Rev. Per. Quím. Ing. Quím. Vol. 6 N.º 1, 2003. Págs. 69-78

TERAPIA FOTODINÁMICA: UNA LUZ DE ESPERANZA EN LA LUCHA CONTRA EL CÁNCER

Christian Samanamú Ch.[a], Oscar Ninán M.[a,b] y Julio Santiago C.[*b,c]

[a] Pontificia Universidad Católica del Perú, Av. Universitaria Cdra 18 S/N, Lima 32, Perú, a19982164@pucp.edu.pe
[b] Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Av. Venezuela Cdra 34, S/N, Lima 1, Perú, ninan.eo@pucp.edu.pe
[c] Instituto Peruano de Energía Nuclear, Av. Canadá 1470, Lima 41, Perú, jsantiago@ipen.gob.pe

Resumen: En la actualidad, la terapia fotodinámica es uno de los tratamientos más promisorios para el tratamiento del cáncer. En este artículo se explican los principios básicos de esta terapia y se realiza una revisión de los principales tipos de fotosensibilizadores existentes en la actualidad, poniendo énfasis en aquellos derivados de porfirinas y ftalocianinas.

Palabras clave: Terapia fotodinámica, oxígeno singulete, cáncer

Abstract: The photodynamic therapy is one of most promising therapies against cancer. In this review the basic principals of this therapy is described. Also, the different kind of photosensitizers are reviewed, especially those derived from porphyrins and phthalocyanines.

Key words: Photodynamic therapy, singlet oxygen, cancer

INTRODUCCIÓN

Cada segundo nacen en nuestro cuerpo millones de nuevas células, ya sea para reemplazar aquellas que están envejecidas o para reemplazar los tejidos dañados. Sin embargo, los procesos regulatorios bioquímicos en células normales pueden ser alterados, debido a mutaciones del ADN celular (eliminación, amplificación y arreglos diversos en cromosomas), provocando que las células se multipliquen de manera acelerada y sin control alguno[1]-[3]. Ésta es la característica principal del cáncer. Estas células mutadas (cancerígenas), bajo ciertas circunstancias, en lugar de permanecer localizadas o confinadas en sus lugares de origen, invaden otros tejidos del cuerpo (metástasis) interfiriendo en las funciones de las células normales circundantes[3],[4].

El cáncer puede ser originado por diferentes factores; entre los que tenemos:

- Obesidad,
- infecciones causadas por virus (como la hepatitis B crónica y el VIH),
- historial familiar en el que exista cáncer (predisposición genética a desarrollar la enfermedad),
- consumo de cigarrillos,
- abuso de drogas o alcohol,
- exposición a la radiación del sol.

Entre las terapias que se han desarrollado para combatir esta situación anormal celular se encuentran la quimioterapia, la cirugía, la crioterapia, la radioterapia y la terapia fotodinámica, conocida como PDT (Photodynamic Therapy).

TERAPIA FOTODINÁMICA

En esta terapia, una droga llamada fotosensibilizador es administrada al pacien-

te por una inyección intravenosa. Esta droga tiende a acumularse en mayor concentración en los tejidos neoplásicos que en los tejidos sanos, ya sea por diferencias en el pH entre células cancerígenas y células normales[5], como por enlaces a lipoproteínas de baja densidad, las cuales son muy abundantes en tejidos neoplásicos[6],[7], observándose que el grado de acumulación del fotosensibilizador va a depender de su naturaleza y del tumor investigado. Cuando se hace incidir energía luminosa sobre el tejido neoplásico, el fotosensibilizador es activado generando oxígeno singulete, una especie muy reactiva que ataca la membrana celular y los organelos provocando la muerte celular.

Hay que remarcar que el fotosensibilizador por sí solo no es dañino a los tejidos, ya que para ejercer su efecto fotodinámico debe ser activado por energía luminosa. Este hecho, unido a la baja toxicidad y a la alta afinidad del fotosensibilizador por las células cancerosas, hace que los efectos secundarios que se observan en otras terapias convencionales no se manifiesten en la PDT. El único efecto secundario observado en esta terapia es la fotosensibilización de la piel, por lo que los pacientes deben permanecer alejados de fuentes de luz brillante por dos o tres semanas.

El efecto fotodinámico es un término utilizado para describir la fotosensibilización dependiente de oxígeno (también se puede emplear el término fototoxicidad para describir este efecto), mientras que la fototerapia es una forma de tratar ciertas dolencias empleando la luz visible o cercana al visible.

La PDT representa un tema de investigación intenso en el cual se pueden distinguir los siguientes aspectos:

- Fuentes de luz,
- generación de especies reactivas,
- mecanismos de muerte celular,
- tipo de fotosensibilizadores.

