

CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DOS COMPLEXOS DE CIPROFLOXACINA E LEVOFLOXACINA COM TÉRPIO

Líliá Coronato Courrol*, Luís Vicente Gomes Tarelho**, Laércio Gomes**, Nilson D. Vieira Junior**

* Dra. Pelo CLA/IPEN, Prof. Plena da FATEC-SP, **Drs. Pelo CLA/IPEN. Pesquisadores CLA/IPEN
E-mail: lcourrol@gmail.com

Resumo

Apesar de soluções aquosas de íons lantanídeos apresentarem fracos coeficientes de absorção, a preparação com agente quelantes ou encapsuladores de lantanídeos, resulta em materiais que apresentam fortes luminescência. Neste trabalho o agente capsulador de íons de térbio são quinolonas do tipo ciprofloxacina e levofloxacina. A importância deste trabalho reside no fato de obtenção de um sensor óptico de quinolonas em análise clínicas utilizando a luminescência dos íons de térbio.

Introdução

Nos últimos dez anos, tem havido uma procura extensiva de complexos de lantanídeos pró-ativos [1] em aplicações biomédicas. As possíveis aplicações destes complexos se estendem desde sensores luminescentes [2] e detecção de funções celulares *in vivo* [3], até a elucidação das estruturas e funções de enzimas e proteínas [4], além de servirem como agentes de contraste em MRI (Magnetic Resonance Imaging)[5]. Apesar de soluções aquosas de íons lantanídeos apresentarem fracos coeficientes de absorção, a preparação com agente quelantes ou encapsuladores de lantanídeos, resulta em materiais que apresentam fortes luminescências [6,7].

As quinolonas são quelantes de íons lantanídeos e a medida da intensidade de luminescência de íons de térbio formando complexos com as quinolonas, permite a determinação de traços destes antibióticos em fluídos celulares [8]. As quinolonas são antibióticos que podem ser divididos em gerações, sendo o ácido nalidíxico o representante da primeira geração. A ciprofloxacina, enoxacina, norfloxacin, lomefloxacina e ofloxacina são quinolonas de segunda geração e a levofloxacina e sparfloxacina, de terceira. Na quarta geração, temos a gatifloxacina, moxifloxacina, clinafloxacina, gemifloxacina e trovafloxacina.

As quinolonas agem por inibição das topoisomerases II (DNA-girase) e IV bacterianas, enzimas fundamentais na replicação de DNA. Como resultado dessa ação, ocorre um afrouxamento do superespiralamento das cadeias de DNA, que passam a não caber mais em seu espaço dentro da célula, além de haver superprodução de algumas enzimas e degradação do cromossoma, seguida de morte bacteriana rápida. De maneira geral, para a maioria das bactérias Gram negativas, o alvo principal das quinolonas é o DNA-girase, e para a maioria das bactérias Gram positivas o alvo é a topoisomerase

IV, sendo outras enzimas os alvos secundários em ambos os casos. Assim como ocorre com os aminoglicosídios, sua atividade depende da concentração tecidual. As diferenças na magnitude da morte bacteriana provocada pelas quinolonas na presença de rifampicina (um inibidor da síntese de RNA), e em anaerobiose, levou à formulação de hipóteses de que algumas delas podem possuir mais de um mecanismo de ação. Porém, os eventos moleculares que estão por trás desse fenômeno ainda não são compreendidos.

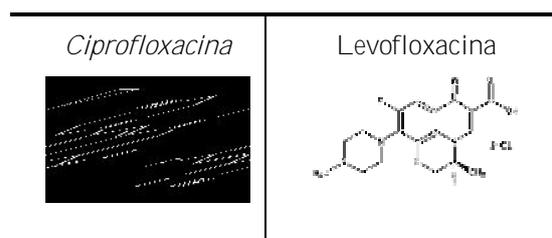
Através de um efeito antena [9], a energia absorvida pelos ligantes do agente complexador, no caso as quinolonas, que possui normalmente uma larga banda de absorção, é transferida para o íon lantanídeo, que emite parte desta energia. As emissões características dos íons lantanídeos apresentam estruturas finas (< 10 nm), grandes deslocamentos Stokes (>150 nm) e longos tempos de vida (milissegundos).

Em nosso trabalho apresentamos as propriedades ópticas das quinolonas ciprofloxacina e levofloxacina.

Materiais e Métodos

Os complexos quinolonas-térbio (Qn-Tb) foram preparados contendo: 2.0mg das quinolonas - Cloridrato de Ciprofloxacina da SEM Linha Genérica (CFX) e Levofloxacina da Aventis (LVX), 4.8mg de TbCl₃ da Sigma-Aldrich com pureza analítica, em 200ml de Mops da Carl Roth com pH controlado de 7.0.

Nas medidas de absorção óptica foi utilizado um espectrofotômetro Cary 17D. Nas medidas de emissão utilizamos uma lâmpada de xenônio de 500 Watts como fonte de excitação, um monocromador Spex de 0.5 m, chopper, lock-in e fotomultiplicadora de catodo S-20 estendido. As medidas foram realizadas com as amostras em cubeta de quartz de 1mm de espessura.



