

Od złota do nanozłota w medycynie i farmacji

From gold to nanogold in medicine and pharmacy

Paweł Bakun¹, Beata Czarczyńska-Goślińska², Tomasz Koczorowski¹,
Tomasz Gośliński¹, Wojciech Szczęśko¹

¹ Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

² Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Złoto to metal, który odegrał niebagatelną rolę w historii ludzkości oraz medycynie i farmacji. Od wieków był pożądanym metalem do wykonywania naczyń, czego przykładem jest słynny puchar Likurga. O właściwościach i zastosowaniach medycznych złota pisali lekarze Paracelsus, Antoine Lecoq i Frederic Hoffman, a także filozof Kartezjusz. Dopiero XX wiek przyniósł więcej zastosowań dla złota i jego związków, głównie z uwagi na rozwój nauki i nowoczesnych technologii. Złoto i jego związki nie rozpowszechniły się bardzo w lecznictwie, a terapia działającymi przeciwobrzękowo solami złota w chorobach reumatoidalnych jest już praktycznie niedostępna. Mimo to prowadzi się poszukiwania nowych zastosowań dla złota, jego związków i nanocząstek w leczeniu chorób nowotworowych i neurodegeneracyjnych, ocenia się ich aktywność przeciwbakteryjną i przeciwnowotworową, a także możliwości zastosowania jako nośnika leków. Wpływ nanocząstek złota na zdrowie człowieka nie został jednak jeszcze w pełni wyjaśniony, stąd konieczne są dogłębne studia w tym zakresie przed ich wprowadzeniem do terapii. (*Farm Współ 2020; 13: 42-51*)

Słowa kluczowe: choroby reumatyczne, nanozłoto, teranostyka, terapia fotodynamiczna, terapia fototermiczna

Abstract

Gold is a metal that played a significant role in the history of mankind as well as in medicine and pharmacy. For centuries it has been a desirable metal for making dishes, an example of which is the famous Lykurgus Cup. Physicians such as Paracelsus, Antoine Lecoq, Frederic Hoffman, as well as the philosopher Descartes wrote about its properties and applications in therapeutics. Only the 20th century brought more applications for gold and its compounds, mainly due to the development of modern technologies. Gold and its compounds have not spread widely in medicine, and therapy with antiedematous gold salts in rheumatoid diseases is practically unavailable. However, new applications are being sought for gold, its compounds and nanoparticles in the treatment of cancer and neurodegenerative diseases, their antimicrobial and antitumor activity as well as the possibilities of their use as drug carriers are evaluated. However, the impact of gold nanoparticles on human health has not been fully explained yet. Therefore, profound studies in this field are necessary before their introduction into the therapy. (*Farm Współ 2020; 13: 42-51*)

Keywords: rheumatic diseases, nanogold, theranostics, photodynamic therapy, photothermal therapy

Zamiast wstępu o złocie w medycynie i farmacji na przestrzeni wieków

Złoto to metal, który odgrywa niebagatelną rolę w kulturze i historii ludzkości. Ma duże znaczenie dla człowieka zarówno ze względu na rzadkość występowania, walory estetyczne, jak i właściwości fizykochemiczne, które otwierają drogę do wielu

różnorodnych zastosowań. Złoto było pożądanym surowcem do wykonywania naczyń i kielichów, jak i narzędzi od zarania dziejów. Najstarszym przedmiotem wykorzystującym nanozłoto jest słynny Puchar Likurga, pochodzący z IV wieku n.e. Zmianę kolorów, w zależności od kąta padania promieni słonecznych i barwy płynu znajdującego się wewnątrz, zawdzięcza

on obecności nanocząstek złota o wielkości ok. 5-60 nm w szkle rubinowym [1]. Złoto stosowano także do ozdabiania naczyń do potraw, jak i picia. Złoto pitne (łac. *aurum potabile*) miało w myśl tradycji rzekome zdolności zmieniania starca w krzepkiego i mocnego młodzieńca. Pochlebnie na temat złota wypowiadali się uczeni takiego formatu, jak lekarz Paracelsus, czy słynny filozof Kartezjusz. Francuski lekarz Antoine Lecoq wprowadził leki na bazie złota do terapii chorób wenerycznych. Z kolei lekarz niemiecki Frederic Hoffman zastosował złoto w chorobach reumatycznych [2]. Wśród zaleceń medycznych do stosowania złota na przestrzeni wieków pojawiły się wskazania takie jak wydłużenie życia i ogólna poprawa samopoczucia, owrzodzenia skóry, depresja, epilepsja, migreny, zaburzenia menstruacji, impotencja, alkoholizm, okresowe gorączki, syfilis, gorączka reumatyczna, gruźlica i pasożyty [2-5].

Dopiero XX wiek przyniósł nowe zastosowania złota i jego związków, głównie z uwagi na rozwój chemii medycznej, chemii materiałowej i nanotechnologii, którym towarzyszyło pojawienie się szeregu nieznanymi wcześniej technik analitycznych. Warto szczególnie wspomnieć o zaawansowanych technikach ultramikroskopowych, mikroskopii elektronowej, a także technikach spektroskopowych, które wyodrębniły się wraz z wyjaśnieniem istoty oddziaływań cząsteczek z różnymi zakresami promieniowania elektromagnetycznego. W związku z tym złoto i jego związki zaczęto stosować w stomatologii oraz w leczeniu chorób reumatycznych, w tym reumatoidalnego zapalenia stawów. Należy jednak obiektywnie podkreślić, że złoto i jego związki nie rozpowszechniły się w lecznictwie. Terapia działającymi przeciwobrzękowo solami złota, takimi jak np. auranofina, aurotioglukoza, aurotiobenzimidazol sodowy, przez długi czas stosowana w chorobach reumatoidalnych, jest już w wielu krajach, w tym w Polsce, praktycznie niedostępna. Stało się tak ze względu na konieczność uciążliwego dla pacjentów przewlekłego stosowania preparatów złota, któremu towarzyszyło wiele działań niepożądanych. Przy podawaniu doustnym auranofiny, zaaprobowanej przez FDA (ang. *Food and Drug Administration*) w 1985 r. [6], pojawiały się luźne stolce, dolegliwości skurczowe w podbrzuszu i biegunka. Przy pozostałych preparatach, podawanych w formie iniekcji domięśniowych, pacjenci skarżyli się na dyskomfort fizyczny i psychiczny wynikający z konieczności ich regularnego wykonywania. Pojawienie się leków nowszej generacji,

w tym metotreksatu, a następnie leków biologicznych, spowodowało stopniowe odejście od stosowania soli złota w terapii chorób reumatycznych [7].

