



## FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

# FTALOCIANINAS DE SILICIO PARA FOTOINMUNOTERAPIA EN EL INFRARROJO CERCANO

Memoria de Trabajo de Fin de Grado

Sant Joan d' Alacant

Junio 2025

**Autor: Pascual Pardo Cuesta**

Modalidad: Trabajo sobre artículos científicos

Tutor: Prof. Luis Martín Gomis

*A mi madre, mi mayor referente, por enseñarme el valor del esfuerzo, trabajo y constancia. Por confiar y apoyarme en cada decisión que he tomado.*



## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. FTALOCIANINAS: DEFINICIÓN Y ESTRUCTURA .....	1
1.2. PROPIEDADES Y APLICACIONES .....	1
1.3. MÉTODOS DE SÍNTESIS .....	3
2. FOTOINMUNOTERAPIA EN EL INFRARROJO .....	4
3. FTALOCIANINAS PARA FOTOINMUNOTERAPIA .....	8
4. OBJETIVOS.....	13
5. MATERIAL Y MÉTODOS .....	13
6. EJEMPLOS RECIENTES DE FTALOCIANINAS DE SILICIO COMO FOTOSENSIBILIZADORES PARA FOTOINMUNOTERAPIA EN EL INFRARROJO CERCANO.....	14
6.1. ARTÍCULO I “Development of a red-shifted photosensitizer for near-infrared photoimmunotherapy of cancer” .....	14
6.2. ARTÍCULO II “A new silicon phthalocyanine dye induces pyroptosis in prostate cancer cells during photoimmunotherapy” .....	18
6. CONCLUSIONES .....	26

## RESUMEN

El desarrollo de nuevos fotosensibilizadores basados en ftalocianinas de silicio ha demostrado una notable eficacia en fotoimmunoterapia en el infrarrojo cercano (NIR-PIT), un enfoque terapéutico emergente para el tratamiento del cáncer.

Las ftalocianinas de silicio son compuestos de coordinación formados por un metal central y un sistema aromático con electrones deslocalizados, lo que les confiere propiedades fisicoquímicas excepcionales. Al tratarse de moléculas altamente flexibles en lo que se refiere a la estructura química, son fácilmente modificables mediante variaciones estructurales, lo que facilita el ajuste de sus propiedades ópticas y biológicas para aplicaciones terapéuticas específicas.

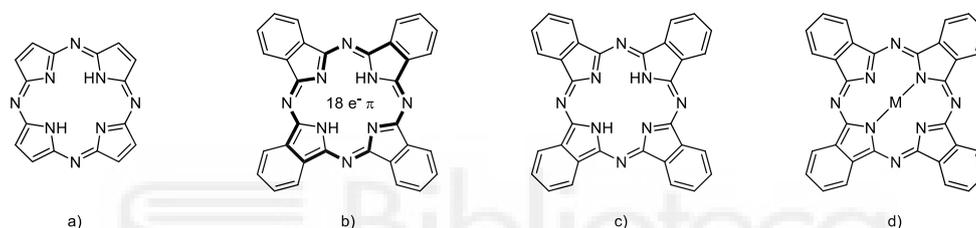
La NIR-PIT se caracteriza por su alta selectividad y baja invasividad, ya que utiliza luz en el infrarrojo cercano, inocua para los tejidos sanos, y aprovecha la unión específica de anticuerpos a los fotosensibilizadores para dirigir el tratamiento a las células tumorales. Este método ha superado algunas de las principales limitaciones de terapias previas, ofreciendo una alternativa más segura y eficaz. El mecanismo de acción citotóxica se basa en la formación de agregados insolubles tras la activación por luz, lo que provoca la ruptura de la membrana plasmática y la consiguiente liberación de antígenos tumorales intracelulares. Esta liberación desencadena una respuesta inmunitaria multiclonal que puede eliminar células tumorales residuales. Además, este enfoque se ve potenciado por el denominado efecto de “permeabilidad y retención súper mejoradas” (SUPR), que favorece la acumulación del fotosensibilizador en el entorno tumoral, maximizando su eficacia terapéutica.

Entre las ftalocianinas de silicio desarrolladas recientemente para su uso en NIR-PIT, una de ellas ha mostrado resultados especialmente prometedores. La optimización de su estructura química, junto con la elección adecuada del anticuerpo conjugado, se revela como un factor clave para mejorar los resultados clínicos y avanzar hacia tratamientos más personalizados y efectivos contra el cáncer.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. FTALOCIANINAS: DEFINICIÓN Y ESTRUCTURA

Las ftalocianinas son moléculas orgánicas de valiosas propiedades físicas y químicas aprovechadas recientemente en el campo de las ciencias de la salud. Estructuralmente son macroheterociclos planos formados por 42 átomos de carbono y 8 átomos de nitrógeno (con 4 puentes imina y 4 anillos de isoindol), análogos sintéticos de las porfirinas (Figura 1a) y que presentan un anillo aromático interno con 18 electrones  $\pi$  deslocalizados <sup>(1)</sup> (Figura 1b). Las ftalocianinas base libre (Figura 1c) tienen una cavidad central que puede albergar hasta 70 átomos diferentes, dando lugar a las ftalocianinas metálicas o metaloftalocianinas <sup>(2)</sup> (Figura 1d).



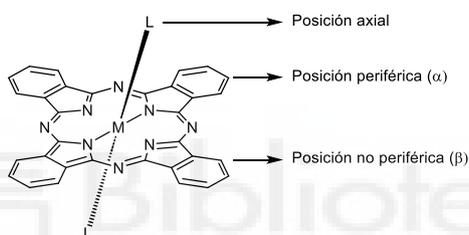
**Figura 1.** a) porfirina, b) ligando ftalocianina aromático, c) ftalocianina base libre, d) metaloftalocianina.

### 1.2. PROPIEDADES Y APLICACIONES

La característica asociada a las ftalocianinas metálicas siempre fue su capacidad como colorantes al presentar una amplia gama de colores <sup>(3)</sup>, descubierta accidentalmente al sintetizar ftalimida a partir de anhídrido ftálico y amoníaco, obteniéndose impurezas de color oscuro. Cuando se separaron ambas, se introdujo cloruro cuproso en la ftalimida fundida provocando una reacción vigorosa, lo que dio como resultado la formación de un producto coloreado, resultando los metales imprescindibles en esa propiedad colorante. Así pues, han sido durante años un importante artículo de comercio como colorantes para textiles y tintas <sup>(4)</sup>.

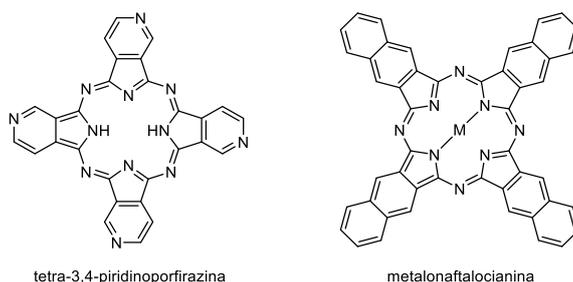
Sin embargo, sus características químicas y físicas, como colores vibrantes, conductividad <sup>(5)</sup>, propiedades ópticas, versatilidad y solidez frente a la luz <sup>(6)</sup>, junto con su excepcional estabilidad química (se disuelve en ácido sulfúrico sin desintegrarse) y térmica <sup>(7)</sup> (puede sublimar a una temperatura extremadamente alta de 5800 °C) les dieron una ventaja considerable. A pesar de sus atractivas

propiedades en las regiones visible, roja e infrarroja, el potencial de aplicación de estas moléculas no se ha explotado completamente debido, en parte, a su baja solubilidad, propiedades hidrófobas y su marcada tendencia a la agregación que deteriora sus propiedades foto-físicas <sup>(8)</sup> <sup>(9)</sup>. Sin embargo, gracias a su flexibilidad y versatilidad <sup>(10)</sup>, son susceptibles a modificaciones químicas mediante funcionalización en dos sitios principales: las posiciones axiales (siempre que el átomo central lo permita) y las posiciones periféricas ( $\alpha$ ) y no periféricas ( $\beta$ ) del anillo de ftalocianina (Figura 2). Así pues, se ha logrado modular la solubilidad, propiedades redox, bioactividad o disposiciones estructurales de estado sólido, aunque se debe considerar que las sustituciones  $\alpha/\beta$  dan como resultado un cambio destacado de las características ópticas y electrónicas <sup>(6)</sup>.



**Figura 2.** Posiciones axiales, periféricas y no periféricas en metaloftalocianinas.

Además, se pueden hacer modificaciones en el propio anillo de ftalocianina. Mediante la extensión del sistema  $\pi$ , la variación en el número de unidades isoindol y la sustitución formal de algunas de estas por otro tipo de unidades, por ejemplo, heterociclos <sup>(2)</sup>. (Figura 3)



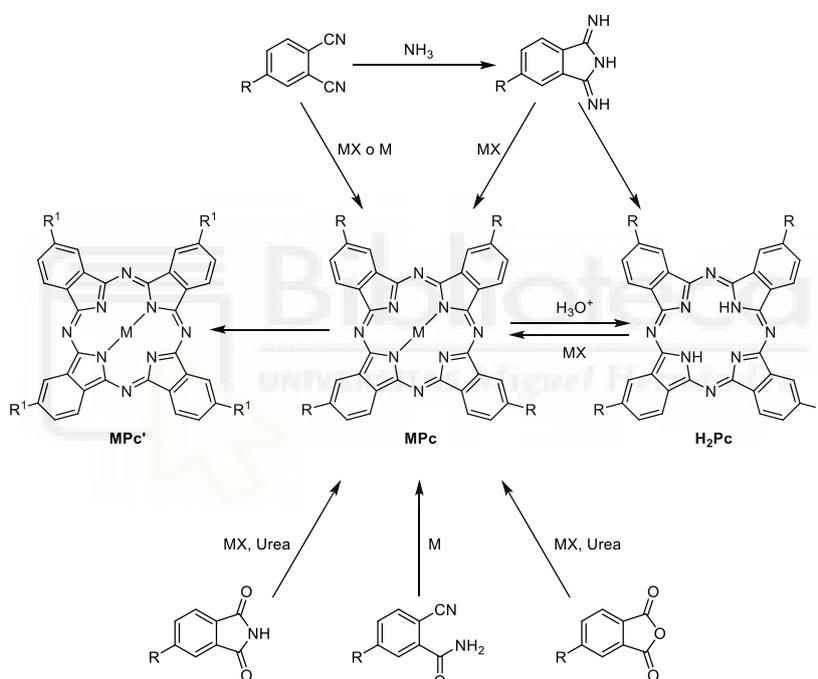
**Figura 3.** Posibles modificaciones del anillo isoindol y análogos de ftalocianinas.

Esto condujo a su amplia adopción en una variedad de aplicaciones en diversos campos. Entre otros, aquellos relacionados con la nanotecnología como pueden ser componentes en células solares <sup>(11)</sup>, cristales líquidos <sup>(12)</sup>, semiconductores <sup>(13)</sup> o sensores químicos <sup>(14)</sup>. Una aplicación muy importante de este tipo de

compuestos es su uso en medicina y farmacología, en concreto como fotosensibilizadores para terapia fotodinámica (PDT), terapia fototérmica (PTT) <sup>(15)</sup> y fotoimmunoterapia (PIT) <sup>(16)</sup>. El compuesto actúa como un fotosensibilizador debido a su máximo de absorción localizado entre 620-800 nm, rango notablemente alto lo que facilita la penetración más profunda en el tejido <sup>(17)</sup>.

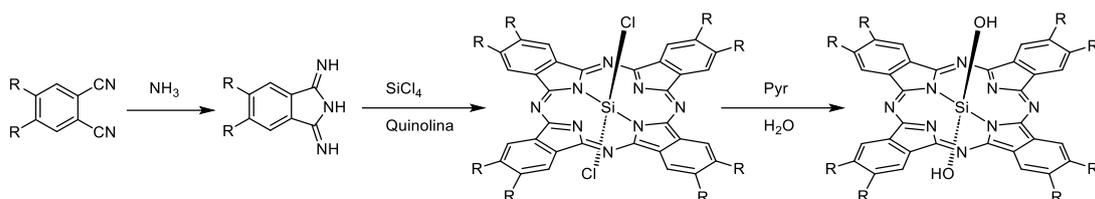
### 1.3. MÉTODOS DE SÍNTESIS

La obtención de ftalocianinas consiste, en general, en una ciclótetramerización a elevadas temperaturas usando como reactivos de partida, ftalonitrilos y empleando disolventes de alto punto de ebullición como son la *N,N*-dimetilaminoetanol (DMAE) o *N,N*-dimetilformamida (DMF) (Esquema 1).



