

УДК 616-006.04:544.77:546.59

**Е.Д. Шишко, Н.Ф. Гамалея**Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины  
г. Киев, ул. Васильковская, 45, Украина, 03022

## ПРИМЕНЕНИЕ КОЛЛОИДНОГО ЗОЛОТА В ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

**Ключевые слова:** злокачественные опухоли, нанотехнологии, коллоидное золото, золотые наночастицы, визуализация опухолей, прицельный транспорт препаратов, поверхностный плазмонный резонанс, лазерный нанотермолиз, фотодинамическая терапия опухолей

*В обзоре рассмотрены как диагностические аспекты проблемы применения наночастиц золота в онкологии (для визуализации опухолей), так и лечебные. Описано использование нанозолота в качестве средства целенаправленной доставки лекарственных препаратов в опухоль. Освещены широкие перспективы применения золотых наночастиц для избирательного разрушения злокачественных опухолей методом фототермии (лазерного нанотермолиза) или фотодинамической терапии.*

Злокачественные новообразования являются второй после заболеваний сердечно-сосудистой системы причиной смертности в развитых странах мира. Согласно статистическим данным, в 2000 г. в мире насчитывалось 22 млн больных раком, при этом каждый год регистрируется 10–11 млн вновь обнаруженных случаев онкологических заболеваний и около 7 млн случаев смерти от них [1]. Несмотря на огромные усилия по совершенствованию методов лечения рака, за последние 50 лет в этой области достигнуты весьма скромные успехи. Сегодня становится очевидным, что применение некоторых современных подходов и методов, в частности бионанотехнологических, способно значительно улучшить диагностику, а возможно, и лечение злокачественных новообразований.

В наноразмерном состоянии вещества приобретают необычные, отличные от характеристик в объеме магнитные, оптические и электронные свойства, которые делают наноструктуры привлекательными для использования в различных областях естественных и технических наук. Сочетание таких уникальных свойств с размерами, близкими к величине биологических молекул, объясняет интерес к использованию наночастиц в биомедицинских исследованиях. Клетка и внутриклеточные органеллы имеют субмикронный и микронный размеры, белки и другие макромолекулы, находящиеся в клетке, наноразмерны. Поэтому частицы с диаметром от нескольких нанометров до сотен нанометров представляют собой идеальные метки и/или зонды для внедрения в биологические системы [2, 3]. Возможность присоединить к поверхности наночастиц биомолекулы открывает широкие перспективы для использования таких нанотехнологических приемов в биомедицинских, в том числе онкологических, исследованиях, в частности для визуализации

© Е.Д. ШИШКО, Н.Ф. ГАМАЛЕЯ, 2010

опухолей [4–7] и для целенаправленной доставки в них лекарственных препаратов [8].

В последние годы методы применения нанотехнологий для диагностики и лечения опухолей активно развиваются. С диагностической целью используют наночастицы, которые дают возможность визуализировать опухоль, определить ее локализацию и размеры. При терапии наночастицы применяют для адресной доставки химиопрепаратов в опухоль, для увеличения накопления в ней препарата и повышения избирательности его действия на трансформированные клетки с сохранением нормальных.

Типы наночастиц, используемых сегодня в онкологических исследованиях, включают дендримеры, липосомы, полимерные наночастицы, мицеллы, наночастицы протеинов, керамические наночастицы, металлические наночастицы, фуллерены, углеродные нанотрубки, полупроводниковые нанокристаллы, квантовые точки (quantum dots), нанораковины (nanoshells). Введенные внутрисосудисто или интраперитонеально, наночастицы быстро удаляются из кровотока или брюшной полости вследствие поглощения их элементами ретикуло-эндотелиальной системы – мононуклеарными фагоцитами и тканевыми макрофагами. Такое поглощение описано для коллоидного золота [8–10], липосом [11, 12], углеродных нанотрубок [10], полупроводниковых нанокристаллов [13, 14], кремниевых наночастиц [15], наночастиц окислов железа [16], полимерных наночастиц [17, 18], а также других наноструктур [19, 20]. Макрофаги, поглотившие наночастицы, накапливаются затем в наиболее характерных для этих клеток органах – печени, селезенке, лимфоузлах. Такая особенность макрофагов была использована при разработке методов диагностики опухолевых метастазов в печени и лимфоузлах путем введения в организм парамагнитных частиц окислов железа [16]. Поглощение макрофагами полупроводниковых нанокристаллов с последующим накоплением клеток в экспериментальных глиомах было применено также при разработке методов визуализации этих опухолей [13, 14, 21].

Чтобы повысить биосовместимость наночастиц, а также защитить их от поглощения элементами ретикуло-эндотелиальной системы и таким образом увеличить время, в течение которого наночастицы циркулируют в кровотоке, постепенно накапливаясь в опухоли, используют стабилизацию наночастиц гидрофильными полимерами, в частности полиэтиленгликолем [8, 9, 22], поливинилпирролидоном [23] или полисахаридами [24].

#### *Пути доставки наночастиц в опухоль*

Существуют два пути попадания наночастиц в опухолевую ткань – пассивный и активный. Пассивный путь доставки связан с отличиями в структуре кровеносных сосудов опухоли и нормальной ткани [25]. Быстрорастущая опухоль нуждается в ускоренном сосудодообразовании для обеспечения повышенной потребности в кислороде и питательных веществах. Как следствие, кровеносные сосуды опухолей отличаются нарушенной структурой: извитостью, относительно большой долей пролиферирующих эндотелиальных клеток, недостатком перицитов и аберрантной базальной мембраной. В результате таких дефектов структуры сосуды опухолей имеют повышенную проницаемость для макромолекул и наночастиц и ослабленный лимфодренаж. Наблюдаемый при этом феномен выхода макромолекул или наночастиц из кровеносного русла вследствие повышенной проницаемости сосудов известен под названием экстравазации. Из-за ослабленного лимфодренажа проникшие в опухоль из сосудов наночастицы не удаляются и задерживаются в ней. Исследования показывают, что диаметр пор в дефектных опухолевых сосудах составляет в зависимости от типа опухоли от 200 нм до 2 мкм [26], что позволяет наночастицам проникать в опухоль и аккумулироваться в ней. Так, например, полимерные наночастицы, комплексированные с противоопухолевым антибиотиком доксорубицином, циркулируют в крови более трех суток и благодаря эффекту экстравазации постепенно накапливаются в опухоли [27].

