

7. Conclusão

Neste trabalho, obtivemos propriedades fotofísicas de absorção UV-visível e fluorescência de norfloxacin em 16 solventes diferentes, relacionadas nas tabelas do Capítulo 6. Os espectros de absorção e fluorescência também são apresentados. Esses dados constituem um ponto de partida para a interpretação de resultados ao se utilizar a fluorescência intrínseca de NOR para o estudo de sua interação com diversos sistemas biológicos ou biomiméticos.

Através das variações desses parâmetros, pudemos determinar, ou sugerir (com boa expectativa), se esses efeitos observados eram gerais ou específicos. Utilizamos os modelos existentes na literatura, como a equação de Lippert-Mataga, sua correção pela teoria de Weller e de Rettig, os valores da escala de solventes E_N^T (30) e as escalas de Catalán e Kamlet-Taft para ajudar nessa determinação. Concluímos que, apesar do efeito da polaridade estar sempre presente, as modificações nas propriedades de fluorescência de NOR são fortemente relacionadas a efeitos específicos dos solventes.

As causas desses efeitos específicos próprios de NOR residem em sua estrutura molecular de doador-receptor de elétrons, envolvendo, em uma extremidade da molécula, o átomo N-4' do anel piperazina e, na outra extremidade, o grupo carboxílico. Foram as mudanças nas propriedades fotofísicas derivadas das conversões entre a forma zwitteriônica, em meio neutro, para catiônica, em meio ácido, e aniônica, em meio básico, que mais contribuíram para o entendimento dos mecanismos envolvidos. A protonação do grupo amina é essencial para o aumento do rendimento quântico da fluorescência, enquanto a protonação do ácido carboxílico provoca um aumento considerável no deslocamento de Stokes.

Nossos resultados fornecem evidências experimentais de que o par solitário de elétrons do N4' da piperazina desempenha um papel fundamental na fluorescência de NOR. Quando estes permanecem localizados no anel, atraídos por ligações do grupo amina com outros grupos, temos a fluorescência de NOR

com maior rendimento quântico. É o caso de NOR em pH 4.2 e 7.5 que, tendo o grupo amina protonado, apresenta os maiores rendimentos quânticos.

Por outro lado, quando o par solitário de elétrons de N1' pode se deslocar da piperazina em direção ao anel quinolônico, forma-se um eficiente sistema de desexcitação por via não radiativa. É o caso de NOR em pH 10.7, que apresenta o grupo amina desprotonado e rendimento quântico praticamente nulo. No caso dos demais solventes orgânicos, a probabilidade de o grupo amina N4' se apresentar desprotonado é grande, o que concorda com o baixíssimo rendimento quântico observado nesses solventes. Um aumento de fluorescência estaria, desse modo, associado a uma eventual interação específica do solvente com essa amina, no sentido de diminuir a probabilidade de um elétron do par solitário de N1' sofrer transferência para o heterociclo da quinolona.

Isso está de acordo com os experimentos de Cuquerella et al. (2005) que demonstraram que a acetilação do N-4' de NOR diminui a disponibilidade do par solitário de elétrons, fazendo a fluorescência ser observada até em pH alto.

Acreditamos que a intensidade das ligações de hidrogênio no grupo amina com solventes próticos também pode modular a disponibilidade do par de elétrons, influenciando nas variações do rendimento quântico, pois os desvios de Stokes de NOR nos diversos solventes correlacionaram-se aos valores do parâmetro $E_N^T(30)$, que inclui de forma empírica efeitos de ligações de hidrogênio nos efeitos gerais de solventes.

Também é possível, em meio ácido e em solventes orgânicos em que a carboxila se apresenta protonada, a existência de ligação de hidrogênio intramolecular envolvendo o ácido carboxílico e o grupo 4-oxo (Cuquerella et al. 2005; Park et al. 2002). O trabalho de Piotrowiak (1999) chama a atenção para o papel das ligações de hidrogênio na modulação da transferência de elétrons a longa distância, e que sua função vai além de simplesmente prover o arcabouço estrutural para os doadores e receptores de elétrons que participam do processo.

A influência da protonação do grupo carboxílico na emissão da fluorescência pôde ser avaliada tanto por intermédio do desvio de Stokes como pelos tempos de vida. Temos um deslocamento do pico de fluorescência de 440 para 406 nm e uma redução do tempo de vida de fluorescência de 1.6 para 1.2 ns quando passamos de pH 4.2 para pH 7.5, ou seja, quando desprotonamos o grupo carboxílico.

E comparando os resultados obtidos em pH 4.2 e pH 7.5 nos nossos experimentos com misturas de solventes, etanol-tampão e DMSO-tampão, concluímos que o aumento acentuado da fluorescência nesses experimentos está relacionado à protonação do grupo amina, que ocorre com frações menores do tampão em pH 4, exigindo maiores frações de tampão para a protonação em pH 7; as diferenças observadas na variação no comprimento de onda do pico de emissão estariam relacionadas ao estado de protonação do grupo carboxílico, onde os resultados sugerem que desvios para o vermelho estariam associados à carboxila protonada.

Nossas perspectivas futuras são de utilizar os resultados deste trabalho para interpretar mudanças na fluorescência, que ocorrem quando norfloxacin interage com biomoléculas. A fluorescência de NOR torna-a uma sonda intrínseca para essas interações. Após caracterizá-la nos diversos solventes, vai ser possível interpretar resultados e propor modelos apropriados de sítios de interação.