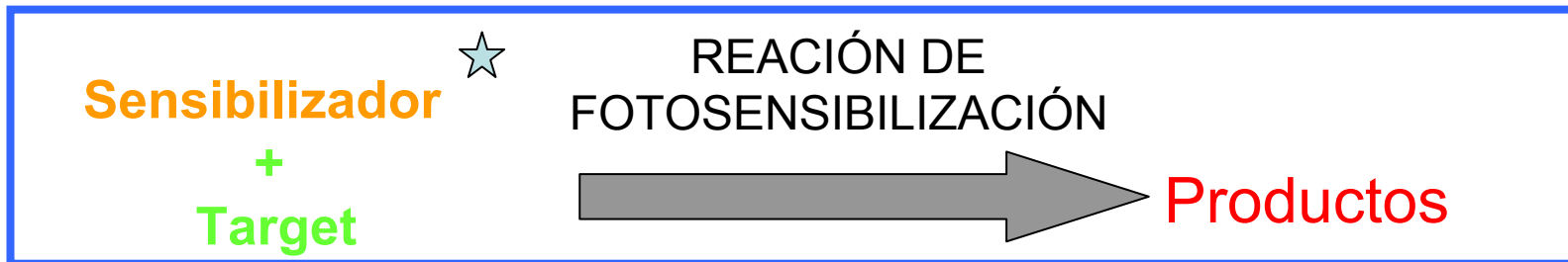
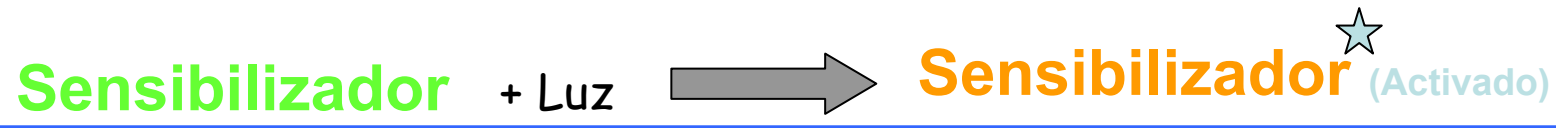


Mecanismos moleculares de la Fotosensibilizacion

Reacción de fotosensibilización

Proceso por el que ocurre una alteración en una molécula, como resultado de la absorción de radiación por otra molécula

- La molécula que absorbe la luz se denomina **fotosensibilizador** o simplemente **sensibilizador**



El **mecanismo de reacción** es el conjunto de las fases o estados que constituyen una reacción química. Los mecanismos de reacción se estudian mediante:

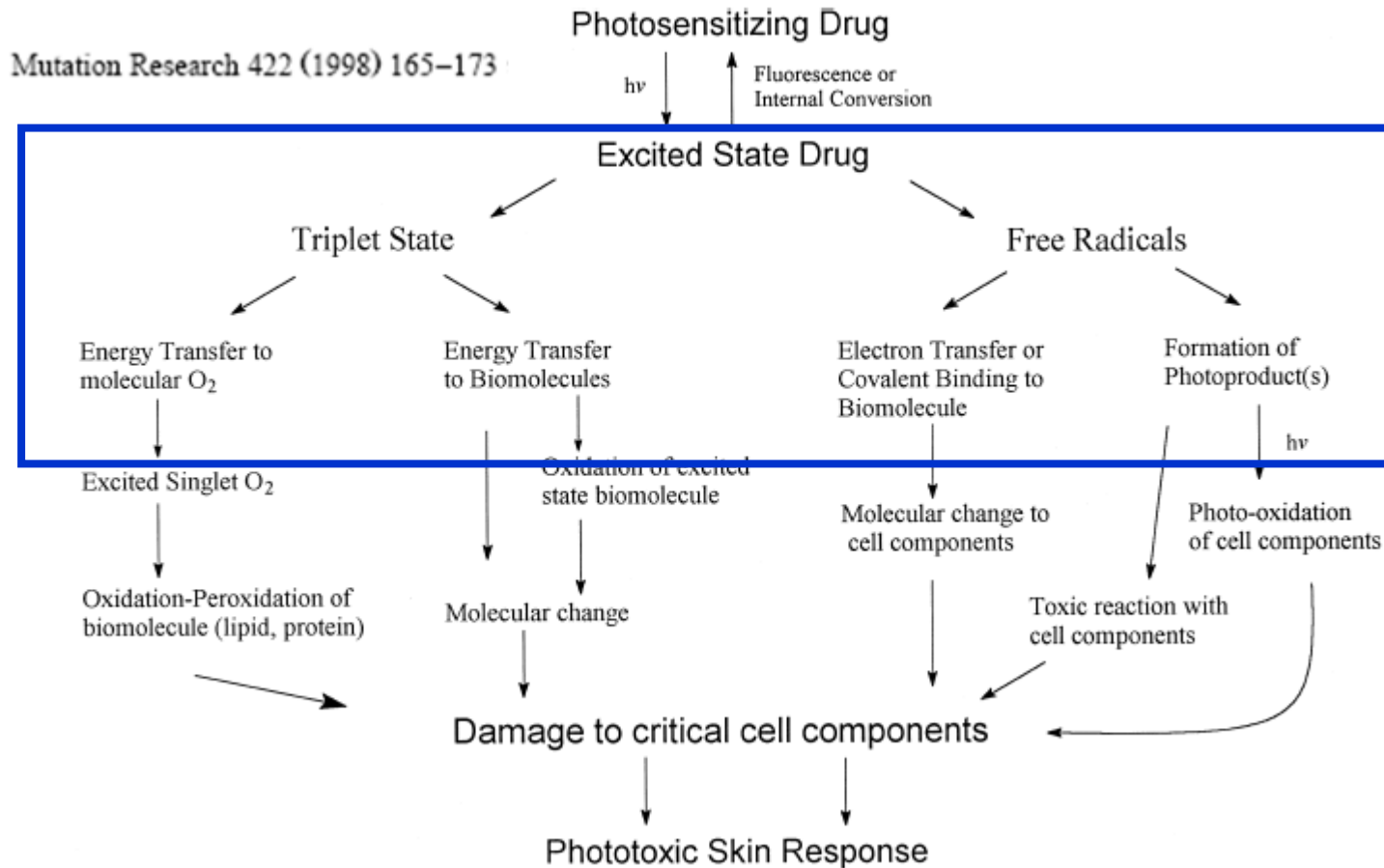
- **Cinética química**: Estudio **experimental** de cómo cambian las concentraciones de los reactivos y productos
- **Dinámica química**: Estudio **teórico** de los intermedios moleculares (no detectables experimentalmente) para proponer un **modelo explique los valores experimentales y permita hacer predicciones**