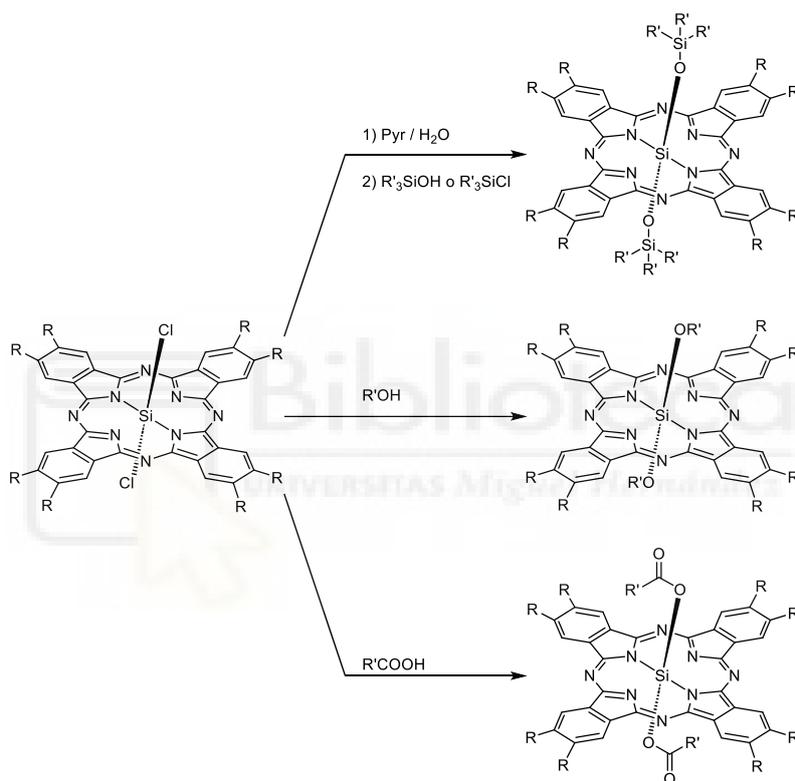
**Esquema 1.** Síntesis de ftalocianinas.

En el caso concreto de las ftalocianinas de silicio, con capacidad de ser funcionalizadas en posiciones axiales, su síntesis se basa en dos etapas. La primera etapa consiste en la ciclótetramerización del precursor, una diiminoisoindolina (obtenida a partir de un ftalonitrilo) para obtener una dicloroftalocianina de silicio ( $\text{SiPcCl}_2$ ) <sup>(18)</sup> o dihidroxiftalocianina de silicio ( $\text{SiPcOH}_2$ ) <sup>(19)</sup> (Esquema 2).



**Esquema 2.** Síntesis de SiPcCl<sub>2</sub> y SiPc(OH)<sub>2</sub> a partir de diiminoisoindolina sustituida.

La segunda etapa consiste en la funcionalización de las posiciones axiales y se pueden sustituir los grupos cloro por alcoholes, fenoles, silanoles, clorosilanos y ácidos carboxílicos para generar ftalocianinas simétricas <sup>(20)</sup> (Esquema 3).



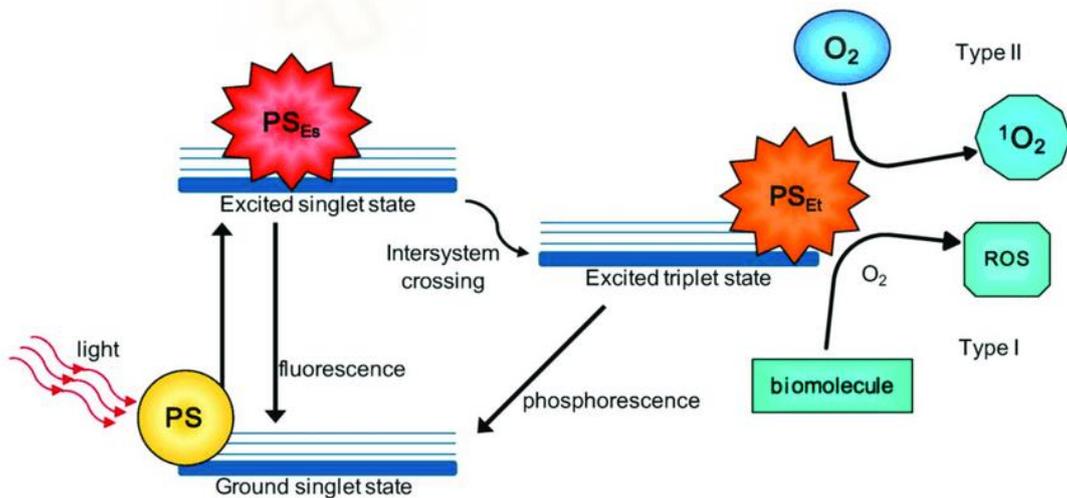
**Esquema 3.** Funcionalización de ftalocianinas de silicio en posiciones axiales.

## 2. FOTOINMUNOTERAPIA EN EL INFRARROJO

Un reto actual de la medicina se basa en la búsqueda de terapias efectivas contra el cáncer. La terapia convencional incluye la inmunoterapia y quimioterapia encontrando dos limitaciones: la distribución no uniforme del fármaco y una respuesta incompleta. La primera genera reacciones adversas similares a síntomas propios de enfermedades autoinmunes debido a la excesiva activación inmunológica en tejido sano. La segunda puede explicar la reaparición o ineficacia completa del tratamiento por la heterogeneidad tumoral <sup>(21)</sup>.

Sin embargo, existen nuevos enfoques terapéuticos que mejoran las limitaciones de la terapia convencional. El uso de irradiación de luz parece ser prometedor en el tratamiento contra el cáncer como lo revela la terapia fotodinámica (PDT) y la fotoimmunoterapia en el infrarrojo cercano (NIR-PIT). La luz NIR es inocua para las células normales y penetra unos pocos centímetros en el tejido, no es térmica ni utiliza radiación ionizante, por lo que no se produce daño al ADN celular <sup>(21)</sup>.

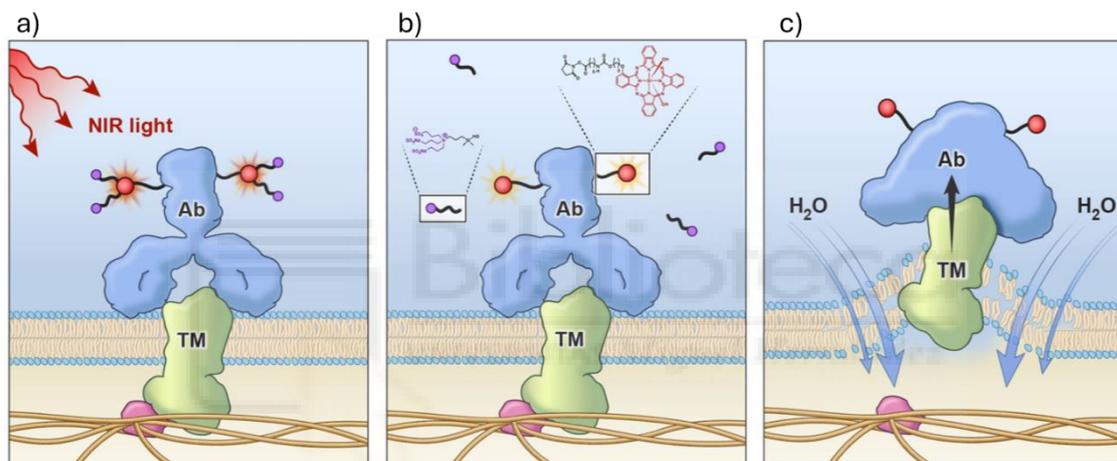
La PDT elimina las células cancerosas a través de la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) o estrés físico. Mediante la administración intravenosa, oral o tópica de un fotosensibilizador (PS), este se acumula en el tejido enfermo, que es irradiado con luz del infrarrojo cercano (NIR) provocando que el PS absorba un fotón y en consecuencia el PS queda excitado <sup>(22)</sup>. En presencia de oxígeno, el PS excitado puede generar ROS mediante transferencia de energía, causando daños irreparables en el tejido canceroso: inflamación y activación del sistema inmune, apoptosis, daño directo en el ADN y daño a proteínas antioxidantes <sup>(23)</sup> (Figura 4). Aunque la PDT ha mostrado resultados prometedores, su aplicación clínica está limitada por la baja solubilidad de los fotosensibilizadores y la falta de selectividad, lo que supone una dificultad para encontrar métodos de administración específicos <sup>(24)</sup>.



**Figura 4.** Mecanismo de acción de la terapia fotodinámica.

Recientemente ha surgido la NIR-PIT solucionando las limitaciones de la PDT. De forma resumida, su mecanismo de acción consiste en la inducción de la muerte celular necrótica/inmunogénica usando un fotosensibilizador activado

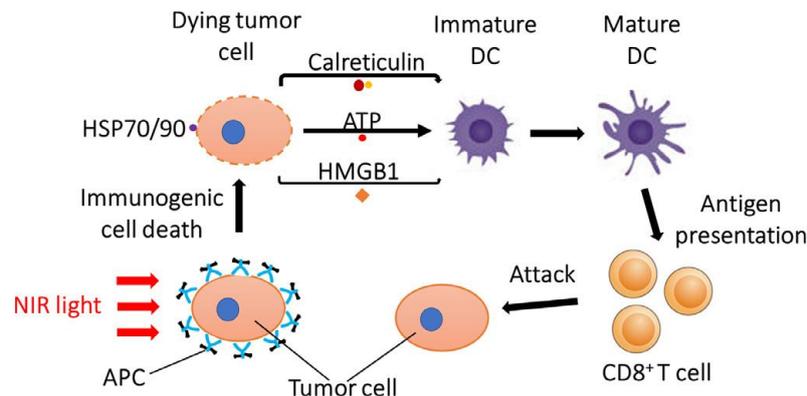
con luz NIR y asociado a un vector biológico que lo dirige específicamente al tejido a tratar. De entre los distintos fotosensibilizadores, los más efectivos son las ftalocianinas de silicio asociadas a un anticuerpo monoclonal (mAb) en sus posiciones periféricas, y con ligandos axiales que proporcionan solubilidad en medio fisiológico. En ciertas condiciones, como hipoxia o condiciones reductoras, el fotosensibilizador sufre reacciones fotoquímicas que liberan las cadenas hidrófilas y hacen que la molécula restante se vuelva muy hidrófoba. Este cambio químico conduce a la formación de un multímero de ftalocianina de silicio o agregados insolubles en agua lo que reduce la integridad de la membrana celular debido al daño que genera sobre las proteínas diana transmembrana <sup>(25)</sup> (Figura 5).



**Figura 5.** (a) Unión del mAb al antígeno tumoral. (b) Escisión de ligandos axiales hidrófilos. (c) Daño celular inducido por reducción de integridad de la membrana (extraída de referencia 21).

