

Gabriel Silva Vignoli Muniz

**Estudos da interação do antibiótico norfloxacin e de seus
complexos de cobre com micelas de surfactantes iônicos
por espectroscopia de absorção UV-visível e fluorescência**

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em Física pelo
Programa de Pós-Graduação em Física do
Departamento de Física da PUC-Rio.

Orientadora: Profa. Sônia Renaux Wanderley Louro
Co-orientadora: Profa. Letícia Regina de Souza Teixeira

Rio de Janeiro

Abril de 2013



Gabriel Silva Vignoli Muniz

Estudos da interação do antibiótico norfloxacin e de seus complexos de cobre com micelas de surfactantes iônicos por espectroscopia de absorção UV-visível e fluorescência

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Física do Departamento de Física do Centro Técnico Científico da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

Profa. Sônia Renaux Wanderley Louro

Orientadora

Departamento de Física – PUC-Rio

Profa. Letícia Regina de Souza Teixeira

Co-Orientadora

UFMG

Prof. Iouri Borissevitch

USP

Profa. Emy Niyama

Departamento de Física – PUC-Rio

Prof. Tommaso Del Rosso

Departamento de Física – PUC-Rio

José Eugenio Leal

Coordenador Setorial do Centro

Técnico Científico – PUC-Rio

Rio de Janeiro, 11 de abril de 2013.

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, do autor e da orientadora.

Gabriel Silva Vignoli Muniz

Graduou-se em Física na UFF (Universidade Federal Fluminense) em 2010.

Ficha Catalográfica

Vignoli-Muniz, Gabriel Silva

Estudos da interação do antibiótico norfloxacin e de seus complexos de cobre com micelas de surfactantes iônicos por espectroscopia de absorção uv-visível e fluorescência / Gabriel Silva Vignoli Muniz; orientadora: Sônia Renau Wanderley Louro; co-orientadora: Letícia Regina Teixeira – 2013.

79 f. : il.(color.) ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Física, 2013

Inclui bibliografia

CDD: 530

Dedico a:

שחר

Agradecimentos

A minha orientadora, pessoa sem a qual esse trabalho nunca teria se realizado, professora Sônia Renaux Wanderley Louro. Agradeço a dedicação, a confiança e as diversas horas de discussão e paciência. E a minha co-orientadora professora Letícia Regina Texeira pelas excelentes ideias e sugestões.

Aos Profs. Pedro Muanis Persechini e Julieta Shachater, do Instituto de Biofísica da UFRJ, pela dedicação e carinho com os quais me orientaram durante a minha iniciação científica.

Aos meus amigos do Departamento de física da PUC-Rio: Kelly, Emy, Jefferson e tantos outros que me auxiliaram com muita paciência, camaradagem e que com toda a certeza fizeram contribuições importantes a esse trabalho.

A todos os meus amigos, amores e familiares, presentes ou não, que me deram amparo para seguir. Aos meus avôs, é com uma saudade imensa que os agradeço, aos meus irmãos e meus pais por sempre confiarem em mim, aos meus amigos: Matan, Vinny, Heloisa, Daniel, Camila, Paulinha e Ilana que sempre estarão em meu coração. Ao meu querido Dindo que sempre me apoiou na decisão de ser pesquisador. Aos meus tios: Ninha e Carlos por me apoiarem todos esses anos E especialmente a Lucas quem sempre me incentivou e deu forças nos momentos mais difíceis.

A Giza, secretária da Física PUC-Rio, pela enorme ajuda. A Marcia, Eliane e Julinho pela paciência e carinho que sempre tiveram comigo.

Ao CNPq e FAPERJ pelo apoio financeiro.

Obrigado.

Resumo

Vignoli-Muniz, Gabriel Silva; Louro, Sonia Renaux Wanderley (Orientadora); Texeira, Letícia Regina (Co-orientadora). **Estudos da interação do antibiótico norfloxacin e de seus complexos de cobre com micelas de surfactantes iônicos por espectroscopia de absorção UV-visível e fluorescência**. Rio de Janeiro, 2013. 79 p. Dissertação de Mestrado – Departamento de Física, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

A norfloxacin é um antibiótico de amplo espectro bacteriano, amplamente utilizado na medicina. É membro da família das fluorquinolonas e, como a maioria dos membros dessa família, é naturalmente fluorescente. Isso torna técnicas espectroscópicas ideais para o seu estudo. Ademais, tem sido relatado que, quando complexada com metais de transição, como o cobre, pode apresentar maior ação microbiana e também ação antitumoral. Surfactantes são usualmente utilizados em formulações para transporte de fármacos, com o objetivo de acurar a ação dos mesmos em regiões específicas. Este trabalho teve por finalidade estudar, através de técnicas espectroscópicas como absorção, fluorescência estacionária e resolvida no tempo, a interação de norfloxacin com micelas dos surfactantes iônicos dodecilsulfato de sódio (SDS) e brometo de cetil trimetilamônio (CTAB). Esse estudo foi realizado em diferentes pHs, pois o equilíbrio iônico da norfloxacin depende do pH, e diversos trabalhos demonstram que o seu estado de carga é extremamente importante para a interação com alvos biológicos. Através das técnicas utilizadas foi possível mensurar as constantes de associação da norfloxacin às micelas, como também foi notório que, no caso do SDS, a concentração micelar crítica do surfactante sofre uma considerável redução, diminuindo em até seis vezes o valor usual em solução aquosa. Em pH 7,4 também foram avaliados os efeitos da complexação de norfloxacin com cobre e com os complexos cobre piridina, cobre bipyridina e cobre fenentrolina na interação com micelas de SDS.

