

Fármacos fotoactivables: una nueva era para la terapia de precisión

Marc López Cano, Glòria Salort y Francisco Ciruela.

Departamento de Patología y Terapéutica Experimental, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Instituto de Neurociencias, IDIBELL, Universidad de Barcelona.

Presentación

“Y a ti, Frodo Bolsón, te entrego la luz de Eärendil, nuestra más preciada estrella. Que ella te ilumine en los lugares oscuros, cuando las demás luces se apaguen”.

No cabe duda de que la luz ha sido siempre un elemento inspirador para el arte, la literatura, la arquitectura y otras disciplinas humanas. Pero ¿qué sucede con la ciencia? En particular, ¿qué papel puede desempeñar este fenómeno natural en la investigación biomédica? Desde tiempos inmemoriales, se han estudiado las propiedades físicas de la luz, lo que eventualmente llevó a explorar su uso con fines experimentales en sistemas vivos. Inicialmente, la luz se empleó para manipular la actividad de biomoléculas específicas, marcando el inicio de su aplicación como una herramienta capaz de transformar la actividad biológica en organismos complejos. Esta idea no tardó en trasladarse al ámbito de la farmacología, donde se ha explorado como modular la actividad farmacológica mediante la luz, con la finalidad de refinar los tratamientos actuales, de enfermedades que achacan nuestra sociedad, aportando luz “cuando las demás luces se apaguen”...

Resumen

La fotofarmacología utiliza la luz para controlar de manera precisa la actividad intrínseca de compuestos químicos que actúan sobre dianas terapéuticas conocidas. La aplicación controlada de luz sobre el tejido diana, tras la administración sistémica de un fotofármaco inactivo, facilita su conversión local a una configuración activa, permitiendo una acción farmacológica de alta resolución espaciotemporal. Esta actividad farmacológica localizada reduce efectos indeseables en otros tejidos y órganos, mejorando la seguridad y eficacia del tratamiento. Existen dos tipos de fotofármacos, según la reversibilidad de su activación: los compuestos fotolábiles y los compuestos fotoconmutables. Los compuestos fotolábiles son aquellos cuya activación por luz es irreversible, una vez que son activados por luz, no pueden regresar a su configuración inactiva. Por otro lado, los compuestos fotoconmutables, una vez activados con luz, tienen la capacidad de volver a su forma inactiva tras irradiación con luz de longitud de onda diferente, lo que permite una regulación más precisa de su actividad. En este artículo veremos un ejemplo de compuesto fotolábil, la “morfina-enjaulada” (del inglés caged-morphine), y otro de un compuesto fotoconmutable, el MRS7787, un agonista del receptor A3 de adenosina, capaz de reducir la inflamación inducida por interleucina 23 en un modelo animal de psoriasis..

Palabras clave

Fotofármaco, luz, dolor, psoriasis, efectos adversos.

Conflicto de intereses

Este artículo no presenta conflicto de interés

Summary

Photopharmacology uses light to control the intrinsic activity of chemical compounds targeting specific therapeutic pathways. By applying light to the target tissue after the systemic administration of an inactive photodrug, the compound is locally converted to its active configuration, enabling pharmacological action with high spatiotemporal resolution. This localized activity minimizes off-target effects on other tissues and organs, enhancing the safety and efficacy of treatments. Photodrugs are classified based on the reversibility of their activity: photocaged compounds and photoswitchable compounds. Photocaged compounds undergo irreversible activation by light; thus, once activated, they cannot revert to their inactive configuration. In contrast, photoswitchable compounds, after light activation, can revert to their inactive state when exposed to light of different wavelengths, allowing for more precise regulation of their activity. This article explores an example of a photocaged compound, pc-Morphine, and a photoswitchable compound, MRS7787, an adenosine A3 receptor agonist that can reduce inflammation induced by interleukin 23 in an animal model of psoriasis..

Key words

Photodrug, light, pain, psoriasis, adverse effects.

Conflict of interests

This article does not present a conflict of interest.

INTRODUCCIÓN

La fotofarmacología combina avances en química, biología, física y bioingeniería para diseñar ligandos cuya actividad intrínseca pueda ser controlada mediante luz. La capacidad de activar y desactivar fármacos localmente mediante la irradiación con luz del tejido diana constituye una estrategia prometedora para superar algunas de las limitaciones de la farmacología convencional, especialmente en lo que respecta a los efectos adversos de los fármacos tradicionales. Así, los compuestos químicos utilizados en fotofarmacología, denominados fotofármacos, están optimizados para aprovechar la energía de la luz y alterar su configuración química, permitiendo un control espaciotemporal preciso de su actividad farmacológica (Silva et al., 2019). Existen dos tipos principales de fotofármacos: i) los compuestos fotolábiles, y ii) los compuestos fotoconmutables (Figura 1). Es importante destacar que, al igual que ocurre con un fármaco convencional, los fotofármacos pueden tener una gran variedad de dianas biológicas, como por ejemplo receptores acoplados a proteínas G (GPCRs), canales iónicos, enzimas, transportadores y bombas celulares (Hüll et al., 2018), entre otros. Eventualmente, la fotofarmacología se nutre fármacos empleados rutinariamente en la práctica clínica, transformándolos en fotosensibles, de manera que sus propiedades fisicoquímicas puedan ser alteradas mediante luz y así su actividad farmacológica. De este modo, se consigue controlar los efectos farmacológicos descritos para ese fármaco tras irradiar el tejido diana con luz de determinada longitud de onda, mientras que permanece inactivo en tejidos y órganos no irradiados, lo que permite reducir o evitar algunos de los efectos adversos estrechamente asociados a su uso. En consecuencia, esta tecnología podría incluso ofrecer una oportunidad para recuperar algunos fármacos que fueron descartados en fase III de ensayos clínicos debido a la aparición de efectos adversos, especialmente de aquellos relacionados con la falta de resolución espacial y/o temporal y que ponen en compromiso el balance beneficio/riesgo del tratamiento. Así, modificar estos fármacos para hacerlos sensibles al control lumínico, podría suponer una forma ingeniosa de recuperar parte de la inversión realizada en su desarrollo, tanto en términos de tiempo como de recursos.

