

Sustancias naturales con potencial aplicación en el área farmacéutica

Fotosensibilizadores naturales activos en terapia fotodinámica

Existen sustancias que al ser activadas por la luz o fotoactivadas ejercen una acción biológica, en presencia o ausencia de oxígeno. Aquellas que requieren oxígeno, generan especies reactivas de oxígeno (EROs) y se utilizan en tratamientos de tumores e infecciones. Estructuras químicas de origen vegetal que producen EROs bajo irradiación lumínica han demostrado potencial uso en estos tratamientos.

Por Laura R. Comini¹ y Susana Núñez Montoya¹

IMBIV (CONICET), Depto. de Farmacia-Facultad de Ciencias Químicas (UNC), Haya de la Torre y Medina Allende, X5000HUA Córdoba, Argentina. Email: lcomini@fcq.unc.edu.ar / sununez@fcq.unc.edu.ar

Una sustancia se comporta como agente fotosensibilizador (FS) cuando al ser irradiada por luz ultravioleta (UV) o visible, sus moléculas pasan a un estado electrónicamente excitado, estas moléculas excitadas, por sí misma o por transferencia de energía, electrones o átomos de H a otro sustrato, generan especies altamente reactivas. Los agentes fotosensibilizadores son un grupo de compuestos, provenientes tanto de la síntesis orgánica como de la naturaleza y presentan una variada complejidad química. Las particulares propiedades que poseen despiertan un especial interés en el área de las ciencias farmacéuticas, por sus potenciales y diversas aplicaciones terapéuticas. Así, estas sustancias cuando son administradas en un organismo vivo en forma controlada se convierten en una herramienta eficaz para el tratamiento de numerosas patologías como agentes antibacterianos, antifúngicos, antivirales y anticancerígenos.

Los fotosensibilizadores se clasifican según su mecanismo de acción en dos grupos, los *fotodinámicos* y los *no fotodinámicos* si requieren o no, la presencia de oxígeno respectivamente. Los *fotosensibilizadores no fotodinámicos* ejercen su acción en ausencia de oxígeno, actúan por sí mismos, es decir que por acción de la luz pasan a un estado electrónicamente excitado ($^1\text{FS}^*$) que se une al ADN a través de un proceso llamado fotoadición, formando fotoaductos covalentes que interfieren en la replicación y transcripción del ADN y consecuentemente, la síntesis de ARN y proteínas. Este mecanismo y otros asociados permiten su utilización en patologías como psoriasis y vitiligo. La desventaja del uso prolongado de estas terapias es que conlleva daños oncogénicos cutáneos (carcinogénesis cutánea, inducción de melanoma), además de potenciales efectos mutagénicos, por el efecto negativo sobre el ADN. Los principales agentes *fotosensibilizadores no fotodinámicos* son el Psoraleno y sus derivados, y la terapia se denomina PUVA (Psoraleno + luz UVA). Las plantas que contienen este tipo de fotosensibilizadores en general son consideradas alergénicas, ya que actúan por contacto (higo, ruda, aceite esencial de bergamota, etc.) y las estructuras químicas de estos compuestos en general son, psoralenos, derivados de cumarinas, furanocumarinas, alcaloides derivados del harmano, entre otros.

Los *fotosensibilizadores fotodinámicos* presentan un comportamiento diferente, en presencia de luz y oxígeno molecular dan origen a especies EROs, principalmente anión superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) y oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$). El primer paso de esta reacción fotodinámica es la absorción de radiación UV o Visible por parte del (FS). Este, al absorber un fotón ($h\nu$) pasa del estado electrónico basal a un estado electrónico excitado el cual reacciona con oxígeno molecular generando radical $\text{O}_2^{\bullet-}$ u $^1\text{O}_2$ dependiendo del mecanismo por el que actúe. Ambas

EROs atacan con frecuencia a los ácidos grasos insaturados que conforman las membranas celulares, cuya peroxidación lipídica da lugar a la formación de hidroperóxidos alílicos. De esta forma se inician procesos de radicales libres que inducen la lisis de las membranas y posterior muerte celular. Con tales características los *fotosensibilizadores fotodinámicos* son empleados en la llamada terapia fotodinámica anticancerígena y antimicrobiana.

Terapia fotodinámica: agentes fotosensibilizadores sintéticos y naturales

La aplicación de *fotosensibilizadores fotodinámicos*, utilizados en forma controlada y dirigida sobre determinados tumores, ha dado lugar a la terapia fotodinámica (TFD), la cual se fundamenta en el efecto citotóxico inducido en el tejido tumoral por la acción combinada de luz y una droga (el FS), que se acumula con un cierto grado de selectividad en dicho tejido. En este marco es importante destacar que durante el tratamiento, la mayoría de estos compuestos no se encuentra en contacto con el material genético de la célula, pues no se localizan en el núcleo, con lo que la probabilidad de inducir daño del ADN, mutaciones y carcinogénesis es mínima. Los principales agentes *fotosensibilizadores fotodinámicos* empleados en esta terapia son los derivados de porfirina y del ácido 5-amino levulínico (ALA). En los últimos años ha adquirido especial atención la aplicación de esta terapia en las infecciones con el fin de inactivar diferentes microorganismos; lográndose mayores avances sobre bacterias y hongos, y en menor medida sobre parásitos y virus, dando origen a la terapia fotodinámica antimicrobiana (TFDA). Este tratamiento, por su diseño, elección del FS y protocolo de aplicación, presenta como principales ventajas la de ser altamente específico en su accionar, por exhibir pocos efectos secundarios, y sobre todo por no desarrollar mecanismos de resistencia microbiana. Si bien los derivados sintéticos de porfirina y ALA son los agentes fotosensibilizadores usualmente utilizados, especialmente en terapia de cáncer de piel, se continúa en la búsqueda de nuevas estructuras por la vía de la síntesis orgánica, con el objeto de obtener mayor eficacia en los tratamientos.