Активный путь доставки наночастиц основан на том, что опухолевые клетки имеют на

своей поверхности так называемые опухоль-ассоциированные антигены, которые в нормальных клетках экспрессируются на очень низком уровне, а также опухолеспецифические антигены, которые экспрессируются исключительно на поверхности опухолевых клеток. Активная целенаправленная (или таргетная) доставка наночастиц в опухолевую ткань обычно достигается путем химического присоединения к наночастицам компонента, который взаимодействует лишь с антигеном (или рецептором) на мишеневых опухолевых клетках. Такая функционализация наночастиц способствует их аккумуляции исключительно в опухолевой ткани. В качестве химического компонента для активной таргетной доставки наночастиц чаще всего применяют моноклональные антитела к опухолеспецифическим антигенам [28]. Кроме того, с этой целью используют витамины группы В – фолаты с низкой молекулярной массой. Повышенный уровень экспрессии рецепторов к фолатам наблюдается в клетках эпителиальных опухолей разных органов – толстого кишечника, легких, простаты, яичников, молочной железы, головного мозга [29]. Конъюгаты наночастиц с фолатами быстро проникают в клетку путем рецептор-опосредованного эндоцитоза. Важным свойством фолатов является их неиммуногенность, а значит отсутствие побочных иммунных реакций.

Для активной таргетной доставки наночастиц используют также трансферрин – гликопротеин с молекулярной массой 80 кДа, рецепторы к которому экспрессируются в опухолях, и уровень этой экспрессии коррелирует со степенью злокачественности опухоли [30].

### ***Применение наночастиц для диагностики и терапии опухолей***

С диагностической целью чаще всего применяют нанораковины с кремниевым ядром и золотой оболочкой, квантовые точки (quantum dots) и магнитные наночастицы. Золотые нанораковины и квантовые точки с присоединенными к ним мечеными онкоспецифическими лигандами представляют собой молекулярно направленные контрастирующие агенты для

оптической визуализации тканей с помощью люминесцентной или конфокальной микроскопии. Особенно перспективным является применение квантовых точек [31]. Квантовые точки, неорганические полупроводниковые кристаллы (CdSe, CdS, CdTe, InP, InAs) диаметром 1–10 нм, отвечают на электронное возбуждение собственной флуоресценцией в диапазоне от 400 до 2000 нм в зависимости от их размера и состава. Полупроводниковые нанокристаллы обладают высокой чувствительностью, имеют широкий спектр возбуждения и узкую полосу излучения, стабильную флуоресценцию. Эти наночастицы, как и золотые нанораковины, чувствительны к возбуждению в ближнем инфракрасном диапазоне, что дает возможность визуализировать опухолевые клетки в организме на глубине до 10 см.

Магнитные наночастицы из оксидов железа используют в качестве контрастирующего агента при магнитно-резонансной диагностике опухолей. Эти наночастицы были, в частности, с успехом применены для выявления микрометастазов в лимфоузлах пациентов, страдавших раком простаты [32]. Авторы установили, что магнитно-резонансная диагностика с применением таких наночастиц позволяет обнаруживать микрометастазы диаметром менее 2 мм, что было бы невозможно без использования нанотехнологических подходов.

При лечебном применении наночастицы используют для целенаправленной доставки антинеопластических препаратов в опухоль. С этой целью применяют главным образом полимерные биodeградируемые наночастицы [33]. Такие наночастицы имеют ряд достоинств: они могут переносить большое количество препарата и позволяют контролировать скорость его высвобождения в опухоли. Кроме того, существует много разновидностей материала для конструирования полимерных наночастиц и много способов их создания. Можно адаптировать полимерные наночастицы для переноса препаратов различной степени гидрофобности, разной молекулярной массы и заряда. К тому же свойства поверхности наночастиц, морфология и состав полимерного матрикса поддаются оп-

тимизации для создания контролируемой кинетики высвобождения препарата в опухоли. Такие наночастицы можно легко соединить с сайт-специфическими антителами для их активного целенаправленного переноса в опухоль.

#### *Применение коллоидного золота в онкологических исследованиях*

При переходе любого макроскопического объекта в наноразмерное состояние меняется соотношение между количеством поверхностных и внутренних атомов. Примером может быть кубик железа с ребром длиной 1 см, процент поверхностных атомов в котором составляет лишь  $10^{-5}\%$  [34]. Если разделить его на более мелкие кубики с ребром длиной 10 нм, процент поверхностных атомов возрастает до 10%, а в кубике с ребром длиной 1 нм каждый атом будет поверхностным. Поверхностные атомы находятся на более близком расстоянии друг к другу, чем атомы в объеме кристаллической решетки, и обладают повышенным запасом энергии. Поэтому поверхностные атомы оказывают определяющее влияние на физико-химические свойства материала.