Cały czas prowadzi się poszukiwania nowych zastosowań dla złota, jego związków i połączeń z nanocząstkami. Przykładem mogą być niedawno opublikowane dane dotyczące potencjalnej skuteczności auranofiny w leczeniu chorób nowotworowych i neurodegeneracyjnych. Należy także zwrócić uwagę na jej aktywność przy leczeniu infekcji pasożytniczych i bakteryjnych, w szczególności przeciw *Mycobacterium tuberculosis*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* i *faecium*, *Staphylococcus aureus*, a także zakażeń i chorób wywołanych wirusami HIV/AIDS (ang. *human immunodeficiency virus/acquired immune deficiency syndrome*) [6,8]. Jednym z nielicznych zastosowań medycznych złota jest leczenie chirurgiczne niedomykalności szczeliny powiekowej (ang. *lagophthalmos*). Dysfunkcja polega na tym, że pacjent nie jest w stanie całkowicie zamknąć powiek. Leczenie polega na implantacji niewielkiej złotej płytki do powieki górnej, która pełni rolę obciążnika pozwalającego domknąć powieki z wykorzystaniem siły grawitacji [9].

Na dzień dzisiejszy w aptekach i sklepach są dostępne wyroby medyczne oraz suplementy ze złotem. Są to silikonowe żele z nanokolloidem złota zalecane do stosowania na blizny różnego pochodzenia oraz spraye do ust i gardła zalecane do wspomagania leczenia, łagodzenia objawów oraz przebiegu przewlekłych, nietypowych i nieswoistych stanów zapalnych gardła i jamy ustnej, spowodowanych przez różnego typu infekcje. Złoto koloidalne i nanozłoto pojawia się także w preparatach kosmetycznych, w których podkreśla się jego działanie antybakteryjne, a także poprawiające stan skóry, poprzez opóźnianie procesów starzenia, spowolnienie utraty elastyny oraz kolagenu w skórze.

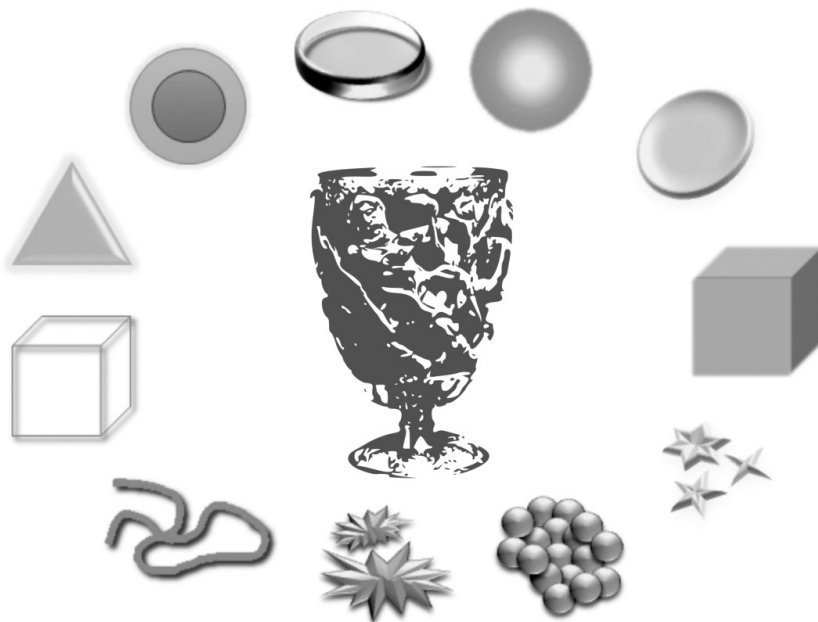
Nanotechnologia i nanozłoto

Rozwój nowoczesnych technologii, ale także ich dostępność sprawiły, że w medycynie i farmacji wzrosło zainteresowanie mikro- i nanomateriałami. Szczególnie upowszechnienie specjalistycznej aparatury związanej z rozwojem technik spektroskopowych, dynamicznego rozpraszania światła (ang. *dynamic light scattering*; DLS), mikroskopii elektronowej, w tym skaningowej (ang. *scanning electron microscope*; SEM), transmisyjnej (ang. *transmission electron microscope*; TEM), sił atomowych (ang. *atomic force microscope*; AFM), otworzyło dostęp do wizualizacji świata na

poziomie atomów i cząsteczek. Sposób organizacji tych najmniejszych elementów i jego zrozumienie, a następnie przełożenie na właściwości i zastosowania w makroświecie, stały się podstawą gwałtownego rozwoju nanotechnologii. W świetle różnych definicji, w tym Komisji Europejskiej, nanomateriał powinien zawierać co najmniej 50% cząstek z zakresu 1-100 nm [10]. Wśród nanomateriałów wyróżniamy struktury metaliczne, ceramiczne, polimerowe oraz węglowe. Chociaż, myśląc o nanomateriałach, zwykle jednym tchem wymieniane są tylko materiały węglowe, szczególnie fulereny, nanorurki i grafen. Rzadziej wspomina się nanozłoto, nanosrebro, tlenek tytanu i dendrymery, prawdopodobnie dlatego, że trudniej je opisać jakimś jednym „typowym” schematem oraz wpisać w określone ramy strukturalne. Tymczasem nanocząstki złota (ang. *gold nanoparticles*; AuNPs) charakteryzują się niezwykle ciekawymi właściwościami fizykochemicznymi i wynikającymi z nich potencjalnymi zastosowaniami w medycynie i farmacji, którym warto poświęcić uwagę.

