



BIULETYN  
Wydziału Farmaceutycznego  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Biul. Wydz. Farm. WUM, 2020, 1, 1-9  
<http://biuletynfarmacji.wum.edu.pl/>

## NANOCZĄSTKI ZŁOTA W DIAGNOSTYCE I TERAPII NOWOTWORÓW - WYBRANE ZASTOSOWANIA

Emilia Balcer\*<sup>1,2</sup>, Maciej Mazur<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Zakład Bioanalizy i Analizy Leków, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

<sup>2</sup> Dział Radiochemii, Zakład Badań Reaktorowych, Departament Eksploatacji Obiektów Jądrowych, Narodowe Centrum Badań Jądrowych, ul. Soltana 7, 05-400 Otwock

<sup>3</sup> Zakład Chemii Fizycznej i Radiochemii, Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski, ul. Pasteura 1, 02-093 Warszawa

\*autorka korespondująca, tel: + 48 500 080 139, e-mail: [ebalcer@wum.edu.pl](mailto:ebalcer@wum.edu.pl)

Otrzymany 22.10.2019, zaakceptowany 19.04.2020, zamieszczony 02.06.2020

### STRESZCZENIE

Nanomedycyna jest obecnie jedną z najszybciej rozwijających się dziedzin nanotechnologii, znajdującą coraz więcej zastosowań w walce z chorobami nowotworowymi. Nanocząstki złota, ze względu na swoje unikalne właściwości optyczne i chemiczne, cieszą się rosnącym zainteresowaniem naukowców. Do zalet nanocząstek złota należą między innymi wysoki stosunek powierzchni do objętości cząstki, duże możliwości modyfikacji ich powierzchni, czy też występowanie efektu wzmocnionej przepuszczalności i retencji, pozwalającego na bardziej efektywną i selektywną akumulację leku w miejscach zmienionych nowotworowo. W pracy krótko omówiono charakterystykę fizykochemiczną nanocząstek złota oraz przedstawiono ich wybrane zastosowania zarówno w diagnostyce, jak i terapii chorób nowotworowych.

**SŁOWA KLUCZOWE:** nanocząstki złota, hipertermia, powierzchniowy rezonans plazmonowy, radiofarmaceutyk.

### ABSTRACT

#### GOLD NANOPARTICLES IN THE DIAGNOSTICS AND THERAPY OF CANCER - CHOSEN APPLICATIONS

Nanomedicine is currently one of the fastest growing fields of nanotechnology with an increasing number of applications in the fight against cancer. Gold nanoparticles, due to their unique optical and chemical properties, are receiving a growing interest from scientists. The advantages of gold nanoparticles include, inter alia, a high surface to volume ratio, a broad range of possibilities in the surface modification, and the occurrence of an enhanced permeability and retention effect, allowing for a more effective and selective accumulation of the drug at the tumor sites. This paper briefly discusses the physicochemical characteristics of gold nanoparticles and presents their selected applications in both the diagnostics and therapy of cancer.

**KEYWORDS:** gold nanoparticles, hyperthermia, surface plasmon resonance, radiopharmaceutical.

### 1. Wstęp

Cząstki w skali nano (tj. rzędu  $10^{-9}$  m) wyróżniają się wieloma zaletami w stosunku do makrocząstek. Ich wyjątkowe właściwości fizyczne i optyczne sprawiają, że znajdują zastosowanie nie tylko w medycynie, ale też m.in. jako biosensory czy materiały do budowy urządzeń optoelektronicznych. Z uwagi na potrzebę ciągłego ulepszania znanych obecnie metod wczesnego wykrywania i leczenia chorób nowotworowych, duża część badań nad nanocząstkami dotyczy jednak ich potencjalnych zastosowań w medycynie. Wczesna diagnoza nowotworów złośliwych jest trudna, a ich wykrycie często następuje dopiero w późnej fazie przerzutów, co znacznie zmniejsza skuteczność leczenia. Prężny rozwój nanotechnologii w ostatnich latach znacznie sprzyja opracowywaniu nowoczesnych, bardziej wydajnych metod diagnostyki i terapii nowotworów. Najważniejszymi zaletami (w przypadku terapii) cząstek w skali nano są m.in. lepsza skuteczność dostarczania leków do chorych tkanek przy stosowaniu chemioterapii, zmniejszenie efektów ubocznych leczenia, a także tworzenie nowych rodzajów terapii (na przykład terapii fototermicznej) czy celowanych terapii kombinowanych, które osiągają znacznie lepsze efekty w walce z nowotworami [1]. Znanych jest już wiele systemów opartych