Широкие возможности и перспективы применения в медико-биологических исследованиях наночастиц золота определяются тем, что они нетоксичны, химически стабильны, биосовместимы, имеют уникальные оптические свойства. При освещении наночастиц золота когерентным (лазерным) светом электромагнитное поле светового излучения индуцирует в них резонансные когерентные колебания свободных электронов, согласованные по фазе [35]. Если размер частиц намного меньше, чем длина волны падающего света, смещение электронов приводит к образованию диполя. В результате возникает сила, которая стремится вернуть электроны в состояние равновесия. Величина этой силы пропорциональна величине смещения, поэтому можно говорить о наличии собственной частоты коллективных колебаний электронов в наночастице. Если частота колебаний падающего света и собственная частота колебаний свободных электронов возле поверхности металлической частицы совпадают, наблюдается

резкое увеличение амплитуды колебаний свободных электронов (плазмонов). Это явление получило название поверхностного плазмонного резонанса (ППР) [36–39]. В спектре поглощения света наночастицами появляется пик. Для наночастиц золота, серебра и меди с размерами порядка 10–100 нм характерен ППР в видимой области спектра. Его расположение и интенсивность зависят от размера, формы наночастиц и от диэлектрического окружения. Золотые наночастицы диаметром 10–25 нм имеют пик поглощения около 520 нм.

Положение ППР в спектре изотропных сферических наночастиц золота относительно мало зависит от размера частиц, в отличие от частиц анизотропной формы. Золотые наностержни имеют анизотропную симметрию, поэтому в спектре поглощения у них наблюдаются два пика, которые соответствуют поперечному и продольному плазмонам. Поперечный плазмон дает пик при 520 нм, а продольный может проявляться в интервале от 600 до 1000 нм, т. е. и в ближней инфракрасной области [40–42]. Положение пика продольного плазмона определяется размерами наностержня, а именно отношением длины к диаметру (*aspect ratio*). Если *aspect ratio* имеет значение 2,0, второй пик ППР находится на длине волны 600 нм; при значении этого отношения 3,9 второй пик абсорбции расположен вблизи 800 нм. *Aspect ratio* со значением 6,0 дает второй пик ППР на длине волны около 1000 нм. Биологические ткани наиболее проницаемы для света именно в ближней инфракрасной области (так называемое биологическое ближнеинфракрасное окно расположено в диапазоне 650–900 нм), и возможности глубокого проникновения в ткани, которые открывает применение золотых наночастиц соответствующей формы и размера, в последнее время широко используются в экспериментальной онкологии, в частности для термического разрушения опухолей (лазерного термолиза).

Важным для применения в онкологических исследованиях свойством золотых наночастиц является их способность присоединять тиоловые, дисульфидные группы и аминокислоты. Это позволяет конъюгировать наночастицы с раз-

личными биологическими полимерами – пептидами, протеинами, ДНК [43–45]. Используют также способность золотых наночастиц электростатически адсорбировать на своей поверхности биомолекулы, такие как витамин С или молекулы энзимов. Функционализация наночастиц золота антителами или фолатами позволяет селективно направлять их к раковым клеткам. Кроме того, одни и те же наночастицы можно функционализировать несколькими агентами, тем самым повышая их способность целенаправленно доставлять лекарственные препараты в опухоль. Модификация поверхности наночастиц полимерами (например полиэтиленгликолем) как бы маскирует золотые наночастицы, защищая их от клеток иммунной системы, что позволяет наночастицам дольше циркулировать в кровяном русле.

Американской фирмой «CytImmune Sciences, Inc.» на базе коллоидного золота создан противоопухолевый препарат СУТ-6091 [8, 9, 46–48]. Препарат представляет собой покрытые тиолированным полиэтиленгликолем наночастицы золота диаметром 33 нм с прикрепленными к ним молекулами фактора некроза опухолей альфа (ФНО- $\alpha$ ). Такой комплекс благодаря стабилизации тиолированным полиэтиленгликолем не поглощается мононуклеарными фагоцитами и циркулирует в крови продолжительное время, постепенно накапливаясь в опухоли путем экстравазации. В самой опухоли молекулы ФНО- $\alpha$  связываются с рецепторами поверхностной мембраны опухолевых клеток, выступая, таким образом, лигандом для наночастиц золота. В противоположность исходному ФНО- $\alpha$ , обладающему высокой токсичностью при системном введении, его комплекс с коллоидным золотом не проявляет существенной токсичности.

На бестимусных мышях с перевитой опухолью простаты человека исследовано биораспределение препарата СУТ-6091 [47] и установлено, что его компоненты (ФНО- $\alpha$  и золото) ведут себя в крови животных по-разному. ФНО- $\alpha$  удаляется из крови быстрее, чем золотые наночастицы, и его аккумуляция в опухоли происходит в течение первых 4 ч после введения. Золото же накапливается главным образом в пе-

чени во временном промежутке между 4-м и 12-м часом после инъекции наноконцентрации и выводится из организма очень медленно (на протяжении нескольких месяцев). Таким образом, в препарате СУТ-6091 коллоидное золото выполняет функцию целенаправленной доставки действующего агента в опухоль.

К настоящему времени препарат СУТ-6091 прошел первую фазу клинических испытаний [48], и фирма «CytImmune Sciences, Inc.» разрабатывает новую серию препаратов на основе коллоидного золота с тиолированным полиэтиленгликолем. Среди них – наноконцентрации, содержащие противоопухолевые препараты доксорубицин и паклитаксел, а также интерфероны 2 и 12 [49].

Поглощенный вследствие ППП свет в золотых наночастицах быстро – в течение примерно 1 пс – превращается в тепло. Способность золотых наночастиц интенсивно поглощать световую энергию и эффективно конвертировать ее в тепловую используется для избирательного фототермического повреждения опухолевых клеток. Первые работы по разрушению опухолей в результате активного поглощения золотыми наночастицами световой энергии (лазерному термолизу) появились в 2003 г. [50]. В опытах *in vitro* золотые наноракловины накапливались в трансформированных клетках благодаря их функционализации моноклональными антителами HER2. В другой работе, выполненной на лабораторных животных, золотые наночастицы концентрировались в опухоли просто в результате экстравазации [51]. При облучении опухоли ближним инфракрасным светом температура в ней благодаря плазмонному резонансу достигала 50 °С, что приводило к избирательному разрушению опухолевых клеток.