¿POR QUÉ NECESITAMOS UNA VISIÓN DIFERENTE EN FARMACOLOGÍA?

La farmacología ha recorrido un largo camino en la mejora de la calidad de vida de los pacientes, pero, desafortunadamente, no está exenta de limitaciones inherentes. Estas incluyen tanto la falta de especificidad espacial (en tejidos biológicos) y temporal en los tratamientos como la aparición de efectos adversos asociados a los fármacos convencionales. A medida que la disciplina avanza, la necesidad de generar nuevos y mejorados tratamientos se hace evidente, particularmente en áreas donde los enfoques tradicionales no han logrado proporcionar soluciones satisfactorias. Estas limitaciones han impulsado la mejora química de fármacos existentes, para optimizar su eficacia y seguridad, y adicionalmente, la búsqueda de tecnologías innovadoras como las técnicas ópticas aplicadas al control farmacológico.

La creciente demanda por tratamientos más seguros y efectivos ha dado lugar a enfoques multidisciplinarios que combinan avances en química, biología, física y tecnología. Estas aproximaciones buscan abordar retos complejos con soluciones innovadoras, destacando el rol crucial de la luz como herramienta terapéutica en disciplinas emergentes como la fotofarma-

cología. Este enfoque integra estrategias ópticas con tecnologías miniaturizadas, maximizando su aplicabilidad tanto en investigación como en la clínica. Además, la fotofarmacología no solo complementa otras terapias, sino que también abre nuevas fronteras en el diseño de tratamientos personalizados.

En este contexto, la fotofarmacología emerge como un enfoque innovador y prometedor. Utiliza compuestos químicos fotosensibles, conocidos como fotofármacos, que responden a la irradiación con luz para activar o desactivar su acción farmacológica. Una de sus ventajas clave frente a otras técnicas ópticas es que no requiere manipulación genética, lo que la hace una opción más viable para su aplicación clínica en humanos. Además, la irradiación puede realizarse de forma localizada mediante fuentes externas de luz o dispositivos implantables, como fibras ópticas, microchips, microLEDs e implantes electrónicos, entre muchos otros, permitiendo así un control espaciotemporal sin precedentes. Esta capacidad para dirigir la acción farmacológica de manera no invasiva amplía enormemente las aplicaciones potenciales de estos compuestos.

En comparación con otras disciplinas como la optogenética, que requiere alteraciones genéticas para su eficacia, la fotofarmacología presen-

ta un enfoque menos invasivo y potencialmente más escalable. Además, la posibilidad de ajustar la intensidad y duración de la luz permite un control farmacológico extremadamente preciso. Esta tecnología está en constante evolución, incluyendo avances en la biocompatibilidad de los dispositivos utilizados y en la eficiencia de las fuentes de luz.

HISTORIA DE LA FOTOFARMACOLOGÍA

La luz ha sido un fenómeno cautivador y fascinante a lo largo de la historia, suscitando el interés de múltiples disciplinas. La capacidad de ciertos organismos, como algunos peces, insectos y hongos para emitir luz de manera natural (proceso llamado bioluminiscencia), ha sido un tema de estudio a lo largo de los siglos. Esta propiedad biológica, documentada ya por Aristóteles en el siglo IV a.C., ha inspirado, en el ámbito científico, la idea del desarrollo de estrategias que emplean la luz como una herramienta de investigación. El estudio de la bioluminiscencia y la comprensión de los mecanismos mediante los cuales se produce, establecieron los cimientos y sentaron las bases para la exploración de otros mecanismos de producción de luz en la naturaleza, lo que eventualmente condujo al descubrimiento del fenómeno de fluorescencia. Estos conocimientos han permitido la aparición de gran variedad de aplicaciones indispensables en el desempeño

experimental rutinario de cualquier laboratorio de investigación.

A finales del siglo pasado, se propuso la idea de emplear la luz para controlar selectivamente la actividad neuronal en el cerebro. Pocos años después, en 2002, se desarrolló un método pionero que utilizó la luz para controlar neuronas previamente sensibilizadas mediante técnicas genéticas, lo que finalmente condujo al desarrollo de las ampliamente usadas técnicas de optogenética. Esta nueva disciplina fue considerada método del año en la revista *Nature Methods* en 2010. Desde entonces, otros métodos que se basaban en el uso de la luz fueron desarrollados y mejorados, incluyendo, entre ellos, las técnicas de fotofarmacología.

Actualmente coexisten al menos tres áreas científicas que emplean la luz con la finalidad de controlar la actividad biológica (**Figura 1**): **A**) la optogenética, **B** y **C**) la farmacología optogenética (también llamada tethered photopharmacology) y **D**) la fotofarmacología (o optofarmacología) (Silva et al., 2019).

La popular optogenética, es una técnica que combina los conocimientos de genética y la luz, y se basa en el uso de los cromóforos naturales (i.e. las opsinas) para diseñar proteínas que, al ser expuestas a la luz, permiten el control de la actividad de células específicas. Por otro lado, la farmacología optogenética consiste en el uso de