De esta forma se consigue una alteración en la función de membrana que permite que el agua fluya rápidamente hacia la célula, lo que provoca hinchazón y, en última instancia, ruptura y muerte celular <sup>(26)</sup>. Esto genera un mecanismo subyacente, la amplificación de la inmunidad antitumoral que puede lograr una remisión completa del cáncer. La rápida muerte celular hace que se liberen antígenos específicos tumorales que inducen la activación de células dendríticas (DC) locales que activan a las células T vírgenes específicas contra antígenos del cáncer, lo que conduce a la proliferación y la muerte celular mediada por células cancerosas, proceso que se conoce como muerte celular inmunogénica (ICD) <sup>(27)</sup>. Además, las células liberan calreticulina, trifosfato de adenosina (ATP) y grupo de alta movilidad 1 (HMGB1), que promueven la maduración de células

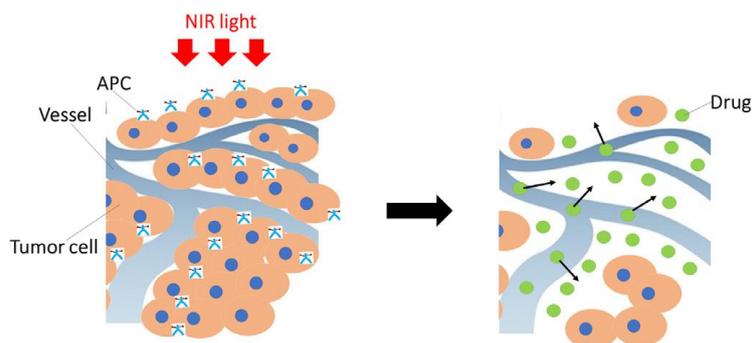
dendríticas que activarán a los linfocitos T para atacar a la célula tumoral <sup>(26, 27)</sup> (Figura 6).



**Figura 6.** Mecanismo de inducción de inmunidad antitumoral del huésped (extraída de referencia 28).

Por otra parte, en lugar de activar respuesta inmune en todo el organismo, la NIR PIT refuerza la inmunidad de manera localizada al activarse únicamente en el lugar que se irradia luz y al unirse específicamente a la célula tumoral. A su vez, se evita la heterogeneidad tumoral porque no compromete la inmunidad del huésped contra el cáncer, sino que incluso activa la respuesta inmune multiclonal específica del tumor <sup>(21)</sup>. En conclusión, la respuesta inmunitaria multiclonal generada podría eliminar las células cancerosas supervivientes después de la NIR-PIT solucionando la problemática asociada a la inmunoterapia.

Una particularidad que supone una ventaja añadida es el efecto “permeabilidad y retención súper mejoradas” (efecto SUPR) tras la irradiación con luz. Como la NIR-PIT mata rápidamente las células cancerosas perivasculares, la permeabilidad vascular del tumor aumenta en gran medida, se forma un espacio entre los vasos y el tumor restante, lo que permite que el vaso se agrande, al tiempo que aumenta el volumen sanguíneo y disminuye la velocidad de la sangre, lo que lleva a una acumulación del fotosensibilizador mucho mayor, multiplicado por un factor de 24 en condiciones normales (Figura 7). En consecuencia, se produce una mejor administración de los agentes terapéuticos de tamaño nanométrico en el tejido tratado, donde pueden permanecer y ser eficaces durante varios días <sup>(29)</sup>. Por lo tanto, una combinación de ambas terapias podría ser más eficaz que cualquiera por separado y este podría ser otro mecanismo por el cual cualquier tumor residual después de los tratamientos NIR-PIT podría eliminarse <sup>(30)</sup>.



**Figura 7.** Mecanismo de efecto SUPR (extraída de referencia 28).

Actualmente las principales dianas terapéuticas son el factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y el factor de crecimiento epidérmico humano tipo 2 (HER2) debido a la sobreexpresión y elevada distribución en múltiples tumores (mama, cabeza y cuello, cerebro, vejiga, pulmón, ovario, esófago y gastrointestinal)<sup>(31,32)</sup>. La NIR-PIT no sólo actúa reconociendo antígenos tumorales ya que también se ha demostrado potencialmente efectivo en microambiente de células no tumorales y tumores distantes no tratados al erradicar células T reguladoras (Treg)<sup>(33,34)</sup>.

En resumen, la fotoimmunoterapia presenta dos claras ventajas frente a la terapia fotodinámica: menor toxicidad y mayor eficacia. Ambas se logran debido a la alta selectividad y mayor solubilidad de los fotosensibilizadores respecto a los usados en PDT.

### 3. FTALOCIANINAS PARA FOTOINMUNOTERAPIA

Entre todas las ftalocianinas metálicas posibles para fotoimmunoterapia, la más efectiva fue aquella que presentaba como átomo metálico central silicio. Llamó la atención debido a la hexacoordinación del silicio (IV) y estabilidad química de los enlaces Si-N presentando dos posiciones axiales en las que se unen los ligandos para funcionalizar la molécula<sup>(19)</sup>. El silicio demostró un mecanismo fototóxico superior que el resto de metales al producir mayor necrosis tumoral y mayor concentración de ROS<sup>(35)</sup>. Además, estas ftalocianinas son fáciles de sintetizar, empleándose materiales y reactivos no peligrosos que se pueden conseguir fácilmente<sup>(6)</sup>.

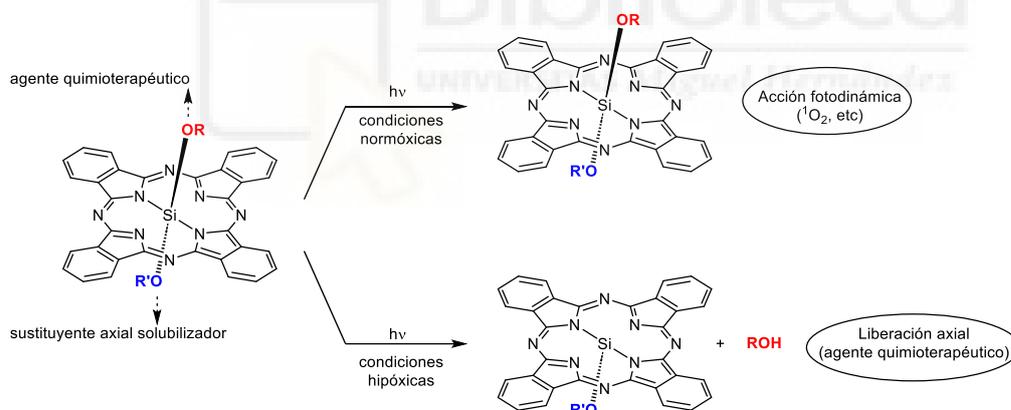
En este caso, se ha demostrado que la unión de los sustituyentes axiales al átomo de silicio influye en la eficacia del mecanismo de acción de este tipo de

compuestos. Parámetros como la basicidad, volumen y simetría permiten facilitar la escisión del ligando mejorando así la actividad <sup>(36)</sup>. Así pues, grupos alcoxilo (Si-O-C) son más básicos que los grupos siloxilo clásicos (Si-O-Si) viéndose que la reacción de escisión está más favorecida en compuestos con grupos axiales más básicos ya que la protonación ocurre más fácilmente sin afectar a las propiedades fotofísicas <sup>(36)</sup> (Tabla 1).

Tipo ligando	Siloxilo	Alcoxilo	Oxicarbonilo	Fenoxilo
$\Delta G$ (kJ/mol)	-143.0	-147.6	-103.5	-106.8

**Tabla 1.** Energía de protonación del enlace Si-O en los diferentes tipos de ligandos de diferente basicidad. Orden de basicidad: Compuesto Alcoxi > compuesto 1 > compuesto 4 > compuesto 3.

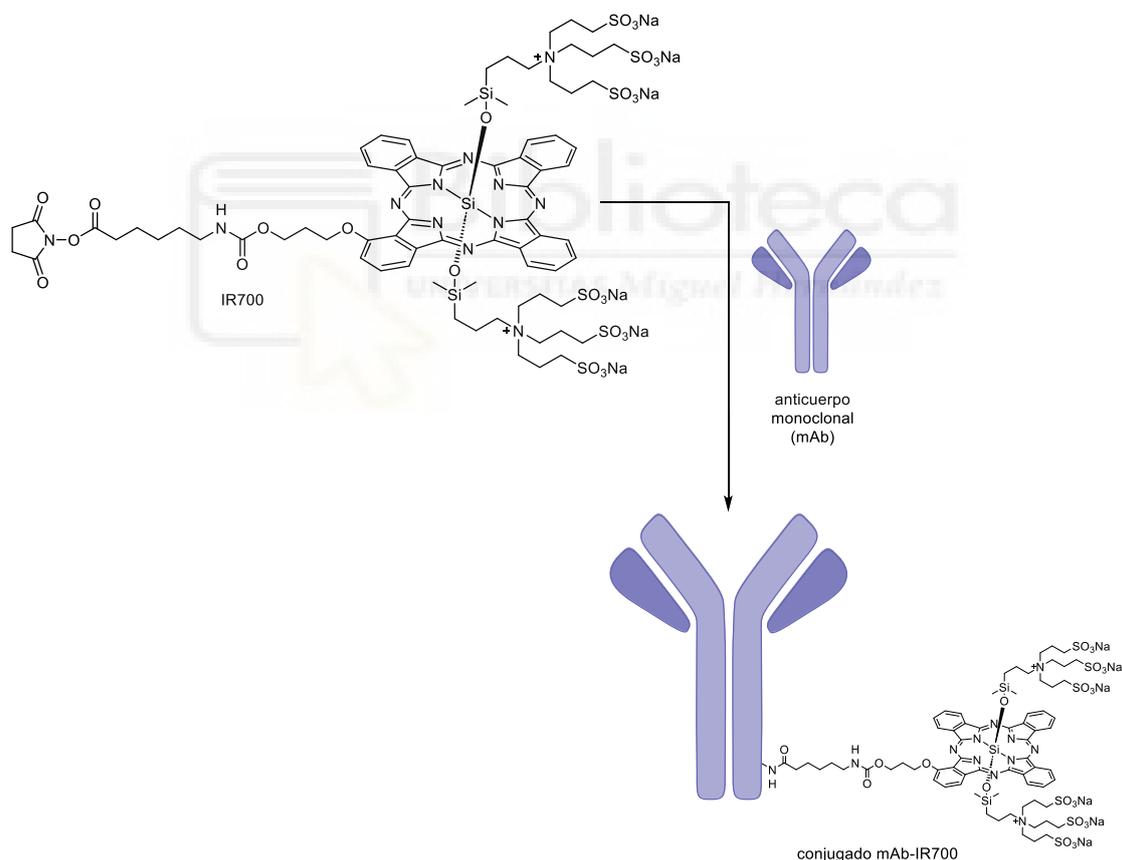
Por otra parte, al incorporar sustituyentes axiales diferentes, se puede diseñar un sistema capaz de actuar en dos condiciones fisiológicas distintas: en un entorno normóxico, genera oxígeno singlete mientras que, en condiciones hipóxicas, uno de los ligandos porta un fármaco antitumoral que se libera, permitiendo su acción terapéutica <sup>(37)</sup> (Esquema 4).



**Esquema 4.** SiPc asimétrica con capacidad de actuar como PS en diferentes condiciones fisiológicas.

Por último, las sustituciones voluminosas o polares en las posiciones axiales alteran la planaridad y son más eficaces que las sustituciones de anillos de ftalocianina  $\alpha$  o  $\beta$  para reducir la agregación y mejorar la solubilidad. Entre otros, sustituyentes ricos en nitrógeno en las posiciones axiales o periféricas que pueden alquilarse fácilmente para dar sales de amonio cuaternario para obtener derivados catiónicos solubles en agua <sup>(38)</sup>.

Uno de los fotosensibilizadores basado en ftalocianina más usados para fotoimmunoterapia en el IR cercano es el IR700 <sup>(24)</sup>. Su estructura consta de un anillo de ftalocianina, con un átomo de silicio funcionalizado en sus posiciones axiales de manera simétrica con dos ligandos que poseen tres grupos ácidos sulfónico terminales, que proporcionan solubilidad en agua y previenen la formación de agregados. En una de las posiciones periféricas ( $\alpha$ ) hay un sustituyente formado por una cadena hidrocarbonada con un anillo de *N*-hidroxisuccinimida (NHS) terminal (Esquema 5). Este grupo NHS tiene una función primordial, pues es el responsable de interaccionar con el grupo amino del aminoácido lisina de un anticuerpo monoclonal (mAb), vector biológico que dirige el fotosensibilizador al antígeno tumoral, en forma de conjugado mAb-IR700 (Esquema 5), con una gran especificidad.