MECANISMOS DE REACCIÓN. Tipo I y Tipo II

- Los mecanismos que dan lugar a fototoxicidad se han agrupado tradicionalmente en Tipo I y II dependiendo de **si es el Oxígeno molecular u otra especie la que reacciona en la primera etapa de la reacción** con el sensibilizador en estado **triplete**:
 - **Tipo I - Oxígeno independientes o radicalarias**: El sensibilizador reacciona con otros sustratos (incluido el disolvente) mediante de transferencia de carga
 - **Tipo II - Oxígeno dependientes**: El sensibilizador reacciona con oxígeno molecular por transferencia de carga o por cruce entre sistemas
- **Los mecanismos tipo I y II pueden tener lugar simultáneamente en el medio celular de forma competitiva. Dependiendo de:**
 - La energía de la luz (UV-vis.)
 - las concentraciones de posibles sustratos, del disolvente, pH, ..
 - **la estructura electrónica del sensibilizador,**
 - **de la presencia de oxígeno**
 - **La reactividad de los productos de descomposición del sensibilizador**

MECANISMOS DE REACCIÓN. Tipo I y Tipo II

- Los mecanismos de fototoxicidad in-vivo son extremadamente complejos. **Visión general de los mecanismos moleculares de fototoxicidad**

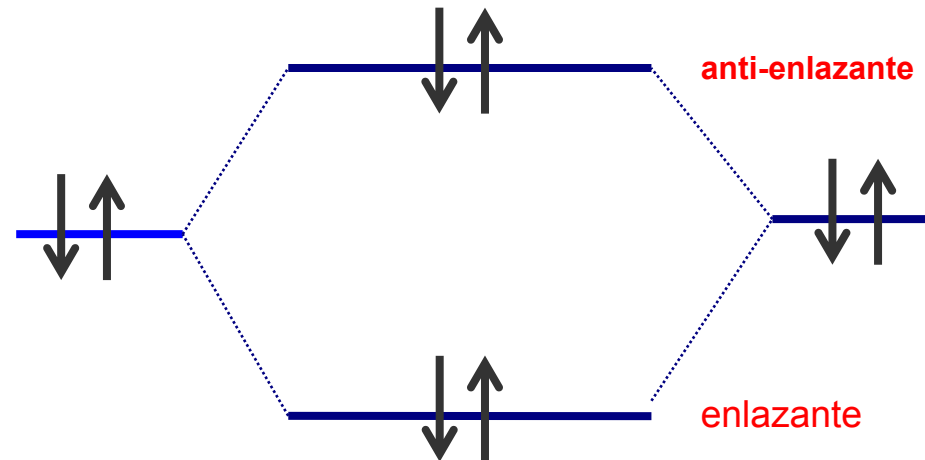


Mutation Research 422 (1998) 165–173 Douglas E. Moore *

Mechanisms of photosensitization by phototoxic drugs

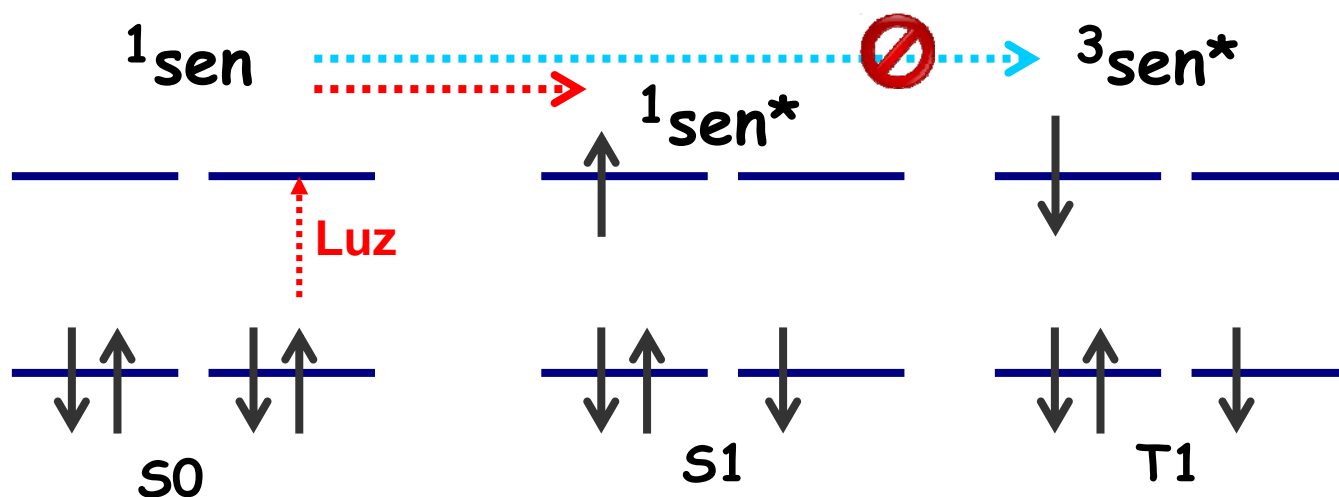
Conceptos básicos sobre estados electrónicos