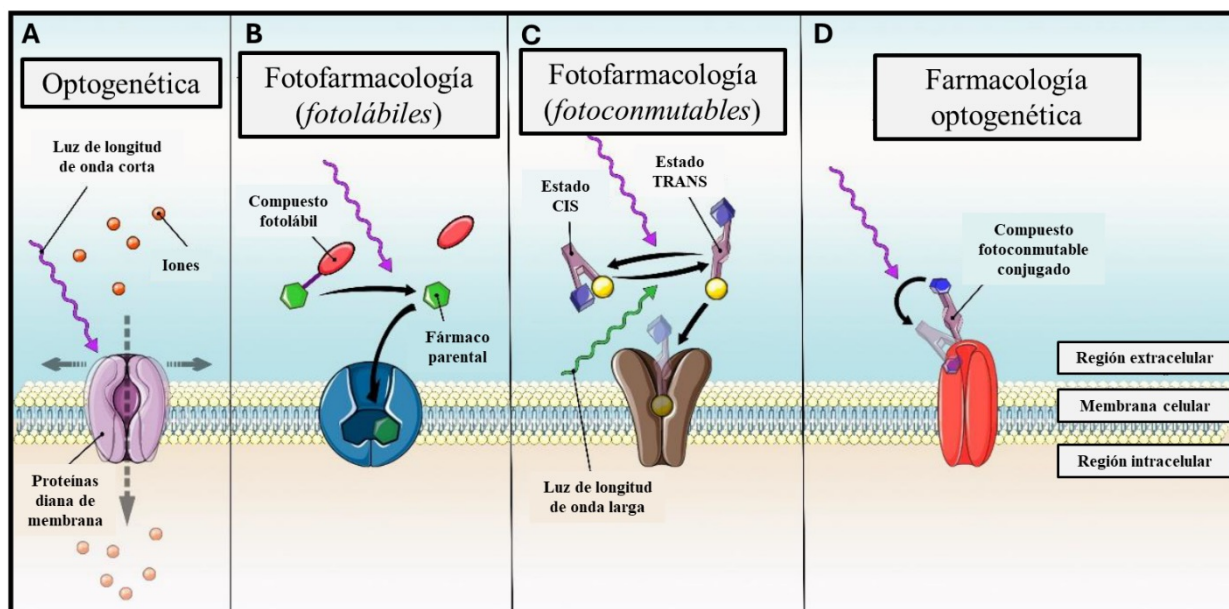


Figura 1. Herramientas fotoquímicas para controlar la función celular. La optogenética (A) es una aproximación fotoquímica que emplea la luz para controlar la función de biomoléculas modificadas genéticamente. La fotofarmacología (B y C) utiliza la luz para modificar la actividad intrínseca de moléculas químicas fotosensibles. Existen dos tipos de fotofármacos, los compuestos fotolábiles (B) y los fotoconmutables (C). Los compuestos fotolábiles, en inglés “caged compounds”, son activados de manera irreversible tras la exposición a luz de una determinada longitud de onda, mientras que los compuestos fotoconmutables, del inglés “photoswitches”, son compuestos que pueden cambiar de una conformación activa a una inactiva de manera reversible mediante la irradiación de luz de diferentes longitudes de onda. (D) La farmacología optogenética se basa en el uso de ligandos unidos covalentemente a sus biomoléculas efectoras y que mediante el uso de luz la interacción entre ellas puede ser promovida o impedida. Figura adaptada de: Tesis doctoral: GPCR photopharmacology in inflammation & pain (2020).

ligandos covalentemente unidos a su receptor diana, ya sea a un residuo nativo del receptor o a uno producido por ingeniería genética. Este enfoque facilita una respuesta rápida y efectiva de los fármacos, debido a la elevada concentración local y la imposibilidad de este a difundir. En este caso la irradiación de luz induce un cambio conformacional que promueve la unión del ligando a su lugar de acción en el receptor.

Finalmente, la fotofarmacología ofrece una ventaja singular frente a las otras dos disciplinas: elimina por completo la necesidad de manipulación genética. Esta característica permite el uso de proteínas endógenas como dianas farmacológicas, lo que proporciona un control excepcionalmente preciso sobre los efectos terapéuticos, sin necesidad de alterar la genética celular. Esta capacidad de actuar sobre sistemas biológicos naturales marca una diferencia fundamental y significativa para su potencial aplicación en la práctica clínica tanto humana como veterinaria.

Desafortunadamente, a pesar de sus prometedoras ventajas, la fotofarmacología se enfrenta a retos que dificultan su translacionalidad hacia aplicaciones clínicas efectivas. Para avanzar en esta dirección, es esencial abordar dos aspectos clave: i) el diseño de fotofármacos con mecanismos de acción precisos y propiedades de fotoactivación optimizadas, para poder ser usados de forma segura y efectiva; ii) el desarrollo de fuentes de luz bio-compatibles, capaces de alcanzar tejidos profundos y de manera segura con relación a las prácticas médicas actuales. Aun con estos desafíos, el campo ha experimentado avances significativos en los últimos años.

INNOVACIÓN EN EL DISEÑO MOLECULAR

La característica distintiva de la fotofarmacología consiste en combinar moléculas químicas fotosensibles, o fotofármacos, con una fuente de luz capaz de modular las características fisicoquímicas de estas y así su actividad farmacológica. Los fotofármacos se dividen, principalmente, en dos grupos:

A) Compuestos fotolábiles

Estos fotofármacos, permanecen inactivos hasta que son activados irreversiblemente por una longitud de onda específica de luz, como por ejemplo los basados en cumarinas. Su activación permite una alta resolución espacial, pero presenta limitaciones en la temporalidad, ya que una vez activados, no pueden ser desactivados. Esto implica que su efecto no puede ser revertido, lo

que puede limitar su uso en aplicaciones donde se requiera un control dinámico continuo de la actividad farmacológica, lo que plantea un reto para su aplicación en contextos clínicos donde se requiera ajustar o interrumpir el tratamiento de manera precisa. Además, su uso puede generar subproductos químicos cuya toxicidad potencial debe ser considerada en el diseño de futuras versiones. Sin embargo, sus propiedades los hacen ideales para aplicaciones donde se requiera un inicio rápido y sostenido del efecto terapéutico.

B) Compuestos fotoconmutables

En contraste, los fotofármacos fotoconmutables, como los basados en azobencenos, ofrecen la posibilidad de alternar entre estados activos e inactivos mediante irradiación con diferentes longitudes de onda. Si bien esta reversibilidad proporciona un control temporal superior, una de sus principales desventajas es que muchos de ellos son activos en su estado basal y se inactivan al irradiar, lo que limita su aplicabilidad clínica. Sin embargo, actualmente se están desarrollando compuestos basados en diazocinas que funcionan de manera opuesta, siendo inactivos inicialmente y activándose con luz, representando un avance significativo para su uso terapéutico. Además, se está investigando cómo mejorar la estabilidad y sensibilidad de estos compuestos para garantizar su eficacia en entornos más complejos.

APLICACIONES PRECLINICAS Y CLINICAS POTENCIALES

La fotofarmacología, con su capacidad de control espaciotemporal de la actividad farmacológica, se perfila como una alternativa innovadora complementaria a las estrategias farmacológicas tradicionales. Este enfoque tiene aplicaciones tanto en la investigación preclínica como en la clínica, donde puede complementar o mejorar las terapias existentes.

