
Conclusiones

En este trabajo de tesis se estudió el comportamiento fotofísico y las propiedades fotosensibilizadoras de un grupo seis compuestos de la familia de las pterinas en solución acuosa: pterina, 6-carboxipterina, 6-formilpterina, ácido fólico, biopterina y neopterina. La información obtenida permite caracterizar distintos aspectos generales y particulares de la fotofísica de este conjunto de compuestos.

Las pterinas son una familia de compuestos orgánicos, ampliamente distribuida en la naturaleza. Todas comparten una estructura química común de doble anillo, y se diferencian entre sí por presentar distintos sustituyentes en la posición 6 del doble anillo. En soluciones acuosas todas las pterinas presentan un equilibrio ácido-base común que involucra un grupo amida (forma ácida) y un grupo fenolato (forma alcalina), con un pKa cercano a 8.

Las pterinas, sus derivados reducidos y otros compuestos relacionados cumplen importantes funciones metabólicas en los seres vivos. Además están involucrados en diversos procesos fotobiológicos, como por ejemplo en fotorrecepción y fotosensibilización. También tienen importancia en bioquímica clínica y medicina. Es evidente la relevancia que tienen los estudios básicos sobre fotofísica y fotoquímica de las pterinas. A continuación se enuncian las conclusiones generales que pueden extraerse de este trabajo de tesis:

✚ Las pterinas poseen espectros de absorción con características propias. Todas presentan dos bandas de absorción, una menos intensa con un máximo alrededor de 350 nm y otra más intensa con un máximo alrededor de 250 nm. Los máximos de absorción presentan diferencias según el pH del medio: al pasar de la forma ácida a la alcalina, la banda más intensa se corre a longitudes de onda menores y la menos intensa

a longitudes de onda mayores. Adicionalmente, las formas alcalinas tienen coeficientes de extinción mayores que las formas ácidas para ambas bandas.

Las pterinas presentan emisión fluorescente característica. Los espectros de emisión poseen una única banda (con un máximo alrededor de 450 nm), independientemente de la longitud de onda de excitación. Esto indica que, a pesar de poseer más de una banda de absorción, y, por lo tanto, más de un estado excitado, sólo uno de dichos estados es emisor. La emisión de las pterinas en solución acuosa ocurre siempre desde el estado excitado de menor energía (S_1).

Los rendimientos cuánticos de fluorescencia (Φ_F) son relativamente altos para todas las pterinas (0.07 – 0.38), excepto para el ácido fólico que presenta valores extremadamente bajos ($\Phi_F < 0.005$). Los rendimientos cuánticos de fluorescencia obtenidos muestran una fuerte dependencia con el pH y con el sustituyente de la posición 6 del doble anillo pterínico. Los valores de las formas ácidas son mayores que los correspondientes a las formas alcalinas.

Los espectros de excitación presentan dos bandas análogas a las de los espectros de absorción. Sin embargo, la relación de intensidades entre la banda de mayor energía y la de menor energía es menor que la relación equivalente en los espectros de absorción, indicando que el estado S_2 se desactiva por más de un mecanismo, siendo el decaimiento a S_1 sólo uno de ellos.

Los tiempos de vida de fluorescencia (τ_F) también muestran dependencia con el pH y la naturaleza del sustituyente, siendo mayores para las formas ácidas (5.8 – 8.9 ns) que para las correspondientes formas alcalinas (2.2 – 7.6 ns). Al comparar valores de constantes de velocidad de fluorescencia intrínseca (k_F^0), se observa que todos son similares, indicando que la velocidad de desactivación desde el estado S_1 por fluorescencia es similar para todas las pterinas, y que las diferencias en los tiempos de vida de fluorescencia se encuentran en otras vías de desactivación.

La intensidad de fluorescencia de las soluciones acuosas de pterinas se ve disminuida si el pH es muy alto (pH > 11). Este fenómeno es consecuencia de un proceso de *quenching* dinámico por iones hidroxilos (OH⁻).

✚ La intensidad de fluorescencia de soluciones que contienen la forma ácida de las pterinas también disminuye con la presencia de aniones fosfatos y acetato. Por el contrario, no se ve considerablemente afectada en soluciones alcalinas de las mismas. Del análisis de Stern-Volmer de las medidas estacionarias y resueltas en el tiempo puede deducirse que el *quenching* observado en presencia de estos dos aniones es dinámico. Este fenómeno es selectivo para ciertos iones, debido a que otros aniones estudiados (sulfato, nitrato y cloruro) no producen *quenching* de fluorescencia. El proceso de *quenching* estudiado tiene importancia analítica, ya que muchas técnicas utilizan la fluorescencia de las pterinas para su detección y cuantificación. Los iones fosfato y acetato en medio alcalino podrán usarse en dichas técnicas sin restricciones, mientras que en medio ácido deberían tener en cuenta el proceso de *quenching* y realizarse las modificaciones necesarias para evitarlo.

✚ Todas las pterinas estudiadas en este trabajo son buenas fotosensibilizadoras de oxígenos singlete, tanto en medio ácido como alcalino ($\Phi_{\Delta} = 0.18 - 0.47$), excepto el ácido fólico que muestra una pequeña producción de oxígeno singlete en ambos medios. Los rendimientos cuánticos de producción de oxígeno singlete son significativamente mayores para las formas alcalinas. Los rendimientos cuánticos de oxígeno singlete de las formas alcalinas disminuyen drásticamente a valores de pH mayores a 11. La desactivación de los estados singletes excitados (S_1) reduce el cruzamiento intersistemas y, por ende, la generación de los estados tripletes que permiten la transferencia de energía para producir oxígeno singlete.

✚ El ácido fólico es un compuesto que mostró propiedades diferentes al resto de las pterinas estudiadas (valores de Φ_{Δ} y Φ_F extremadamente bajos). Este comportamiento especial podría deberse a una muy eficiente desactivación no radiativa de su estado excitado singlete (S_1). La existencia de un sustituyente grande (en comparación con el resto de las pterinas estudiadas) y flexible en la estructura del ácido fólico podría conferirle a la molécula los niveles de energía vibrorrotacional necesarios para que ocurra este fenómeno.

✚ La pterina posee propiedades fotosensibilizadoras sobre nucleótidos. La 2'desoxiguanosina-5'monofosfato es rápidamente oxidada cuando se irradia con luz UV-A en presencia de pterina. La 2'desoxiadenosina-5'monofosfato es oxidada mucho más lentamente, mientras que la 2'desoxicitosina-5'monofosfato no sufre alteraciones. Las oxidaciones fotosensibilizadas observadas ocurren a través de un mecanismo Tipo II en el cual el oxígeno singlete generado por la pterina ataca los nucleótidos.

✚ La pterina es capaz de fotosensibilizar al ácido desoxirribonucleico. Las moléculas del plásmido pUC18 sufren cortes en sus cadenas cuando son irradiadas con luz UV-A en presencia de pterina. Estos cortes conducen a la transformación del topoisómero superenrollado al topoisómero relajado. La acumulación de estos cortes genera, en una segunda etapa, un corte en la doble hebra con la consiguiente transformación del plásmido circular en una molécula lineal. El mecanismo principal de estos procesos no involucra al oxígeno singlete.