FUENTES DE LUZ UTILIZADAS EN LA PDT

La luz utilizada en la terapia, generalmente, pertenece a la parte visible del espectro (400-700 nm). Este tipo de luz tiene bajo potencial para inducir mutaciones o ser promotora de tumores. Lo que se busca es crear un efecto fotoquímico y no térmico.

La penetración de la luz no es uniforme para todas las longitudes de onda. Las zonas verde y azul del espectro pueden alcanzar un máximo de 2 mm de profundidad; cuando penetran mucho más, su energía decrece dramáticamente y no puede producir un apropiado efecto fotodinámico. La zona roja del espectro (>600 nm) es caracterizada por un mejor perfil de penetración; además, la absorción por parte de la hemoglobina y otros compuestos existentes en los tejidos es mínima[8]. Sin embargo, la presencia de pigmentación puede bloquear eficientemente la penetración inclusive en esta zona. En estos casos, la transparencia del tejido es observada solo a longitudes de onda mayor a 780 nm.

El límite superior, en lo que respecta a las longitudes de onda utilizadas para la terapia fotodinámica, es de 900 nm; por encima de este valor, no se logra una adecuada excitación del fotosensibilizador, reduciéndose de esta manera el porcentaje cuántico de fluorescencia para la formación de especies reactivas.

Cada fotosensibilizador tiene una longitud de onda de absorción característica, y una longitud de onda de emisión. En el caso de las porfirinas la absorción máxima corresponde a la banda Soret (400-420 nm), localizada en la zona del azul y del ultravioleta, la cual no penetra profundamente dentro de los tejidos. En cambio, las ftalocianinas presentan la máxima absorción en la denominada banda Q (600-690 nm), permitiendo una penetración mayor en los tejidos.

La luz utilizada puede ser coherente como no coherente. En la actualidad, los diodos láser regulables son los más utilizados porque permiten adaptar la longitud de onda de la luz emitida al rango de absorción de los nuevos fotosensibilizadores[9].

GENERACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS

Los fotosensibilizadores que se utilizan en la terapia fotodinámica del cáncer se encuen-

tran en su estado basal en la oscuridad; esto significa que la molécula no posee electrones desapareados. Por efecto de luz, de longitud de onda apropiada, los fotosensibilizadores son convertidos al estado triplete mediante la absorción de un fotón, desplazándose así un electrón a un orbital de mayor energía, originando dos electrones desapareados. Esta molécula excitada luego puede reaccionar con el oxígeno molecular para transferirle su energía y retornar a su estado basal. La transferencia de energía del fotosensibilizador activado al oxígeno molecular hace que éste se convierta en oxígeno singulete; da como resultado la formación de especies altamente reactivas y tóxicas del oxígeno, entre las que se encuentran el oxígeno singulete (el cual es la especie reactiva importante en la terapia fotodinámica). La tendencia del fotosensibilizador por alcanzar el estado triplete es medida por el rendimiento cuántico de ese estado, el cual mide la probabilidad de formación del estado triplete por fotón absorbido. El tiempo de vida del estado triplete determina la cantidad de sustancias citotóxicas producidas. El oxígeno singulete es muy reactivo y produce oxidaciones a las biomoléculas tales como lípidos insaturados, colesterol y residuos de aminoácidos.

Hay dos mecanismos mediante los cuales el estado triplete del fotosensibilizador puede reaccionar con biomoléculas: los mecanismos del tipo I y del tipo II (esquema 1).

Los mecanismos del tipo I involucran transferencias directas electrón/hidrógeno de una molécula, en este caso el fotosensibilizador, para que ésta actúe como radical libre atacando a los blancos celulares. Estos radicales reaccionan igualmente con el oxígeno molecular, dando como resultado la producción de especies reactivas del oxígeno[10]. En ambos casos el fotosensibilizador se degrada. El patrón de fotodegradación es específico de cada tipo de fotosensibilizador[11][12].

Mecanismo de tipo I:

$^3S^* + O_2 \longrightarrow O_2.^- \longrightarrow$ reacciones químicas $\longrightarrow$ fotodegradación del fotosensibilizador

Mecanismos del tipo II:

$$^1S \xrightarrow{h\nu} {}^1S^* \xrightarrow{ISC} {}^3S^* \xrightarrow{{}^3O_2} {}^1O_2 + {}^1S$$

^1S : fotosensibilizador en estado basal singulete
$^1S^*$: fotosensibilizador en estado excitado singulete
$^3S^*$: fotosensibilizador en estado excitado triplete
$^3O_2$: oxígeno en estado excitado triplete
$^1O_2$: oxígeno en estado excitado singulete
ISC: cruce entre sistemas (intersystem crossing)

Esquema 1: Mecanismos de generación de especies reactivas en la PDT.