1) Investigación preclínica

Los fotofármacos han demostrado ser herramientas clave para investigar procesos biológicos complejos.

- En el sistema nervioso central, por ejemplo, se está utilizando su capacidad para activar o desactivar regiones específicas mediante irradiación dirigida, facilitando el estudio de circuitos neuronales, cuya complejidad radica en las amplias redes de conexiones y en

los circuitos interdependientes que regulan funciones discretas. Esta precisión también está ayudando a identificar nuevas dianas terapéuticas y a comprender mecanismos fisiopatológicos. La capacidad de modular estas redes de manera localizada, permite obtener información crucial sobre patologías neurodegenerativas y trastornos psiquiátricos.

- En el sistema inmune, donde las interacciones moleculares y celulares son extremadamente complejas, los fotofármacos están permitiendo diseccionar funciones específicas de ciertas células o mediadores inmunes. Esta capacidad está facilitando el entendimiento de las redes inmunológicas y su implicación en enfermedades autoinmunes e inflamatorias, abriendo nuevas líneas de investigación y desarrollo terapéutico. Además, la posibilidad de controlar respuestas inmunes de manera precisa está contribuyendo al desarrollo de terapias más efectivas y seguras para un amplio espectro de enfermedades.

2) Aplicaciones clínicas y mejora de terapias existentes

Los fotofármacos están siendo investigados para su aplicación en diversas patologías clínicas, que se pueden categorizar en:

- Enfermedades de dolor crónico: Se están desarrollando analgésicos derivados de opioides controlados por luz que mantienen su actividad analgésica sin los efectos secundarios típicos como la tolerancia, la adicción o el estreñimiento. Además, se está explorando la posibilidad de combinar estos compuestos con otras terapias no farmacológicas para mejorar aún más la experiencia del paciente y reducir los riesgos asociados. Esta combinación podría ofrecer una alternativa viable para pacientes con dolor crónico severo.
- Enfermedades inflamatorias o inmunes: En patologías autoinmunes como la artritis reumatoide o la psoriasis, los investigadores están explorando el uso de fotofármacos para modular respuestas inflamatorias de manera precisa. En el caso de la psoriasis, donde la luz ya es una parte integral de la terapia, los fotofármacos ofrecen una aproximación multimodal, combinando la acción directa de la luz con la activación localizada del fármaco, minimizando efectos secundarios sistémicos y mejorando la eficacia terapéutica.
- Cáncer: Se están investigando fotofármacos citotóxicos que tienen el potencial de preservar los tejidos circundantes en tratamientos oncológicos. Al activarse exclusivamente en el tejido tumoral, estos compuestos podrían reducir significativamente los daños colaterales asociados a las terapias tradicionales, aumentando la seguridad para los pacientes. Además, estas aproximaciones permiten combinar la quimioterapia con estrategias fototérmicas para potenciar los resultados clínicos.
- Antibióticos: En el ámbito de las infecciones bacterianas, se están desarrollando antibióticos controlables mediante la luz, que permitirán tratar infecciones resistentes con una mayor especificidad. Este enfoque podría revolucionar el manejo de la resistencia bacteriana al reducir los efectos adversos asociados a los tratamientos convencionales. Además, se está explorando su uso combinado con terapias convencionales para aumentar su efectividad.
- Otros: Además, se están explorando aplicaciones en otras áreas, como enfermedades neurodegenerativas o metabólicas, donde el control espaciotemporal de los fotofármacos podría abrir nuevas oportunidades terapéuticas.

EJEMPLOS DE FOTOFÁRMACOS

1) Morfina fotolábil

1.1. Elección del compuesto parental

Se seleccionó la morfina como fármaco de referencia para el desarrollo de un fotofármaco opioide debido a su alta eficacia analgésica, especialmente en el tratamiento del dolor crónico y severo, aunque presenta efectos adversos significativos. Considerada uno de los opioides incluidos en la última fase de la escalera analgésica de la OMS, la morfina se emplea ampliamente en la práctica clínica para proporcionar un alivio rápido y efectivo del dolor. Sin embargo, su uso prolongado está asociado con múltiples efectos adversos, incluyendo el desarrollo de tolerancia, dependencia y otros efectos secundarios como estreñimiento y depresión respiratoria, lo que resulta particularmente problemático en tratamientos crónicos. Estas limitaciones reducen su aplicabilidad y aumentan el riesgo de abuso, lo que subraya la necesidad urgente de alternativas terapéuticas que conserven su eficacia analgésica mientras minimizan estos riesgos. En este contexto, la morfina se presenta como un candidato

idóneo para demostrar las posibles ventajas terapéuticas de la fotofarmacología en comparación con la farmacología tradicional.

1.2. Diseño químico

El diseño del fotofármaco basado en morfina, denominado morfina fotolábil (Pc-mor, por sus siglas en inglés photo-caged morphine; **Figura 2A**), se basa en el bloqueo de la actividad intrínseca de la morfina mediante la incorporación de un derivado de cumarina a su estructura química. Así, la cumarina se une covalentemente, mediante un enlace fotosensible, a un dominio de la molécula que resulta clave en su interacción con las dianas biológicas (i.e., receptores opioides), actuando, así como una barrera estérica fotolábil. En el caso de Pc-mor, esta se sintetiza mediante un proceso que implica la adición de la cumarina 4-(bromometil)-7-(dietilamino)-2H-cromeno-2-ona (DEACM), a la morfina mediante un enlace bencílico (**Figura 2A**). No obstante, esta condición de bloqueo químico puede revertirse mediante la irradiación con luz de longitud de onda compatible con el espectro de absorción de la cumarina, causando la rotura del enlace fotosensible y permitiendo la liberación de la morfina (activa) exclusivamente en el sitio donde se produce dicha irradiación. La selección del enlace fotosensible es crucial, ya que debe ser lo suficientemente estable en ausencia de luz para evitar la liberación espontánea fuera del sitio de acción, pero a la vez susceptible de producir foto-

liberación con sistemas de irradiación de uso biológico. Este diseño busca optimizar la precisión de la activación del fármaco, asegurando que la liberación de morfina activa se limite a áreas específicas, como los tejidos afectados por el dolor, reduciendo así la aparición de efectos secundarios.