**Esquema 5.** Formación del conjugado mAb-IR700.

Este fotosensibilizador demostró propiedades químicas idóneas para la fotoimmunoterapia en IR: excelente solubilidad en agua, capacidad de unión de anticuerpos que confiere alta selectividad, alta estabilidad ya que no se agregó

en tampones de alta fuerza iónica, alto coeficiente de extinción y un alto rendimiento de fluorescencia debido a su elevada fotoestabilidad <sup>(39)</sup>.

IR700 se trabajó como fotosensibilizador para NIR-PIT por primera vez en animales en un estudio de 2011 dirigido hacia el receptor EGFR y HER2 en tumores pequeños <sup>(16)</sup>. En primer lugar, se vio que la muerte celular dependía exclusivamente de la unión del anticuerpo monoclonal a la membrana sin necesidad de entrar en las células, siendo un mecanismo altamente selectivo. En segundo lugar, se indujo rápidamente necrosis en células tumorales tras irradiar luz IR cuya dosis influía significativamente en el resultado (dosis-dependiente). En último lugar, el volumen tumoral disminuyó quedando pocas células tumorales y la supervivencia aumentó. La terapia demostró un perfil de seguridad alto y se estudió la toxicidad aguda detectándose únicamente hinchazón, inflamación y signos de respuesta inmune en el tejido tratado. Además, el fotosensibilizador permitió la monitorización de los resultados de forma no invasiva debido a su intensa propiedad fluorescente <sup>(16)</sup>.

En conclusión, IR700 resolvió las desventajas de los fotosensibilizadores convencionales: ineffectividad y toxicidad. La primera se resolvió al ser un compuesto altamente hidrofílico y desplazar el máximo de absorción hacia el IR permitiendo una penetración más profunda, además de una mejor distribución tisular, a diferencia de los fotosensibilizadores convencionales que absorben en la región visible. Al no depender su mecanismo de acción únicamente de especies reactivas de oxígeno para su actividad también puede alcanzar tumores hipóxicos, mejorando la efectividad del tratamiento. El problema asociado a la toxicidad se resolvió al añadir un anticuerpo que se dirige selectivamente a diferentes epítomos de un mismo antígeno tumoral generando alta especificidad <sup>(40)</sup>. Tampoco requiere ser internalizado por las células para su acción fototóxica a diferencia de aquellos agentes convencionales que, al ser hidrófobos y no selectivos, pueden entrar en células sanas dañando el tejido. Además, el empleo de luz IR no presenta limitaciones en dosis acumuladas por lo que se podría usar de forma repetida y a largo plazo en ciclos <sup>(16)</sup>. Por último, en cuanto a su excreción puede ser catabolizado y eliminado en la orina sin efectos a largo plazo <sup>(24)</sup>.

A pesar de que IR700 se dirige mayoritariamente hacia EGFR y HER2 debido a su sobreexpresión y amplia distribución, esto sólo representa una mínima parte de sus objetivos terapéuticos. Debido a la versatilidad que presenta este fotosensibilizador puede unirse a múltiples anticuerpos diferentes, incluso puede combinar varios de ellos actuando sobre diversas dianas, lo que conlleva actualmente un gran abanico de posibilidades terapéuticas <sup>(24)</sup> (Tabla 2).

Diana	Tipo de sustituyente	Fotosensibilizador	Tipo Cáncer
CD20 <sup>(41)</sup>	Anticuerpo	Rituximab-IR700	Células B
PD1 <sup>(42)</sup>	Anticuerpo	Avelumab-IR700	Pulmón
Mesotelina <sup>(43)</sup>	Anticuerpo	HYP218-IR700	Cutáneo
CEA <sup>(44)</sup>	Anticuerpo	M5A-IR700	Colorrectal
CD44, CD25 <sup>(45)</sup>	Anticuerpos combinados	Anti-CD44-IR700 Anti-CD25-IR700	Colón, oral
EGFR, HER2 <sup>(46)</sup>	Anticuerpos combinados	Cet-IR700 Tra-IR700	Esófago

**Tabla 2.** Ejemplos de las diferentes combinaciones con IR700-anticuerpos y sus dianas terapéuticas en células cancerosas.

Estos conjugados mAb-IR700 no sólo actúan en células tumorales, siendo capaces de ejercer su acción en el microambiente tumoral en células no cancerosas: por ejemplo, pueden actuar suprimiendo las células T reguladoras y las células vasculares asociadas al cáncer (Tabla 3). Independientemente del tipo de cáncer, se han encontrado dianas terapéuticas para IR700 en patologías como artritis, VIH y esclerosis sistémica, entre otras <sup>(24)</sup>.

Diana	Tipo de sustituyente	Fotosensibilizador	Cáncer
CD25 <sup>(47)</sup>	Anticuerpo	Anti-CD25-IgG-IR700	Colon
CD73 <sup>(48)</sup>	Anticuerpo	alfaCD73-IR700	Páncreas

**Tabla 3.** Ejemplos de las diferentes combinaciones con IR700-anticuerpos en microambiente no tumoral.

En resumen, las ftalocianinas de silicio son buenos fotosensibilizadores explicados por tres características propias: su estabilidad química que protege frente a degradación, la capacidad que tienen de generar nuevos derivados por ser moléculas altamente flexibles (permite numerosas modificaciones químicas que eviten ineffectividad/toxicidad) y su capacidad de absorción en la región NIR.

#### **4. OBJETIVOS**

El objetivo de este trabajo es mostrar 2 ejemplos recientes (2022-2024) de obtención de ftalocianinas y su potencial como fotosensibilizadores eficientes en fotoimmunoterapia en el infrarrojo cercano

#### **5. MATERIAL Y MÉTODOS**

##### **Diseño**

Trabajo sobre artículos científicos contemplando bases de datos de interés científico.

##### **Fuente de datos**

Los artículos seleccionados se consiguieron mediante el buscador SciFinder-n que realiza la búsqueda en la base de datos CAS que contiene la información científica relacionada con química y farmacología.

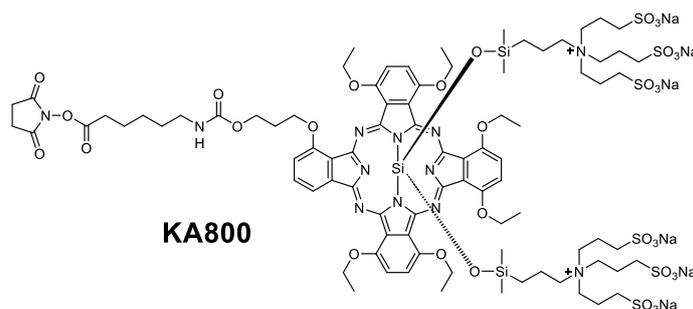
##### **Metodología**

Se llevó a cabo una búsqueda en SciFinder-n usando los términos de búsqueda "phthalocyanine" and "NIR-PIT" or "photoimmunotherapy". A partir de los resultados obtenidos se realizó una revisión únicamente de artículos disponibles en texto completo. Se excluyeron las publicaciones anteriores a 2020 y se tuvieron en cuenta sólo los artículos que describían el proceso de síntesis del fotosensibilizador, independientemente del idioma en el que estuviesen redactados. Finalmente se seleccionaron dos artículos publicados en 2024 que desarrollan la síntesis de dos nuevos fotosensibilizadores.

## 6. EJEMPLOS RECIENTES DE FTALOCIANINAS DE SILICIO COMO FOTOSENSIBILIZADORES PARA FOTOINMUNOTERAPIA EN EL INFRARROJO CERCANO

### 6.1. ARTÍCULO I “Development of a red-shifted photosensitizer for near-infrared photoimmunotherapy of cancer” (49).

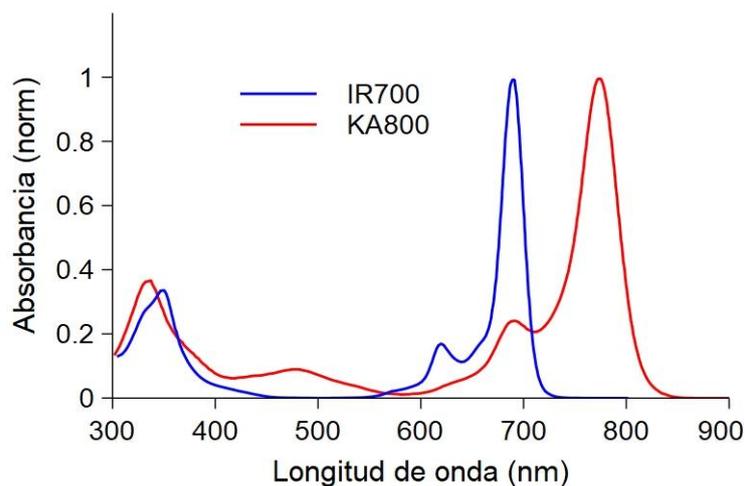
En este artículo se describe la síntesis de una ftalocianina de silicio, KA800 (Figura 8) para su uso como fotosensibilizador para NIR-PIT.



**Figura 8.** Estructura química de KA800.

Se observa una gran similitud estructural entre KA800 e IR700. Ambos son ftalocianinas de silicio de tipo A<sub>3</sub>B, caracterizadas por un anillo de isoindol sustituido en una posición no periférica con una cadena hidrocarbonada que termina en un éster de hidroxisuccinimida, el cual constituye el punto de anclaje del fotosensibilizador a los restos de lisina de un anticuerpo monoclonal. Además, ambos compuestos presentan los mismos sustituyentes axiales, (una sal de amonio cuaternaria con tres restos sulfonato) unidos al átomo central de silicio a través de una estructura Si-O-Si. Estos sustituyentes axiales son los responsables, en gran medida, de la solubilidad en medio fisiológico del compuesto, y además son susceptibles de ser liberados tras irradiación con luz de longitud de onda adecuada y en medio reductor, resultando en un cambio de las propiedades fisicoquímicas del compuesto desde soluble en medio acuoso, a no soluble, cambio considerado responsable del daño en la membrana celular de las células cancerosas. La diferencia estructural más notable entre KA800 e IR700 radica en la presencia de dos sustituyentes de carácter electrón-dador en las posiciones no periféricas de tres de los cuatro anillos de isoindol del KA800. Esta variación tiene como objetivo desestabilizar el HOMO de la unidad de ftalocianina mediante la inyección de carga, reducir el gap con el LUMO, y desplazar hacia el rojo el máximo de absorción de la molécula (Figura 9). Esto

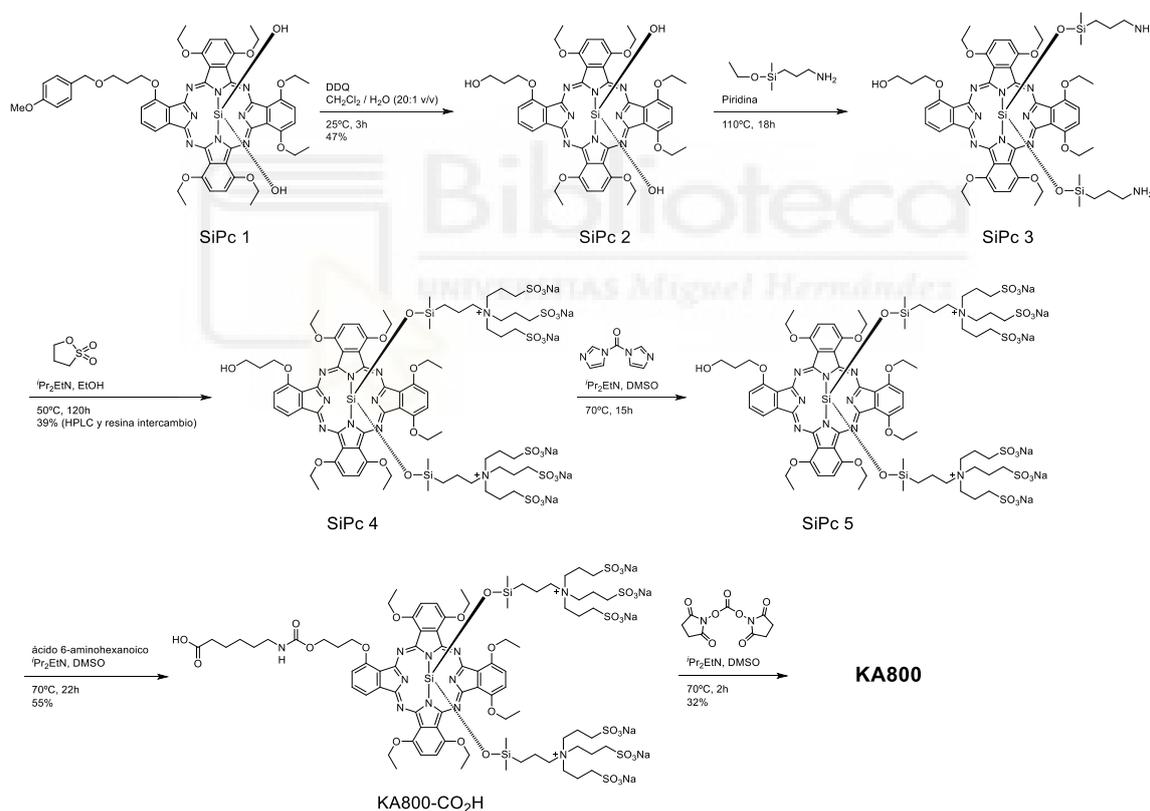
se realiza con el fin de poder utilizar luz infrarroja, con una longitud de onda mayor para excitar el fotosensibilizador e inducir la respuesta deseada. Esta elección se fundamenta en la mejor penetración de esta radiación en los tejidos, como se ha mencionado anteriormente.