- **El estado electrónico de una molécula** se puede calcular mediante técnicas de química cuántica >> **conjunto de orbitales moleculares**
- Los orbitales moleculares se obtienen por combinación lineal de estados electrónicos atómicos (orbitales atómicos (s, p, d ...)).
- Por cada par de orbitales atómicos se obtiene 2 orbitales moleculares. Uno **enlazante con menor energía y otro anti-enlazante con mayor energía**
- La energía de cada orbital se calcula resolviendo el hamiltoniano
- En cada orbital “caben” dos electrones con spin opuesto
- **Los orbitales se rellenan de menor a mayor energía para formar el estado fundamental (no excitado por luz)**



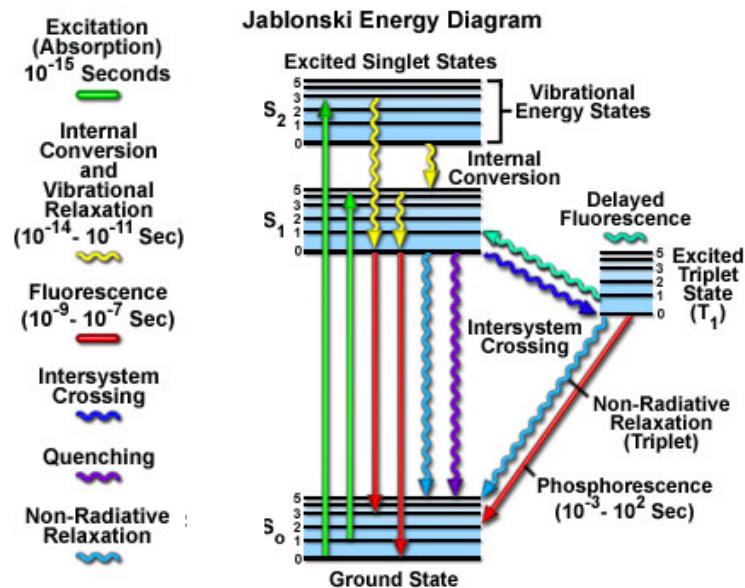
Conceptos básicos sobre estados electrónicos

- **La absorción de luz promueve los electrones del sensibilizador desde el estado fundamental a los estados excitados con mayor energía manteniendo la multiplicidad del spin**
- Los estados pueden tener carácter **singlete** o **triplete** (radicales doblete)
- Las transiciones **más probables** se dan entre estados con la misma multiplicidad (**Singlete-Singlete** o **Triplete-Triplete**).
- **A la “probabilidad” de transición se le llama rendimiento cuántico**
 - **Singlete** cuando sus dos electrones más externos se encuentran apareados (números cuánticos de espín opuestos) $^1sen^*$
 - **triplete** cuando sus dos electrones más externos se encuentran desapareados (números cuánticos de espín iguales) $^3sen^*$



Desactivación del estado excitado

- Los estados excitados son **INESTABLES**. Tienden a desactivarse mediante: **Relajación vibracional, Emisión de luz (fluorescencia o fosforescencia) o ...**
 - **Transferencia de carga (foto-oxidaciones) y/o intercambio electrónico con otra molécula al "chocar" o acercarse a distancias de enlace**
- **La probabilidad de transición entre dos estados de diferente multiplicidad es mayor cuanto más cercanos están energéticamente >> cruce entre sistemas**
- **Como la transición T1->S0 es poco probable el sistema queda atrapado en el estado T1**

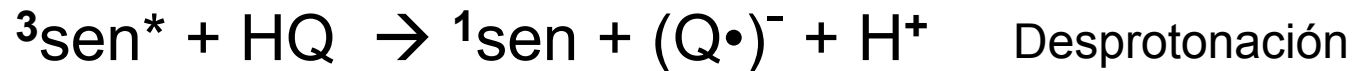
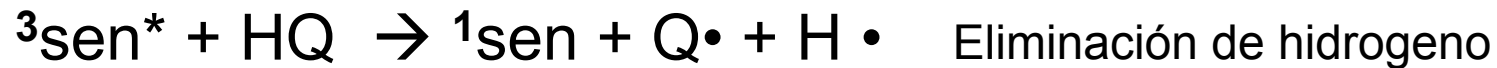


Los estados excitados **TRIPLETE** pueden tener una vida media suficiente como para trasladarse a través de una célula antes de desactivarse

- **La vida media depende de la estructura electrónica** del sensibilizador
 - S1 10⁻¹⁰ - 10⁻⁷ s
 - T1 10⁻⁶ s hasta horas

Mecanismo Tipo I - Oxígeno independientes

- Tipos de mecanismos:
- El sensibilizador en estado excitado reacciona con otros sustratos (incluido el disolvente) mediante **transferencia de carga (oxidación) o abstracción de hidrógeno o protones**. A los sustratos normalmente se les llama “Quenchers”

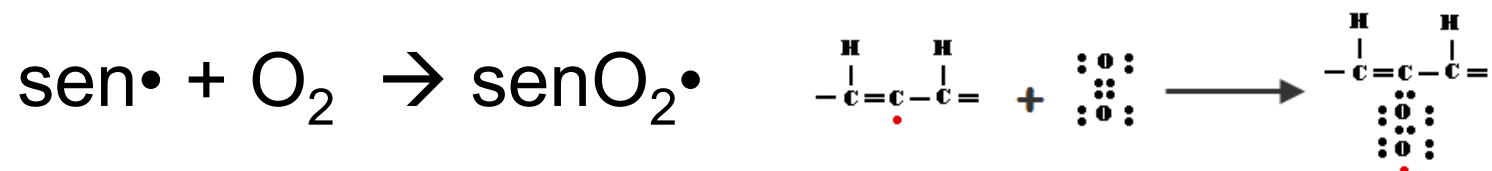


El resultado son especies radicalarias capaces de reaccionar con proteínas, lípidos y ADN