1.3. Propiedades fotoquímicas

La fotoactivación de Pc-mor se logra tras irradiar el compuesto a una longitud de onda específica (i.e. 405 nm), garantizando la liberación de la morfina en condiciones controladas (**Figura 2A**). Las mediciones espectrofotométricas del compuesto Pc-mor, mostraron un pico de absorción a 394 nm similar al del derivado de cumarina, confirmando que el compuesto no absorbe de manera significativa en la región visible. Tras irradiar con luz de 405 nm (violeta), se observó un cambio espectral característico de la fotólisis del enlace bencílico de la cumarina y, por consiguiente, la liberación de la morfina. Estos cambios fueron validados mediante análisis de espectrometría de masas, lo que corroboró la eficacia del proceso de fotólisis en la liberación controlada de morfina. Consecuentemente, la eficiencia del proceso de fotólisis fue cuantificada mediante el rendimiento cuántico de esta ($\Phi_{chem}=0.004$), lo que se alinea con comportamientos fotoquímicos observados para otros compuestos con grupos hidroxilo protegidos mediante derivados de cumarina, como el DEACM.

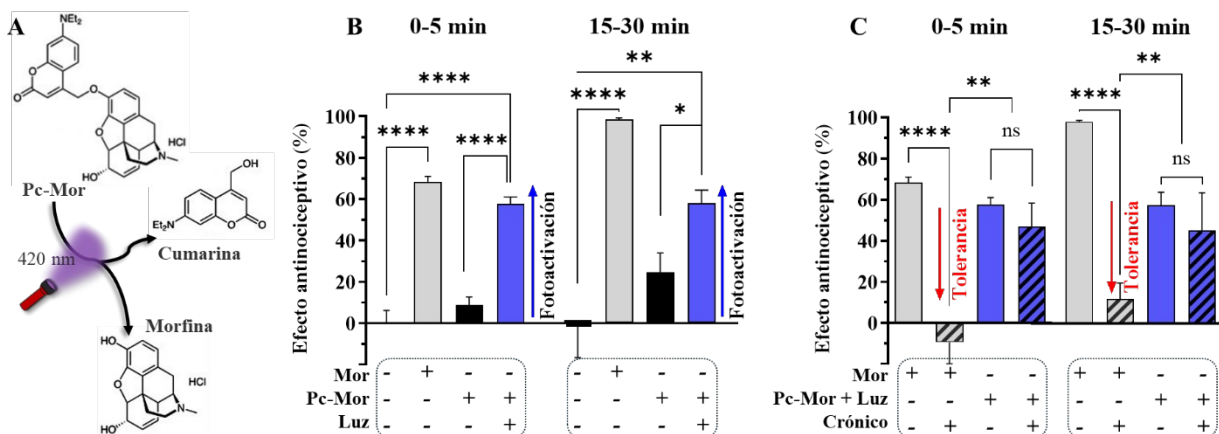


Figura 2. Fotoactivación de morfina fotolábil en un modelo murino de dolor. (A) Estructura química de la morfina fotolábil (Pc-Mor) y proceso de fotoliberación de morfina mediante irradiación con luz de 420 nm. En este proceso se genera también cumarina como subproducto. (B) Control óptico del efecto antinociceptivo de la morfina en el modelo animal de dolor basado en la administración intraplantar de formalina. Los animales son tratados (i.p.) con vehículo (solución salina), morfina (Mor, 10 mg·kg⁻¹) o morfina fotolábil (pc-Mor, 10 mg·kg⁻¹), 20 minutos antes de la irradiación a 420 nm o manipulados como control (oscuridad) durante 15 minutos. Seguidamente, se determina el tiempo total que invierten en lamerse la pata trasera durante los primeros 5 minutos (Fase I: 0-5 min) y los últimos 15 minutos (Fase II: 25-30 min) tras una inyección intraplantar de 20 µl de solución de formalina (2.5% paraformaldehído). El efecto antinociceptivo se determina como el porcentaje del efecto máximo posible. (C) Reducción de la tolerancia a morfina mediante el fotocontrol de la liberación de morfina mediante luz. Los animales se tratan (i.p.) de forma crónica (dos veces al día, durante 5 días) con vehículo (solución salina), morfina (Mor, 10 mg·kg⁻¹) o morfina fotolábil (pc-Mor, 10 mg·kg⁻¹), 20 minutos antes de la irradiación a 420 nm en la pata trasera administrada con formalina (ver B). Finalmente, en el último día de tratamiento, se determinó la antinocicepción y se compararon los resultados con los obtenidos tras un tratamiento agudo (primer día). Los resultados se expresan como la media ± S.E.M., n = 5–6 ratones por grupo. ****P < 0,001, **P < 0,01, *P < 0,05 ANOVA unidireccional con prueba de comparación múltiple de Dunnett utilizando el grupo vehículo como control. Figura adaptada de: López-Cano et al., 2023.

1.4. Eficacia farmacológica in vitro

Para validar la eficacia de fotoactivación de Pc-mor, se realizaron experimentos en distintos tipos de células (i.e., células HEK y cultivos primarios de neuronas) con el objetivo de evaluar su capacidad para activar selectivamente el receptor μ -opioide (MOR) tras irradiación controlada. En ensayos de determinación de calcio intracelular en células HEK293 que expresaban MOR de manera estable, se demostró que la exposición a luz de 405 nm inducía un aumento significativo en la acumulación de calcio intracelular en células tratadas con Pc-mor, evidenciando su fotoactivación. De manera interesante, este incremento en los niveles de calcio fue comparable al observado con morfina libre, lo que respalda la capacidad de Pc-mor para activar los receptores opioides de manera efectiva bajo condiciones controladas de luz. Adicionalmente se evaluaron los efectos de Pc-mor sobre la actividad eléctrica de cultivos primarios de neuronas de los ganglios de la raíz dorsal (DRG) extraídos de ratones. Así, mediante técnicas de electrofisiología (i.e., “patch-clamp”) se determinó que las neuronas tratadas con Pc-mor e irradiadas con luz de 405 nm mostraron una disminución significativa en la frecuencia de los potenciales de acción, lo que indica que la activación de los MOR provoca un efecto inhibitorio sobre la actividad neuronal, un fenómeno característico de los opioides. Este efecto era comparable al obtenido al aplicar morfina a los mismos cultivos neuronales (López-Cano et al., 2023).