En la naturaleza, son pocas las estructuras que se caracterizan por ser *fotosensibilizadores fotodinámicos*, pudiéndose mencionar algunos derivados tiofénicos que se han encontrado especialmente en especies vegetales que pertenecen a la familia Asteráceas. Pero no todos ellos, en algunos casos por ser altamente reactivos, cumplen con el requerimiento de ser un agente apropiado para TFD, ya que como requisito primario deben ejercer citotoxicidad solamente cuando son irradiados pero no cuando permanecen en oscuridad.

Un caso particular dentro de las estructuras de origen vegetal, lo constituyen las naftodiantronas provenientes de *Hypericum perforatum* (Rubiáceas). Esta especie oriunda de Europa y Asia es reconocida y consumida por las propiedades antidepresivas de sus extractos y es poco difundido el hecho que es una planta fototóxica como consecuencia del contenido de estas naftodiantronas con propiedades fotosensibilizantes (hipericina, pseudohipericina y otras) que actúan a través del mecanismo fotodinámico. En particular hipericina ha demostrado potencialidad como agente antimicrobiano empleando o no la terapia fotodinámica. En los últimos años también se la ha estudiado en terapia fotodinámica anticancerígena.

Fotosensibilizadores fotodinámicos en la flora autóctona argentina

Heterophyllaea pustulata Hook. f (Rubiaceas) es una especie autóctona de nuestro país que habita en la región andina de las provincias de Tucumán, Salta y Jujuy, donde es conocida por los efectos nocivos que genera en los animales que se alimentan de ella. La sintomatología se evidencia luego que los mismos se exponen a la luz solar, sufriendo en primer lugar molestias e irritaciones en la piel que progresan finalmente en la aparición de importantes heridas

(dermatitis), llegando incluso a provocar ceguera por formación de queratoconjuntivitis. Motivo por el cual es reconocida como una especie fototóxica.

El grupo de Farmacognosia del Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químicas, interesado en los agentes químicos causantes del efecto fototóxico, reveló que los principios activos son derivados de la familia de las antraquinonas. En estudios realizados en forma interdisciplinaria con investigadores asociados de diferentes especialidades, fue posible determinar las propiedades fotodinámicas de los mismos, como así también sus potencialidades como agentes antibacterianos, antivirales, antifúngicos y anticancerígenos aplicando los protocolos de la terapia fotodinámica *in vitro*. Aportando, de esta manera, estructuras químicas originales que contribuyen al conocimiento y desarrollo de nuevos agentes fotosensibilizadores.

Bibliografía:

- Aguirre D., Neumann R. Intoxicación por "cegadera" (*Heterophyllaea pustulata*) en caprinos del noroeste argentino. *Med. Vet.* 2001; 18, 487-490.
- Comini L., Núñez Montoya S., Sarmiento M., Cabrera J., Argüello Gustavo A. Characterizing some photophysical, photochemical and photobiological properties of photosensitizing anthraquinones. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 2007; 188,185-191.
- Comini L., Núñez Montoya S., Paéz P., Argüello Gustavo A., Albesa I., Cabrera J. Antibacterial Activity of Anthraquinone Derivatives from *Heterophyllaea pustulata* (Rubiaceae). *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 2011; 102,108-114.
- Comini L., Fernandez I., Rumie Vittar N., Núñez Montoya S., Cabrera J., Rivarola V. Photodynamic activity of anthraquinones isolated from *Heterophyllaea pustulata* Hook f. (Rubiaceae) on MCF-7c3 breast cancer cells. *Phytomed.* 2011; 18, 1093-1095.
- Marioni J, Da Silva MA, Cabrera JL, Núñez Montoya SC, Paraje MG. The anthraquinones rubiadin and its 1-methyl ether isolated from *Heterophyllaea pustulata* reduces *Candida tropicalis* biofilms formation. *Phytomedicine.* 2016. *En prensa.*
- Núñez Montoya S., Agnese A., Pérez C., Tiraboschi I., Cabrera J. Pharmacological and toxicological activity of *Heterophyllaea pustulata* anthraquinones extracts. *Phytomedicine.* 2003; 10, 569-574.
- Núñez Montoya S., Comini L., Sarmiento M., Becerra M., Albesa I., Argüello Gustavo A., Cabrera J. Natural anthraquinones probed as Type I and Type II photosensitizers: singlet oxygen and superoxide anion production. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 2005; 78, 77-83.
- Núñez Montoya S., Agnese A., Cabrera J. Anthraquinones derivatives from *Heterophyllaea pustulata*. *J. Nat. Prod.* 2006; 69, 801-803.
- Konigheim B., Beranek M., Comini L., Aguilar J., Marioni J., Cabrera J., Contigiani M., Núñez Montoya S. In vitro antiviral activity of *Heterophyllaea pustulata* extracts. *Nat. Prod. Comm.* 2012; 7, 1025-1028.
- Rumie Vittar B., Comini L., Fernández .I, Agostini E., Núñez Montoya S., Cabrera J., Rivarola V. Photochemotherapy using natural anthraquinones: rubiadin and soranjidiol sensitize human cancer cell to die by apoptosis. *Photodiag. Photodyn. Ther.* 2014; 11, 182-192.