>>> estas reacciones pueden ser competitivas

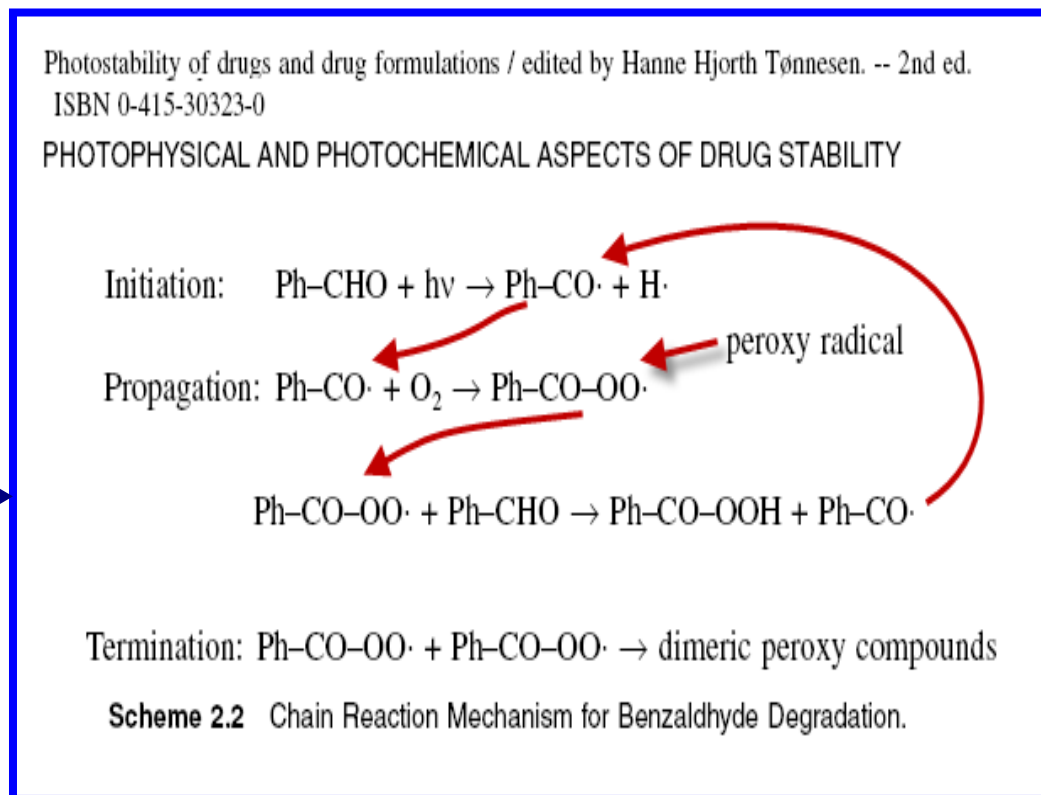
MECANISMO Tipo I - Oxigeno independientes

- Ejemplo: (foto-oxidación tipo I) . **Si existe oxígeno disponible en el medio** este es rápidamente capturado por el radical, formando un peroxil radical



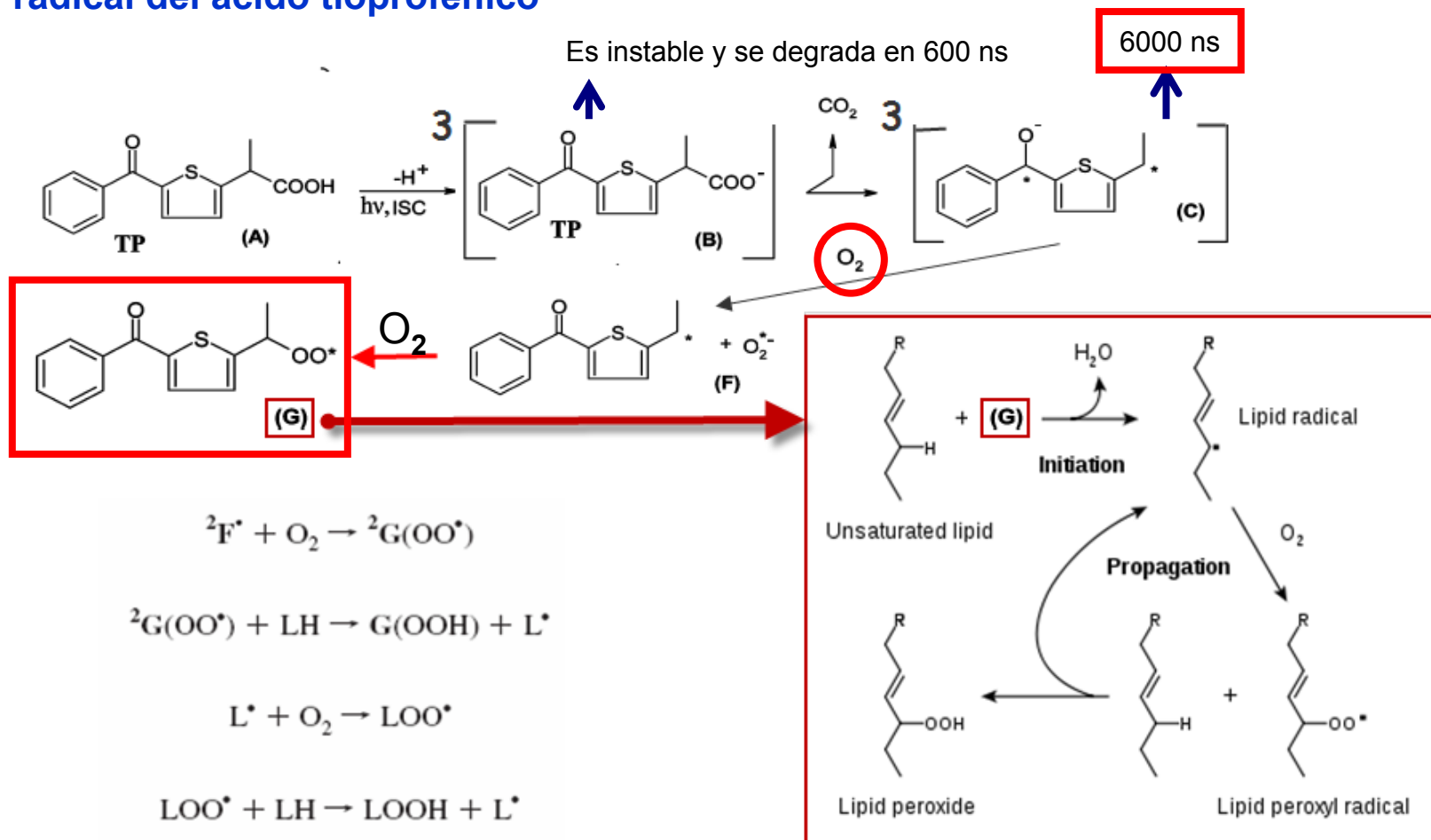
- El **peroxil radical es también reactivo** y tratará de estabilizarse mediante abstracción de protones de moléculas vecinas