Fórmula	$C_{17}H_{18}FN_3O_3 \cdot HCl \cdot H_2O$	$C_{18}H_{20}FN_3O_4 \cdot \frac{1}{2}H_2O$
Peso Molecular:	385.8	370.38

Resultados

A figura 1 mostra os espectros de absorção óptica destas amostras de CFX:Tb e LVX:Tb, seguindo o procedimento de preparação até a incorporação de íons de térbio. Quando os complexos de Qn-Tb são excitados em ~342nm, uma emissão no verde pode ser observada. A figura 2 mostra o espectro de emissão das amostras excitadas em 331nm

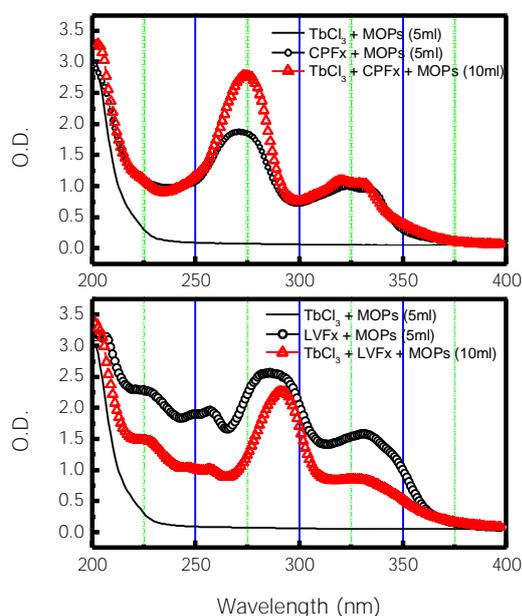


Figura 1 – Espectros de absorção óptica das amostras de CFX:Tb e LVX:Tb.

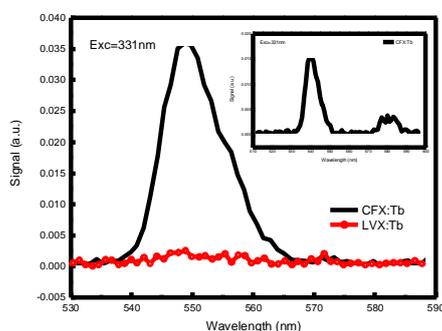


Figura 2. Espectro de emissão das amostras CFX:Tb e LVX:Tb obtidas com excitação em 331nm.

É possível se verificar que o espectro de absorção óptica das amostras sofre mudança, tanto em comprimento de onda quanto em intensidade das bandas de absorção, antes e após a incorporação de

íons de térbio, indicando uma perturbação destes íons à molécula. A excitação das amostras na banda das quinolonas é transferida aos íons de térbio que emite em 542nm. Verificamos que este processo é mais eficiente nos complexos de ciprofloxacina.

O espectro de excitação das amostras, fixando-se a emissão em 542nm é mostrado na figura 3.

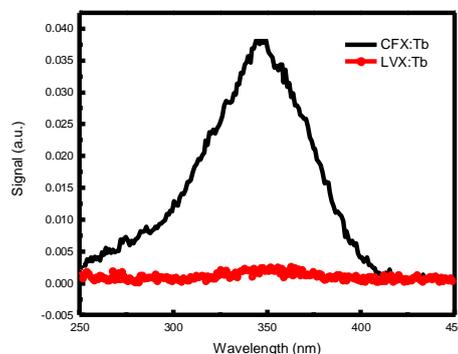


Figura 3. Espectro de excitação das amostras CFX:Tb e LVX:Tb obtidas com a emissão fixa em 545nm.

Conclusões

Verificamos a facilidade de preparação dos complexos quinolona-térbio e a facilidade de medição dos espectros de absorção e emissão das amostras. Este trabalho demonstra que a determinação de resíduos destes antibióticos em urina humana e soro são possíveis. As medidas de diagnóstico clínico a partir da fluorescência do térbio é um método rápido, acurado e preciso.

Bibliografia

- [1]PAUL R. SELVIN: Principles and Biophysical Applications of Luminescent Lanthanide Probes, Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure. Vol. 31, pp. 275-302, (2002).
- [2]L. SEVUS, M. VAISALA, S. SYRJANEN, M. SANDBERG, A. KUUSISTO, R. HARJU, J. SALO, I. HEMMILA, H. KOJOLA, E. SOINE, Cytometry, 13,329, (1992).
- [3]BRENNAN,JOHN.,CAPRETTA,ALFREDO,Y ONG,KELVIN, GERRITSMAN,DAVID LORA,KULWINDER K., JONES, Amy "Sensitization of Lanthanides by Nonnatural Amino Acids" BioOne, Volume: 75 Issue: 2 Pages: 117-121, (2002).
- [4]P. K. L. FU AND C. TURRO, J. Am. Chem. Soc., 121, 1, (1999).
- [5]O. PRAT., E. LOPES, G. MATHIS, G. Anal. Biochem. 195, 283, (1991).
- [6]MING XIAO AND PAUL R. SELVIN. J. Amer. Chem. Soc. 123 (29), 7067-7073 (2001).
- [7]JIYAN CHEN, PAUL R. SELVIN, J. Amer. Chem. Soc. 122(4) 657-660 (2000).

- [8] J. A. OCAÑA, M. CALLEJÓN, F. J. BARRAGÁN, *Analyst*, 125, pp. 1851-1854, (2000).
- [9] Paul R. Selvin, Lanthanide-based Resonance Energy Transfer. *IEEE J. of Selected Topics in Quantum Electronics*: "Lasers in Biology" 2 (4), 1077-1087 (1996).