Głównym substratem do otrzymywania nanocząstek złota jest kwas tetrachlorozłotowy (III) (HAuCl_4), który poddawany jest redukcji z wykorzystaniem różnych czynników redukujących, m.in. borowodorków,

aminoboranów, formaldehydu, hydrazyny, hydroksyloamin, polioli, kwasu cytrynowego, kwasu szczawowego i cukrów. Nanocząstki złota zabezpiecza się przed agregacją, przyłączając do ich powierzchni różne czynniki stabilizujące, w postaci grup siarkowych, fosforowych, azotowych, dendrymerów, polimerów i środków powierzchniowo czynnych [11]. Roztwory nanocząstek złota przybierają różne barwy w zależności od wielkości nanocząstek i ich kształtu, począwszy od intensywnie czerwonego do niebiesko-fioletowego, ale obserwuje się też kolory pomarańczowe i brązowe. Maksimum absorpcji nanocząstek złota jest zależne od ich rozmiaru. Przykładowo dla nanocząstek kulistych o średnicy 100 nm maksimum absorpcji występuje przy 580 nm, a dla nanoprętów przesuwają się w zakres 550-1400 nm [12]. Na uwagę zasługuje też szeroka gama kształtów możliwych do uzyskania w różnych procesach (rycina 1). Są to nanomuszele, nanopalczki oraz nanoprzewody, ale także nanosfery, nanoklatki, nanokostki, nanorurki, nanogwiazdy, nanopasy, nanotrójkąty, nanojeżowce, nanowstęgi, nanodyski i agregaty atomowe. Niejednokrotnie taka sama struktura jest nazywana przez różne grupy badawcze w odmienny sposób. Dostępne komercyjnie są nanopalczki, nanokable i mikrozłoto [12].



Rycina 1. Różne warianty strukturalne nanocząstek złota
Figure 1. Different structural variants of gold nanoparticles

Nanocząstki złota posiadają dużą i dającą się modyfikować powierzchnię, którą można zmieniać myśląc o konkretnych zastosowaniach. Wiele możliwości modyfikacji nanozłota wynika z obecności ładunku ujemnego na ich powierzchni [13,14]. Modyfikacje powierzchni prowadzi się przyłączając ugrupowania peryferyjne wiązaniami kowalencyjnymi lub wykorzystując oddziaływania niekowalencyjne, głównie elektrostatyczne, van der Waalsa i hydrofobowe. Ten typ wiązań jest stosunkowo wrażliwy na warunki środowiska, co objawia się ich labilnością w określonej temperaturze i warunkach pH, przy zastosowaniu roztworu o dużej sile jonowej lub otoczenia różnych makrocząsteczek np. białek. Dla porównania, wiązania kowalencyjne cechuje znacznie większa trwałość i odporność, ale są one trudniejsze do uzyskania. Często wykorzystywaną cechą nanocząstek złota jest ich wysokie powinowactwo do grup tiolowych, które łatwo reagują z powierzchnią złota tworząc stabilne wiązania [15].

Odpowiednie modyfikacje wprowadzone na powierzchni nanocząstek złota pozwalają na ich perspektywiczne zastosowanie w diagnostyce medycznej, teranostyce, a także w leczeniu chorób. Do związków, które mogą być podłączane do nanocząstek złota należą: antygeny, peptydy, przeciwciała monoklonalne,

aptamery, witaminy, niektóre leki (metotreksat, dokso-rubicyna, bleomycyna, kwas foliowy, oksaliplatyna, paklitaksel), polimery, oligonukleotydy (rycina 2). Problemem nieodłącznie związanym ze względnie dużą i podatną na modyfikacje powierzchnią aktywną jest fakt tworzenia się w środowisku fizjologicznym tzw. „korony białkowej”. Zjawisko to polega na przyłączaniu się do powierzchni nanocząstek substancji białkowych występujących w danym płynie biologicznym. Jest to zjawisko negatywne, ponieważ powoduje powiększenie średnicy nanocząstki, zwiększenie jej narażenia na działanie makrofagów, „zasłonięcie” ugrupowań odpowiedzialnych za oczekiwane działanie biologiczne i tłumienie tegoż działania. Chcąc zredukować eliminację nanocząstek przez układ immunologiczny i uniknąć wiązania z występującymi w otoczeniu substancjami biologicznymi niezbędna jest modyfikacja ich powierzchni z użyciem polimerów. Najczęściej wykorzystuje się do tego celu glikol polietylenowy (ang. *polyethylene glycol*; PEG), który tworzy płaszcz ochronny na powierzchni nanocząstek złota. PEG cechuje brak ładunku powierzchniowego i wysoka hydrofilowość. Dzięki tego typu funkcjonalizacji nie pojawia się niespecyficzne wiązanie białek do powierzchni nanocząstek, a ich wychwytywanie przez makrofagi jest utrudnione, przez co wydłuża się



Rycina 2. Możliwości modyfikacji nanocząstek złota
Figure 2. Modifications of gold nanoparticles

czas ich krążenia w układzie krwionośnym i działania terapeutycznego [13-16].

Trudne pytanie na dziś – Czy nanozłoto jest bezpieczne?