Los mecanismos del tipo II producen la especie electrónicamente excitada y altamente reactiva del oxígeno singulete(10).

En ambos tipos de reacciones, la interacción del estado triplete excitado del fotosensibilizador con el oxígeno molecular da como resultado que el fotosensibilizador retorne a su estado basal y, además, como se dijo anteriormente, a la formación del oxígeno singulete y diversas especies reactivas.

MECANISMOS DE MUERTE CELULAR

Dependiendo de la localización de los fotosensibilizadores dentro de la célula tumoral, las potenciales zonas celulares de ataque en la terapia fotodinámica son la membrana celular y las membranas de los organelos tales como la mitocondria, los lisosomas, retículo endoplasmático, aparato de Golgi y el núcleo.

El oxígeno singulete ($^1O_2$) originado por el fotosensibilizador puede actuar ocasionando daño a los lípidos mediante una peroxidación y una modificación oxidativa de las proteínas

de las membranas. El $^1O_2$ tiene un tiempo de vida media muy corto (0.04-4 ms) y un limitado radio de acción (40nm)[13]; por estos motivos la zona de daño celular es muy cercana a la generación de la especie singulete.

Los mecanismos de muerte celular que se originan como resultado de la terapia son del tipo necrótico[14] y apoptótico[15] tanto in vivo como in vitro. La apoptosis, o muerte programada celular, es un proceso bioquímico de eliminación de células individuales en respuesta a señales específicas. En cambio, la necrosis está caracterizada por un hinchamiento de la célula, formación de grietas en la membrana plasmática con pérdida de fluido plasmático e inflamación del tejido.

dos reproducibles. La sustancia obtenida de dichos intentos fue denominada derivado hematoporfirínico (HPD: hematoporphyrin derivative[16]).

Desde que en 1960, se describieron las propiedades de la HPD, han aparecido en el mercado farmacéutico las siguientes drogas fotosensibilizadoras: Photofrin® (porfimer sodium) y Photosan® (polyhematoporphyrin). Ambas representan mezclas de ésteres y éteres de hematoporfirina de diferente tamaño, pero obtenidas por diferentes métodos de extracción. A pesar de ello, sólo el Photofrin (fig. 1) ha sido registrado para el uso clínico en los Estados Unidos y Europa. El grupo de los derivados del HPD representan a la primera generación de fotosensibilizadores.

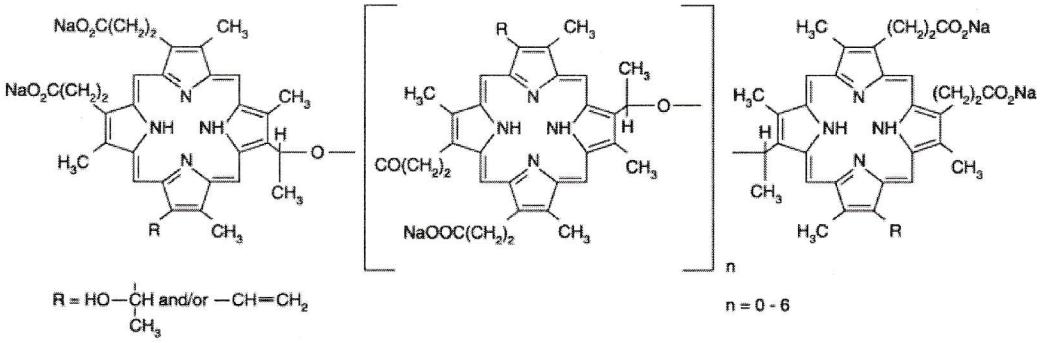


Figura 1. Estructuras presentes en el Photofrin®

FOTOSENSIBILIZADORES

El efecto fotodinámico fue conocido desde 1904, cuando se reportaron los efectos fototóxicos de tintes de acridina en células vivas (paramecios), observándose que se requiere de una droga fotosensibilizadora, luz de una apropiada longitud de onda y oxígeno[5]. Pero tomó cerca de 50 años para que se iniciaran estudios sobre la fotosensibilización de derivados de porfirina, hematoporfirinas, por parte de Lipson y Schwartz. Ellos encontraron que la hematoporfirina utilizada en experimentos pasados de fotosensibilización, era una mezcla de diversos tipos de porfirinas con diferentes propiedades físicas y biológicas. Esto llevó a intentos por extraer un derivado único el cual pudiera proveer estudios con resulta-

Las sustancias que ejercen acción individual son preferidas porque simplifican el estudio acerca de la relación entre el fotosensibilizador y su efecto.