- Esta secuencia se puede **repetir en cadena**, ya que la actividad radicalaria es puede ser continuamente transferida. Ejemplo



MECANISMO Tipo I - Oxigeno independientes

- Ejemplo: Reacción de **peroxidación lipídica** iniciada por un intermedio **peroxil radical del ácido tioprofenico**



Photochemistry and Photobiology, 2001, 74(5): 637-655

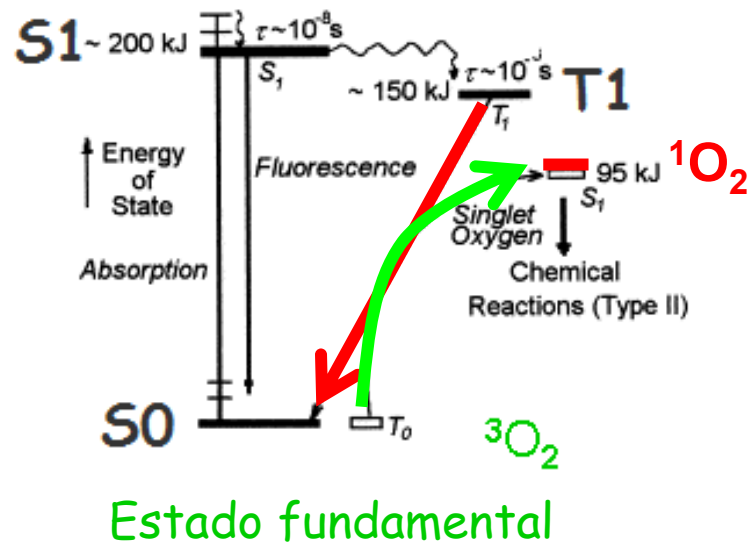
Photoreactivity of the Nonsteroidal Anti-inflammatory 2-Arylpropionic Acids with Photosensitizing Side Effects¹

Francisco Boscá, M. Luisa Marín and Miguel A. Miranda*

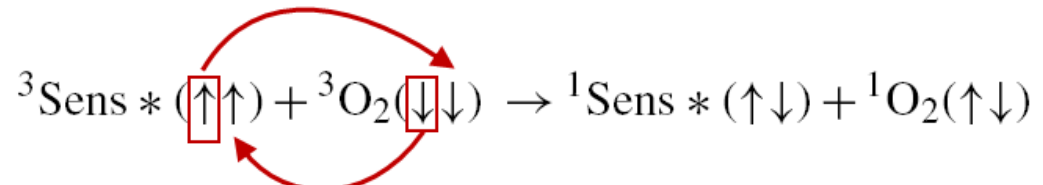
Fotosensibilización. Mecanismos moleculares

MECANISMO Tipo II - Oxígeno dependientes

- El sensibilizador en estado excitado transfiere la energía al oxígeno molecular en estado fundamental triplete para formar **oxígeno molecular singlete**



•El posible mecanismo por el cual se transfiere la energía del sensibilizador en estado triplete al oxígeno es por intercambio de electrones con diferente spin.



Transición poco probable \rightarrow ${}^1\text{Sens} * \left(\begin{array}{|c|} \hline \uparrow\downarrow \\ \hline \end{array} \right) + {}^3\text{O}_2 \left(\begin{array}{|c|} \hline \uparrow\uparrow \\ \hline \end{array} \right) \rightarrow {}^3\text{Sens} * \left(\begin{array}{|c|} \hline \uparrow\uparrow \\ \hline \end{array} \right) + {}^1\text{O}_2 \left(\begin{array}{|c|} \hline \uparrow\downarrow \\ \hline \end{array} \right)$

Chem. Rev. 2003, 103, 1685–1757

Physical Mechanisms of Generation and Deactivation of Singlet Oxygen

Claude Schweitzer and Reinhard Schmidt*

MECANISMO Tipo II - Oxígeno dependientes

Propiedades y reactividad del oxígeno singlete

Tiempo de vida en fase líquida (4 μ s–60 ms). Muy dependiente del medio

Es reactivo por que:

Exceso de energía $\sim 95 \text{ kJ mol}^{-1}$ (23 kcal mol) \Rightarrow especie química **reactiva. Oxidante.**

Comportamiento electrófilo \Rightarrow reacciona con especies ricas en densidad electrónica

-Compuestos aromáticos - Enlaces dobles

-Compuestos con heteroátomos (N, S,...).

-**Biomoléculas:** lípidos (pared de membrana), aminoácidos (proteínas) y bases nitrogenadas (ácidos nucleicos)

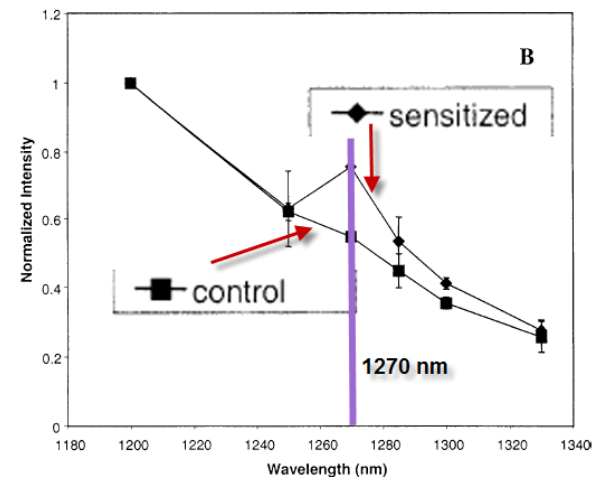
Se puede detectar por: Emisión de luz a 1270 nm \gg **es posible monitorizar su generación in vitro e in vivo**

