌(MRSA)和革蘭氏陰性菌(*E. coli*)失活[68]。波長較短的光，如紫外光，具有高能量，對細胞會產生危害，因此以可見光作為 aPDI 是理想的好辦法。

Huang 等人以 TCN 經藍光(462 nm, 2.0 mW/cm<sup>2</sup>)照射 2 小時(輻射能量, 14.4 J/cm<sup>2</sup>)，指出 TCN 在光照的過程中會生成活性氧物質，可降低 MDR *E. coli* 的生長達 4 ~ 5

log 值<sup>[15]</sup>。何(2020)指出以 DCH 經藍光(2.0 mW/cm<sup>2</sup>)照射 2 小時(輻射能量, 14.4 J/cm<sup>2</sup>), 可減少 MRSA 的生長達 5~6 log<sup>[72]</sup>。以 TCNs 經藍光處理, 可對多重抗藥性細菌產生失活。陳等人(2021)比較 OTC 對紫光和藍光的光敏性, OTC 對紫光的光解速率常數  $k_{app}$  高於藍光達 30 倍, 指出 OTC 對紫光敏感, 在低能量劑量下, 透過紫光照射的光解過程, 使用低輻射能量(輻射能量, 3.6 J/cm<sup>2</sup>)條件下, 可減少大腸桿菌 3~4 log; 相反地, 高強的藍光(輻射能量, 14.4 J/cm<sup>2</sup>)對大腸桿菌的效果不彰<sup>[73]</sup>。由此可見, 低能量劑量下, TCNs 有紫光通過可以在低強度的光能量使病原微生物失活。此外, 紫光和藍光的波長比紫外線長。且紫外光的短波長和高能量可能會對細胞造成損傷。因此只要使用適當的光敏劑, 照射紫光也能在低輻射能量條件下, 抑制病原微生物的產生。

## 七、結 論

TCNs 是抗菌劑, 在鹼性條件下不穩定。TCNs 被藍光或紫光照射時, 通過光氧化誘導電子轉移, 從而形成 TCNs 的有色光降解產物。在藍光或紫光照射下, TCNs 光敏化過程產生活性氧物質, 使 *E. coli* 及其多重抗藥菌株和 *S. aureus* (包括甲氧西林耐藥菌株)得以失活。研究結果表明, TCNs 的光化學處理方法是一種簡單、安全又衛生的工具。藍光和紫光的波長比紫外線長, 紫外線的波長比藍光和紫光的波長短, 且有高能量而對細胞造成更高程度的損傷。換言之, 適當地運用光敏劑, 即使是紫光照射也能在低強度輻射條件下有效地抑制病原微生物。

TCN 的廢棄物對生態系統構成嚴重威脅。雖然 TCNs 可以利用紫外光降解, 但其衍生的產物可能會危及生態環境。運用 FMN 光降解方法處理 TCNs 可以大幅降低其抗菌能力, 總而言之, FMN 光解處理法不僅簡單, 更是對生態安全、友善的一項良法。

## 參考文獻

- [1] Chopra I, Roberts M: Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Bio Rev* 2001, 65:232-260.
- [2] Roberts MC: Tetracycline resistance determinants: mechanisms of action, regulation of expression, genetic mobility, and distribution. *FEMS Microbiol Rev* 1996, 19:1-24.
- [3] Sarmah AK, Meyer MT, Boxall AB: A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere* 2006, 65:725-759.
- [4] Daghri R, Drogui P: Tetracycline antibiotics in the environment: a review, *Environ.*

Chem Lett 2013, 11:209-227.

[5] McEwen SA, PFedorka-Cray PJ: Antimicrobial use and resistance in animals, Clin Infect Dis 2002, 34 Suppl 3:S93-S106.

[6] Tadesse DA, Zhao S, Tong E, Ayers S, Singh A, Bartholomew MJ, McDermott PF: Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950-2002. Emerg Infect Dis 2012, 18:741-749.

[7] Fairbrother JM, Nadeau E: *Escherichia coli*: on-farm contamination of animals. Rev Sc Tech 2006, 25:555-569.