Возможность целенаправленной доставки нанозолота к клеткам определенного типа и избирательного разрушения их путем лазерного термолиза была продемонстрирована и в статье Pitsillides et al. [52]. В этой работе CD8<sup>+</sup>-лимфоциты избирательно элиминировали из смеси CD8<sup>+</sup>- и CD8<sup>-</sup>-лимфоцитов, используя лазерный свет с длиной волны 532 нм после обработки клеток коллоидным золотом, конъюгированным с CD8<sup>+</sup> специфическими антителами.

В дальнейшем возможность избирательного термического повреждения опухолевых клеток с помощью золотых наночастиц, нативных или функционализированных для целенаправленной доставки в озлокачествленные клетки, была подтверждена в ряде других исследований, выполненных как *in vitro* на клеточных линиях [53], так и *in vivo* на опухолях лабораторных животных [54]. Для плазмонно-резонансного метода разрушения опухолей *in vivo* с помощью золотых наностержней американские нанотехнологи из Технологического института штата Джорджия предложили даже специальный термин «плазмонная фототермическая терапия» (*plasmonic photothermal therapy*).

В связи с применением нанозолота в онкологии большой интерес представляют данные об его тропности (сродстве) к опухолям. Тропность нанозолота к злокачественным опухолям была известна и раньше, но только в 2005 г. появилась работа Mukherjee P. с соавторами [55], которая частично проливает свет на то, чем обусловлена такая тропность. Было показано, что нефункционализированные наночастицы коллоидного золота обладают антиангиогенным действием – они угнетают сосудобразование, подавляя VEGF<sub>165</sub>-индуцированную пролиферацию эндотелиальных клеток сосудов. VEGF<sub>165</sub> (Vascular Endothelial Growth Factor – ростовой фактор эндотелиальных клеток сосудов) является митогенным активатором эндотелиальных клеток и первичным медиатором ангиогенеза, который играет главную роль в патологической неоваскуляризации (новообразовании сосудов) при ревматоидном артрите, хроническом воспалении и злокачественных опухолях. Белковая молекула VEGF<sub>165</sub> имеет гепарин-связывающий домен. Было установлено, что нанозолото присоединяется непосредственно к гепарин-связывающему домену молекулы VEGF<sub>165</sub>, блокируя таким образом взаимодействие VEGF<sub>165</sub> с его рецептором в клетке и запуск сигнального каскада VEGF<sub>165</sub>-опосредованного сосудобразования. В опытах были использованы мыши с привитым раком яичников. Эта очень агрессивная опухоль характеризуется асцитом, т. е. патологическим накоплением в брюшной полости

животных свободной жидкости, секреция которой обусловлена действием VEGF<sub>165</sub>. Авторы показали, что внутрибрюшинная инъекция золотых наночастиц уменьшает аккумуляцию жидкости в брюшной полости таких мышей.

В другой работе эти авторы установили, что золотые наночастицы вызывают апоптоз (программированную смерть) лимфоцитов, выделенных из крови больных хроническим В-клеточным лимфолейкозом [56]. У таких больных содержание VEGF в крови в несколько (до четырех) раз повышено по сравнению с нормой, и этот избыточный VEGF синтезируется трансформированными лимфоцитами. Золотые наночастицы с присоединенными к ним моноклональными антителами против VEGF значительно усиливали апоптоз трансформированных лимфоцитов по сравнению с действием только антител или только нанозолота.

Таким образом, тропность наночастиц золота к опухолевой ткани может быть связана с хорошо известным для опухолей наличием зон активного роста сосудов (неоангиогенеза), а значит и повышенным уровнем в них VEGF.

#### **Применение наночастиц при фотодинамической терапии опухолей**

Фотодинамическая терапия опухолей (ФДТО) является современным малотравматичным методом избирательного разрушения злокачественных новообразований за счет селективного накопления ими введенного больному нетоксичного красителя-фотосенсибилизатора с последующим облучением опухоли (прямо или через эндоскоп) лазерным светом. Метод фотодинамической терапии является единственным за последние несколько десятилетий принципиально новым подходом к лечению злокачественных новообразований, который вошел в онкологическую практику и может применяться самостоятельно. Благодаря таким достоинствам ФДТО, как избирательность повреждения опухоли, малая травматичность процедуры, отсутствие значительных побочных эффектов, метод активно внедряется в передовых странах мира.

При всех достоинствах ФДТО имеет один существенный недостаток – слабое проникно-

вление светового излучения вглубь ткани, что ограничивает практическое применение метода как самостоятельного способа борьбы с ранними формами рака, опухолями малого размера и умеренной толщины. Поэтому ведется активный поиск путей преодоления этого недостатка, в частности испытываются новые фотосенсибилизаторы с повышенным накоплением в опухолевой ткани, которые могут дать эффект даже при низком уровне проникшей световой энергии.

Одним из способов усиления чувствительности опухолевой ткани к световому излучению за счет повышенного накопления в ней фотосенсибилизатора может быть применение нанотехнологических методов, в том числе комплексообразование фотосенсибилизирующих препаратов с наночастицами золота. Синтез комплексов порфириновых сенсибилизаторов, традиционно применяемых при ФДТО, с наночастицами золота способен придать гидрофобным порфиринам водорастворимость, усилить опухолетропность комплексов, хорошо известную для золота, и создать принципиальную возможность повышения эффективности светового облучения за счет энергопереноса между компонентами комплекса.

При использовании наночастиц для ФДТО в качестве средства доставки фотосенсибилизирующего препарата в опухоль применяют как биodeградируемые, так и небиodeградируемые частицы. Конструирование полимерных биodeградируемых частиц с контролируемой скоростью высвобождения фотосенсибилизатора осуществляют чаще всего с использованием полилактида (ПЛА) или полилактид-ко-гликолида (ПЛГА). Показано [57], что фотосенсибилизатор, состоящий из мезо-тетра(4-гидроксифенил)-порфирина таких наночастиц, проявляет большую фотодинамическую активность при достаточно низких концентрациях фотосенсибилизатора и при непродолжительной по сравнению со свободным фотосенсибилизатором инкубации с опухолевыми клетками.