Photochemistry and Photobiology, 2002, 75(4): 382–391

Direct Near-infrared Luminescence Detection of Singlet Oxygen Generated by Photodynamic Therapy in Cells *In Vitro* and Tissues *In Vivo*[¶]

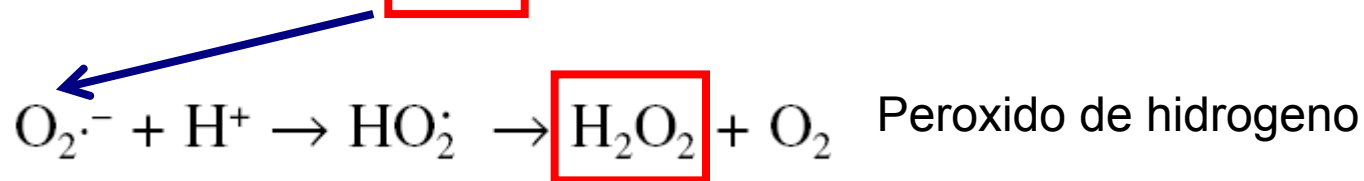
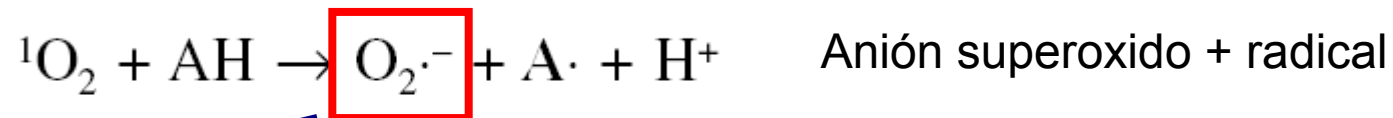
Mark Niedre¹, Michael S. Patterson² and Brian C. Wilson^{*1}

Figure 7. *In vivo* time-integrated spectra ($>10 \mu$ s) in rats injected with 50 mg/kg AlS_4Pc . **A:** Delayed luminescence measured in sensitized animals normalized to the spectrum in uninjected controls. The peak values plotted, in individual animals, are 0.18 ± 0.03 , 0.23 ± 0.06 and 0.7 ± 0.1 . The error bars correspond to 1 standard deviation in the point-to-point signal variations in each animal. **B:** Precorrected delayed luminescence spectra (with extra filters at 1250 and 1285 nm), measured on the skin of a sensitized rat and of an unsensitized rat. The error bars correspond to point-to-point signal variations in each animal.



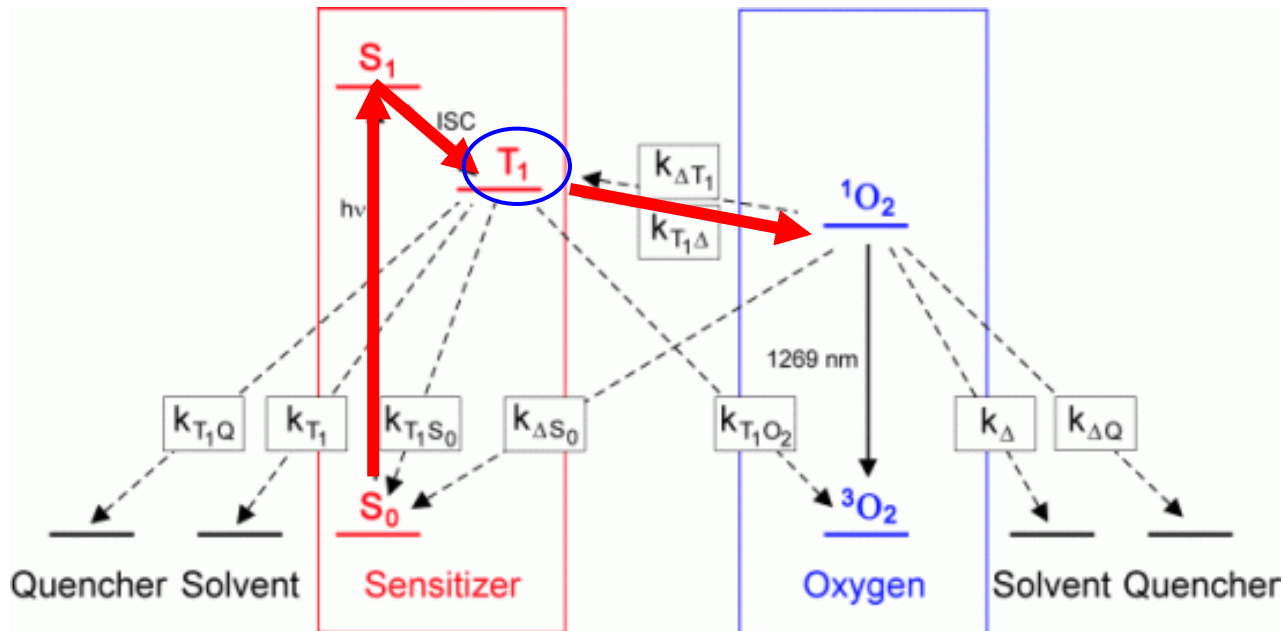
MECANISMO Tipo II - Oxígeno dependientes

- Otras **formas de oxígeno molecular reactivas** que se pueden formar a partir del Oxígeno singlete:



Moléculas modelo de sensibilizador de Oxígeno singlete

- Intensa absorción de luz UV-Vis (preferentemente **400-800 nm**).
- Alta rendimiento cuántico desde S1 a T1 ($\Phi_{ISC} \sim 1$).
- Energía de T1 superior a la del estado singlete del oxígeno (**95 kJ mol^{-1} - 23 kcal mol^{-1}**).
- Tiempo de vida del **T1 largo** ($\mu\text{s} - \text{ms}$).
- Alto **rendimiento cuántico de producción de oxígeno singlete**