El incremento de la absorbancia en la región roja del espectro y el incremento de los coeficientes molares de absorción permiten llegar a tejidos más profundos y así combatir al tumor.

De todos modos, las propiedades como agregación, carga iónica, solubilidad y estado de partición entre las formas acuosa y lipídica son también importantes y deben promover la selectividad.

La necesidad de estudiar el efecto fotodinámico de compuestos puros generó el desarrollo de fotosensibilizadores llamados de

"segunda generación". Éstos incluyen derivados de porfirina, ftalocianina, clorina, bacterioclorina y purpurina (fig. 2). Estos fotosensibilizadores muestran una elevada eficacia en la terapia fotodinámica por muchas razones diferentes, tales como inesperadas propiedades fotofísicas demostradas con sus activaciones a diferentes longitudes de onda, incrementando así su penetración a los tejidos.

La posibilidad de crear fotosensibilizadores con anticuerpos conjugados ha originado la tercera generación de este tipo de compuestos; los cuales combinan la elevada eficacia de los productos de la segunda generación y mejoran la selectividad hacia ciertos tumores, disminuyendo de esta forma el daño a tejidos circundantes.

La presencia de grupos hidrofóbicos e hidrofílicos en el fotosensibilizador facilita su selectividad tumoral, ya que de esta manera éste podrá atravesar las membranas celulares más fácilmente y, por otro lado, después de ser metabolizado podrá ser eliminado; evitándose de esta manera reacciones adversas tales como la fotosensibilidad. Un fotosensibilizador ideal para la terapia fotodinámica debe cumplir con los siguientes requisitos:

- Pureza química,
- selectividad tumoral,
- rápida acumulación en los tejidos a tratar y rápida eliminación del organismo,
- alto potencial al ser activado por una fuente de luz,
- no presentar toxicidad,
- alto rendimiento cuántico de fotogeneración de especies reactivas tales como el oxígeno singulete.

Desafortunadamente, la mayoría de los fotosensibilizadores cumplen parcialmente con estos requerimientos. Inclusive, estos parámetros pueden ser drásticamente reducidos por la formación de agregados.

HEMATOPORFIRINA Y PHOTOFRIN

El primer fotosensibilizador utilizado en la terapia fotodinámica clínica fue un derivado de la hematoporfirina (HPD) y su fracción purificada, Photofrin.

La HPD fue descrita primeramente por Lipson en 1961[16] y es conocida por contener una mezcla de hematoporfirina, hidroxietilvinil-euteroporfirina (HVP), y protoporfirina (PP), así como una compleja mezcla dimérica y oligomérica que contiene ésteres, éteres y enlaces ligantes carbono-carbono de hematoporfirina.

El Photofrin es una mezcla compleja (fig. 1); por lo tanto, existen numerosas preguntas acerca de la verdadera identidad de los componentes activos y también de la reproducibilidad del proceso de síntesis. El Photofrin es excitado clínicamente con luz roja a 630 nm. Esta longitud de onda únicamente puede penetrar el tejido a una profundidad de unos pocos nanómetros, haciendo del Photofrin inutilizable para el tratamiento de tumores profundamente localizados. A pesar de esta limitación, el Photofrin ha sido probado clínicamente para tratar varios tipos de cáncer[17].

La iluminación es usualmente llevada a cabo 48 horas luego de la administración sistemática del Photofrin, cuando la acumulación del fotosensibilizador por el tumor supuestamente es óptima. Se cree que la mayor acumulación del Photofrin en los tumores puede estar relacionada con el bajo pH que se observa en células tumorales en comparación con el pH de los tejidos no neoplásicos[5].

META-TETRA HIDROXIFENIL CLORINA

La m-tetrahidroxifenilclorina es un fotosensibilizador de segunda generación desarrollado para uso clínico[18]. Este fotosensibilizador tiene un centro de tipo clorina y grupos hidroxifenil en la posición meso para incrementar la solubilidad del fotosensibilizador. Se aplica este fotosensibilizador en tratamientos clínicos anticancerígenos ginecológicos, respiratorios, de cabeza y cuello en los Estados Unidos, Europa y en el Reino Unido.

La m-tetrahidroxifenilclorina presenta un mayor rango de absorción y ha demostrado ser

200 veces más efectiva que el Photofrin. Esto implica que se requiere una menor dosis del fotosensibilizador y menores tiempos de iluminación para obtener similares resultados. Además, la m-tetrahidroxifenilclorina tiene un mayor tiempo de vida media en el estado triplete generando una mayor cantidad de especies citotóxicas oxigenadas y es más hidrofóbica que el Photofrin, incrementando así la absorción celular, dando lugar a una mayor eficacia in vitro. Adicionalmente, la fotosensibilidad cutánea causada por la m-tetrahidroxifenilclorina es ligeramente menor que la causada por el Photofrin.