В опытах с другим фотосенсибилизатором – вертепорфином установлена значительно более высокая фотодинамическая эффективность его

комплексов с наночастицами ПЛГА, чем в свободном состоянии [58]. В указанной работе продемонстрирована также зависимость фотодинамического эффекта от размера наночастиц: оптимальными для ФДТО являются частицы диаметром менее 200 нм благодаря их быстрому попаданию из кровеносного русла в опухолевую ткань и длительной задержке в опухоли.

С биodeградируемыми наночастицами, содержащими ПЛА и ПЛГА, были конъюгированы и другие фотосенсибилизаторы (цинк-фталотиоцианин [59], гиперицин [60]), причем показана значительно большая фотодинамическая активность комплексов по сравнению со свободными сенсибилизаторами.

Среди небиodeградируемых наночастиц, которые были применены в ФДТО для доставки сенсибилизатора в опухоль, описаны силиконовые пористые [61] и золотые [62] наночастицы. Prasad et al., используя органически модифицированные силиконовые наночастицы (ORMOSIL) диаметром около 20 нм, ковалентно связали их с фотосенсибилизатором и показали, что при этом сохраняются спектральные и функциональные свойства сенсибилизатора. В дальнейшем было установлено накопление таких наночастиц в опухолевых клетках тканевых культур и проявление ими фотодинамической активности при лазерном облучении [63].

Что касается наночастиц золота, то на данное время в литературе известно всего лишь несколько работ по их применению в ФДТО. В одной из них [62] описан комплекс для доставки в опухоль фотосенсибилизатора фталотиоцианина, конъюгированного с наночастицами золота диаметром 2–4 нм. В опытах *in vitro* на клеточной линии рака шейки матки HeLa фотодинамическая активность наноконспекса на 43% превышала таковую исходного фталотиоцианина. Авторы показали, что усиление фотодинамической активности фотосенсибилизатора при комплексообразовании обусловлено повышением продукции синглетного кислорода (основного повреждающего агента при ФДТ), индуцированного лазерным облучением, что, в свою очередь, является следствием присущей коллоидному золоту каталитической способности.

Авторы другой работы [64] применили золотые наночастицы *in vivo* с целью создания высокоэффективного вектора для доставки фотосенсибилизатора в опухоль. Они исходили из того, что для легкого проникновения внутрь клетки через двойной липидный слой поверхностной мембраны применяемые при ФДТО сенсибилизаторы должны быть липофильными. С другой стороны, водонерастворимые препараты создают существенные проблемы при необходимости их внутривенного введения. Отсюда проистекает целесообразность конструирования вектора, который, будучи гидрофильным, сохранял бы, однако, гидрофобные характеристики фотосенсибилизатора. С этой целью применяют, в частности, липосомы, содержащие в своем составе фосфолипиды и холестерол. Такие липосомы способны доставить гидрофобный сенсибилизатор через липидный бислой внутрь клетки, но время их циркуляции в кровеносном русле составляет всего несколько минут вследствие поглощения липосом элементами ретикуло-эндотелиальной системы [11]. Поэтому для создания эффективного вектора авторы применили коллоидное золото и водорастворимый нетоксичный полимер полиэтиленгликоль, с которым они комплексовали фотосенсибилизатор фталоцианин. Полиэтиленгликоль повышал биосовместимость конъюгата, поддерживая его в коллоидном состоянии, защищая от поглощения мононуклеарными фагоцитами и таким образом продлевая время его циркуляции в кровеносном русле для эффективного накопления в опухолевой ткани.

Южнокорейские исследователи синтезировали водорастворимый фотосенсибилизатор, скомплексировав пурпурин-18 (порфирин хлоринового ряда из зеленой водоросли *Spirulina maxima*) с гидроокисью холина [65]. Хлорины являются хорошими фотосенсибилизаторами, так как поглощают свет в дальней красной области спектра, для которой биологические ткани хорошо проницаемы. Однако хлорины и их производные нерастворимы в воде, что осложняет их применение при ФДТО. Конъюгировав комплекс пурпурин-18–холин с золотыми наночастицами диаметром 8–25 нм, авторы получили водораство-

римый препарат со стабилизированными наночастицами. Форма частиц (пентагональные бипирамиды) обуславливала наличие двух пиков плазмонного резонанса. Один пик, соответствующий продольной осцилляции электронов, располагался в ближней инфракрасной области (750–800 нм), для которой биологические ткани максимально прозрачны. Второй пик, соответствующий поперечной осцилляции свободных электронов в наночастицах золота, располагался в более коротковолновой видимой области (560 нм). По мнению авторов, золотые наночастицы, стабилизированные водорастворимым фотосенсибилизирующим комплексом пурпурин-18–холин, могут выполнять двойную функцию, опосредуя как фототермическую, так и фотодинамическую деструкцию клеток.

Нами синтезированы сферические наночастицы золота двух размеров – диаметром 15 и 45 нм и получены наноконпозиты гематопорфирина (фотосенсибилизатора, традиционно применяемого при фотодинамической терапии опухолей) с наночастицами обоих размеров. В качестве стабилизатора коллоидного состояния растворов наноконплексов, а также для защиты их от поглощения мононуклеарными фагоцитами в опытах *in vivo* нами использован нетоксичный полимер поливинилпирролидон [23, 66]. Хемилюминесцентные исследования в модельной фосфолипидной системе позволили обнаружить более чем двукратное усиление способности фотоиндуцировать образование активных форм кислорода (как необходимого условия фотодинамической активности) у наноконпозитов гематопорфирина по сравнению с исходным фотосенсибилизатором. В опытах *in vitro* по облучению красным светом полупроводникового лазера с длиной волны излучения 635 нм (НПО «Фотоника», Черкассы, Украина) двух линий трансформированных лимфоцитов человека (Т-клеточной линии МТ-4 и В-клеточной Namalwa) показана намного более высокая, чем у исходного гематопорфирина, фотодинамическая активность наноконпозитов при различном соотношении в них фотосенсибилизатора и наночастиц золота (от 1:1 до 10:1). При этом лучшие результаты получены с наноконпозитами, содержащими частицы зо-



лота диаметром 45 нм. Опыты *in vivo* на мышах с трансплантированной карциномой Льюиса подтвердили наличие у синтезированных наноконструктов значительной фотодинамической противоопухолевой активности.