**Figura 9.** comparativa de los espectros de absorción UV-vis normalizados de IR700 y KA800.

La síntesis del KA800 (Esquema 6), consta de una secuencia lineal de seis reacciones. El reactivo de partida es la SiPc 1, un producto comercializado por Yamamoto Chemicals, Inc. (Osaka, Japón), según se indica en el artículo. Esta ftalocianina de silicio de tipo A<sub>3</sub>B presenta tres unidades de isoindol sustituidas en sus posiciones no periféricas con grupos etoxilo, y una unidad de isoindol sustituida en una posición no periférica con una cadena hidrocarbonada que porta un grupo hidroxilo terminal protegido con un grupo p-metoxibencilo (PMB) y, además, posee dos grupos hidroxilo en las posiciones axiales. La primera reacción es la desprotección del grupo hidroxilo terminal mediante condiciones oxidantes suaves, proporcionadas por el uso de 2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona (DDQ), obteniéndose el compuesto desprotegido (SiPc 2) con un rendimiento del 47%. A continuación, se lleva a cabo la funcionalización axial haciendo reaccionar los grupos hidroxilo con 3-aminopropil-dimetiletoxosilano durante 18 horas, lo que produce un crudo de reacción, mayoritariamente compuesto por SiPc 3, con dos grupos amino libres en las posiciones axiales, que se utiliza en la siguiente reacción sin purificación adicional. El siguiente paso consiste en la formación de la sal de amonio

cuaternaria (una por cada posición axial) con tres restos propilsulfonato, empleando como reactivo propanosulfona, y diisopropiletilamina como medio básico en dimetilsulfóxido (DMSO) durante 22 horas. En estas condiciones, se obtuvo la SiPc 4 (sal sódica) con un rendimiento del 39%, tras su separación por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) y el uso de una resina de intercambio catiónico. Finalmente, la secuencia termina con, primero la activación del grupo hidroxilo libre de la cadena lateral utilizando 1,1'-carbonildiimidazol (CDI) para generar el SiPc 5 intermedio que se acopla con ácido 6-aminohexanoico para dar KA800-CO<sub>2</sub>H, el cual se transforma en el derivado con un resto de *N*-hidroxisuccinimida terminal (KA800) por reacción del grupo ácido con carbonato de *N,N'*-disuccinimidilo, con un rendimiento del 32% tras purificación, de nuevo, mediante HPLC.

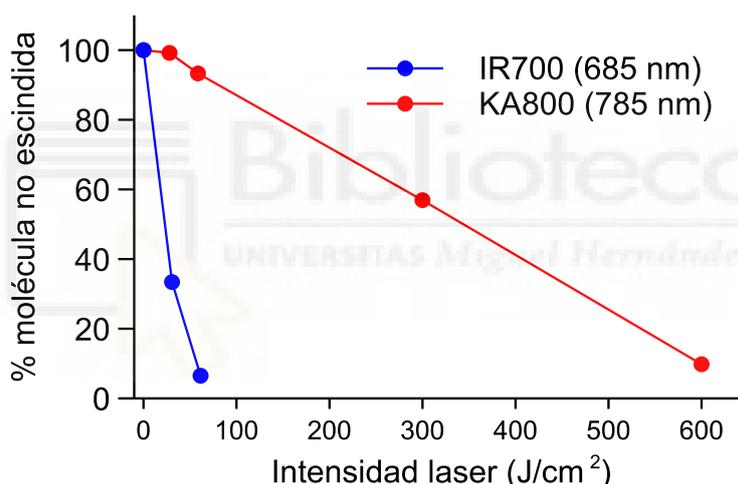


**Esquema 6.** Esquema sintético para la preparación de KA800.

El compuesto sintetizado, con un máximo de absorción localizado a 774 nm (en comparación con los 690 nm del IR700, ver Figura 9) se conjuga con Trastuzumab, un anticuerpo monoclonal dirigido contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico HER2, y se evalúan los efectos terapéuticos del

conjugado (Ab-KA800) tras la irradiación con un láser de longitud de onda de 785 nm, tanto *in vitro* como *in vivo*, así como la generación de oxígeno singlete y la pérdida de los sustituyentes axiales.

Se analizan los resultados *in vitro* de la escisión de los ligandos axiales, observando que el proceso es menos eficiente para mAb-KA800 en comparación con mAb-IR700, ya que para lograr resultados similares a los de IR700 se necesita una mayor dosis de luz (Figura 10). Esta desventaja se debe a la menor cantidad de radical aniónico generado por la irradiación de mAb-KA800 que es aproximadamente cinco veces menor que la producida por IR700 y también se debe a la desestabilización del HOMO inducida por los sustituyentes etoxilo en posiciones no periféricas que a su vez desplazan el máximo de absorción hacia el rojo.



**Figura 10.** Porcentaje de molécula no escindida (con ligandos axiales) respecto a la dosis de irradiación aplicada.

Por otra parte, se estudian los cambios morfológicos en las células tratadas. A diferencia de lo que ocurre con mAb-IR700, en el que se observan características típicas de la NIR-PIT, como la formación de hinchazón celular, no se detectan cambios morfológicos significativos con mAb-KA800. Este hallazgo, junto con un experimento adicional de determinación de oxígeno singlete, sugiere que el principal mecanismo de acción de mAb-KA800 podría estar relacionado exclusivamente con la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS),

mientras que el mAb-IR700 provoca tanto la formación de agregados como la generación de ROS.

A pesar de aplicar una dosis de luz mayor en los ensayos *in vivo*, no se logra reducir el tamaño del tumor, y se observa que no se forman agregados debido al impedimento estérico de los grupos etoxi.

En resumen, los autores observan que, a pesar de que el conjugado mAb-KA800 exhibe citotoxicidad *in vitro*, no se aprecia el efecto terapéutico esperado *in vivo*. Esto se atribuye a que la citotoxicidad es causada principalmente por el oxígeno singlete generado (rendimiento= 0,12), cuya acción parece ser neutralizada por diversos antioxidantes presentes en los experimentos *in vivo*, y no por la insolubilidad del sensibilizador resultante de la pérdida de los sustituyentes axiales.

## 6.2. ARTÍCULO II “A new silicon phthalocyanine dye induces pyroptosis in prostate cancer cells during photoimmunotherapy”<sup>(50)</sup>.

En este artículo se describe la síntesis de una ftalocianina de silicio WB692-CB2 (Figura 11), y su empleo como fotosensibilizador para NIR-PIT, y en el que también se describe su actividad terapéutica, conjugado con un anticuerpo monoclonal, sobre cáncer de próstata.

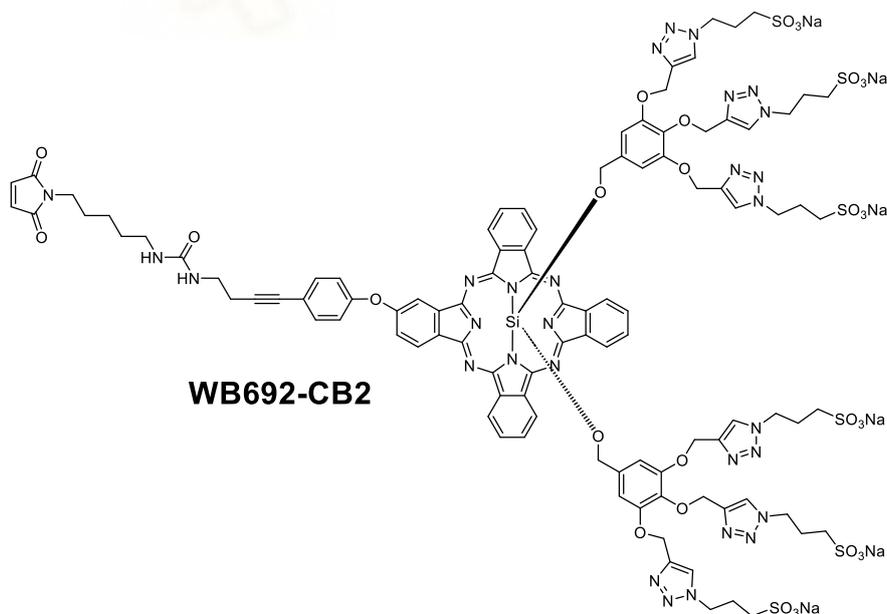


Figura 11. Estructura química de WB692-CB2.

En comparación con el IR700, el WB692-CB2 presenta similitudes estructurales. Ambos son ftalocianinas de silicio de tipo A<sub>3</sub>B, caracterizadas por tres anillos de isoindol sin sustituir y uno sustituido con una cadena hidrocarbonada que posee un grupo terminal que constituye el punto de anclaje del fotosensibilizador al anticuerpo monoclonal correspondiente. Además, ambos compuestos poseen dos sustituyentes axiales, que son responsables de la solubilidad en medio fisiológico y susceptibles de ser liberados tras la irradiación con luz de longitud de onda adecuada y en un medio reductor, lo que resulta, al igual que en el caso anterior, en un cambio de las propiedades fisicoquímicas del compuesto desde soluble en medio acuoso a insoluble.

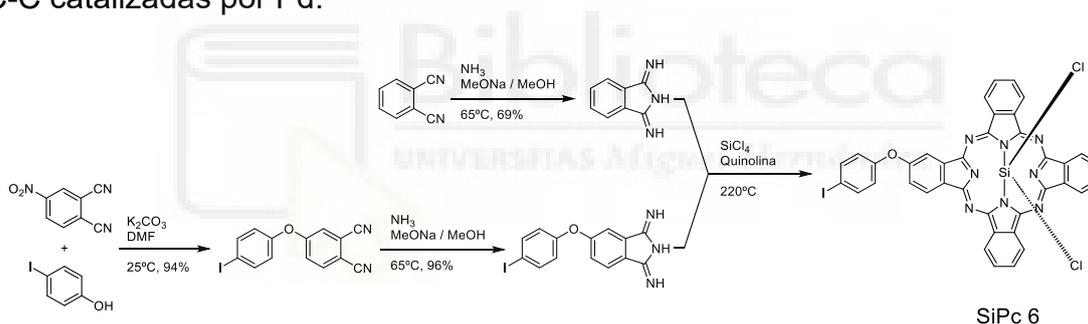
Las diferencias en el diseño entre IR700 y WB692-CB2 se deben a detalles específicos relacionados tanto con la acción deseada como con el proceso de síntesis. Se observa que, en el caso del WB692-CB2, la cadena hidrocarbonada lateral se localiza en una posición periférica del anillo de isoindol, unida a este mediante un grupo fenoxilo y terminada en una maleimida. Esto se debe a que se busca favorecer la interacción del fotosensibilizador con el anticuerpo monoclonal a través de los residuos de cisteína, los cuales a su vez pueden ser añadidos en posiciones específicas del anticuerpo mediante ingeniería genética, lo que proporciona una ventaja significativa frente a IR700 (y KA800) pues el fotosensibilizador se uniría siempre en la misma zona del anticuerpo generando conjugados homogéneos y actuando de forma más predecible. De esta forma se consigue evitar la activación de funciones inmunológicas no deseadas, minimizando la posibilidad de reacciones adversas. No sólo permitiría modular la toxicidad del compuesto, sino también reducir su vida media, facilitando un ajuste más preciso del tiempo de tratamiento. Sin embargo, se identificó como principal desventaja que la propia conjugación podría comprometer la flexibilidad del fotosensibilizador en las células de cáncer de próstata, lo que podría traducirse en una disminución de su distribución en el tejido tumoral. Además, se observa que los sustituyentes axiales, responsables de la solubilidad en medio acuoso, son restos sulfonato unidos a un anillo aromático mediante una unidad de imidazol, y este anillo aromático, a su vez, está unido al átomo de silicio central de la ftalocianina a través de una estructura C-O-Si. Como ya se ha comentado anteriormente, este tipo de estructura proviene de la sustitución

axial por parte de grupos hidroxilo, más básicos que los siloxilo empleados en IR700 y KA800 lo que favorece una escisión más eficiente tras la irradiación con luz de la longitud de onda adecuada, mejorando así el mecanismo de acción.