1.5. Eficacia antinociceptiva

En estudios realizados en un modelo de dolor basado en la administración intraplantar de formalina en ratón, la Pc-mor administrada sistémicamente mostró una potente acción antinociceptiva dependiente de luz, tanto tras irradiación periférica de las patas traseras como mediante fibras ópticas implantadas en la médula espinal (López-Cano et al., 2023). Estos hallazgos sugieren que la activación fotoquímica de Pc-mor es una estrategia eficaz para inducir analgesia en distintas regiones del sistema nervioso. Además, proporcionan evidencia adicional de que Pc-mor podría representar una solución viable para el tratamiento del dolor crónico, permitiendo un control preciso de la liberación del fármaco y reduciendo potencialmente los efectos adversos asociados a los opioides convencionales.

Los experimentos en los que se irradiaron las patas traseras de los ratones confirmaron que la Pc-mor, administrada sistémica y posteriormente irradiada en el sitio periférico, produjo efectos

antinociceptivos significativos en el ensayo de formalina (**Figura 2B**). Sin embargo, aunque los efectos de la Pc-mor irradiada fueron significativos, no alcanzaron los niveles de eficacia observados tras la administración sistémica de morfina. Estos resultados sugieren que, aunque la Pc-mor activada periféricamente es eficaz, su capacidad para aliviar el dolor agudo periférico es algo inferior a la de la morfina sistémica, probablemente debido a una liberación incompleta del fármaco a nivel sistémico. Por otro lado, para evaluar la eficacia antinociceptiva de Pc-mor a nivel central, se realizó una irradiación epidural de la médula espinal mediante un implante de fibra óptica flexible en la región lumbar de los ratones (i.e., secciones lumbares correspondientes a los segmentos L4-5). Los resultados mostraron que, en condiciones sin irradiación, la Pc-mor no produjo efectos antinociceptivos. Sin embargo, tras la irradiación directa de la médula espinal, la Pc-mor indujo una analgesia significativa en el modelo de formalina. Estos efectos fueron comparables a los observados con la morfina sistémica, lo que sugiere que la activación epidural de Pc-mor es altamente eficaz para bloquear la sensibilización central asociada con el dolor.

1.6. Reducción de los efectos adversos

La terapia analgésica basada en opioides, aunque efectiva, conlleva riesgos de desarrollo de tolerancia al efecto analgésico, así como de efectos secundarios significativos, como estreñimiento, dependencia y adicción. Uno de los principales objetivos de implementar una estrategia fotofarmacológica con esta familia de fármacos es minimizar dichos efectos adversos. En este sentido, lo primero que evaluamos fue el desempeño antinociceptivo de Pc-mor en un tratamiento crónico, con el fin de evaluar el posible desarrollo de tolerancia. Para tal fin, se administró morfina o Pc-mor de manera crónica a ratones antes de evaluar el comportamiento nocifensivo inducido por formalina. Como era de esperar, la administración crónica de morfina resultó en el desarrollo significativo de tolerancia a sus efectos antinociceptivos (**Figura 2C**). Sin embargo, el tratamiento crónico con Pc-mor no indujo tolerancia, sugiriendo que este tratamiento podría evitar la tolerancia típica de los opioides tras una administración prolongada (i.e., 5 días).

Seguidamente, se investigó si Pc-mor producía estreñimiento, uno de los efectos secundarios más desagradables del uso crónico de opioides. Para ello, se evaluó el tránsito gastrointestinal (TGI) en ratones tras la administración crónica de morfina o Pc-mor. Así, mientras que la morfina generó una reducción notable, e independiente

de la iluminación, del TIG, la Pc-mor no produjo alteraciones en el TIG en las mismas condiciones experimentales. Estos resultados respaldan el uso de Pc-mor como una estrategia para lograr analgesia sin los efectos adversos sistémicos de los opioides tradicionales.

Para explorar la posibilidad de dependencia, se utilizó el paradigma de preferencia condicionada al lugar, un modelo estándar de estudio de los efectos de recompensa de drogas en roedores. Este modelo mide los efectos reforzantes de un fármaco mediante condicionamiento clásico, promoviendo la preferencia del animal a pasar más tiempo en la zona donde ha recibido la administración de la droga, en comparación a otra cámara donde solo ha recibido el vehículo. Así, mientras que la morfina indujo una preferencia significativa por el compartimento asociado a la droga, la Pc-mor no generó dicha preferencia, independientemente de la iluminación. Esto sugiere que la liberación localizada de morfina a través de la Pc-mor no tiene efectos reforzantes centrales, lo cual es clave para evitar la dependencia a opioides.

Finalmente, se evaluó la presencia de síndrome de abstinencia precipitado por naloxona (antagonista MOR) en ratones tratados crónicamente con opioides. Se midieron parámetros conductuales típicos de este síndrome, como temblores, sacudidas corporales, masticación vacía, saltos, diarrea, entre otros. Mientras que en los ratones tratados con morfina la administración de naloxona indujo síntomas significativos de abstinencia en estos parámetros, los ratones tratados con Pc-mor no mostraron signos de abstinencia.

En conjunto, estos hallazgos proporcionan una base prometedora para el desarrollo de un tratamiento basado en opioides fotosensibles, capaz de proporcionar efectos analgésicos con una reducción significativa de los efectos adversos asociados al uso crónico de estos fármacos.

2) MRS7787 fotoconmutable

2.1. Elección del compuesto parental

El compuesto de referencia, IB-MECA (N6-(3-iodobenzil)-adenosine-5'-N-methyluronamide) o piclidenoson es un agonista altamente selectivo del receptor A_3 de adenosina (A_3R), investigado por sus propiedades antiinflamatorias, neuroprotectoras y antitumorales (Cohen et al., 2019). Actualmente, se encuentra en fase 3 de ensayo clínico para el tratamiento de la artritis reumatoide y la psoriasis (Papp et al., 2024). No obstante, la expresión ubicua del A_3R en el organismo plantea el riesgo de efectos secundarios, lo que re-

salta la necesidad de desarrollar estrategias que permitan una activación localizada del receptor. En este contexto, se propone una aproximación fotofarmacológica como una alternativa innovadora para lograr un control espacial y temporal de la activación del A_3R .