Приведенный выше обзор литературы свидетельствует о том, что использование нанотехнологических подходов в диагностике и лечении злокачественных новообразований развивается чрезвычайно быстро и, очевидно, имеет большое будущее. Особенно перспективным представляется применение с этой целью золотых наночастиц благодаря их уникальным физическим, химическим и оптическим свойствам, позволяющим целенаправленно доставлять лечебные препараты (в том числе и фотосенсибилизаторы) в опухоль, обеспечивая ее визуализацию и избирательное фотодинамическое или фототермическое разрушение.

В огляді розглянуто як діагностичні аспекти проблеми застосування наночастинок золота в онкології (для візуалізації пухлин), так і лікувальні. Описано використання нанозолота як засобу цілеспрямованої доставки лікарських препаратів до пухлини. Висвітлено широкі перспективи застосування золотих наночастинок для вибіркового руйнування злякисних пухлин методом фототермії (лазерного нанотермолізу) або фотодинамічної терапії.

**Ключові слова:** злякисні пухлини, нанотехнології, колоїдне золото, золоті наночастинки, візуалізація пухлин, цілеспрямований транспорт препаратів, поверхневий плазмонний резонанс, лазерний нанотермоліз, фотодинамічна терапія пухлин

In the article, both diagnostic (tumor visualization) and therapeutic aspects of the problem are reviewed. The utilization of gold nanoparticles as vehicles for targeted drug transportation to the tumor is described. Promising perspectives of the nanoparticles application for selective photothermal therapy (laser nanothermolysis) and photodynamic therapy of malignant tumors are emphasized.

**Key words:** malignant tumors, nanotechnology, colloidal gold, gold nanoparticles, tumor visualization, targeted drug transportation, surface plasmon resonance, laser nanothermolysis, photodynamic therapy of tumors

1. *Parkin D.M.* Global cancer statistics in the year 2000 // *Lancet Oncol.* – 2001. – 2. – P. 533–543.
2. *Salata O.* Applications of nanoparticles in biology and medicine // *J. Nanobiotechnol.* – 2004. – 2, N 1. – P. 3–6.

3. *Whitesides G.M.* The “right” size in nanobiotechnology // *Nat. Biotechnol.* – 2003. – 21, N 10. – P. 1161–1165.
4. *Real-time vital optical imaging of precancer using anti-epidermal growth factor receptor antibodies conjugated to gold nanoparticles / Sokolov K., Follen M., Aaron J. et al.* // *Cancer Res.* – 2003. – 63, N 9. – P. 1999–2004.
5. *Link S., El-Sayed M.A.* Optical properties and ultrafast dynamics of metallic nanocrystals // *Annu. Rev. Phys. Chem.* – 2003. – 54. – P. 331–366.
6. *Immunotargeted nanoshells for integrated cancer imaging and therapy / Loo C., Lowery A., Halas N. et al.* // *Nano Lett.* – 2005. – 5, N 4. – P. 709–711.
7. *Two-photon luminescence imaging of cancer cells using molecularly targeted gold nanorods / Durr N.J., Larson T., Smith D.K. et al.* // *Nano Lett.* – 2007. – 7, N 4. – P. 941–945.
8. *Colloidal gold: a novel nanoparticle vector for tumor directed drug delivery / Paciotti G.F., Myer L., Weinreich D. et al.* // *Drug Deliv.* – 2004. – 11, N 3. – P. 169–183.
9. *Powell A.C., Paciotti G.F., Libutti S.K.* Colloidal gold: a novel nanoparticle for targeted cancer therapeutics // *Methods Mol. Biol.* – 2010. – 624. – P. 375–384.
10. *PEG blanched polymer for functionalization of nanomaterials with ultralong blood circulation / Prencipe G., Tabakman S., Welsher K. et al.* // *J. Am. Chem. Soc.* – 2009. – 131, N 13. – P. 4783–4787.
11. *Derycke A.S.L., de Witte P.A.M.* Liposomes for photodynamic therapy // *Adv. Drug Delivery Rev.* – 2004. – 56, N 1. – P. 17–30.
12. *Long-circulating DNA lipid nanocapsules as new vector for passive tumor targeting / Morille M., Montier T., Legras P. et al.* // *Biomaterials.* – 2010. – 31. – P. 321–329.
13. *Popescu M.A., Toms S.A.* In vivo optical imaging using quantum dots for the management of brain tumors // *Expert. Rev. Mol. Diagn.* – 2006. – 6, N 6. – P. 879–890.
14. *Quantum dots are phagocytized by macrophages and colocalize with experimental gliomas / Jackson H., Muhammad O., Daneshvar H. et al.* // *Neurosurgery.* – 2007. – 60, N 3. – P. 524–529.
15. *In vivo study of biodistribution and urinary excretion of surface-modified silica nanoparticles / He X., Nie H., Wang K. et al.* // *Anal. Chem.* – 2008. – 80, N 24. – P. 9597–9603.
16. *Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging / C. Corot, P. Robert, J.-M. Idee, M. Port // Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2006. – 58. – P. 1471–1504.
17. *Long-circulating polymeric nanoparticles bearing a combinatorial coating of PEG and water-soluble chitosan / Sheng Y., Liu C., Yuan Y. et al.* // *Biomaterials.* – 2009. – 30. – P. 2340–2348.
18. *In vitro macrophage uptake and in vivo biodistribution of long-circulation nanoparticles with poly(ethylene-glycol)-modified PLA (BAB type) triblock copolymer / Shan X., Liu C., Yuan Y. et al.* // *Colloid Surf. B: Biointerfaces.* – 2009. – 72. – P. 303–311.