La obtención del WB692-CB2 es una síntesis convergente completa de 14 pasos (a diferencia de lo que ocurriría con la preparación de KA800), con una secuencia lineal máxima de 7 pasos, y en la que se pueden distinguir 3 etapas:

**Etapa 1:** Síntesis de una dicloroftalocianina de silicio asimétrica SiPc 6 (Esquema 7).

La ftalocianina de silicio asimétrica SiPc 6, es el precursor necesario para la posterior funcionalización axial, y se lleva a cabo mediante una ciclotetramerización estadística en presencia de  $\text{SiCl}_4$ . Esta reacción utiliza una mezcla de dos tipos de diiminoisoindolina, una de ellas con un derivado de yodo que permite la funcionalización posterior a través de reacciones de acoplamiento C-C catalizadas por Pd.

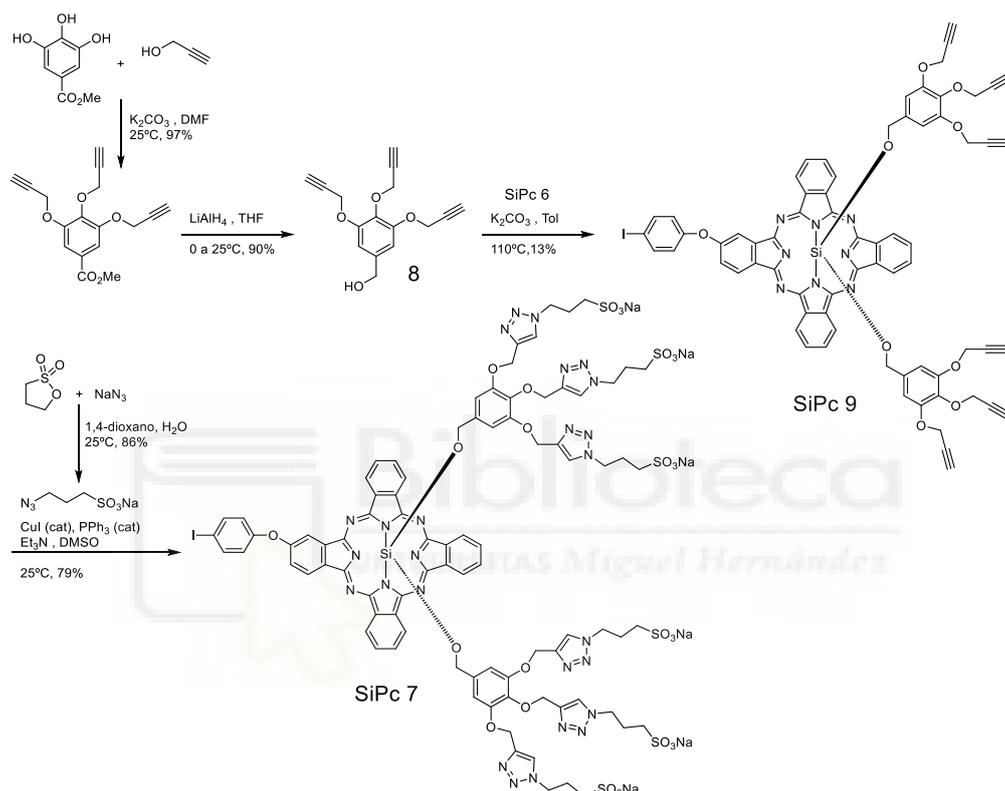


**Esquema 7.** Etapa 1, preparación de SiPc 6.

**Etapa 2:** preparación de SiPc 7, funcionalización axial con sustituyentes responsables de la solubilidad en medio fisiológico (Esquema 8)

Esta etapa comienza con la preparación de los sustituyentes axiales, que se realiza mediante, primero, una triple  $\text{S}_{\text{N}}2$  entre el éster metílico del ácido gálico y el 2-propin-1-ol, y después, a través de una reducción del grupo éster hasta el alcohol bencílico correspondiente, utilizando para ello un agente reductor común como el  $\text{LiAlH}_4$ . Se obtiene así el alcohol bencílico 8 que se combina con SiPc 6, obtenida en la etapa anterior, en presencia de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  en tolueno, para obtener, tras una cromatografía en columna con gel de sílice como fase estacionaria y una mezcla Tol/AcOEt 96:4 como fase móvil, SiPc 9 con un rendimiento del 13%.

Finalmente, se lleva a cabo (por sextuplicado) una cicloadición 1,3-dipolar azida-alquino catalizada por cobre (CuAAC), comúnmente conocida como reacción click, con 3-azidosulfonato de sodio. El derivado resultante SiPc 7, ya soluble en medio acuoso, se purifica por cromatografía en columna de fase reversa, utilizando una sílice modificada C18 como fase estacionaria y una mezcla de H<sub>2</sub>O/MeCN en gradiente desde 85:15 hasta 70:30 como fase móvil, con un rendimiento del 79%.

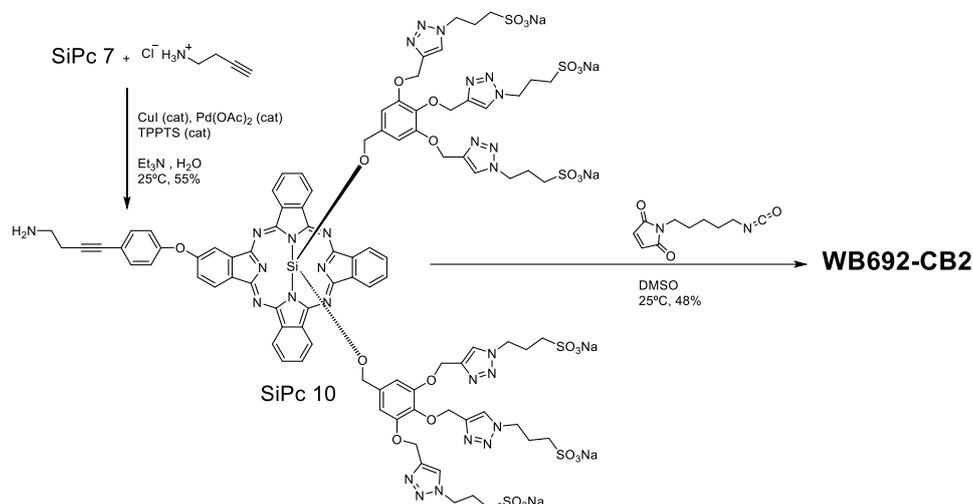


**Esquema 8.** Etapa 2, preparación de SiPc 7.

**Etapa 3:** Obtención de WB692-CB2, funcionalización con maleimida terminal (Esquema 9).

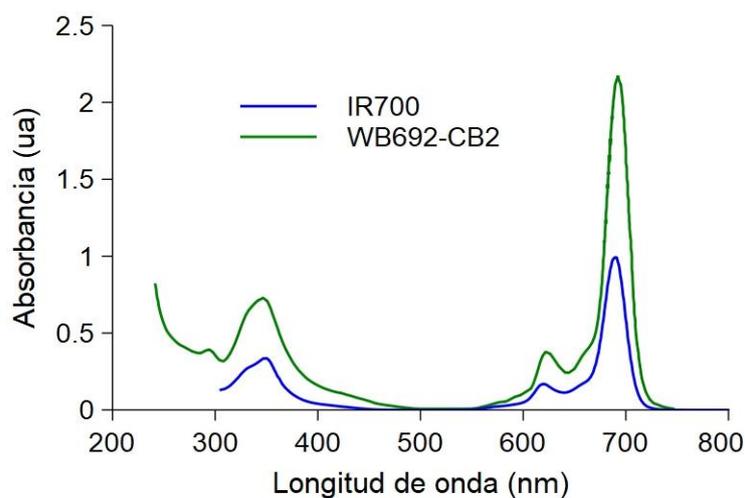
En último lugar, se lleva a cabo una reacción de Sonogashira, un acoplamiento C-C entre derivados de yodo y alquinos terminales, catalizado por Pd y Cu, entre el SiPc 7 y el clorhidrato de 1-aminobut-3-ino, para dar lugar a SiPc 10 con un grupo amino. Este intermedio, que se combina con el isocianato 11 con una unidad maleimida terminal, para obtener la molécula objetivo, WB692-CB2, tras purificación por cromatografía en columna de fase reversa, utilizando una sílice

modificada C18 como fase estacionaria y una mezcla H<sub>2</sub>O/MeCN en gradiente desde 95:5 hasta 70:30 como fase móvil, con un rendimiento del 48%.



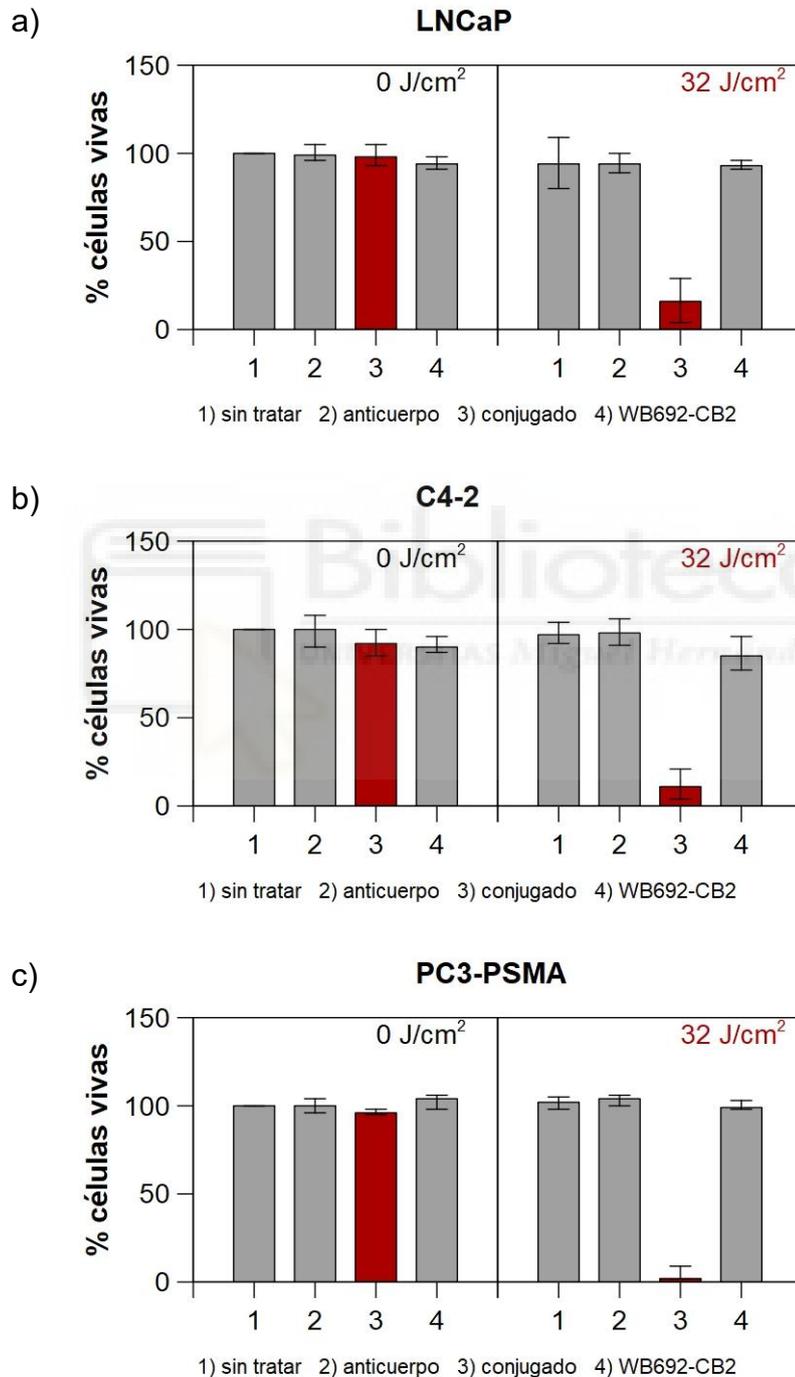
**Esquema 9.** Etapa 3, obtención de WB692-CB2

El compuesto sintetizado, con un máximo de absorción localizado a 689 nm (en comparación con los 690 nm del IR700, (ver Figura 12), se conjuga con el anticuerpo antiPSMA humanizado h3/F11, un anticuerpo monoclonal dirigido contra el antígeno de membrana específico de próstata (PSMA), y se analizan los resultados terapéuticos en tres líneas celulares que expresan PSMA y otra línea celular sin expresión del antígeno como control.