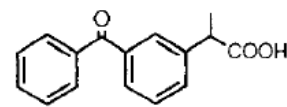
Fototoxicidad de derivados de la benzofenona

- Ejemplo: Comparación: ácido **tiaprofenico**, **ketoprofen**, **ácido fenofibrico**

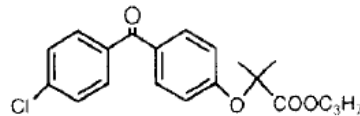
Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 43 (1998) 1–26

Photosensitizing drugs containing the benzophenone chromophore

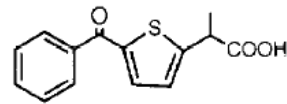
Francisco Boscá, Miguel A. Miranda *



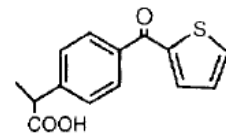
ketoprofen



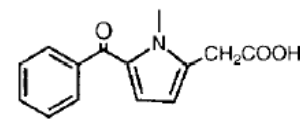
Fenofibrato (FF)



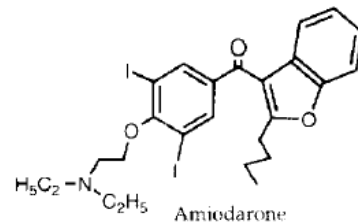
Tiaprofenico (TP)



Suprofen (SD)



Tolmetin



Amiodarone

Fig. 1. Benzophenone-derived drugs with phototoxic and/or photoallergi

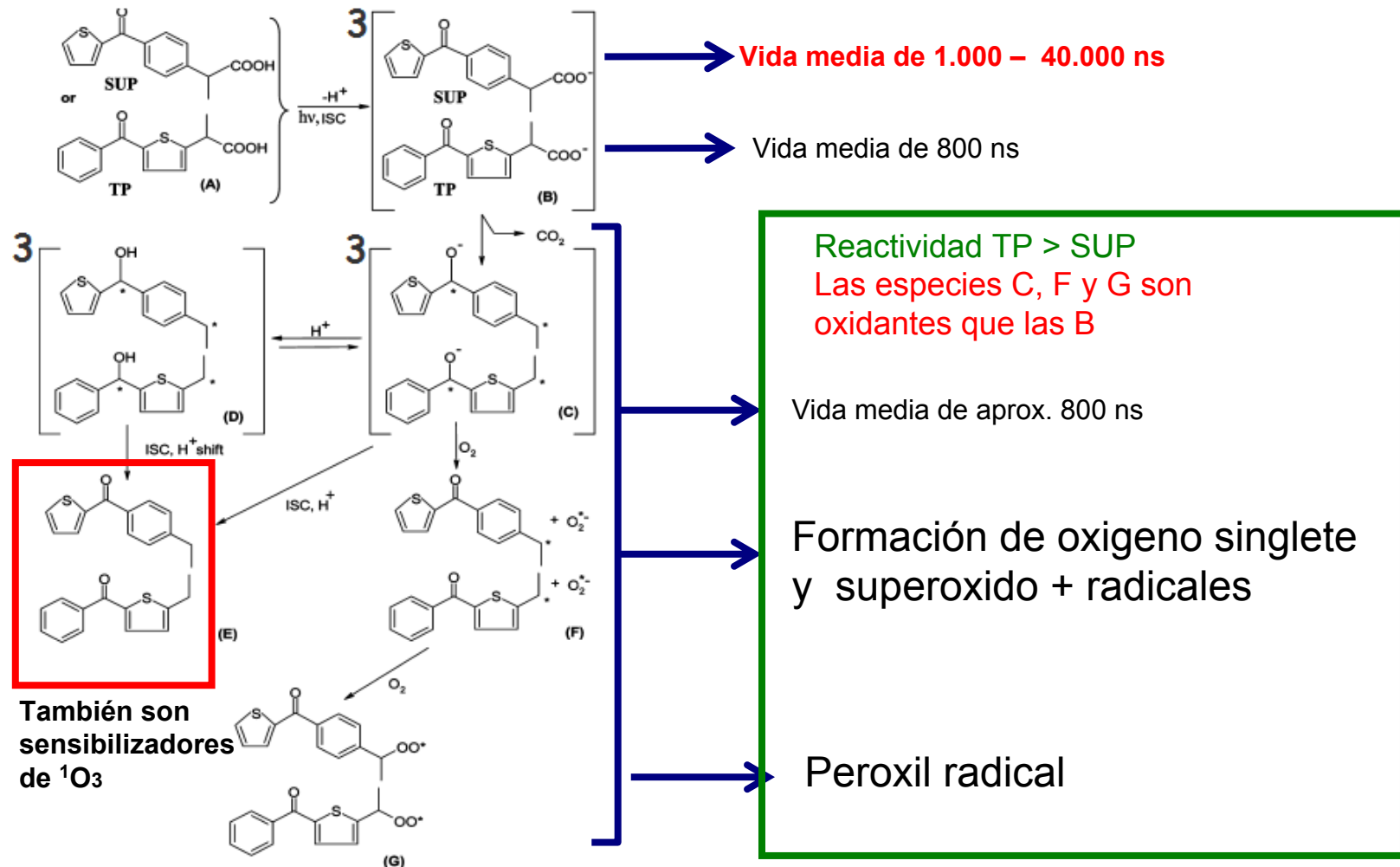
Table 1

In vitro phototoxicity test of benzophenone-derivate drugs

Phototoxicity test	KP ^a	FF ^b	TP ^c	SD ^d	TL ^e	AM ^f
With cells						
Photohemolysis	P	P	P	P	P	P
Damage to lymphocytes						P
Damage to leukocytes	P		P			
Damage to fibroblasts	P		P			P
Damage to hepatocytes	P					
Yeast growth inhibition	P		P			N
Photobinding			P			
With biochemicals						
Photocleavage of DNA	P		P	P		
Photoperoxidation of unsaturated fatty acids	P	P	P	P		P
Photoalteration of albumin			P			