Badania dotyczące bezpieczeństwa stosowania nanozłota koncentrują się na ocenie biodystrybucji, cytotoksyczności i toksyczności w funkcji wielkości nanocząstek. Określenie toksyczności nanocząstek złota jest trudne, gdyż już odpowiedź biologiczna zwierząt doświadczalnych, jak myszy i szczury, jest często bardzo zróżnicowana [17]. Na podstawie dostępnych wyników badań niełatwo jest jednoznacznie skorelować cytotoksyczność z wielkością cząstek, co wynika ze zróżnicowania ich wielkości oraz kształtu w różnych procedurach syntezy oraz funkcjonalizacji [18-22]. Stwierdzono, że nanocząstki złota penetrują w głąb naskórka i docierają do skóry właściwej, nie wchłaniają się jednak przez skórę. Wiele dotąd przeprowadzonych badań dotyczyło także wchłaniania nanozłota drogą oddechową i pokarmową, a także jego dystrybucji w różnych tkankach i organach. W tym ostatnim względzie znaczącą wiedzę wniosły badania po podaniu dożylnym nanocząstek złota. Toksyczność i biodystrybucja nanocząstek złota w ustroju była zależna od kilku kluczowych czynników, wśród których należy znowu wyróżnić ich wielkość, kształt, ładunek powierzchniowy i stopień zmodyfikowania powierzchni [23-27]. Nanocząstki złota większości rozmiarów kumulowały się w dobrze ukrwionych narządach wewnętrznych, takich jak wątroba i śledziona. Pozostałymi narządami, w których stwierdzono nanozłoto były przede wszystkim płuca i nerki, a także trzustka, serce, mózg, jądra czy grasica [28-30]. Z kolei niektóre badania pokazały, że podanie dootrzewnowe w modelu zwierzęcym indukuje zmiany w płucach i wątrobie [31,32]. Wyniki badań wskazały także na to, że nanozłoto może pokonywać bariery krew–mózg i krew–łożysko [33,34]. Rezultaty badań w zakresie genotoksyczności, teratogenności i kancerogenności są niewystarczające do sformułowania jednoznacznych wniosków, stąd konieczne są dalsze studia poświęcone tej tematyce [28,35,36]. Wpływ nanocząstek złota na zdrowie człowieka nie został tym samym jeszcze w pełni wyjaśniony, stąd konieczne jest dogłębne przeanalizowanie protokołów i dalsze badania w tym obszarze [37]. Działanie biologiczne i dopuszczalne poziomy narażenia zawodowego na nanozłoto zostały bardzo ciekawie przed-

stawione w pracy przeglądowej autorstwa Anny Marii Świdwińskiej-Gajewskiej i Sławomira Czerczaka [28].

Nanocząstki złota w badaniach przedklinicznych oraz jako nośniki leków

W świetle licznych badań przedklinicznych wykonanych dla nanocząstek złota *in vitro* i *in vivo*, wydaje się, że ich przyszłościowe zastosowanie występuje w obszarze chorób nowotworowych, zarówno ich leczenia oraz diagnostyki, chorób neurodegeneracyjnych, szczepionek, terapii genetycznych, leczenia infekcji pasożytniczych i bakteryjnych, ale także AIDS i COVID-19. Należy podkreślić, że samo przejście z poziomu makro- i mikrocząstek złota do poziomu nanocząstek, wymaga wnikliwych badań przedklinicznych. Nanocząstki złota stwarzają ponadto duże perspektywy jako nośniki leków, genów, a także białek. Dodatkowym atutem, który sprawia, że nanocząstki złota mogą stać się dobrym systemem dostarczania leku jest możliwość takiego zmodyfikowania ich struktury, aby pod wpływem czynników wewnętrznych lub zewnętrznych następowało uwalnianie przenoszonego przez nie leku w dokładnie określonym czasie i miejscu. W dotychczas przeprowadzonych badaniach na systemach opartych o nanocząstki złota jako czynnik uwalniający testowano światło, pH, glutation i elektroporację [13,14]. Spośród wymienionych czynników największą popularnością wśród badaczy cieszy się uwalnianie indukowane światłem. Dla przykładu, Sreejivungsa i wsp. zajęli się badaniem uwalniania naturalnie występującego barwnika, posiadającego właściwości cytotoksyczne z nanocząstek złota sfunkcjonalizowanych ugrupowaniem dinitrobenzylowym. Naukowcy wykazali, że hydrofobowy barwnik niekowalencyjnie wiązany we wnękach na powierzchni nanocząstek, po naświetlaniu lampą UV (365 nm), zostaje uwolniony na skutek fotochemicznego zerwania linkera dinitrobenzylowego [38].

Oporność wielolekowa komórek nowotworowych jest istotną przeszkodą w uzyskaniu zadowalających wyników chemioterapii. W tym względzie mogą być przydatne nanocząstki złota połączone ze znanym cytostatykiem doksorubicyną (DOX) poprzez łącznik wrażliwy na zmianę pH, wykonane przez Wanga i wsp. [39]. Autorzy pokazali, że nanocząstki złota funkcjonalizowane doksorubicyną i PEG w większym stopniu kumulują się w komórkach nowotworowych linii MCF-7/ADR niż sama doksorubicyna. Dodatkowo potwierdzono, że dzięki obecności specjalnie dobra-

nego łącznika, w kwaśnym pH niektórych organelli komórkowych, następuje odłączanie DOX z kompleksu transportującego. Stwierdzony znaczny wzrost stężenia wewnątrzkomórkowego DOX prowadził do efektu terapeutycznego nawet w przypadku nowotworów lekoopornych [39]. Przykładami innych leków, których próby połączenia z nanozłotem zakończyły się powodzeniem są metotreksat, bleomycyna, kwas foliowy, oksaliplatyna i paklitaksel [13].

Dostarczanie genów do miejsca docelowego z wykorzystaniem nanozłota jako nośnika staje się coraz popularniejszym obszarem badań. Dotychczas udowodniono, że możliwe jest transportowanie plazmidów, fragmentów DNA i RNA. Odkryto, że nanocząstki złota mogą chronić transportowany materiał genetyczny przed degradacją przez nukleazy, a także prowadzić do istotnego zwiększenia ilości materiału genetycznego w miejscu docelowego działania, dzięki posiadanym na powierzchni ligandom naprowadzającym [14]. Bhumkar i wsp. przeprowadzili badania dotyczące możliwości transportowania białek połączonych z nanocząstkami złota [40]. Funkcjonalizowane chitosanem nanocząstki złota zastosowali do transportowania zaadsorbowanej na ich powierzchni insuliny. Jak pokazały badania, modyfikowane nanocząstki charakteryzowały się wysoką efektywnością w przesyłkowym dostarczaniu tego hormonu po podaniu donosowym i doustnym w badaniach na szczurach stada niekrewniaczego Wistar z rozwiniętą cukrzycą [40]. Innym, coraz popularniejszym zastosowaniem nanozłota jest jego umieszczenie w szczepionkach nowej generacji. Nanocząstki pełnią w tym wypadku funkcję platformy, na powierzchni której znajdują się składniki czynne. Zespoły badawcze proponują wykorzystanie nanocząstek złota w nowoczesnych szczepionkach skierowanych przeciwko wirusowi HIV-1 i kleszczowego zapaleniu mózgu [41,42].