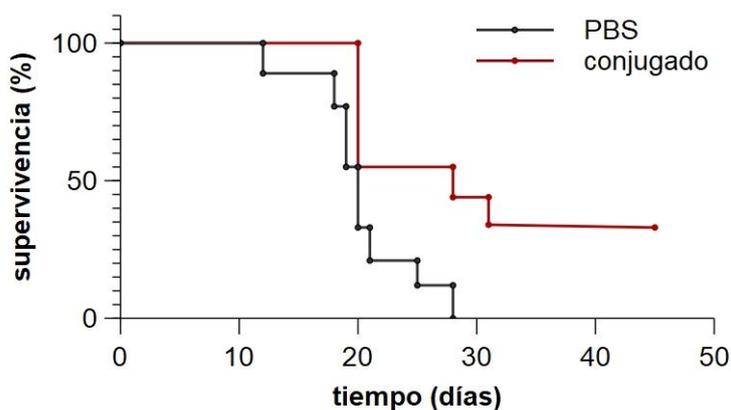
**Figura 12.** Comparativa de los espectros de absorción UV-vis normalizados de IR700 y WB692-CB2.

Se analiza la viabilidad de las células tumorales tratadas con conjugados en un experimento *in vitro*. Los resultados demuestran ausencia de toxicidad atribuida a la alta selectividad de la unión y elevada efectividad dependiente de la dosis en las líneas celulares que expresan antígeno prostático, LNCaP (Figura 13a) C4-2 (Figura 13b) y PC3-PSMA (Figura 13c).



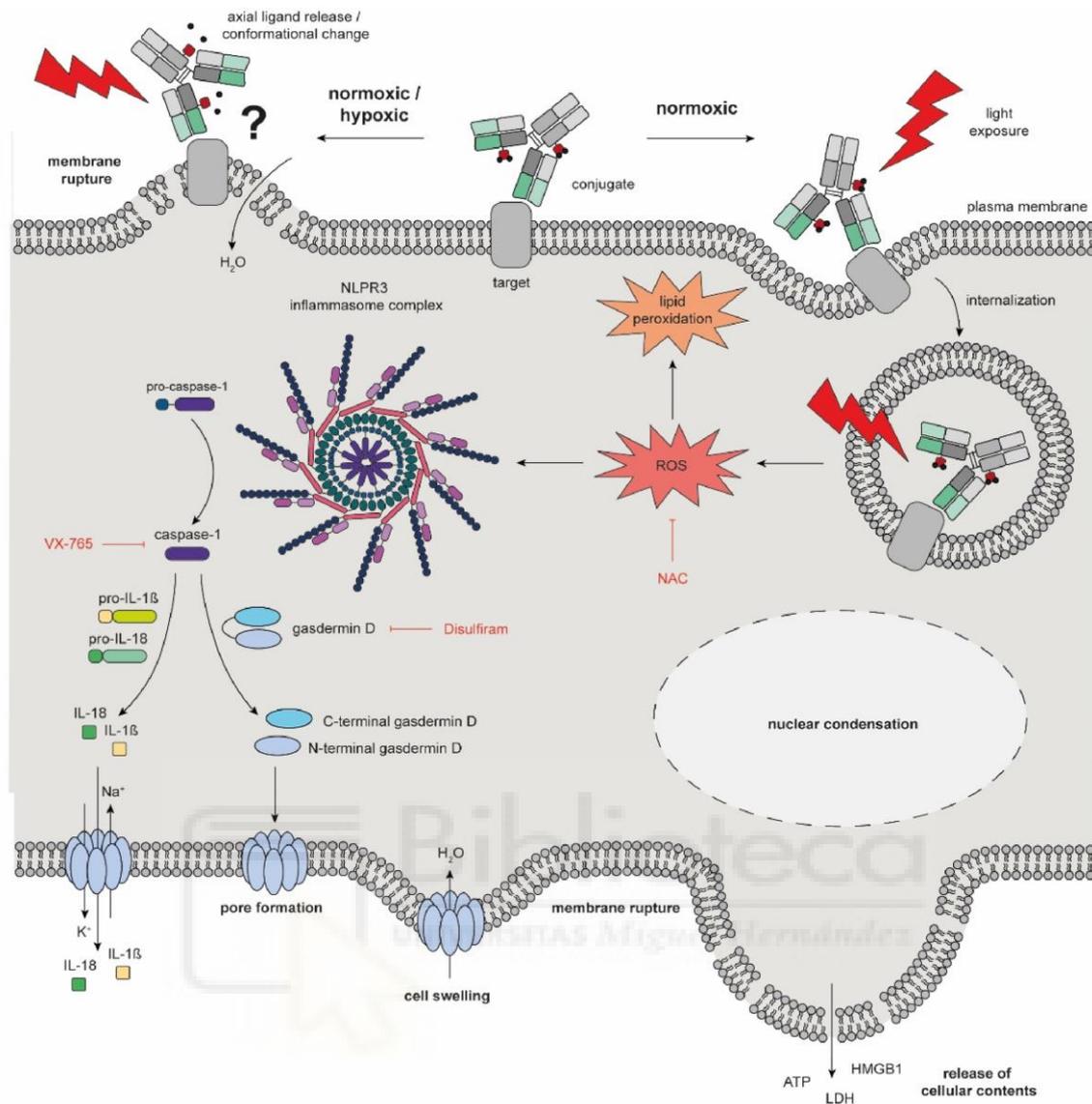
**Figura 13.** Células tumorales restantes que expresan PSMA tras administrar el conjugado y aplicar luz. (a) Administración del conjugado en células LNCaP, (b) en células C4-2, (c) en células PC3-PSMA.

Se analizan diversos parámetros farmacocinéticos *in vivo*, observándose una retención prolongada del compuesto y una amplia distribución en el tejido tumoral que se mantiene durante un tiempo superior al doble del observado con IR700. También se detecta una inhibición del crecimiento tumoral logrando un aumento significativo de la supervivencia (Figura 14).



**Figura 14.** Supervivencia en animales tras la administración del conjugado comparada con la observada en el grupo control.

Una de las diferencias fundamentales de este nuevo fotosensibilizador respecto a los anteriores se revela en los análisis microscópicos, los cuales muestran la formación de ampollas en células de cáncer de próstata, sin presencia de cuerpos apoptóticos. Para que este compuesto ejerza su mecanismo de acción, resulta imprescindible su internalización en la célula. En condiciones hipóxicas, el fotosensibilizador provoca estrés físico, conduciendo posteriormente a necrosis. En condiciones normóxicas, en cambio, logra penetrar en el interior celular y genera ROS. De esta manera, a diferencia de los fotosensibilizadores utilizados previamente que inducían apoptosis, este nuevo agente activa un mecanismo distinto: la piroptosis, un proceso inflamatorio de muerte celular, caracterizado por la activación de caspasas, la escisión de gasdermina D y la liberación del contenido intracelular, que representa una novedad en el campo de la fotoimmunoterapia en el infrarrojo cercano (Figura 15).



**Figura 15.** Mecanismo molecular de la piroptosis inducida por fotoinmunoterapia.

## 6. CONCLUSIONES

Se han presentado dos trabajos que describen la síntesis de dos moléculas derivadas de ftalocianina de silicio y su aplicación como fotosensibilizadores, conjugados con anticuerpos, para fotoinmunoterapia en el infrarrojo cercano. Estos nuevos derivados se han diseñado con el objetivo de mejorar el comportamiento del IR700, un fotosensibilizador ya empleado para este fin y que ha demostrado su eficacia en este tipo de aplicación. En ambos casos, los procesos sintéticos son largos, tediosos y poco eficientes en términos de rendimiento cuantitativo del producto final. No obstante, el diseño molecular parece adecuado. En el caso del KA800, la característica estructural diferencial reside en la introducción de sustituyentes etoxilo en las posiciones no periféricas, con el fin de desestabilizar el HOMO del anillo de ftalocianina y desplazar así el máximo de absorción hacia la región del infrarrojo cercano (NIR). En el caso del WB692-CB2, la característica estructural principal consiste en la introducción de un resto maleimida terminal, que permite una interacción más selectiva y eficiente con los anticuerpos a través de interacciones con residuos de cisteína, los cuales a su vez pueden introducirse en posiciones específicas del anticuerpo mediante técnicas de ingeniería genética. Por lo tanto, se trata de dos excelentes trabajos que demuestran el potencial de combinar el diseño molecular con la síntesis orgánica convencional y el uso de vectores biológicos dirigidos para la obtención de nuevos fármacos con una actividad terapéutica específica y muy localizada en el tejido a tratar. A pesar de que las estrategias de síntesis empleadas en los dos trabajos reflejan el comienzo de un enfoque más sofisticado y sostenible respecto a los métodos tradicionales, todavía existe margen de mejora para conseguir compuestos eficientes y competitivos que puedan trasladarse a la fase clínica y que superen los resultados ya obtenidos con el derivado IR700. Es, por tanto, fundamental que grupos de investigación en síntesis orgánica exploren activamente nuevas alternativas, a pesar de la dificultad intrínseca observada en la obtención de este tipo de compuestos.