[8] Nhung NT, Thuy CT, Trung NV, Campbell J, Baker S, Thwaites G, Hoa NT, Carrique-Mas J: Induction of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* and non-typhoidal salmonella strains after adaptation to disinfectant commonly used on farms in Vietnam. Antibiotics 2015, 4:480-494.

[9] Hasan T, Kochevar IE, McAuliffe DJ, Cooperman BS, Abdulah D: Mechanism of tetracycline phototoxicity. J Invest Dermatol 1984, 83:179-183.

[10] Liang JY, Yuann JM, Cheng CW, Jian HL, Lin CC, Chen LY: Blue light induced free radicals from riboflavin on *E. coli* DNA damage. J Photochem Photobiol B 2013, 119:60-64.

[11] Liang JY, Yuann JP, Hsie ZJ, Huang ST, Chen CC: Blue light induced free radicals from riboflavin in degradation of crystal violet by microbial viability evaluation. J Photochem Photobiol B 2017, 174:355-363.

[12] Liang JY, Cheng CW, Yu CH, Chen LY: Investigations of blue light-induced reactive oxygen species from flavin mononucleotide on inactivation of *E. coli*. J Photochem Photobiol B 2015, 143:82-88.

[13] Davies AK, McKellar JF, Phillips GO, Reid AG: Photochemical oxidation of tetracycline in aqueous solution. J Chem Soc Perkin Trans 1979, 2:369-375.

[14] Chen LY, Cheng CW, J.Y. Liang JY: Effect of esterification condensation on the Folin-Ciocalteu method for the quantitative measurement of total phenols. Food Chem 2015, 170:10-15.

[15] Huang ST, Wu CY, Lee NY, Cheng CW, Yang MJ, Hung YA, Wong TW, Liang JY: Effects of 462 nm light-emitting diode on the inactivation of *Escherichia coli* and a multidrug-resistant by tetracycline photoreaction. J Clin Med 2018, 7:278.

[16] Huang ST, Lee SY, Wang SH, Wu CY, Yuann JP, He S, Cheng CW, Liang JY: The



influence of the degradation of tetracycline by free radicals from riboflavin-5'-phosphate photolysis on microbial viability. *Microorganisms* 2019, 7 (2019) 500.

[17] J. Niu, Y. Li, W. Wang, Light-source-dependent role of nitrate and humic acid in tetracycline photolysis: kinetics and mechanism, *Chemosphere*, 92:1423-1429.

[18] Winckler C, Grafe A: Use of veterinary drugs in intensive animal production. *J Soils Sediments* 2001, 1:66.

[19] Hamscher G, Sczesny S, Höper H, Nau H: Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal Chem*, 74:1509-1518.

[20] De Liguoro M, Cibir V, Capolongo F, Halling-Sørensen B, Montesissa C: Use of oxytetracycline and tylosin in intensive calf farming: evaluation of transfer to manure and soil. *Chemosphere* 2003, 52:203-212.

[21] Daniel AT, Shaohua Z, Emily T, Sherry A, Aparna S, Mary JB, Patrick FM: Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, 2002 United States, 1950–2002. *Emerg Infect Dis* 2012, 18:741.

[22] Chen Y, Hu C, Qu J, Yang M: Photodegradation of tetracycline and formation of reactive oxygen species in aqueous tetracycline solution under simulated sunlight irradiation. *J Photochem Photobiol A Chem* 2008, 197:81-87.

[23] Redelsperger IM, Taldone T, Riedel ER, Lephherd ML, Lipman NS, Wolf FR: Stability of doxycycline in feed and water and minimal effective doses in tetracycline-Inducible systems. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2016, 55:467-474.

[24] Andreozzi R, Raffaele M, Nicklas P: Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere* 2003, 50:1319-1330.

[25] Jiao S, Zheng S, Yin D, Wang L, Chen L: Aqueous photolysis of tetracycline and toxicity of photolytic products to luminescent bacteria. *Chemosphere* 2008, 73:377-382.

[26] Bouafia-Chergui S, Zemmouri H, Chabani M, Bensmaili A: TiO<sub>2</sub>-photocatalyzed degradation of tetracycline: kinetic study, adsorption isotherms, mineralization and toxicity reduction. *Desalination Water Treat* 2016, 57:16670-16677.