2.2. Diseño químico

El fotofármaco derivado de piclidenoson, MRS7787, presenta un diseño químico más innovador que Pc-mor, ya que se trata de un compuesto fotoconmutable, es decir, con capacidad de activarse y desactivarse en función del tipo de luz que absorbe. Para este propósito, se incorpora a la estructura química del piclidenoson un derivado fotoconmutable denominado diazocina. Este derivado químico confiere al MRS7787 una notable estabilidad térmica en su estado inactivo (configuración **Z**) en condiciones de oscuridad (Figura 3A). Esta característica representa una ventaja significativa sobre otros fármacos fotoconmutables basados en azobencenos, los cuales suelen ser activos en ausencia de irradiación, lo que resulta contraintuitivo desde el punto de vista terapéutico. La síntesis química de MRS7787 es más complicada que la del compuesto fotolábil Pc-mor, ya que requiere la preparación previa de un derivado de diazocina reactivo, un paso particularmente complejo. Una vez generada la diazocina reactiva, esta se une inicialmente a un análogo de purina, específicamente un esqueleto modificado de adenosina, para finalmente obtener el MRS7787.

2.3. Propiedades fotoquímicas

La caracterización fotoquímica de MRS7787 incorporó el análisis de sus propiedades fotofísicas, enfocándose en el análisis espectro de absorbancia de sus distintos isómeros. Como se ha reportado para otros derivados de diazocina, el isómero **Z**-MRS7787 presenta un pico de absorbancia moderada en torno a los 400 nm (máximo = 398 nm). La irradiación con luz violeta (405 nm) generó cambios espectrales compatibles con una fotoisomerización **Z**→**E**, manifestados en una disminución de la absorbancia de **Z**-MRS7787 y la aparición de un nuevo pico desplazado hacia el rojo, concretamente a 480 nm, característica de los compuestos **E**-diazocina. La marcada separación entre ambos picos de absorbancia permitió una fotoconmutación **Z**→**E** altamente eficiente, alcanzando un estado fotoestacionario con un 79% de MRS7787 en su forma activa (**E**) tras irradiación con luz violeta. La exposición posterior a luz verde (532 nm) indujo una rápida fotoisomerización **E**→**Z**, con una recuperación casi total de la absorbancia correspondiente al compuesto

Z-MRS7787. Sin embargo, la retroisomerización térmica $E \rightarrow Z$ en oscuridad ocurrió en una escala temporal mucho mayor, con una semivida para **E-MRS7787** de 26 horas a temperatura ambiente (21 °C) y de 4 horas a temperatura fisiológica (37 °C), según mediciones espectroscópicas que evidenciaron los tiempos de relajación térmica. Además, la capacidad de fotoconmutación de MRS7787 fue robusta y repetitiva, permitiendo al menos diez ciclos consecutivos de fotoisomerización $Z \rightarrow E$ y $E \rightarrow Z$ mediante irradiación alternada con luz violeta y verde, sin mostrar signos de degradación química. Estos resultados confirman la estabilidad y eficiencia de la fotoisomerización de MRS7787, consolidándolo como un candidato prometedor para aplicaciones terapéuticas que requieran un control preciso de su activación e inactivación.

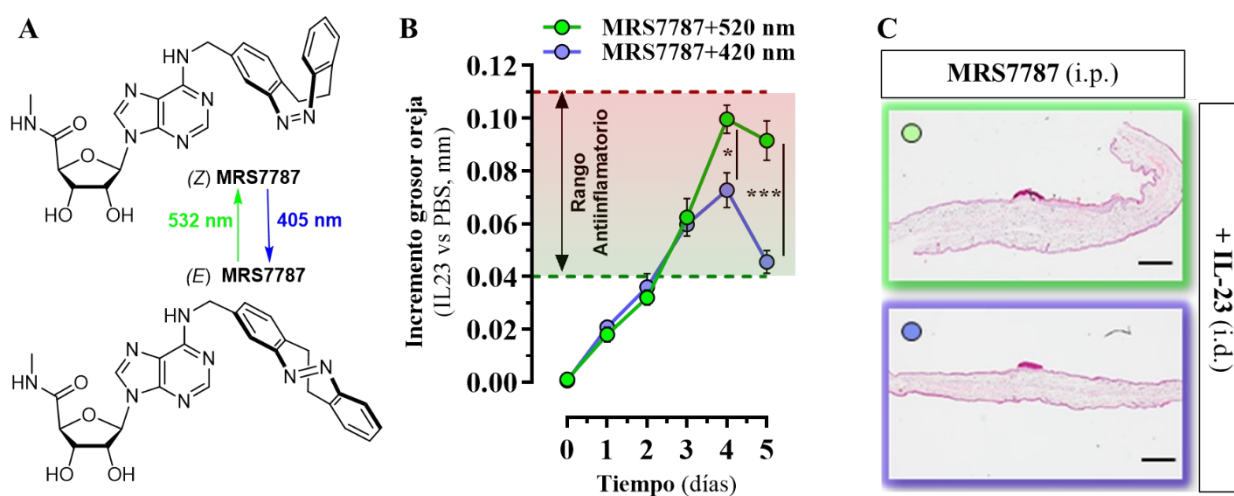
2.4. Eficacia farmacológica *in vitro*

La actividad intrínseca de **E-MRS7787** se evaluó a través de la modulación de los niveles de adenosín monofosfato cíclico (AMPC) mediada por el receptor A_3R en una línea celular que expresa de manera estable este receptor. Dado que el A_3R se acopla a proteínas G de tipo inhibitorio ($G_{\alpha i}$), su activación reduce los niveles de AMPC intracelular. Como control positivo, la incubación con un agonista prototipo (MRS5698) indujo una marcada reducción de AMPC, como era de esperar. De manera interesante, mientras que el isómero **Z-MRS7787** (obtenido tras irradiación a 520 nm) no afectó los niveles de AMPC en células

A_3R , la incubación con el isómero **E-MRS7787** indujo una reducción significativa y dependiente de la concentración del compuesto. Para evaluar la selectividad de **E-MRS7787**, se realizaron otros experimentos en células que expresaban otros subtipos de receptores de adenosina (A_1 , A_{2A} y A_{2B}). Los resultados mostraron que el efecto agonista de **E-MRS7787** era exclusivo de A_3R , lo que confirma su elevada selectividad. Estos hallazgos destacan la eficacia de MRS7787 como un agonista fotosensible y selectivo de A_3R , capaz de modular la señalización intracelular de manera precisa en respuesta a la luz.