También se ha reportado la síntesis de la 2,3-vic-dihidroxi-m-tetrafenilclorina, mediante la oxidación de la m-tetrafenilporfirina, para su aplicación como fotosensibilizador en la PDT[19].

BACTERIOCLORINAS

Las bacterioclorinas, al igual que las clorinas, poseen propiedades ópticas ideales en términos de penetración de tejidos; como ejemplo se puede mencionar a la Bacterioclorina A, la cual se obtiene mediante la saponificación de la bacterioclorofila-A[20]. Estos compuestos, que absorben fuertemente luz por encima de 740 nm, se perfilan como agentes muy prometedores en la terapia fotodinámica.

FTALOCIANINAS

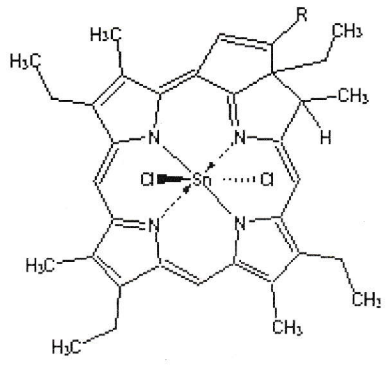
Las ftalocianinas son compuestos altamente coloreados que han encontrado utilidad en una amplia gama de aplicaciones: colorantes, catalizadores, sensores, cristales líquidos, etc.[21]. Recientemente, las ftalocianinas han sido desarrolladas como agentes fotosensibilizadores para la terapia fotodinámica.

Los grupos pirrol en las ftalocianinas se encuentran unidos a los anillos bencénicos y enlazados por puentes aza nitrogenados. Estos causan la absorción espectral a mayores longitudes de onda y así las bandas Q se vuelven más intensas que el pico Soret. El cambio del pico de absorción rojo permite el uso de una luz de mayor longitud de onda con el consiguiente incremento de la penetración en el tejido. Para excitar a estos compuestos se necesita de una luz de cerca de 680 nm, comparada con la luz de 630 nm usada para excitar las porfirinas. Un mayor tiempo de vida del estado triplete es requerido para una eficiente fotosensibilización y este criterio puede ser alcanzado mediante la incorporación de un metal diamagnético tal como Zn o Al dentro del macrociclo. Compuestos de ftalocianinas sin centro metálico o que contienen metales paramagnéticos como Cu y Fe tienen un menor tiempo de vida al estado triplete y muestran un menor grado de fototoxicidad.

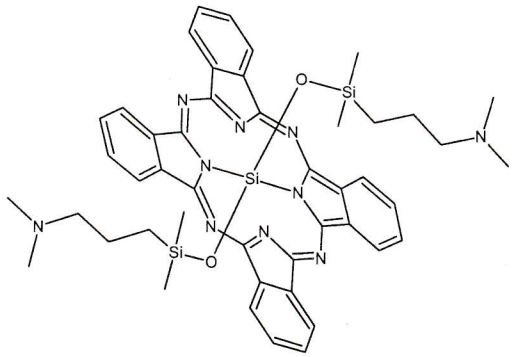
Dependiendo de los sustituyentes presentes en la periferia, las ftalocianinas pueden ser hidrofóbicas o hidrofílicas. Los grupos sulfónicos, carboxílicos y amino hacen que las ftalocianinas tengan una buena solubilidad en medio acuoso. Otra de las ftalocianinas importantes en la terapia fotodinámica del cáncer, es la ftalocianina de silicio (fig. 2), la cual es activada a 675 nm, permitiendo el tratamiento de tumores profundamente localizados[22].

PORFIRINAS

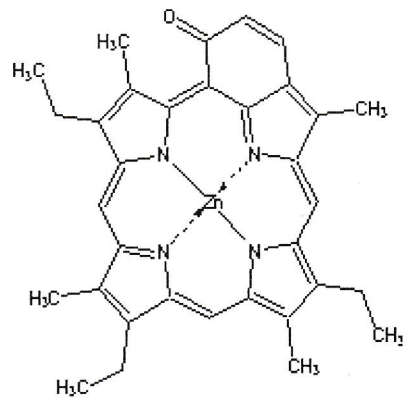
Las porfirinas son compuestos cíclicos formados por la unión de cuatro anillos pirrólicos enlazados por puentes metenilo (-HC=). Es muy conocida su aplicación en la terapia fotodinámica del cáncer(23), y su mayor pico de absorción de luz está ubicado en la banda Soret (420 nm).



