

Conclusão

Este trabalho se propôs a estudar a interação entre a norfloxacin e surfactantes iônicos (SDS e CTAB) em função do pH, visto que o equilíbrio iônico da NX é essencial para a sua ação em alvos biológicos. Ademais, foi também investigado como a complexação da NX com cobre e com os complexos cobre piridina, cobre bupiridina e cobre fenantrolina modifica a interação com esses surfactantes em pH 7,4.

A NX apresenta diferentes sítios de possível protonação e as diferentes regiões da molécula apresentam distintos graus de hidrofobicidade. O estado de carga da NX é importante para entender a sua interação com biomoléculas e biomembranas, não somente pela atração ou repulsão eletrostática, mas também porque é termodinamicamente desfavorável ter uma carga num meio apolar.

A variação dos espectros de absorção, fluorescência, assim como o decaimento da fluorescência da NX foram estudados em função da concentração de surfactantes SDS e CTAB, em solução aquosa de diferentes pH (4,0, 7,4 e 10,8) possibilitando avaliar a importância da carga da NX e da cabeça polar do surfactante. Como discutido anteriormente, a NX apresenta-se essencialmente sob três formas (catiônica, zwitteriônica e aniônica) nesses diferentes pH.

Nos surfactantes estudados, a interação se mostrou dependente do estado de protonação desse antibiótico. No caso do SDS, a constante de associação mensurada se mostrou maior quando em pH ácido (4,0), $K_b = (5,4 \pm 0,4) \cdot 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, sendo 3 vezes maior que em pH 7,4 e mais de 1000 vezes superior que em pH 10,8. Este fato demonstra a importância da cabeça hidrofílica para essa interação. O valor superior da constante de associação em pH baixo se deve à atração eletrostática entre as cabeças hidrofílicas aniônicas do SDS e a região do amino terminal, que neste pH se encontra com carga elétrica positiva.

O espectro de absorção da NX não foi muito alterado pela titulação com SDS em pH 4,0, o que sugeriu que a sua estrutura não variou muito ao interagir com as micelas.

A titulação com SDS provocou mudanças nos espectros ópticos, que puderam ser interpretadas como duas diferentes fases: uma devida à interação pré-micelar, na qual NX interage com os monômeros de SDS, e outra em que a NX interage com as micelas. A interação com os monômeros de SDS reduziu substancialmente a CMC desse surfactante, usualmente citada como em torno de 9 mmol.L⁻¹ em água, diminuindo-a para 1,8 mmol.L⁻¹ (pH 4,0) e 2,8 mmol.L⁻¹ (pH 7,4).

Em pH básico (10,8) a NX está em sua forma aniônica, que não é fluorescente. Quando titulada com SDS teve a intensidade de fluorescência aumentada, mas não encontramos um efeito saturante, mesmo em altas concentrações de SDS (> 200 mmol.L⁻¹), indicando que a NX associa-se às micelas de SDS, mas com uma constante de associação muito baixa. O ajuste nos permitiu estimar uma constante de associação K_b (5 ± 1 L.mol⁻¹).

A titulação de NX com CTAB (concentrações abaixo da CMC típica desse surfactante, CMC $\approx 0,9$ mmol.L⁻¹) não foi capaz de alterar os espectros ópticos da NX em seus diferentes estados de carga, sugerindo que não há interações pré-micelares. Acima da CMC, os resultados também se mostraram bem distintos dos obtidos com SDS. Primeiramente a forma catiônica da NX não interage com as micelas de CTAB, ou pelo menos, não foi capaz de alterar os espectros. É bem razoável que a forma catiônica da NX não se associe às micelas de CTAB, por conta da repulsão eletrostática. A forma zwitteriônica sofreu uma supressão de fluorescência na presença de CTAB. Talvez isso se deva aos íons de Br, conhecido supressor dinâmico de fluorescência, e a constante de Stern-Volmer encontrada foi pequena, $K_{sv} = (6,0 \pm 0,1)$ L.mol⁻¹, valor típico de supressões dinâmicas. Entretanto, não houve mudança no tempo de vida, sugerindo uma supressão estática. Ou seja, ainda não está completamente claro o mecanismo de supressão.

Os espectros de absorção e fluorescência dos complexos de NX com Cu são muito parecidos com da NX em solução aquosa (pH 7,4), sugerindo que há dissociação em concentrações da ordem de 10^{-5} mol.L⁻¹.

Os complexos mistos CBN (cobre bipyridina norfloxacin) e CFN (cobre fenantrolina norfloxacin) sofrem grande supressão quando interagem com micelas de SDS, mostrando que um ambiente apolar é de suma importância para a reestruturação e a estabilização desses complexos mistos de Cu.

A interação entre os complexos CNX e CPN com as micelas de CTAB mostraram um aumento da supressão provocada pela associação da NX com micelas de CTAB. Talvez tal fato se dê por dois efeitos em conjunto: a supressão provocada pelas micelas de CTAB, observada anteriormente, e uma supressão adicional causada pela reassociação do complexo no interior micelar. Contudo, é interessante perceber como essa interação é menos intensa que no caso do SDS, o que mostra a importância da cabeça polar e, portanto, da interação eletrostática para esse sistema.

Como conclusão geral podemos citar que a norfloxacin, ainda que na forma zwitteriônica, associa-se preferencialmente a grupos carregados negativamente, em biomoléculas. Interfaces hidrofóbicas-hidrofílicas ajudam a estabilizar a associação. Esses fatos são importantes para a elucidação do seu mecanismo de ação.

Com relação aos complexos de cobre, os complexos mistos cobre-bipyridina-NX e cobre-fenantrolina-NX, que em solução aquosa se dissociam em concentrações da ordem de $\mu\text{mol.L}^{-1}$, em regiões hidrofóbicas ou de interface voltam a se associar. Isso também pode ser de suma importância na análise de diferentes graus de toxicidade em células e micro-organismos.