na nanocząstkach, które można wykorzystać jako nośniki leków. Istotne są w tym przypadku biogodność i biodystrybucja, na które duży wpływ ma rozmiar nanocząstki - przykładowo, mniejsza niż 8 nm cząstka wydalana jest przez nerki, natomiast większa niż około 200 nm zostaje wchłonięta przez organy układu fagocytarnego (śledziona, wątroba) [2]. Spośród wszystkich nanocząstek metalicznych cząstki złota wykazują jedne z najbardziej unikalnych właściwości, które pozwalają na zastosowanie ich w wielu dziedzinach. Najważniejsze z tych właściwości dotyczą aktywności chemicznej, optyki, ich stabilnej natury oraz zdolności pochłaniania promieniowania X. W ostatnich latach pojawia się coraz więcej nowych metod syntezy nanocząstek złota o różnych rozmiarach i kształtach, zwiększając tym samym liczbę możliwości utworzenia różnorodnych nanokompozytów.

### 2. Przegląd metod otrzymywania AuNPs

Nanocząstki złota otrzymuje się głównie w reakcjach w środowisku cieczy poprzez redukcję  $\text{HAuCl}_4$ , choć istnieją bardziej zaawansowane metody pozwalające na większą precyzję i modyfikację, jeśli chodzi o kształty i wielkości syntezowanych nanocząstek. Kwas chlorozłotowy po rozpuszczeniu zostaje szybko zmieszany, w tym samym czasie

dodawany jest czynnik redukujący i następuje redukcja jonów  $Au^{3+}$  do atomów złota na zerowym stopniu utlenienia. Prowadzi to do nasycenia roztworu i rozpoczęcia formacji AuNPs (nanocząstek złota). Do roztworu dodaje się także czynnik stabilizujący, którego rola polega na zapobieganiu agregacji cząstek (zwykle jest to substancja organiczna, która oddziałuje z powierzchnią metalu). Czynnik ten można pominąć, np. przy syntezie AuNPs przez ablację laserową w cieczy [3].

- Najprostszym znanym sposobem otrzymania nanocząstek złota jest metoda Turkevicha. W syntezie tej powstają monodispersyjne, sferyczne AuNPs zawieszony w wodzie, o średnicy około 10-20 nm [4].
- Kolejnym sposobem jest metoda Brust, zaproponowana we wczesnych latach '90 ubiegłego wieku, w której otrzymywane są złote nanocząstki w cieczach organicznych (normalnie niemieszalnych z wodą). W syntezie tej powstają nanocząstki o średnicy 2-6 nm [5,6].
- Metoda Perraulta, opisana w 2009 roku przez Perraulta i Chana, polega na redukcji  $H AuCl_4$  hydrochinonem, w roztworze zawierającym 15-nanometrowe „ziarna” złotych nanocząstek. Otrzymywane AuNPs mają średnicę w zakresie 30-300 nm [7].
- Metoda Martina, wprowadzona w 2010 roku przez Martina i Eaha, pozwala otrzymać niemodyfikowane, niemalże monodispersyjne nanocząstki złota zawieszony w wodzie. Reakcja polega na redukcji  $H AuCl_4$  borowodorkiem sodu (w środowisku wodnym) - mimo nieobecności czynnika stabilizującego, AuNPs są trwale zdyspergowane. Średnica nanocząstek może być powtarzalnie i dokładnie kontrolowana - od 3,2 do 5,2 nm [8].
- Kolejną metodą otrzymywania nanocząstek złota jest sonoliza, po raz pierwszy opisana przez Baigenta i Müllera [9]. W ich pracy ultradźwięki zapewniały energię dla zachodzących procesów i umożliwiły wytworzenie złotych cząstek o średnicy poniżej 10 nm. W innej pracy [10] wykorzystującej ultradźwięki przeprowadzono reakcję wodnego roztworu  $H AuCl_4$  z glukozą (odpowiadającą za kształt cząstek), w której reduktor stanowiły rodniki hydroksylowe i rodniki pirolizy cukru. Uzyskane struktury miały kształt wstążek o szerokości 30-50 nm i długości kilku mikrometrów.
- Metoda Navarro i in. powstała w oparciu o zmodyfikowaną procedurę Turkevicha-Frensa. Modyfikacja polegała na dodaniu acetyloacetonianu sodu umożliwiającego kompleksowanie i redukcję jonów  $Au^{3+}$  do  $Au^+$ . Kolejnym krokiem było szybkie dodanie cytrynianu sodu, redukującego  $Au^+$  do obojętnych atomów złota. Tak przeprowadzona reakcja pozwoliła na maksymalną kontrolę struktury nanocząstek, a zarazem zapewnienie prostoty syntezy [11].
- Synteza Sakaia i in. wykorzystuje kopolimery blokowe w dwóch rolach. Polega ona na redukcji jonów złota przez obecne w roztworze kopolimery blokowe, następnie tworzeniu złotych klastrów, adsorpcji kopolimerów na klastrach i dalszej redukcji jonów złota na powierzchni klastrów (wzrost nanocząstek) [12].