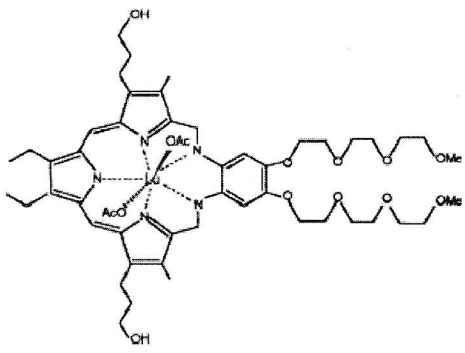
a)



b)



c)



d)

Figura 2: Fotosensibilizadores de la segunda generación: a) ftalocianina de silicio; b) etiopurpurina de estaño; c) verdina de zinc y d) texafirinato de lutecio

PURPURINAS Y VERDINAS

Otros potenciales fotosensibilizadores son las purpurinas y las verdinas. Las purpurinas son una clase de macrociclos porfirínicos, caracterizados por la purpurina de estaño[24], mientras que las verdinas contienen un anillo de ciclohexanona fusionado a uno de los grupos pirrol del anillo porfirínico.

Ambos tipos de compuestos son muy efectivos en el tratamiento de tumores neoplásicos por necrosis celular mediante la terapia fotodinámica.

ÁCIDO d-AMINOLEVULÍNICO

Una nueva alternativa en la PDT es la administración de compuestos exógenos, precursores de los fotosensibilizadores.

El ácido d-aminolevulínico (ALA) es un precursor metabólico en la biosíntesis del grupo hemo. El precursor inmediato al grupo hemo en esta secuencia de pasos es la Protoporfirina IX (PpIX)(25), el cual es un fotosensibilizador natural asociado con algunos tipos de Porfiria. La administración del ALA produce la acumulación del fotosensibilizador Protoporfirina IX.

La PpIX ALA-inducida ofrece varias ventajas sobre los derivados de la hematoporfirina y del Photofrin para el uso en la PDT. Una de estas ventajas es la corta duración de la fotosensibilidad cutánea: 24 horas con ALA, en contraste con los 2 meses del Photofrin[26]. Esto no sólo elimina la prolongada fotosensibilidad sino que permite repetir el tratamiento frecuentemente cada 48 horas sin el riesgo de dañar el tejido normal. El hecho de que la fotosensibilización se deba exclusivamente al PpIX; permite el monitoreo por fluorescencia in situ, de los niveles energéticos del fotosensibilizador. Aunque la fotosensibilización del PpIX ALA-inducida ofrece algunas ventajas sobre los derivados hematoporfirínicos (HPD) y el Photofrin; también aparecen inconvenientes asociados con el tratamiento. La naturaleza hidrofílica de ALA restringe la penetración de la droga a través de la capa queratinosa de la piel normal. Este problema puede ser resuelto mediante el uso

de ésteres lipofílicos de ALA, los cuales pueden atravesar la membrana celular más fácilmente. De otro lado, la excitación de PpIX también ocurre a 630 nm, no ofreciendo ventaja alguna sobre HPD en la profundidad de penetración en el tejido a tratar.

VERTEPORFINA

Entre los fotosensibilizadores de segunda generación que exhiben una baja fotosensibilidad y que actualmente se encuentra en estudio clínico es la BPD Verteporfina[27]; también conocido como Visudyneâ y que actualmente se emplea en Perú. La BPD se encuentra en las fases I y II de tratamientos clínicos para el tratamiento de neovascularización coroidal. Este fotosensibilizador tiene un tiempo de vida media de 5-6 horas y es activado a 689 nm.

TEXAFIRINAS

Es un nuevo grupo de fotosensibilizadores cíclicos basados en la expansión del anillo porfirínico. La modificación estructural de la molécula permite la introducción de iones metálicos más grandes en su centro y de esta manera se logra una significativa modificación en las propiedades fotoquímicas de la sustancia. Esto también incrementa la estabilidad del producto y desplaza su pico de absorción a la zona roja del espectro (720-760 nm) promoviendo de esta manera una mayor penetración dentro de los tejidos. Entre esta clase de fotosensibilizadores se encuentra el Texafirinato de lutecio (Lutetium Texaphirin®)[28].

Entre los fotosensibilizadores de tercera generación encontramos a macrociclos porfirínicos conjugados con anticuerpos monoclonales[29] y, también, con ligandos específicos a receptores nucleares[30] (fig. 3), lo cual brinda un mayor grado de selectividad hacia los tejidos neoplásicos.