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) Ortí E., Brédas JL; Electronic structure of metal-free phthalocyanine: A valence effective Hamiltonian theoretical study. *J. Chem. Phys.* 1988; 89 (2): 1009-1016.
- (2) De la Torre G., Claessens C.G., Torres T. Phthalocyanines: old dyes, new materials. Putting color in nanotechnology, *Chem. Commun.* 2007; (20): 2000-2015.
- (3) S. Arslan, Phthalocyanines: Structure, synthesis, purification and applications, *Journal of Life Sciences*, 2016, 6, 188-197.
- (4) Abdulrahman Hamad O, Kareem R, Khdir Omer P. Recent Developments in Synthesize Properties Characterization and Application of Phthalocyanine and Metal Phthalocyanine. *J Chem Rev.*
- (5) N. B. McKeown, Phthalocyanine Materials: Synthesis, Structure and Function, Cambridge University Press, Cambridge, 1998; G. de la Torre, M. Nicolau and T. Torres, in *Supramolecular Photosensitive and Electroactive Materials*, ed. H. Nalwa, Academic Press, New York, 2001, pp. 1–111
- (6) Mitra K, Hartman MCT. Silicon phthalocyanines: synthesis and resurgent applications. *Org Biomol Chem.* 2021;19(6):1168-90.
- (7) G.R. Nagargoje, A.S. Bondge, P.D. Kadam, K.I. Momin, S.B. Zangade, D.D. Kadam, S.P. Panchgalle, V. More, Quantification of langlois reagent by <sup>19</sup>F-NMR spectroscopy, *Journal of Applied Organometallic Chemistry*, 2023, 3, 213223.
- (8) S. Kakade, R. Ghosh and D. K. Palit, Excited State Dynamics of Zinc–Phthalocyanine Nanoaggregates in Strong Hydrogen Bonding Solvents, *J. Phys. Chem. C*, 2012, 116, 15155–15166.
- (9) G. v. Büнау and J. B. Birks, *Photophysics of Aromatic Molecules*. Wiley-Interscience, London 1970. 704 Seiten. Preis: 210s, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, 1970, 74, 12941295.
- (10) *Phthalocyanines: Properties and Applications*, ed. C. C. Leznoff and A. B. P. Lever, VCH, Weinheim, 1989, 1993, 1996, vols. 1–4; *The Porphyrin Handbook*, ed. K. M. Kadish, K. M. Smith and R. Guilard, Academic Press, San Diego, CA, 2003, vols. 15–20

- (11) T. M. Grant, D. S. Josey, K. L. Sampson, T. Mudigonda, T. P. Bender and B. H. Lessard, Boron Subphthalocyanines and Silicon Phthalocyanines for Use as Active Materials in Organic Photovoltaics, *Chem. Rec.*, 2019, 19, 1093–1112
- (12) Simon J., Sirlin C. *Pure Appl. Chem.* 1999; (71): 2145.
- (13) O. A. Melville, T. M. Grant and B. H. Lessard, Silicon phthalocyanines as N-type semiconductors in organic thin film transistors, *J. Mater. Chem. C*, 2018, 6, 54825488.
- (14) Generosi A., Paci B., Albertini V. R., Perfetti P., Paoletti A. M., Pennesi G., et al. Evidence of a rearrangement of the surface structure in titanium phthalocyanine sensors induced by the interaction with nitrogen oxides molecules. *Appl. Phys Lett.* 2005; 87(18).
- (15) X. Li, J. F. Lovell, J. Yoon and X. Chen, Clinical development and potential of photothermal and photodynamic therapies for cancer, *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 2020, 17, 657674.
- (16) M. Mitsunaga, M. Ogawa, N. Kosaka, L. T. Rosenblum, P. L. Choyke and H. Kobayashi, Cancer cell-selective in vivo near infrared photoimmunotherapy targeting specific membrane molecules, *Nat. Med.*, 2011, 17, 16851691.
- (17) Y. Cheng, J. D. Meyers, A.-M. Broome, M. E. Kenney, J. P. Basilion and C. Burda, Deep Penetration of a PDT Drug into Tumors by Noncovalent Drug-Gold Nanoparticle Conjugates, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, 133, 2583–2591.
- (18) M. K. Lowery, A. J. Starshak, J. N. Esposito, P. C. Krueger and M. E. Kenney, Dichloro(phthalocyanino)silicon, *Inorg. Chem.*, 1965, 4, 128.
- (19) R. D. Joyner and M. E. Kenney, Phthalocyaninosilicon Compounds, *Inorg. Chem.*, 1962, 1, 236–238
- (20) J.-W. Hofman, F. van Zeeland, S. Turker, H. Talsma, S. A. G. Lambrechts, D. V. Sakharov, W. E. Hennink and C. F. van Nostrum, Peripheral and Axial Substitution of Phthalocyanines with Solketal Groups: Synthesis and In Vitro Evaluation for Photodynamic Therapy, *J. Med. Chem.*, 2007, 50, 1485–1494.
- (21) Kobayashi H, Choyke PL. Near-Infrared Photoimmunotherapy of Cancer. *Acc Chem Res.* 2019; 52(8):2332-9.

- (22) Dąbrowski J. M., & Arnaut L. G. Photodynamic therapy (PDT) of cancer: from local to systemic treatment. *Photochem Photobiol Sci.* 2015; 14(10): 1765-1780.
- (23) Hu T, Wang Z, Shen W, Liang R, Yan D, Wei M. Recent advances in innovative strategies for enhanced cancer photodynamic therapy. *Theranostics.* 2021; 11: 3278–300.
- (24) Wei D, Qi J, Hamblin MR, Wen X, Jiang X, Yang H. Near-infrared photoimmunotherapy: design and potential applications for cancer treatment and beyond. *Theranostics.* 2022;12(16):7108-31.
- (25) Sato, K.; Ando, K.; Okuyama, S.; Moriguchi, S.; Ogura, T.; Totoki, S.; Hanaoka, H.; Nagaya, T.; Kokawa, R.; Takakura, H.; Nishimura, M.; Hasegawa, Y.; Choyke, P. L.; Ogawa, M.; Kobayashi, H. Photoinduced Ligand Release from a Silicon Phthalocyanine Dye Conjugated with Monoclonal Antibodies: A Mechanism of Cancer Cell Cytotoxicity after Near-Infrared Photoimmunotherapy. *ACS Cent. Sci.* 2018, 4, 1559–1569.
- (26) Ogawa, M.; Tomita, Y.; Nakamura, Y.; Lee, M. J.; Lee, S.; Tomita, S.; Nagaya, T.; Sato, K.; Yamauchi, T.; Iwai, H.; Kumar, A.; Haystead, T.; Shroff, H.; Choyke, P. L.; Trepel, J. B.; Kobayashi, H. Immunogenic cancer cell death selectively induced by near infrared photoimmunotherapy initiates host tumor immunity. *Oncotarget* 2017, 8, 10425–10436.
- (27) Nagaya, T.; Friedman, J.; Maruoka, Y.; Ogata, F.; Okuyama, S.; Clavijo, P. E.; Choyke, P. L.; Allen, C.; Kobayashi, H. Host Immunity Following Near-Infrared Photoimmunotherapy Is Enhanced with PD1 Checkpoint Blockade to Eradicate Established Antigenic Tumors. *Cancer Immunol. Res.* 2019, 7, 401–413.
- (28) Maruoka Y, Wakiyama H, Choyke PL, Kobayashi H. Near infrared photoimmunotherapy for cancers: A translational perspective. *EBioMedicine.* 2021;70:103501.
- (29) Sano K, Nakajima T, Choyke PL, Kobayashi H. Markedly enhanced permeability and retention effects induced by photo-immunotherapy of tumors. *ACS Nano.* 2013; 7: 717–24.
- (30) Liang, C. P.; Nakajima, T.; Watanabe, R.; Sato, K.; Choyke, P. L.; Chen, Y.; Kobayashi, H. Real-time monitoring of hemodynamic changes in tumor

- vessels during photoimmunotherapy using optical coherence tomography. *J. Biomed. Opt.* 2014, 19, 098004.
- (31) Martinelli E, De Palma R, Orditura M, De Vita F, Ciardiello F. Anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies in cancer therapy. *Clin Exp Immunol* 2009;158(1):1–9.
- (32) Yamaguchi H, Pantarat N, Suzuki T, Evdokiou A. Near-infrared photoimmunotherapy using a small protein mimetic for HER2-overexpressing breast cancer. *Int J Mol Sci* 2019;20(23):5835.
- (33) Kiss B, van den Berg NS, Ertsey R, McKenna K, Mach KE, Zhang CA, et al. CD47-targeted near-infrared photoimmunotherapy for human bladder cancer. *Clin Cancer Res.* 2019; 25: 3561–71.
- (34) Watanabe S, Noma K, Ohara T, Kashima H, Sato H, Kato T, et al. Photoimmunotherapy for cancer-associated fibroblasts targeting fibroblast activation protein in human esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Biol Ther.* 2019; 20: 1234–48.
- (35) Hu M., Brasseur N., Yildiz S. Z., van Lier J. E., & Leznoff C. C. Hydroxyphthalocyanines as potential photodynamic agents for cancer therapy. *J. Med. Chem.* 1998; 41(11): 1789-1802.
- (36) Takakura H, Matsuhira S, Kobayashi M, Goto Y, Harada M, Taketsugu T, et al. Axial-ligand-cleavable silicon phthalocyanines triggered by near-infrared light toward design of photosensitizers for photoimmunotherapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry.* abril de 2022;426:113749.
- (37) E. D. Anderson, A. P. Gorka and M. J. Schnermann, Nearinfrared uncaging or photosensitizing dictated by oxygen tension, *Nat. Commun.*, 2016, 7, 13378.
- (38) E. van de Winckel, B. David, M. M. Simoni, J. A. GonzálezDelgado, A. de la Escosura, Â. Cunha and T. Torres, Octacationic and axially di-substituted silicon(IV) phthalocyanines for photodynamic inactivation of bacteria, *Dyes Pigm.*, 2017, 145, 239–245.
- (39) Peng X, Draney DR, Volcheck WM, Bashford GR, Lamb DT, Grone DL, et al. Phthalocyanine dye as an extremely photostable and highly fluorescent

- near-infrared labeling reagent. En: Achilefu S, Bornhop DJ, Raghavachari R, editores.
- (40) Ito K, Mitsunaga M, Nishimura T, Kobayashi H, Tajiri H. Combination photoimmunotherapy with monoclonal antibodies recognizing different epitopes of human epidermal growth factor receptor 2: an assessment of phototherapeutic effect based on fluorescence molecular imaging. *Oncotarget*. 2016; 7: 14143–52
- (41) Nagaya T, Nakamura Y, Sato K, Harada T, Choyke PL, Kobayashi H. Near infrared photoimmunotherapy of B-cell lymphoma. *Mol Oncol*. 2016; 10: 1404–14.
- (42) Nagaya T, Nakamura Y, Sato K, Harada T, Choyke PL, Hodge JW, et al. Near infrared photoimmunotherapy with avelumab, an anti-programmed death-ligand 1 (PD-L1) antibody. *Oncotarget*. 2017; 8: 8807–17.
- (43) Nagaya T, Nakamura Y, Sato K, Zhang YF, Ni M, Choyke PL, et al. Near infrared photoimmunotherapy with an anti-mesothelin antibody. *Oncotarget*. 2016; 7: 23361–9.
- (44) Hollandsworth HM, Amirfakhri S, Filemoni F, Molnar J, Hoffman RM, Yazaki P, et al. Near-infrared photoimmunotherapy is effective treatment for colorectal cancer in orthotopic nude-mouse models. *PLoS One*. 2020; 15: e0234643.
- (45) Maruoka Y, Furusawa A, Okada R, Inagaki F, Fujimura D, Wakiyama H, et al. Combined CD44- and CD25-targeted near-infrared photoimmunotherapy selectively kills cancer and regulatory T cells in syngeneic mouse cancer models. *Cancer Immunol Res*. 2020; 8: 345–55
- (46) Hartmans E, Linssen MD, Sikkens C, Levens A, Witjes MJH, van Dam GM, et al. Tyrosine kinase inhibitor induced growth factor receptor upregulation enhances the efficacy of near-infrared targeted photodynamic therapy in esophageal adenocarcinoma cell lines. *Oncotarget*. 2017; 8: 29846–56.
- (47) Okada R, Maruoka Y, Furusawa A, Inagaki F, Nagaya T, Fujimura D, et al. The Effect of antibody fragments on CD25 targeted regulatory T cell near-infrared photoimmunotherapy. *Bioconjug Chem*. 2019; 30: 2624–33.

- (48) Xue G, Wang Z, Zheng N, Fang J, Mao C, Li X, et al. Elimination of acquired resistance to PD-1 blockade via the concurrent depletion of tumour cells and immunosuppressive cells. *Nat Biomed Eng.* 2021; 5: 1306–19.
- (49) Goto Y, Ando K, Takakura H, Nakajima K, Kobayashi M, Inanami O, et al. Development of a red-shifted photosensitizer for near-infrared photoimmunotherapy of cancer. *Journal of Photochemistry and Photobiology.* 2024;20:100230.
- (50) Wolf I, Storz J, Schultze-Seemann S, Esser PR, Martin SF, Lauw S, et al. A new silicon phthalocyanine dye induces pyroptosis in prostate cancer cells during photoimmunotherapy. *Bioactive Materials.* noviembre de 2024;41:537-52.