Studia pokazujące potencjał nanocząstek złota w perspektywicznych zastosowaniach do leczenia chorób nowotworowych zostały podsumowane przez Alphanđery i wsp. [43]. Autorzy zwrócili uwagę na nanocząstki Aurimmune, Auroshell i AuNPs. Aurimmune zostały opracowane przez firmę Cytimmune. Są to nanocząstki złota o średnicy 25 nm funkcjonalizowane czynnikiem martwicy nowotworów TNF- α (ang. *tumor necrosis factor α*) i PEG. Badania przedkliniczne dowiodły, że preparat ma taką samą skuteczność jak TNF- α , ale cechuje się przy tym mniejszą toksycznością. Dodatkowo ustalono, że okres

półtrwania nowej formulacji w ustroju po podaniu dożylnym wynosi 130 min, w porównaniu do samego TNF- α , którego $t_{0,5}$ wynosi zaledwie 28 min [43]. Warto wspomnieć także o bardzo podobnych wynikach badań uzyskanych przez Visaria i wsp. z użyciem nanocząstek złota o średnicy 33 nm pokrytych PEG i funkcjonalizowanych peryferyjnie TNF- α [44]. Innym preparatem badanym przez wspomnianą wcześniej firmę jest Auroshell. Są to nanocząstki krzemionki o średnicy 130 nm, pokryte 2 nm warstwą nanocząstek złota i funkcjonalizowane przeciwciałami anti-HER2 (ludzki naskórkowy czynnik wzrostu) i podobnie jak powyżej PEG. Nanocząstki te zaproponowano do użycia w hipertermii, po podaniu dożylnym do tkanki nowotworowej i naświetleniu wiązką lasera z zakresu bliskiej podczerwieni, któremu towarzyszył wzrost temperatury o 10 do 40°C [43]. Bardzo zbliżone wyniki uzyskał dla nanocząstek krzemionkowych otoczkowanych nanozłotem Diagaradjane i wsp. [45]. Z kolei firma Nanoprobe testowała nanocząstki złota AuNPs o średnicy 11 nm, połączone z przeciwciałami epidermalnego czynnika wzrostu anti-EGFR i cząsteczkami PEG, do stosowania łącznie z radioterapią promieniowaniem X lub promieniowaniem z bliskiej podczerwieni [43].

Nanocząstki złota w diagnostyce, radioterapii i fotomedycynie

Zastosowania nanozłota w medycynie obejmują także diagnostykę, radioterapię i szeroko rozumianą fotomedycynę. Aspekt diagnostyczny badań obejmuje prace dotyczące obrazowania z użyciem nanozłota oraz wykorzystania technik dwufotonowej mikroskopii fluorescencyjnej i obrazowania fotoakustycznego. Do dokładnego lokalizowania zmian nowotworowych nanocząstki złota funkcjonalizowane są rodaminą lub innymi barwnikami fluorescencyjnymi. Kuszące wydaje się wykorzystanie faktu, że nanocząstki złota mogą krążyć w organizmie dłużej niż konwencjonalne czynniki kontrastowe [13,14,16,46-51]. Rozważa się także równoczesne wykorzystanie potencjału terapeutycznego i diagnostycznego nanocząstek złota, poprzez podejście teranostyczne (ang. *theranostics*). W podejściu teranostycznym nanocząstka podawana pacjentowi kumuluje się w zmianie nowotworowej, co umożliwi obrazowanie zmian chorobowych, a także wyzwała właściwy efekt terapeutyczny. Chauhan i in. uzyskali liposomy zawierające nanocząstki złota i doksorubicynę [52]. W badaniu *in vitro* na nowotworowej linii komórkowej raka piersi (MDA-MB-231)

wykazali przewagę synergistycznego zastosowania chemioterapii i fototerapii. Ponadto, autorzy wykazali możliwość zastosowania obrazowania za pomocą tomografii komputerowej [52].

Radioterapia jest jedną z najpowszechniej stosowanych metod leczenia chorób nowotworowych. Polega na naświetlaniu zmienionych chorobowo tkanek promieniowaniem jonizującym. Największą wadą radioterapii jest brak selektywności względem zmienionych chorobowo komórek, tkanek i organów. Powoduje to występowanie efektów ubocznych zależnych w znacznej mierze od tego jaki obszar ciała zostaje naświetlony. Bardzo ciekawe rozwiązanie zaproponował Cheng i wsp., którzy przygotowali hybrydowe nanocząstki oparte na złocie i tlenku tytanu (IV) [53]. Nanocząstki tlenku tytanu mogą absorbować promieniowanie UV i generować rodniki hydroksylowe i ponadtlenkowe, z kolei nanozłoto pod wpływem promieniowania jonizującego emituje wtórne elektrony i fotony, które następnie mogą ułatwiać powstawanie reaktywnych form tlenu w obecności tlenku tytanu (IV). Uzyskane nanocząstki po naświetleniu promieniowaniem X wykazały znacząco wyższą zdolność do generowania reaktywnych form tlenu niż osobno użyte nanozłoto lub tlenek tytanu. Hamowanie rozwoju nowotworów obserwowano w testach *in vitro* na linii komórkowej nowotworu piersi SUM 159 oraz w badaniach *in vivo* na myszach [53].