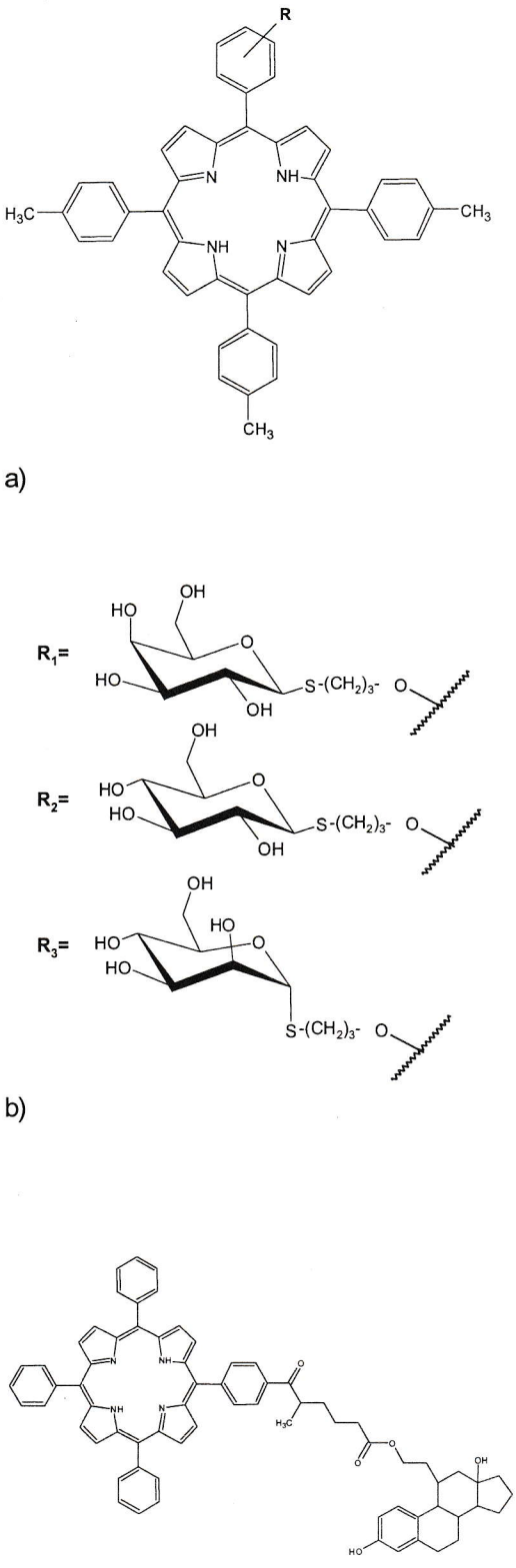


Figura 3: Fotosensibilizadores de tercera generación. a) Porfirinas glicosiladas; b) Porfirina conjugada a estradiol.

OTROS FOTOSENSIBILIZADORES

Existe una gran variedad de fotosensibilizadores del tipo no porfirínico entre los que destacan los derivados de hipericina, rodaminas y acridinas (fig. 4)[31].

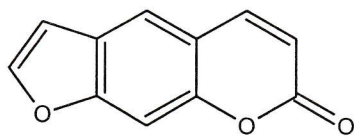
LA TERAPIA FOTODINÁMICA EN LA ACTUALIDAD

Actualmente, la terapia fotodinámica tiene aplicaciones en el tratamiento exitoso de diversos tipos de cáncer, como por ejemplo el de pulmón[32], esófago[33], vejiga[34] y páncreas[35].

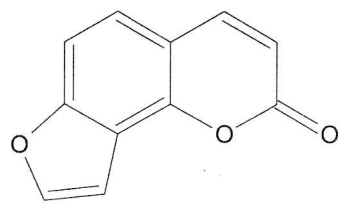
Por otro lado, los aspectos de mayor estudio y desarrollo en la actualidad lo constituyen la síntesis de nuevos fotosensibilizadores que cumplan con los requisitos anteriormente señalados, la implementación de nuevas fuentes de luz, el desarrollo de una dosimetría estándar de energía luminosa y de nuevas alternativas de hacer llegar la luz a tumores profundamente localizados y a órganos de difícil acceso.

De otro lado, el uso de fotosensibilizadores no se restringe a la terapia fotodinámica del cáncer sino que se le está utilizando en inactivación y erradicación de bacterias y virus[36]-[38].

a)



b)



c)

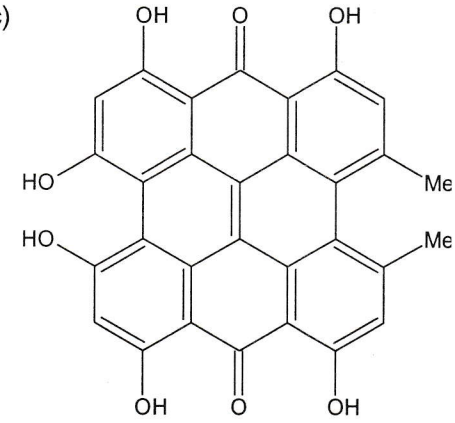


Figura 4: Fotosensibilizadores no porfirínicos: a) psoralen; b) angelicina y c) hipericina.