[27] Reyes C, Fernandez J, Freer J, Mondaca M, Zaror C, Malato S, Mansilla H: Degradation and inactivation of tetracycline by TiO<sub>2</sub> photocatalysis. *J Photochem Photobiol A Chem* 2006, 184:141-146.

- [28] Wu S, Hu H, Lin Y, Zhang J, Hu YH: Visible light photocatalytic degradation of tetracycline over TiO<sub>2</sub>. *Chem Eng J* 2020, 382:122842.
- [29] Cai F, Tang Y, Chen F, Yan Y, Shi W: Enhanced visible-light-driven photocatalytic degradation of tetracycline by Cr<sup>3+</sup> doping SrTiO<sub>3</sub> cubic nanoparticles. *RSC Adv* 2015, 5:21290-21296.
- [30] Yamal-Turbay E, Jaén E, Graells M, Pérez-Moya M: Enhanced photo-Fenton process for tetracycline degradation using efficient hydrogen peroxide dosage. *J Photochem Photobiol A Chem* 2013, 267:11-16.
- [31] Qi Y, Fan Y, Liu T, Zheng X: Flower-like hierarchical ZnS-Ga<sub>2</sub>S<sub>3</sub> heterojunction for the adsorption-photo-reduction of Cr (VI). *Chemosphere* 2020, 261:127824.
- [32] Zheng X, Fu W, Peng H, Wen J: Preparation and characterization of Cu<sub>x</sub>Zn<sub>1-x</sub>S nanodisks for the efficient visible light photocatalytic activity. *J Environ Chem Eng* 2018, 6:9-18.
- [33] Liu Y, Wang K, Huang Z, Zheng X, Wen J: Enhanced photo-Fenton activity of Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-NiO heterojunction under visible light irradiation. *J Alloys Compd* 2019, 800:498-504.
- [34] Saghi M, Mahanpoor K: Photocatalytic degradation of tetracycline aqueous solutions by nanospherical α-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> supported on 12-tungstosilicic acid as catalyst: using full factorial experimental design. *Int J Ind Chem* 2017, 8:297-313.
- [35] Wang H, Yao H, Pei J, Liu F, Li D, Photodegradation of tetracycline antibiotics in aqueous solution by UV/ZnO. *Desalination Water Treat* 2016, 57:19981-19987.
- [36] Wu H, Liu X, Wen J, Liu Y, Zheng X: Rare-earth oxides modified Mg-Al layered double oxides for the enhanced adsorption-photocatalytic activity. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* 2021, 610:125933.
- [37] Bhuvaneswari K, Palanisamy G, Pazhanivel T, Maiyalagan T, Shanmugam P, Grace AN: In-situ development of metal organic frameworks assisted ZnMgAl layered triple hydroxide 2D/2D hybrid as an efficient photocatalyst for organic dye degradation, *Chemosphere*, 270 (2021) 128616.
- [38] Du C, Zhang Z, Yu G, Wu H, Chen H, Zhou L, Zhang Y, Su Y, Tan S, Yang L: A review of metal organic framework (MOFs)-based materials for antibiotics removal via adsorption and photocatalysis. *Chemosphere* 2021, 272:129501.
- [39] Acharya R, Parida K: A review on TiO<sub>2</sub>/g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> visible-light-responsive photocatalysts for sustainable energy generation and environmental remediation. *J Environ Chem Eng* 2020, 8:103896.