19. *Brigger I., Dubernet C., Couvreur P.* Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2002. – **54**. – P. 631–651.
20. *Emerging implications of nanotechnology on cancer diagnostics and therapeutics / Cuenca A.G., Jiang H., Hochwald S.N. et al.* // *Cancer*. – 2006. – **107**, N 3. – P. 459–466.
21. *Muhammad O., Popescu A., Toms S.A.* Macrophage-mediated colocalization of quantum dots in experimental glioma // *Methods Mol. Biol.* – 2007. – **374**. – P. 161–171.
22. *Otsuka H., Nagasaki Y., Kataoka K.* PEGilated nanoparticles for biological and pharmaceutical applications // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2003. – **55**. – P. 403–419.
23. Підвищення ефективності фотодинамічної терапії пухлин шляхом застосування колоїдного золота / Гамаля М.Ф., Лісняк І.О., Прокопенко І.В. та ін. // *Фотобіологія і фотомедицина*. – 2010. – **7**, № 1–2. – С. 67–75.
24. *Surface modification of poly(lactic acid) nanospheres using hydrophobically modified dextrans as stabilizers in an o/w emulsion/evaporation technique / Rouzes C., Gref R., Leonard M. et al.* // *J. Biomed. Mater. Res.* – 2000. – **50**, N 4. – P. 557–565.
25. *Byrne J.D., Betancourt T., Brannon-Peppas L.* Active targeting schemes for nanoparticle systems in cancer therapeutics // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2008. – **60**, N 15. – P. 1615–1626.
26. *Vascular permeability in a human tumor xenograft: molecular size dependence and cutoff size / Yuan F., Dellian M., Fukumura D. et al.* // *Cancer Res.* – 1995. – **55**, N 17. – P. 3752–3756.
27. *Self-assembled nanoparticles based on glycol chitosan bearing hydrophobic moieties as carriers for doxorubicin: in vivo biodistribution and anti-tumor activity / Park J.H., Kwon S., Lee M. et al.* // *Biomaterials*. – 2006. – **27**, N 1. – P. 119–126.
28. *Duncan R.* The dawning era of polymer therapeutics // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2003. – **2**, N 5. – P. 347–360.
29. *Hilgenbrink A.R., Low P.S.* Folate receptor-mediated drug targeting: from therapeutics to diagnostics // *J. Pharm. Sci.* – 2005. – **94**, N 10. – P. 2135–2146.
30. *Breast carcinoma and the role of iron metabolism. A cytochemical, tissue culture, and ultrastructural study / R.L. Elliott, M.C. Elliott, F. Wang, J.F. Head* // *Ann. NY Acad. Sci.* – 1993. – **698**. – P. 159–166.
31. *Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels / Bruchez M.Jr., Moronne M., Gin P. et al.* // *Science*. – 1998. – **281**, N 5385. – P. 2013–2016.
32. *Noninvasive detection of clinically occult lymph-node metastases in prostate cancer / Harisinghani M.C., Barentsz J., Hahn P.F. et al.* // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – **348**, N 25. – P. 2491–2499.
33. *Polymeric nanomedicine for cancer therapy / Park J.H., Lee S., Kim J.H. et al.* // *Prog. Polym. Sci.* – 2008. – **33**, N 1. – P. 113–137.
34. *Link S., El-Sayed M.A.* Shape and size dependence of radiative, non-radiative and photothermal properties of gold nanocrystals // *Int. Rev. Phys. Chem.* – 2000. – **19**, N 3. – P. 409–453.
35. *Jain P.K., El-Sayed I.H., El-Sayed M.A.* Au nanoparticles target cancer // *Nanotoday*. – 2007. – **2**, N 1. – P. 18–29.
36. *Englebienne P., van Hoonacker A., Verhas M.* Surface plasmon resonance: principles, methods and applications in biomedical sciences // *Spectroscopy*. – 2003. – **17**. – P. 255–273.
37. *Hutter E., Fendler J.H.* Exploitation of localized surface plasmon resonance // *Adv. Mater.* – 2004. – **16**, N 19. – P. 1685–1706.
38. *Eustis S., El-Sayed M.A.* Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and non-radiative properties of nanocrystals of different shapes // *Chem. Soc. Rev.* – 2006. – **35**, N 3. – P. 209–217.
39. *Gold nanostructures: engineering their plasmonic properties for biomedical applications / Hu M., Chen J., Li Z.Y. et al.* // *Chem. Soc. Rev.* – 2006. – **35**, N 11. – P. 1084–1094.
40. *Lyon L.A., Musick M.D., Nathan M.J.* Colloidal Au-enhanced surface plasmon resonance immunosensing // *Anal. Chem.* – 1998. – **70**, N 24. – P. 5177–5183.
41. *High-sensitivity stark spectroscopy obtained by surface plasmon resonance measurement / S. Wang, S. Boussaad, S. Wong, N.J. Tao* // *Anal. Chem.* – 2000. – **72**, N 17. – P. 4003–4008.
42. *Weissleder R.* A clearer vision for in vivo imaging // *Nat. Biotechnol.* – 2001. – **19**, N 4. – P. 316–317.
43. *Evidence for retention of biological activity of a non-heme iron enzyme adsorbed on a silver colloid: a surface-enhanced resonance Raman scattering study / J.B. Broderick, M.J. Natan, T.V. O'Halloran, R.P. Van Duyne* // *Biochemistry*. – 1993. – **32**, N 50. – P. 13771–13776.
44. *Katz E., Willner I.* Integrated nanoparticle-biomolecule hybrid systems: synthesis, properties, and applications // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 2004. – **43**, N 45. – P. 6042–108.
45. *A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials / C.A. Mirkin, R.L. Letsinger, R.C. Mucic, J.J. Storhoff* // *Nature*. – 1996. – **382**, N 6592. – P. 607–609.
46. *Direct evidence for rapid and selective induction of tumor neovascular permeability by tumor necrosis factor and a novel derivative, colloidal gold bound tumor necrosis factor / Farma J.M., Puhlmann M., Soriano P.A. et al.* // *Int. J. Cancer*. – 2007. – **120**, N 11. – P. 2474–2480.
47. *Biodistribution of TNF-alpha-coated gold nanoparticles in an in vivo model system / Goel R., Shah N., Visaria R. et al.* // *Nanomedicine (London)*. – 2009. – **4**, N 4. – P. 401–410.
48. *Results of a completed phase I clinical trial of CYT-6091: a pegylated colloidal gold-TNF nanomedicine / Libutti S.K.,*

