

Resum

Els grups funcionals 1,3-dicarbonil estan presents en una àmplia gamma de compostos. La seua fotoquímica mostra característiques interessants a causa de la presència de diversos isòmers que presenten propietats espectroscòpiques o de fotorreactivitat particulars. En aquest context, la gran absorció en l' UVA de l'isòmer enol quelat dels dibenzoilmetans ha sigut utilitzada àmpliament en la indústria cosmètica amb fins de fotoprotecció. Els compostos β -dicarbonil també es troben en l'estructura de derivats fotorreactius de timidina o d'uridina que porten un grup pivaloil o formil en la posició C5.

L'objectiu principal d'aquesta tesi és contrastar el paper d'aquests compostos 1,3-dicarbonil com a agents que danyen l'ADN respecte al seu potencial fotoprotector. Per tant, d'una banda, les propietats dels compostos β -dicarbonil com a part de l'estructura de l'ADN s'han abordat mitjançant l'estudi de 5,6-dihidropirimidines substituïdes en C5 per un grup pivaloil com a precursors fotolàbils de radicals centrats en carboni, però també a través de l'avaluació del dany oxidatiu generat en l'ADN, el 5-formil uracil, com un potencial agent fotosensibilitzador intrínsec de l'ADN. D'altra banda, l'isòmer dicetona del filtre UVA més representatiu, 4-*tert*-butil-4'-metoxidibenzoilmetà conegut com avobenzona, conté dos grups fotolàbils de tipus fenacil. Açò ha portat al desenvolupament d'una nova estratègia de fotoprotecció basada en el fotoalliberament d'un fàrmac tòpic amb propietats fotosensibilitzants juntament amb el seu filtre protector de l'UVA.

En primer lloc, 5,6-dihidropirimidines han sigut derivatitzades utilitzant el grup fotolàbil *tert*-butil cetona amb la finalitat d'estudiar la generació de radicals centrats en C5 en un mitjà no aquós. Açò és de particular importància ja que el micró ambient proporcionat per l'estructura de l'ADN i els seus complexos amb proteïnes, tals com les histones, pot no estar completament reproduït en mitjans aquosos, i el radical derivat de pirimidina estaria embegut en el complex sistema ADN / ARN, la qual cosa constitueix un ambient heterogeni. Per tant, l'estudi de fotòlisi de flaix làser en acetonitril dels derivats 1,3-dicarbonil dissenyats dona lloc a la formació dels suposats radicals 5,6-dihidropirimidin-5-il. La seua caracterització mostra espècies transitòries de vida llarga, que no decauen en el rang de μ s i estan centrats a 400-420 nm o 350-400 nm per als derivats 5,6-dihidrouridina o 5,6-dihidotimidina, respectivament. A més, la generació de radicals també s'ha evidenciat mitjançant experiments de fluorescència en estat estacionari mitjançant l'ús d'una sonda profluorescent (AAA-TEMPO) que atrapa el radical. Aquesta sonda ha sigut especialment dissenyada per a complir principalment dos requisits: (i) excitar-se a longituds d'ona superiors de 350 nm, on l'ADN no absorbeix i (ii) mostrar poca o cap absorció en el rang de 260-330 nm per a no interferir amb l'absorbància de la porció *tert*-butil cetona. Per tant, la irradiació dels derivats fotolàbils d'àcid nucleic en presència de AAA-TEMPO dona com resultat un augment de l'emissió, d'acord amb la captura del radical C5 per la sonda paramagnètica. La formació del adducte resultant s'ha confirmat mitjançant UPLC-HRMS. Així mateix, les dades experimentals s'han corroborat amb càlculs teòrics ab initio CASPT2 // CASSCF.

En un segon capítol, un altre derivat 1,3-dicarbonil de la pirimidina ha sigut investigat. De fet, el dany oxidatiu 5-formiluracil (ForU), presenta característiques interessants com a potencial fotosensibilitzador intrínsec de l'ADN. Per tant, els estudis espectroscòpics revelen

que ForU no solament té una absorció en el rang UVA / UVB, on les bases canòniques amb prou faenes absorbeixen, sinó també presenta un estat triplet excitat ($^3\text{ForU}^*$) amb un temps de vida d'alguns μs i amb una energia prou alta com per a fotosensibilitzar la formació dels coneguts dímers de pirimidina de tipus ciclobutà (CPDs) a través d'una transferència d'energia triplet-triplet. Aquest procés ha sigut confirmat per mitjà de la síntesi de diades model Thy-Thy i Cyt-Cyt, que després de la irradiació en presència de ForU s'ha demostrat que produeixen CPDs. Finalment, l'estudi es va estendre a ADN plasmídic permetent establir la capacitat de ForU per a produir trencaments de cadena simple i CPDs.

A continuació, l'atenció s'ha centrat en el desenvolupament d'una nova estratègia per a la fotoprotecció de molècules bioactives aprofitant la reactivitat fotoquímica del tautòmer 1,3-dicetona del filtre de l'UVA Avobenzona (AB). Els compostos bioactius seleccionats són dos fàrmacs antiinflamatoris no esteroïdals d'ús tòpic amb propietats fotosensibilizants, (S)-ketoprofè (KP) i diclofenac (DF). En aquest context, el tautòmer dicetona de l'avobenzona conté dues fraccions fenacil, que es un grup protector fotolàbil ben conegut. Per tant, un disseny judiciós d'una diada profàrmac / profiltre permet el fotoalliberament del fàrmac i del seu escut protector, l'avobenzona. La viabilitat d'aquest alliberament controlat dels ingredients actius es va verificar en diferents dissolvents de diferent caràcter dador d'hidrogen i viscositat per a simular la formulació tòpica. A més, els estudis de fotòlisi de flaix làser en etanol permeten la caracterització d'una banda d'absorció transitòria a 400-420 nm, la qual ha sigut assignada a l'estat excitat triplet de la diada mitjançant comparació amb la de la forma dicetònica de AB.

Finalment, s'ha avaluat la fotoseguretat de la diada fotoactivable formada entre el (S)-ketoprofè i l'avobenzona. S'obté un resultat interessant a partir dels espectres d'absorció transitòria de la diada KP-AB en ciclohexà on, al contrari que en etanol, l'espècie observada és l'estat excitat triplet del KP i no el de la AB en la seua forma dicetònica. Açò és de summa importància en termes de fototoxicitat i fotogenotoxicitat en relació amb les propietats fotosensibilizants àmpliament estudiades del KP. L'impacte sobre la membrana cel·lular s'ha abordat mitjançant la irradiació UVA de solucions d'àcid linoleic en presència de la diada. El potencial fototòxic de la diada s'ha evidenciat mitjançant espectrofotometria UV-Vis revelant la formació de derivats hidroperòxids diènics conjugats de l'àcid linoleic. No obstant açò, la diada AB-KP no exhibeix un potencial fotogenotòxic com ho demostren els experiments de l'assaig comet, on a diferència del KP, la forma redona no danyada de la cèl·lula encara s'observa després de la irradiació UVA.