2.5. Eficacia farmacológica *in vivo*

La eficacia de MRS7787 *in vivo* se evaluó en un modelo murino de inflamación cutánea inducida por la administración intradérmica de IL-23 en la oreja. La inyección de IL-23 provocó una inflamación significativa en comparación con las orejas administradas con solución salina. Sin embargo, en los ratones tratados sistémicamente con MRS7787, la irradiación de las orejas con luz de 420 nm produjo una reducción significativa en su grosor, lo que indica que la fotoconmutación de MRS7787 a la configuración **E** en el tejido inflamado ejerce un efecto antiinflamatorio (**Figura 3B y 3C**). A nivel histológico, la epidermis de los ratones tratados con MRS7787 e irradiados con luz de 420 nm mostró un grosor significativamente reducido. De manera relevante, estos efectos no se observaron cuando MRS7787 permaneció en su estado **Z** (oscuridad) ni cuando



las orejas fueron irradiadas con luz de 520 nm, lo que confirma la especificidad de la activación de **E-MRS7787** en la modulación de la inflamación. Estos hallazgos demuestran que la fotoconversión de **MRS7787** a su configuración activa **E** en un entorno fisiológico, mediante irradiación con luz de 420 nm, es efectiva modulando la inflamación inducida por IL-23 en el modelo de psoriasis. En conjunto, los resultados respaldan el potencial de **MRS7787** como un tratamiento fotoinducido para enfermedades inflamatorias como la psoriasis, permitiendo un control no invasivo y localizado de su acción terapéutica.

RETOS Y PERSPECTIVAS FUTURAS

A pesar de sus ventajas, la translacionalidad de la fotofarmacología hacia la práctica clínica enfrenta varios retos. Uno de los principales es la necesidad de fuentes de luz biocompatibles capaces de alcanzar tejidos profundos de manera segura y eficaz. Tecnologías emergentes, como LEDs flexibles, dispositivos lumínicos inalámbricos y sistemas implantables, están comenzando a superar estas barreras. Además, en el ámbito de la investigación, se está explorando la posibilidad de generar luz mediante reacciones químicas en áreas modificadas genéticamente para expresar enzimas lumínicas. Aunque esta estrategia no es práctica para la clínica en humanos, podría revolucionar la investigación básica.

Otro reto significativo es la irradiación de tejidos u órganos en constante movimiento, como el corazón o el intestino, donde los latidos o contracciones peristálticas complican la aplicación precisa de la luz. Diseñar dispositivos que puedan adaptarse a estas condiciones dinámicas es una prioridad para el avance de esta tecnología.

Finalmente, se requiere optimizar el diseño de los fotofármacos. Esto incluye mejorar sus propiedades fotoquímicas, como la sensibilidad y la estabilidad, y minimizar subproductos potencialmente nocivos derivados de su activación. Asimismo, se necesitan avances regulatorios que faciliten la transición de estas terapias del laboratorio a la clínica.

CONCLUSIÓN

La fotofarmacología simboliza un cambio de paradigma en el desarrollo de fármacos, proporcionando herramientas para una medicina de precisión sin precedentes. Al aprovechar la luz como medio para modular la actividad farmacológica, esta disciplina ofrece soluciones innovadoras para superar las limitaciones de la farmacología convencional. Aunque los retos aún son significativos, los avances logrados hasta ahora apuntan a un futuro en el que la fotofarmacología transforme profundamente el tratamiento de enfermedades complejas, mejorando la vida de los pacientes y redefiniendo los límites de la ciencia farmacológica.

Referencias

- Hüll, K, Morstein, J, Trauner, D. In Vivo Photopharmacology. *Chem Rev*, 2018; 118: 10710–10747.
- Silva, JM, Silva, E, Reis, RL. Light-triggered release of photocaged therapeutics - Where are we now? *J Control Release*, 2019; 298: 154–176.
- López-Cano, M, Font, J, Aso, E, Sahlholm, K, Cabré, G, Giraldo, J, De Koninck, Y, Hernando, J, Llebaria, A, Fernández-Dueñas, V, Ciruela, F. Remote local photoactivation of morphine produces analgesia without opioid-related adverse effects. *Br J Pharmacol*, 2023; 180: 958-974.
- López-Cano, M, Scortichini, M, Tosh, DK, Salmaso, V, Ko, T, Salort, G, Filgaira, I, Soler, C, Trauner, D, Hernando, J, Jacobson, KA, Ciruela, F. Photoswitchable Diazocine Derivative for Adenosine A3 Receptor Activation in Psoriasis. *J Am Chem Soc*, 2025; 147: 874-879.
- Cohen, S, Fishman, P. Targeting the A3 adenosine receptor to treat cytokine release syndrome in cancer immunotherapy. *Drug Des Devel Ther*, 2019; 13, 491–497.
- Papp, KA, Beyska-Rizova, S, Gantcheva, ML, Slavcheva Simeonova, E, Brezoev, P, Celic, M, Groppe, L, Blicharski, T, Selmanagic, A, Kalicka-Dudzik, M, Calin, CA, Trailovic, N, Ramon, M, Bareket-Samish, A, Harpaz, Z, Farbstein, M, Silverman, MH, Fishman, P, & COMFORT-1 Study Investigators. Efficacy and safety of piclidenoson in plaque psoriasis: Results from a randomized phase 3 clinical trial (COMFORT-1). *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2024; 38:1112-1120.