Fotomedycyna to interdyscyplinarna gałąź medycyny, która zajmuje się zastosowaniem światła w leczeniu chorób. Wykorzystano ją już w dermatologii, chirurgii, radiologii, diagnostyce, kardiologii, terapii zaburzeń snu i onkologii. W fotomedycynie coraz większym zainteresowaniem cieszy się terapia fototermiczna (ang. *photothermal therapy*; PTT), w której funkcję fotosensybilizatorów mogą pełnić m.in. nanocząstki złota. Nanocząstki złota wzbudzone promieniowaniem z zakresu bliskiej podczerwieni 650-1350 nm są zdolne do emisji ciepła, powodując podniesienie temperatury tkanek w swoim otoczeniu o kilka stopni. Właśnie to lokalne przegrzanie tkanek negatywnie wpływa na procesy zachodzące komórkowo i prowadzi do ich śmierci. Jeśli fotouczulacz jest zaaplikowany bezpośrednio do guza lub skumulował się w nim dzięki charakterystycznemu dla większości nowotworów efektowi zwiększonej przenikalności i retencji (ang. *enhanced permeability and retention*; EPR), to z dużym prawdopodobieństwem zostaną zabite głównie komórki nowotworu. Nanocząstki złota

są brane pod uwagę w PTT, ponieważ charakteryzują się wysoką biozgodnością i małymi rozmiarami, co umożliwia ich przenikanie do guza za sprawą efektu EPR, a także zdolnością do efektywnej konwersji światła w ciepło. Poza tym do powierzchni nanozłota istnieje możliwość łatwego przyłączania związków aktywnych biologicznie z grupami tiolowymi [54].

Interesujące badania w tym względzie, pokazujące pełną aplikacyjność nanozłota i jego modyfikacji w PTT przedstawili Ong i wsp. [55]. Uzyskali nanocząstki złota funkcjonalizowane z użyciem L-DOPY i D-DOPY, stanowiące tym samym ligandy dla komórek posiadających receptory LAT-1 (ang. *large neutral amino acid transporter-1*). Ocenę aktywności nanocząstek przeprowadzono na szeregu linii komórek nowotworowych, w tym MCF-7, MDA-MB-231, MDA-MB-468, MDA-MB-453, MCF-10A, a szczególnie protokół PTT sprawdzono na ludzkiej linii nowotworu piersi MDA-MB-231 i przy zastosowaniu lasera z promieniowaniem o długości fali 808 nm i mocy 9,4 W/cm². Dla nanocząstek funkcjonalizowanych cząsteczkami katecholi odnotowano obiecujące wyniki, w porównaniu z nanocząstkami pozbawionymi ligandów naprowadzających. Ponadto, naukowcom udało się udowodnić, że terapia skojarzona PTT z cytostatykami, takimi jak cisplatyna, docetaksel, dodatkowo obniża przeżywalność komórek nowotworowych [55]. Z kolei Xue i wsp. przygotowali nanozłoto w formie nanomuszli i nanoklatek z octanem lanreotydu o wielkości 120 i 150 nm [56]. Zastosowanie lasera z wiązką o długości fali 808 nm, skutkowało podniesieniem temperatury nanocząstek do 46,8°C i 54,3°C. Testem MTT oceniono wpływ nanocząstek poddanych działaniu promieniowania laserowego na czynność metaboliczną komórek nowotworowych raka szyjki macicy HeLa, stwierdzając znaczny spadek ich metabolizmu. Wykonano także badania *in vivo* na modelu mysim. Po wstrzyknięciu myszom nanocząstek i naświetleniu, odnotowano szybki (3-5 min) wzrost temperatury na powierzchni guza (>48,3°C). Po 12 dniach masa guza zmniejszyła się znacząco, w przeciwieństwie do grupy kontrolnej, w której nie nastąpiły żadne zmiany. Powyższe wyniki pokazały użyteczność badanych nanocząstek złota w PTT [56].

Terapia PTT z użyciem nanocząstek złota Auroshell o średnicy około 150 nm była również stosowana klinicznie na grupie dwudziestu dwóch pacjentów ze zdiagnozowanym rakiem prostaty. Celem badania była ocena profilu bezpieczeństwa opracowanego na

podstawie wyników badań przedklinicznych. W trakcie eksperymentu naukowcy nie odnotowali wielu działań niepożądanych. Skutkiem ubocznym terapii była łagodna reakcja alergiczna w postaci swędzenia i przemijające uczucie pieczenia w nadbrzuszu. Stern i wsp. udowodnili tym samym, że terapia fototermiczna nowotworu prostaty oparta na nanocząstkach złota nie stanowi zagrożenia dla pacjentów i może być rozważana jako istotna alternatywa dla dotychczas stosowanych procedur [57].

Wnioski

Wskazania medyczne do stosowania złota na przestrzeni wieków zmieniały się i pewnie dalej będą się zmieniać niczym kolory owego Pucharu Likurga, wspomnianego na początku tego artykułu. Dotychczasowe zastosowania złota w terapii pewnych chorób odeszły w przeszłość, bo pojawiły się nowe i lepsze leki. Mimo to potencjalne zastosowania złota odradzają się za sprawą innego wymiaru, który dała nam nanotechnologia. To właśnie w ramach nanotechnologii wypracowano metody otrzymywania, charakteryzowania i funkcjonalizowania nanocząstek złota. Na pewno zastosowanie złota i nanozłota nie skończy się na suplementach diety i wyrobach medycznych. Będziemy z pewnością obserwować coraz to nowe zastosowania w medycynie i farmacji. Kluczowe będzie jednak określenie wpływu nanocząstek złota na zdrowie człowieka, stąd konieczne jest dogłębne przeanalizowanie wyników dotychczasowych badań i dalsze studia w tym obszarze. Rezultaty eksperymentów z nanozłotem stwarzają liczne perspektywy

w badaniach przedklinicznych i umożliwiają rozpoczęcie badań klinicznych. W świetle licznych testów wykonanych dla nanocząstek złota *in vitro* i *in vivo*, wydaje się, że przyszłościowe zastosowania nanozłota pojawiają się obszary chorób nowotworowych, zarówno w zakresie ich leczenia jak i diagnostyki, chorób neurodegeneracyjnych, szczepionek, terapii genetycznych, leczenia infekcji pasożytniczych i bakteryjnych, ale także AIDS. Z dużą uwagą należy przyglądać się też potencjalnym zastosowaniom nanozłota w zakażeniach i terapii SARS-COV-2/COVID-19 (ang. *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 / coronavirus disease* 2019) [58].