REFERENCIAS

[1] Zubay G., Biochemistry, WCB/McGraw-Hill, Columbia, 963-976, 1998.

[2] Fricker S., Metal Compounds in Cancer Therapy, Chapman&Hall, Suffolk. 3-10, 1994.

[3] Murray R., Bioquímica de Harper, Editorial El Manual Moderno, México. 851-873, 1994.

[4] Fricker S., Metal Compounds in Cancer Therapy, Chapman&Hall, Suffolk. 9-10, 1994.

[5] Bruce S., J. Oncol. Nursing, 5, 95-99(2001).

[6] Han D-K., Jin G., Chung B., Key Shim Y., Bull. Korean Chem. Soc., 20, 1-2(1999).

[7] Sullivan J., Jacksonville Med., 396-398(2000).

[8] Fricker S., Metal Compounds in Cancer Therapy, Chapman&Hall, Suffolk, 168-171, 1994.

[9] Harry T., Whelan E., Buchmann V., Space Technology and Applications International Forum 2001, Springer-Verlag, New York. 35-45, 2001.

[10] Quintero B., Miranda M., Ars. Pharmaceutica, 41, 27-46(2000).

[11] Kasselouri A., Bourdon O., Demore D., Photochem. Photobiol, 70, 275-279(1999).

[12] Cox W., J. Am. Chem. Soc., 104, 516-521(1982).

[13] Ibanez F., Maionchi F., Hioka N., Quim. Nova, 25, 801-807(2002).

[14] Dahle J., Steen H., Moan J., Photochem. Photobiol., 70, 363-367(1999).

[15] Oleinick N., Morris R., Belichenko I., Photochem. Photobiol. Sci., 1, 1-21(2002).

[16] Berenbaum M., J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 3135-3140(1981).

[17] Jori G., J. Photochem. Photobiol. B: Biol., 36, 87-93(1996).

[18] Kasselour A., Bourdon O., Demore D., Blais J., Prougnon P., Photochem. Photobiol., 70, 72-77(1999).

[19] Bruckner Ch., Dolphin D., Tetrahedron Lett., 36, 3295-3298(1995).

[20] Van Tenten Y., Schuitmaker J., de Groot V., Willekens B., Vrensen G., Tassignon M., Bull. Soc. Belge Opthalmol., 278, 61-66(2000).

[21] McKeown N., Phthalocyanine Materials: Synthesis, Structure and Function, University Press, Cambridge. 1998.

[22] Reddan J., Photochem. Photobiol., 70, 72-77(1999).

[23] Gaud E., Can. J. Chem., 74, 481-499(1996).

[24] Fricker S., Metal Compounds in Cancer Therapy, Chapman&Hall, Suffolk, 170-171, 1994.

[27] Miller J., Schmidt U., Sickenberg M., Arch. Opthalmol., 117, 1161-1173(1999).

[25] Murray R., Bioquímica de Harper, Editorial El Manual Moderno, México. 395-396, 1994.

[26] Huber G., Levy J., Seminars in Ophthalmology, 16, 1-5(2001).

[28] Kostenich G., J. Porphyrins Phthalocyanines, 2, 383-390(1998).

[29] Milgrom L., O'Neill F., Tetrahedron, 51, 2137-2144(1995).

[30] Swamy N., Bioorg. Med. Chem., 10, 3237-3243(2002).

[31] Wainwright M., Chem. Soc. Rev., 351-359(1996).

[32] Simoff M., Cancer Control, 8, 337-343(2001).

[33] Bast R., Kufe D., Pollock R., Weichselbaum R., Holland J., Frei E., Cancer Medicine, Decker Inc., Ontario. 399, 2000.

[34] Shackley D., Betts C., Briggs C., Expert Rev. anticancer Ther., 1, 523-530(2001).

[35] Bown S., Rogowska A., Gut, 50, 549-557(2002).

[36] Rywkin S., Ben-Hur E., Malik Z., Prince A., Li Y., Kenney M., Oleinick N., Horowitz B., Photochem. Photobiol., 60, 165-170(1994).

[37] Merchat M., Giacomoni P., Villanueva A., Bertoloni G., Jori G., J. Braz. Chem. Soc., 6, 123-125(1995).

[38] Kassab K., Dei D., Roncucci G., Jori G,; Copellotti O., Photochem. Photobiol. Sci, 2, 668-672(2003).