- [40] Khaing KK, Yin D, Xiao S, Deng L, Zhao F, Liu B, Chen T, Li L, Guo X, Liu J: Efficient solar light driven degradation of tetracycline by Fe-EDTA modified g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> nanosheets. *J Phys Chem C Nanomater Interfaces* 2020, 124:11831-11843.
- [41] Liu Y, Song Y, You Y, Fu X, Wen J, Zheng X: NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> heterojunction composite with enhanced visible-light photocatalytic activity. *J Saudi Chem Soc* 2018, 22:439-448.
- [42] Luo B, Chen M, Zhang Z, Xu J, Li D, Xu D, Shi W: Highly efficient visible-light-driven photocatalytic degradation of tetracycline by a Z-scheme gC<sub>3</sub>N<sub>4</sub>/Bi<sub>3</sub>TaO<sub>7</sub> nanocomposite photocatalyst. *Dalton Trans* 2017, 46:8431-8438.
- [43] Zheng X, Li Y, Peng H, Huang Z, Wang H, Wen J: Efficient solar-light photodegradation of tetracycline hydrochloride using BiVO<sub>4</sub>/MoO<sub>3</sub> composites. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* 2021, 621:126599.
- [44] Castillo C, Criado S, Díaz M, García NA: Riboflavin as a sensitiser in the photodegradation of tetracyclines. Kinetics, mechanism and microbiological implications. *Dyes Pigm* 2007, 72:178-184.
- [45] Cheng CW, Jian HL, Chen LY, Liang JY: The photochemistry of riboflavin. *MC-Trans. Biotech* 2011, 3:e3.
- [46] Lin Y, Eitenmiller RR, Landen WO: Riboflavin, in: *Vitamin analysis for the health and food sciences*, CRC Press, 2008, pp. 329-360.
- [47] Tripathi AK, Dwivedi A, Pal MK, Rastogi N, Gupta P, Ali S, Prabhu MB, Kushwaha HN, Ray RS, Singh SK, Duggal S, Narayan B, Mishra DP: Attenuated neuroprotective effect of riboflavin under UV-B irradiation via miR-203/c-Jun signaling pathway in vivo and in vitro. *J Biomed Sci* 2014, 21:39.
- [48] Wong TW, Cheng CW, Hsieh ZJ, Liang JY: Effects of blue or violet light on the inactivation of *Staphylococcus aureus* by riboflavin-5'-phosphate photolysis. *J Photochem Photobiol B* 2017, 173:672-680.
- [49] Ottaway PB: Stability of Vitamins in Food, in: *The technology of Vitamins in Food*, Chapman and Hall, London, 1993, pp. 233-244.
- [50] Cardona AF, Wilson SE: Skin and soft-tissue infections: a critical review and the role of telavancin in their treatment. *Clin Infect Dis* 2015, 61 Suppl 2:S69-78.
- [51] von Baum H, Marre R: Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and therapeutic implications. *Int J Med Microbiol* 2005, 295:503-511.
- [52] Balaban N, Rasooly A: Staphylococcal enterotoxins. *Int J Food Microbiol* 2000,

61:1-10.

[53] Lee JH: Methicillin (Oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. *Appl Environ Microbiol* 2003, 69:6489-6494.

[54] Saeed A, Ahsan F, Nawaz M, Iqbal K, Rehman KU, Ijaz T: Incidence of vancomycin resistant phenotype of the methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a tertiary care hospital in Lahore. *Antibiotics* 2019, 9:3.

[55] Barber M: Methicillin-resistant staphylococci. *J Clin Pathol* 1961, 14:385-393.

[56] McDougal LK, Steward CD, Killgore GE, Chaitram JM, McAllister SK, Tenover FC: Pulsed-field gel electrophoresis typing of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the United States: establishing a national database. *J Clin Microbiol* 2003, 41:5113-5120.

[57] Boucher HW, Corey GR: Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 2008, 46 Suppl 5:S344-349.

[58] Smith TC: Livestock-associated *Staphylococcus aureus*: the United States experience. *PLoS pathogens* 2015, 11:e1004564.

[59] Tim M: Strategies to optimize photosensitizers for photodynamic inactivation of bacteria. *J Photochem Photobiol B* 2015, 150:2-10.

[60] Hamblin MR: Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes. *Curr Opin Microbiol* 2016, 33:67-73.

[61] Wong TW, Wu EC, Ko WC, Lee CC, Hor LI, Huang IH: Photodynamic inactivation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by indocyanine green and near infrared light. *Dermatol Sin* 2018, 36:8-15.

[62] Maisch T, Hackbarth S, Regensburger J, Felgentrager A, Baumler W, Landthaler M, Roder B: Photodynamic inactivation of multi-resistant bacteria (PIB) - a new approach to treat superficial infections in the 21st century. *J Dtsch Dermatol Ges* 2011, 9:360-366.