Podziękowania / Acknowledgments

Autorzy dziękują za finansowanie badań Narodowemu Centrum Nauki, grant nr 2016/21/B/NZ9/00783.

Konflikt interesów / Conflict of interest

Brak/None

Adres do korespondencji / Correspondence address

✉ Tomasz Gośliński
Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Grunwaldzka 6; 60-780 Poznań
☎ (+48 61) 854 66 31
✉ tomasz.goslinski@ump.edu.pl

Piśmiennictwo/References

- Leonhardt U. Invisibility cup. *Nat Photonics*. 2007;1:207-8.
- Faa G, Gerosa C, Fanni D, et al. Gold – old drug with new potentials. *Curr Med Chem*. 2018;25:75-84.
- Richards DG, McMillin DL, Mein EA, et al. Gold and its relationship to neurological/glandular conditions. *Int J Neurosci*. 2002;112:31-53.
- Forestier J. Rheumatoid arthritis and its treatment by gold salts. *The Lancet*. 1934;224:646-8.
- Finkelstein AE, Walz DT, Batista V, et al. Auranofin. New oral gold compound for treatment of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 1976;35:251-7.
- Roder C, Thomson MJ. Auranofin: Repurposing an old drug for a golden new age. *Drugs*. 2015;15:13-20.
- Sobieska E, Sobieski B, Juzyszyn Z, et al. Współczesna terapia reumatoidalnego zapalenia stawów. *Farm Współ*. 2010;3:97-101.
- Harbut MB, Vilchèze C, Luo X, et al. Auranofin exerts broad-spectrum bactericidal activities by targeting thiol-redox homeostasis. *Proc Natl Acad Sci*. 2015;112:4453-8.
- Nakazawa H, Kikuchi Y, Honda T, et al. Treatment of paralytic lagophthalmos by loading the lid with a gold plate and lateral canthopexy. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 2004;38:140-4.
- Commission Recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial (2011/696/EU). *Off J Eur Union*; L 275/38.
- Herizchi R, Abbasi E, Milani M, et al. Current methods for synthesis of gold nanoparticles. 2016;44(2):596-602.

12. Gold Nanostructures. Sigma-Aldrich, <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/materials-science/nanomaterials/gold-nanostructures.html> (accessed 28 May 2019).
13. Singh P, Pandit S, Ravikumar V, et al. Gold nanoparticles in diagnostics and therapeutics for human cancer. *Int J Mol Sci.* 2018;19:1979-95.
14. Kong F-Y, Zhang J-W, Li R-F, et al. Unique roles of gold nanoparticles in drug delivery, targeting and imaging applications. *Molecules.* 2017;22:1445-58.
15. Panahi Y, Mohammadhosseini M, Nejati-Koshki K, et al. Preparation, surface properties, and therapeutic applications of gold nanoparticles in biomedicine. *Drug Res.* 2016;67:77-87.
16. Kohout C, Santi C, Polito L. Anisotropic gold nanoparticles in biomedical applications. *Int J Mol Sci.* 2018;19:3385-415.
17. Bahamonde J, Brenseke B, Chan MY, et al. Gold nanoparticle toxicity in mice and rats: species differences. *Toxicol Pathol.* 2018;46:431-43.
18. Gao W, Xu K, Ji L, et al. Effect of gold nanoparticles on glutathione depletion-induced hydrogen peroxide generation and apoptosis in HL7702 cells. *Toxicol Lett.* 2011;205:86-95.
19. Rosli NS, Rahman AA, Aziz AA, et al. Determining the size and concentration dependence of gold nanoparticles in vitro cytotoxicity (IC50) test using WST-1 assay. Kuala Lumpur, Malaysia, p. 060001.
20. Connor EE, Mwamuka J, Gole A, et al. Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity. *Small.* 2005;1:325-7.
21. Zhang X-D, Wu D, Shen X, et al. Size-dependent radiosensitization of PEG-coated gold nanoparticles for cancer radiation therapy. *Biomaterials.* 2012;33:6408-19.
22. Li X, Hu Z, Ma J, et al. The systematic evaluation of size-dependent toxicity and multi-time biodistribution of gold nanoparticles. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2018;167:260-6.
23. Jo M-R, Bae S-H, Go M-R, et al. Toxicity and biokinetics of colloidal gold nanoparticles. *Nanomaterials.* 2015;5:835-50.
24. Han SG, Lee JS, Ahn K, et al. Size-dependent clearance of gold nanoparticles from lungs of Sprague-Dawley rats after short-term inhalation exposure. *Arch Toxicol.* 2015;89:1083-94.
25. Fernandes R. Penetration of gold nanoparticles through the skin. *Praca Doktorska, University of Southampton*, <https://eprints.soton.ac.uk/381281/> (2014, accessed 7 May 2019).
26. Fernandes R, Smyth NR, Muskens OL, et al. Interactions of skin with gold nanoparticles of different surface charge, shape, and functionality. *Small.* 2015;11:713-21.
27. Lee O, Jeong SH, Shin WU, et al. Influence of surface charge of gold nanorods on skin penetration. *Skin Res Technol.* 2013;19:390-6.
28. Świdwińska-Gajewska AM, Czerczak S. Nanozłoto – działanie biologiczne i dopuszczalne poziomy narażenia zawodowego. *Med Pr.* 2017;68:545-56.
29. Terentyuk GS, Maslyakova GN, Suleymanova LV, et al. Circulation and distribution of gold nanoparticles and induced alterations of tissue morphology at intravenous particle delivery. *J Biophotonics.* 2009;2:292-302.
30. De Jong WH, Hagens WI, Krystek P, et al. Particle size-dependent organ distribution of gold nanoparticles after intravenous administration. *Biomaterials.* 2008;29:1912-9.
31. Abdelhalim M, Jarrar BM. Histological alterations in the liver of rats induced by different gold nanoparticle sizes, doses and exposure duration. *J Nanobiotechnology.* 2012;10:5-14.
32. Douli M, Setorki M. The acute liver injury in rat caused by gold nanoparticles. *Nanomedicine J.* 2014;1:248-57.
33. Semmler-Behnke M, Lipka J, Wenk A, et al. Size dependent translocation and fetal accumulation of gold nanoparticles from maternal blood in the rat. *Part Fibre Toxicol.* 2014;4(12):2108-11.
34. Lasagna-Reeves C, Gonzalez-Romero D, Barria MA, et al. Bioaccumulation and toxicity of gold nanoparticles after repeated administration in mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;393:649-55.
35. Paino IMM, Marangoni VS, de Oliveira R de CS, et al. Cyto and genotoxicity of gold nanoparticles in human hepatocellular carcinoma and peripheral blood mononuclear cells. *Toxicol Lett.* 2012;215:119-25.
36. Schulz M, Ma-Hock L, Brill S, et al. Investigation on the genotoxicity of different sizes of gold nanoparticles administered to the lungs of rats. *Mutat Res Toxicol Environ Mutagen.* 2012;745:51-7.
37. Adewale OB, Davids H, Cairncross L, et al. Toxicological behavior of gold nanoparticles on various models: influence of physicochemical properties and other factors. *Int J Toxicol.* 2019;38:357-84.
38. Sreejivungsa K, Suchaichit N, Moosophon P, et al. Light-regulated release of entrapped drugs from photoresponsive gold nanoparticles. *J Nanomater.* 2016;2016:1-7.
39. Wang F, Wang Y-C, Dou S, et al. Doxorubicin-tethered responsive gold nanoparticles facilitate intracellular drug delivery for overcoming multidrug resistance in cancer cells. *ACS Nano.* 2011;5:3679-92.
40. Bhumkar DR, Joshi HM, Sastry M, et al. Chitosan reduced gold nanoparticles as novel carriers for transmucosal delivery of insulin. *Pharm Res.* 2007;24:1415-26.
41. Liu Y, Chen C. Role of nanotechnology in HIV/AIDS vaccine development. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016;103:76-89.
42. Dykman LA, Khlebtsov NG. Immunological properties of gold nanoparticles. *Chem Sci.* 2017;8:1719-35.

