

Resumen Final Tesis Castellano

Los grupos funcionales 1,3-dicarbonilo están presentes en una amplia gama de compuestos. Su fotoquímica muestra características interesantes debido a la presencia de varios isómeros que presentan propiedades espectroscópicas o de fotorreactividad particulares. En este contexto, la gran absorción en el UVA del isómero enol quelado de los dibenzoilmetanos ha sido ampliamente utilizada en la industria cosmética con fines de fotoprotección. Los compuestos β -dicarbonílicos también se encuentran en la estructura de derivados fotorreactivos de timidina o de uridina que llevan un grupo pivaloilo o formilo en la posición C5.

El objetivo principal de esta tesis es contrastar el papel de dichos compuestos 1,3-dicarbonílicos como agentes que dañan el ADN con respecto a su potencial fotoprotector. Por lo tanto, por un lado, se han abordado las propiedades de los compuestos β -dicarbonílicos como parte de la estructura del ADN mediante el estudio de dihidropirimidinas sustituidas en C5 por una función pivaloilo como precursores fotolábiles de radicales centrados en carbono, pero también a través de la evaluación de un daño oxidativo generado en el ADN, el 5-formiluracilo, como un potencial agente fotosensibilizador intrínseco de la doble hélice. Por otro lado, el isómero dicetona del filtro UVA más representativo, 4-*tert*-butil-4'-metoxidibenzoilmetano conocido como avobenzona, contiene dos grupos fotolábiles de tipo fenacilo. Esto ha llevado al desarrollo de una nueva estrategia de fotoprotección basada en la fotoliberación de un fármaco fotosensibilizante de uso tópico junto con su filtro solar protector del UVA.

En primer lugar, 5,6-dihidropirimidinas han sido derivatizadas utilizando el grupo fotolábil *tert*-butil cetona con el fin de estudiar la generación de radicales centrados en C5 en un medio no acuoso. Esto es de particular importancia ya que el microambiente proporcionado por la estructura del ADN y sus complejos con proteínas, tales como las histonas, puede no estar completamente reproducido en medios acuosos, y el radical derivado de pirimidina estaría embebido en el complejo sistema ADN / ARN, lo que constituye un ambiente heterogéneo. Por lo tanto, el estudio por fotólisis de destello láser en acetonitrilo de los derivados 1,3-dicarbonílicos diseñados da lugar a la detección de los supuestos radicales 5,6-dihidropirimidin-5-ilo. Su caracterización muestra especies transitorias de vida larga, que no decaen en el rango de μ s y están centrados a 400-420 nm o 350-400 nm para los derivados 5,6-dihidrouridina o 5,6-dihidrotimidina, respectivamente. Además, la generación de radicales también se ha evidenciado mediante experimentos de fluorescencia en estado estacionario mediante el uso de una sonda profluorescente (AAA-TEMPO) que atrapa el radical. Esta sonda ha sido especialmente diseñada para cumplir dos requisitos principales: (i) excitarse a longitudes de onda superiores de 350 nm, donde el ADN no absorbe y (ii) mostrar poca o ninguna absorción en el rango de 260-330 nm para no interferir con la absorbancia de la porción *tert*-butil cetona. Por lo tanto, la irradiación de los derivados fotolábiles del ácido nucleico en presencia de AAA-TEMPO da como resultado un aumento de la emisión, de acuerdo con la captura del radical C5 por la sonda paramagnética. La formación del aducto resultante se ha confirmado mediante UPLC-HRMS. Asimismo, los datos experimentales se han corroborado con cálculos teóricos ab initio CASPT2 // CASSCF.

En un segundo capítulo, otro derivado 1,3-dicarbonílico de la pirimidina ha sido investigado. De hecho, el daño oxidativo 5-formiluracilo (ForU) presenta características interesantes como potencial agente fotosensibilizador intrínseco del ADN. Por lo tanto, los estudios espectroscópicos revelan que ForU no solo tiene una absorción en el rango UVA / UVB, donde las bases canónicas apenas absorben, sino también presenta un estado triplete

excitado ($^3\text{ForU}^*$) con un tiempo de vida de algunos μs y con una energía lo suficientemente alta como para fotosensibilizar la formación de los conocidos dímeros de pirimidina de tipo ciclobutano (CPDs) a través de una transferencia de energía triplete-triplete. Este proceso ha sido confirmado por medio de la síntesis de díadas modelo Thy-Thy y Cyt-Cyt, ya que después de la irradiación en presencia de ForU se ha demostrado que producen CPDs. Finalmente, el estudio se extendió a ADN plasmídico permitiendo establecer la capacidad de ForU para inducir roturas de cadena simple y CPDs.

A continuación, la atención se ha centrado en el desarrollo de una nueva estrategia para la fotoprotección de moléculas bioactivas aprovechando la reactividad fotoquímica del tautómero 1,3-dicetona de la avobenzona (AB), un filtro del UVA. Los compuestos bioactivos seleccionados son dos fármacos antiinflamatorios no esteroideos de uso tópico con propiedades fotosensibilizantes, (S)-ketoprofeno (KP) y diclofenaco (DF). En este contexto, el tautómero dicetona de la avobenzona contiene dos restos fenacilo, que es un grupo protector fotolábil muy establecido. Por lo tanto, un diseño juicioso de una díada profármaco / profiltro permite la fotoliberación del fármaco y de su protector, la avobenzona. La viabilidad de esta liberación controlada de los ingredientes activos se verificó en diferentes disolventes de diferente carácter dador de H y viscosidad para simular la formulación tópica. Además, los estudios de fotólisis de destello láser en etanol permiten la caracterización de una banda de absorción transitoria a 400-420 nm, la cual ha sido asignada al estado excitado triplete de la díada mediante comparación con la de la forma dicetónica de AB.

Finalmente, se ha evaluado la fotoseguridad de la díada fotoactivable formada entre el (S)-ketoprofeno y la avobenzona. Se obtiene un resultado interesante a partir de los espectros de absorción transitoria de la díada AB-KP en ciclohexano donde, al contrario que en etanol, la especie observada es el estado excitado triplete del KP y no el de la AB en su forma dicetona. Esto es de suma importancia en términos de fototoxicidad y fotogenotoxicidad en relación con las propiedades fotosensibilizantes ampliamente estudiadas del KP. El impacto de la díada sobre la membrana celular se ha abordado mediante irradiación UVA de soluciones de ácido linoleico en presencia de la díada. El potencial fototóxico de AB-KP se ha evidenciado mediante espectrofotometría UV-Vis revelando la formación de derivados hidroperóxidos diénicos conjugados del ácido linoleico. Sin embargo, la díada AB-KP no exhibe un potencial fotogenotóxico como lo demuestran los experimentos del ensayo comet, donde a diferencia del KP, la forma redonda no dañada de la célula todavía se observa después de la irradiación UVA.