- Paciotti G.F., Myer L. et al. // J. Clin. Oncol. – 2009. – 27, N 15S (ASCO Annual Meeting Proc., Abstract 3586).
49. Drug Pipeline. <http://www.cytimmune.com/go.cfm?do=Page.View&pid=19>.
50. *Nanoshell-mediated* near infrared thermal therapy of tumors under MR guidance / Hirsch L.R., Stafford R.J., Bankson J.A. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. – 2003. – 100, N 23. – P. 13549–13554.
51. *Photo-thermal* tumor ablation in mice using near infrared-absorbing nanoparticles / O'Neal P.D., Hirsch L.R., Halas N.J. et al. // Cancer Lett. – 2004. – 209, N 2. – P. 171–176.
52. *Selective* cell targeting with light-absorbing microparticles and nanoparticles / Pitsillides C.M., Joe J.K., Wei X. et al. // Biophys. J. – 2003. – 84, N 6. – P. 4023–4032.
53. *Gold* nanorods mediate tumor cell death by compromising membrane integrity / Ling Tong, Yan Zhao, Huff T.B. et al. // Adv. Mater. – 2007. – 19, N 20. – P. 3136–3141.
54. *Gold* nanorod assisted near-infrared plasmonic photothermal therapy (PPTT) on squamous cell carcinoma in mice / Dickerson E.B., Dreaden E.C., Huang X. et al. // Cancer Lett. – 2008. – 269, N 1. – P. 57–66.
55. *Antiangiogenic* properties of gold nanoparticles / Mukherjee P., Bhattacharya R., Wang P. et al. // Clin. Cancer Res. – 2005. – 11, N 9. – P. 3530–3534.
56. *Potential* therapeutic application of gold nanoparticles in B-chronic lymphocytic leukemia (BCLL): enhancing apoptosis / Mukherjee P., Bhattacharya R., Bone N. et al. // J. Nanobiotechnol. – 2007. – 5, N 4. – P. 1–13.
57. *Enhanced* photodynamic activity of meso-tetra (4-hydroxyphenyl)porphyrin by incorporation into sub-200nm nanoparticles / Y.N. Konan, M. Berton, R. Gurny, E. Allemann // Eur. J. Pharm. Sci. – 2003. – 18, N 3–4. – P. 241–249.
58. *In vitro* and *in vivo* activities of verteporfin-loaded nanoparticles / Y.N. Konan-Kouakou, R. Boch, R. Gurny, E. Allemann // J. Control Release. – 2005. – 103, N 1. – P. 83–91.
59. *Ricci-Junior E., Marchetti M.* Zinc(II)phthalocyanine loaded PLGA nanoparticles for photodynamic therapy use // Int. J. Pharm. – 2006. – 310, N 1–2. – P. 187–195.
60. *Hypericin-loaded* nanoparticles for the photodynamic treatment of ovarian cancer / M. Zeisser-Labouebe, N. Lange, R. Gurny, F. Delie // Int. J. Pharm. – 2006. – 326, N 1–2. – P. 174–181.
61. *Ceramic-based* nanoparticles entrapping water-soluble photosensitizing anticancer drugs: a novel drug-carrier system for photodynamic therapy / Roy I., Ohulchanskyy T.Y., Pudavar H.E. et al. // J. Am. Chem. Soc. – 2003. – 125, N 26. – P. 7860–7865.
62. *Intracellular* photodynamic therapy with photosensitizer-nanoparticle conjugates: cancer therapy using a “Trojan horse” / Wieder M.E., Hone D.C., Cook M.J. et al. // Photochem. Photobiol. Sci. – 2006. – 5. – P. 727–734.
63. *Organically* modified silica nanoparticles with covalently incorporated photosensitizer for photodynamic therapy of cancer / Ohulchanskyy T.Y., Roy I., Goswami I.N. et al. // Nano Lett. – 2007. – 7, N 9. – P. 2835–2842.
64. *Highly* efficient drug delivery with gold nanoparticle vectors for *in vivo* photodynamic therapy of cancer / Cheng Y., Samia A.C., Meyers J.D. et al. // J. Am. Chem. Soc. – 2008. – 130, N 32. – P. 10643–10647.
65. *Demberelnyamba D., Ariunaa M., Young Key Shim.* Newly synthesized water soluble cholinium-purpurin photosensitizers and their stabilized gold nanoparticles as promising anticancer agents // Int. J. Mol. Sci. – 2008. – 9. – P. 864–871.
56. *Photodynamic* activity of hematoporphyrin conjugates with gold nanoparticles: experiments *in vitro* / Gama-leia N.F., Shishko E.D., Dolinsky G.A. et al. // Exp. Oncol. – 2010. – 32, N 1. – P. 44–47.