[63] Yuann JMP, Wang JS, Jian HL, Lin CC, Liang JY: Effects of *Clinacanthus nutans* (Burm. f) Lindau leaf extracts on protection of plasmid DNA from riboflavin photoreaction. *MC-Trans. Biotech* 2012, 4:e5.

[64] Halliwell B, Gutteridge JM: Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol* 1990, 186:1-85.

- [65] Juen JW, Jian HL, Liang JY: The effect of illuminance on light induced reduction of nitro blue tetrazolium. MC-Trans Biotech 2010, 2:e2.
- [66] Li WP, Yen CJ, Wu BS, Wong TW: Recent advances in photodynamic therapy for deep-seated tumors with the aid of nanomedicine. Biomedicines 2021, 9:69.
- [67] Zhang Q, Jiang L, Wang J, Zhu Y, Pu Y, Dai W: Photocatalytic degradation of tetracycline antibiotics using three-dimensional network structure perylene diimide supramolecular organic photocatalyst under visible-light irradiation. Appl Catal B 2020, 277:119122.
- [68] He Y, Huang YY, Xi L, Gelfand JA, Hamblin MR: Tetracyclines function as dual-action light-activated antibiotics. PLoS one 2018, 13:e0196485.
- [69] Martin Jr. JP, Colina K, Logsdon N: Role of oxygen radicals in the phototoxicity of tetracyclines toward *Escherichia coli* B. J Bacteriol 1987, 169:2516-2522.
- [70] Chen Y, Li H, Wang Z, Tao T, We Di, Hu C: Photolysis of chlortetracycline in aqueous solution: kinetics, toxicity and products. J Environ Sci 2012, 24:254-260.
- [71] Huang JJ, Hu HY, Wu YH, Wei B, Lu Y: Effect of chlorination and ultraviolet disinfection on tetA-mediated tetracycline resistance of *Escherichia coli*. Chemosphere 2013, 90:2247-2253.
- [72] 何鑫：藍光對強力黴素和米諾環素的光解作用及其對金黃色葡萄球菌和多重抗藥菌失活的影響。銘傳大學生物科技系碩士論文，2020，桃園，台灣。
- [73] 陳唐宇、鄭元泰、祝元家、廖崑堯：土黴素的光降解研究。銘傳大學生物科技系學士論文，2021。桃園，台灣。

## Mini Review:

# The Photochemistry of Tetracyclines

Shwu-Yuan Lee<sup>1</sup>, Chien-Wei Cheng<sup>2</sup>, Chieh-I Liu<sup>2</sup>, and Ji-Yuan Liang<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Tourism and Leisure, Hsing-Wu University, (New Taipei city, Taiwan, R.O.C.)

<sup>2</sup>Department Biotechnology, School of Health Technology, Ming-Chuan University, (Taoyuan, Taiwan, R.O.C.)

### Abstract

Tetracyclines (TCNs) are a broad-spectrum antimicrobial agent and inhibit protein synthesis in microorganisms. TCNs are extensively used in agriculture and animal husbandry to prevent animal diseases and also are a growth promoter. TCN resistance has been the most common type of resistance observed in animal isolates since its approval in 1948. Waste containing antibiotics may present a severe hazard to ecosystems. Photosensitive TCNs oxidation via blue or violet light form  $O_2^{\bullet-}$ , which deactivates *E. coli* and its multi-drug-resistant strain and *S. aureus*, including a methicillin-resistant strain. The antibacterial photodynamic inactivation of bacteria of pathogenic microorganisms was achieved via reactive oxygen species (ROS) generation from photosensitive TCNs oxidation. During the photolytic process of TCNs, ROS is generated and the photolytic product of TCNs is risk to MDR *E. coli*. Degrading TCNs by riboflavin-5'-phosphate (FMN) photolysis can notably decrease the antimicrobial capability of TCNs and decline its impact on environmental ecosystems.

Keyword: antibiotic, inactivation, tetracycline, FMN, ROS

Corresponding author: Ji-Yuan Liang [liang121@mail.mcu.edu.tw]

Received 2 Jul 2021/Revised 23 Aug 2021/Accepted 26 Aug 2021/Online published 30 Aug 2021

---

MC-Transaction on Biotechnology, 2021, Vol. 12, No. 1, e3

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.