43. Alphandéry E, Grand-Dewyse P, Lefèvre R, et al. Cancer therapy using nanoformulated substances: scientific, regulatory and financial aspects. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2015;15:1233-55.
44. Visaria RK. Enhancement of tumor thermal therapy using gold nanoparticle-assisted tumor necrosis factor- delivery. *Mol Cancer Ther.* 2006;5:1014-20.
45. Diagaradjane P, Shetty A, Wang JC, et al. Modulation of in vivo tumor radiation response via gold nanoshell-mediated vascular-focused hyperthermia: characterizing an integrated antihypoxic and localized vascular disrupting targeting strategy. *Nano Lett.* 2008;8:1492-500.
46. Chaix A, Stojanovic V, El Cheikh K, et al. Two-photon fluorescence imaging and therapy of cancer cells with anisotropic gold-nanoparticle-supported porous silicon nanostructures. *Chem Nano Mat.* 2018;4(4):343-7.
47. Zhang Y, Yu J, Birch DJS, et al. Gold nanorods for fluorescence lifetime imaging in biology. *J Biomed Opt.* 2010;15(2):1-3.
48. Kim T, Zhang Q, Li J, et al. A Gold/silver hybrid nanoparticle for treatment and photoacoustic imaging of bacterial infection. *ACS Nano.* 2018;12:5615-25.
49. Li C, Zhang Y, Li Z, et al. Light-responsive biodegradable nanorattles for cancer theranostics. *Adv Mater.* 2018;30:1706150.
50. Lee N, Choi SH, Hyeon T. Nano-sized CT contrast agents. *Adv Mater.* 2013;25:2641-60.
51. Jing L, Liang X, Deng Z, et al. Prussian blue coated gold nanoparticles for simultaneous photoacoustic/CT bimodal imaging and photothermal ablation of cancer. *Biomaterials.* 2014;35:5814-21.
52. Chauhan DS, Prasad R, Devrukhkar J, et al. Disintegrable NIR light triggered gold nanorods supported liposomal nanohybrids for cancer theranostics. *Bioconjug Chem.* 2018;29:1510-8.
53. Cheng K, Sano M, Jenkins CH, et al. Synergistically enhancing the therapeutic effect of radiation therapy with radiation activatable and reactive oxygen species-releasing nanostructures. *ACS Nano.* 2018;12:4946-58.
54. Riley RS, Day ES. Gold nanoparticle-mediated photothermal therapy: applications and opportunities for multimodal cancer treatment: gold nanoparticle-mediated photothermal therapy. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol.* 2017;9:1449.
55. Ong ZY, Chen S, Nabavi E, et al. Multibranched gold nanoparticles with intrinsic LAT-1 targeting capabilities for selective photothermal therapy of breast cancer. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2017;9:39259-70.
56. Xue W, Luo L, Li Y, et al. Fabrication of gold nanocages and nanoshells using lanreotide acetate and a comparison study of their photothermal antitumor therapy. *J Mater Chem B.* 2017;5:641-7.
57. Stern JM, Kibanov Solomonov VV, Sazykina E, et al. Initial evaluation of the safety of nanoshell-directed photothermal therapy in the treatment of prostate disease. *Int J Toxicol.* 2016;35:38-46.
58. Rothan HA, Stone S, Natekar J, et al. The FDA- approved gold drug Auranofin inhibits novel coronavirus (SARS-COV-2) replication and attenuates inflammation in human cells. Preprint, Microbiology. Epub ahead of print. DOI: 10.1101/2020.04.14.041228.