Palavras-chaves

Biofísica; norfloxacin; surfactantes; espectrofotometria; fluorescência; tempo de vida.

Abstract

Vignoli-Muniz, Gabriel Silva; Louro, Sonia Renaux Wanderley (Advisor); Texeira, Leticia Regina (Co-advisor) **Studies of the interaction of the antibiotic norfloxacin and its copper complexes with micelles of ionic surfactants by UV-visible absorption spectroscopy and fluorescence.** Rio de Janeiro, 2013. 79 p. Master thesis – Departamento de Física, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Norfloxacin is a broad-spectrum antibacterial drug widely used in medicine. It is a member of the family of fluoroquinolones and is naturally fluorescent, as the majority of the members of this family. This makes spectroscopic techniques ideal for its study. Moreover, it has been reported that complexation with transition metals such as copper can result in a higher antimicrobial and antitumor action. Surfactants are commonly used in formulations for drug delivery, with the purpose of improving the action in a specific region. This paper aims at studying the interaction of norfloxacin with ionic micelles of sodium dodecyl sulfate (SDS) and cetyl trimethylammonium bromide (CTAB) using spectroscopic techniques such as UV-Visible absorption, steady state and time resolved fluorescence. This study was carried out at different pH, since the ionic state of norfloxacin is modified by the pH, and several studies have shown that the ionic state of the molecule is extremely important for the interaction with biological targets. The techniques allowed obtaining the association constants of norfloxacin to the micelles. It was also noticed that in the case of SDS, the critical micelle concentration of the surfactant undergoes a considerable reduction, reducing six times the usual value in aqueous solution. At pH 7.4 the effects of norfloxacin complexation with copper and with the copper complexes with pyridine, bipyridine and phenanthroline on the interaction with SDS and CTAB micelles were also evaluated.

Keywords

Biophysics; norfloxacin; surfactants; spectrophotometry; fluorescence; lifetimes.

Sumário

1	Introdução	11
1.1	Fluorquinolonas	11
1.1.1	Equilíbrio iônico das fluorquinolonas	12
1.1.2	Fotofísica das fluorquinolonas	13
1.2	Complexos de fluorquinolonas com metais de transição	14
1.3	Surfactantes	14
1.3.1	Micelas	16
1.4	Objetivos	17
1.5	Estrutura dos capítulos	18
2	Introdução ao estudo da fluorescência	19
2.1	Introdução à fluorescência	19
2.1.1	Diferentes processos de decaimento	21
2.1.2	Tempos de vida e rendimentos quânticos.	23
2.1.3	Supressão de fluorescência	25
3	Materiais e Métodos	27
3.1	Equipamentos	27
3.2	Materiais	31
3.2.1	Complexos de cobre norfloxacin	32
3.3	Modelos	34
3.3.1	Modelo de dois estados – Ligação a um único sítio	34
3.3.2	Equação de Boltzmann – Modelo de cooperatividade.	34
4	Interação de Norfloxacin com surfactantes iônicos	35
4.1	Interação de Norfloxacin com SDS	35
4.1.1	pH 4,0	35
4.1.2	pH 7,4	39
4.1.3	pH 10,8	45
4.1.4	Titulação em pH de NX em presença de micelas de SDS	49
4.2	Interação de Norfloxacin com micelas de CTAB	51
4.2.1	pH 4,0	51
4.2.2	pH 7,4	52
4.2.3	pH 10,8	54
5	Interação entre complexos de cobre(II) de norfloxacin e surfactantes	57
5.1	Interação dos complexos de cobre com SDS em pH 7,4	58
5.1.1	Interação de CuNX com SDS	58
5.1.2	Interação de CPN com SDS	62
5.1.3	Interação de CBN com SDS	65
5.1.4	Interação de CFN com SDS	68

5.2	Interação dos complexos de cobre com CTAB em pH 7,4	70
5.2.1	Interação de CuNX com micelas de CTAB	71
5.2.2	Interação de CPN com micelas de CTAB	73
6	Conclusão	75
	Referências Bibliográficas	78

Abreviações

CMC	Concentração micelar crítica
CTAB	Brometode hexadeciltrimetilamônio
SDS	Dodecil sulfato de sódio
FQ	Fluoroquinolona
NX	Norfloxacin
CuNX	Complexo de cobre (II) e norfloxacin $[\text{CuCl}_2(\text{H}_2\text{O})(\text{NX})]$
CBN	Complexo de cobre (II), biperidina e norfloxacin $[\text{CuCl}(\text{bipy})(\text{NX})]\text{Cl}$
CPN	Complexo de cobre (II) piridina e norfloxacin $[\text{CuCl}(\text{py})(\text{NX})]\text{Cl}$
CFN	Complexo de cobre (II) fenantrolia e norfloxacin $[\text{CuCl}_2(\text{fen})(\text{NX})]$.