Moléculas modelo de sensibilizador de Oxígeno singlete

- Ejemplo: **Mecanismo general** de photodegradación : Suprofen, ácido tiaprofenico, ketoprofen, ácido fenofibrico



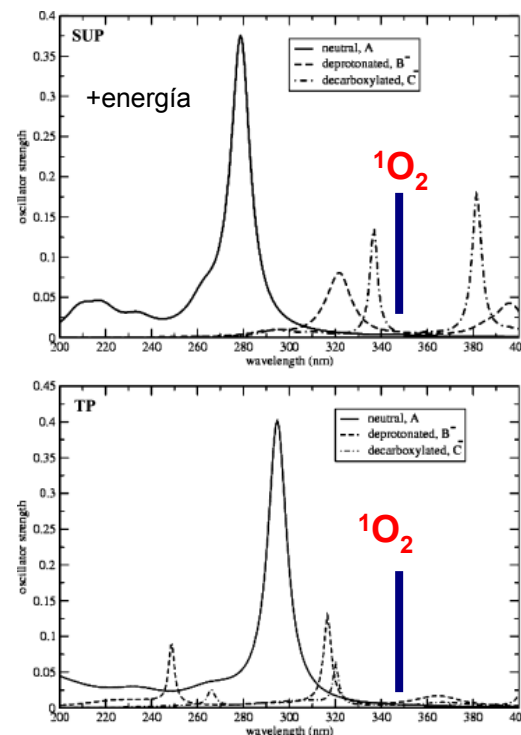
Moléculas modelo de sensibilizador de Oxígeno singlete

- **Ejemplo: Mecanismo de photodegradación de NSAIDs que contienen grupos tifeno: Suprofen, ácido tiaprofenico, ketoprofen, ácido fenofibrico**

TABLE 1: B3LYP/6-31G(d,p) ZPE-Corrected Electronic Energies in the Gas Phase and IEFPCM-B3LYP/6-31G(d,p) Gibbs Free Energies in Aqueous Solution^a

system	E_{ZPE}	ΔE_{ZPE}	ΔG_{aq}^{298}	$\Delta\Delta G_{aq}^{298}$	μ_{aq}^b
SUP					
C ⁻ (triplet)	-975.205031	0	-975.334820	0	10.39
C ⁻ (singlet)	-975.242413	23.5	-975.362400	17.3	6.48
D (singlet)	-975.775886	-358.2	-975.829155	-310.2	2.86
D (triplet)	-975.747187	-340.2	-975.801883	-293.1	1.75
E (singlet)	-975.825639	-389.4	-975.877656	-340.6	5.49
E (triplet)	-975.732107	-330.8	-975.789536	-285.3	1.75
F (doublet)	-975.193399	7.3	-975.248424	54.2	6.04
G (doublet)	-1125.534927		-1125.596996		5.45
TP					
C ⁻ (triplet)	-975.210371	0	-975.337061	0	7.41
C ⁻ (singlet)	-975.253420	27.02	-975.38062	27.33	7.40
D (singlet)	-975.793873	-366.15	-975.848585	-320.99	3.43
D (triplet)	-975.748959	-337.97	-975.804289	-293.19	0.75
E (singlet)	-975.826577	-386.68	-975.879131	-340.15	5.43
E (triplet)	-975.736318	-330.04	-975.792738	-285.94	7.04
F (doublet)	-975.202306	5.06	-975.256029	50.85	6.00
G (doublet)	-1125.534218		-1125.596653		6.02

^a Absolute energies in au, relative energies in kcal/mol. ^b Dipole moments μ (D) in aqueous solution.



Las propiedades de energía electrónica de los estados son Similares >>> ¿Por qué uno es más tóxico que otro?

Moléculas modelo de sensibilizador de Oxígeno singlete

- Ejemplo: Comparación: ácido **tiaprofenico**, **ketoprofen**, **ácido fenofibrico**
- The characteristic molar absorption coefficient, excited-state lifetimes, singlet oxygen sensitization and photogenerated intermediates position the phototoxicity of the drugs in the order $KP < FF < TP$.

Table 3 Electronic configuration, quantum yields, and deactivation rate constants for the drugs and their photoproducts.

Rendimiento de descarboxilación \swarrow

Tiempo de vida intermedio no descarboxilado \swarrow

S1->T1

1O_2

FF=FA

	$\Phi_r S_1$	τS_1 (ns) ^a	Φ_{ISC} S-T	T ₁ config.	$\Phi_r T_1$	τT_1 (ns) ^b	Φ_{Δ}^1	$\tau_{interm.}$ (ns)	Ref.
BP	0	≤1	1	n,π*	–	25 000	<0.01 [9]	–	[68]
KP ⁻	0.75	≤1	0	–	–	–	0 [9]	200	[32,33]
KP3	0	≤1	1	n,π*	–	3000	–	–	[32,33]
FA ⁻	0	≤1	≤0.3	π,π*	0.06	600	–	≤600	[30,31]
FA4	0	≤1	1	n,π*	–	3100	–	–	[28]
FA5	0	≤1	≤0.3	π,π*	–	3100	–	–	[28]
TP ⁻	0	≤1	0.9	π,π*	0.25	800	0.22 [56]	1500	[67]
TP4	0	≤1	0.9	π,π*	–	3200	–	–	[67]

© 2004 IUPAC, *Pure and Applied Chemistry* 76, 263–275

Photodegradation and photosensitization in pharmaceutical products: Assessing drug phototoxicity*

The excited drugs in their anionic form undergo fast deactivation in water with different yields of photodegradation. The photogenerated intermediates rapidly undergo protonation. In all cases, photoproducts are more phototoxic than the parent drugs on the basis of their longer excited-state deactivation lifetimes and their higher solubility in hydrophobic environments.

Drugs that generate photoproducts in higher yields are thus expected to be (potentially, i.e., under high radiation doses) more phototoxic. The expected phototoxicity order then follows $KP > TP > FA$.