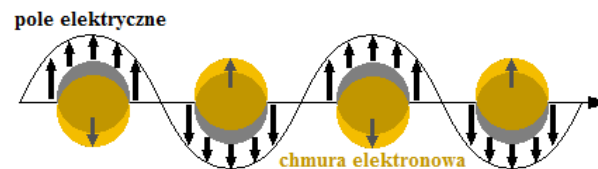
Istnieją także fotochemiczne metody otrzymywania nanocząstek oraz należące do dziedziny „zielonej” chemii, gdzie wykorzystuje się naturalne fitochemikalia. Przeprowadzone zostały już syntezy z użyciem takich materiałów jak

czarna herbata [13], kardamon [14], cynamon [15], czy ekstrakt z aloesu [16].

### 3. Właściwości fizykochemiczne AuNPs

Złoto jest zwykle postrzegane jako metal obojętny, ale wykazano, że jego nanocząstki (jako klastry) o średnicy mniejszej niż 3-5 nm są aktywne katalitycznie dla pewnych rodzajów reakcji. Ta chemiczna aktywność może się zmieniać wraz ze zmianą rozmiaru cząstek. Zauważono, że najbardziej aktywne są atomy na rogach i krawędziach nanocząstek - efekt ten próbowano wyjaśnić przy użyciu obliczeń metodą funkcjonału gęstości. Atomy takie są nisko skoordynowane i mają większą możliwość stworzenia wiązania chemicznego. W największej ilości obecne są w nanocząstkach o najmniejszych średnicach [17].

Oddziaływanie AuNPs ze światłem silnie zależy od środowiska, modyfikacji powierzchni, rozmiaru i kształtu nanocząstek. Zależność od rozmiaru przejawia się w różnym zabarwieniu roztworów z monodispersyjnymi nanocząstkami (od fioletu, poprzez róż do czerwieni i pomarańczy) [18]. Za te niezwykle właściwości optyczne odpowiedzialne jest zjawisko powierzchniowego rezonansu plazmonowego (SPR), polegające na oscylacjach gęstości elektronowej w obszarze nanocząstek metali (schemat zjawiska przedstawiono na Ryc. 1). Chmura elektronowa jest rezonansowo wzbudzana przez fale świetlne o określonej długości, co prowadzi do silnego rozproszenia promieniowania, w widmie absorpcyjnym pojawiają się więc wyraźne pasma dla SPR. Podczas takich oscylacji plazmonowych dla sferycznych nanocząstek następuje harmoniczne przemieszczanie się chmury elektronowej w stosunku do jądra nanocząstki [19].



Ryc. 1. Schemat SPR dla nanocząstek sferycznych.

Jak już wspomniano, zjawisko SPR silnie zależy od wielkości nanocząstek. Dla cząstek o rozmiarze około 30 nm powierzchniowy rezonans plazmonowy powoduje absorpcję światła w spektrum właściwym dla barwy niebiesko-zielonej (długość fali około 450 nm), jednocześnie wywołując odbicie fal światła czerwonego (długość fali około 700 nm), co skutkuje czerwoną barwą roztworu. Wraz ze wzrostem wielkości nanocząstek, długość fali absorpcyjnej związanej z SPR przesuwa się w stronę fal dłuższych (bardziej czerwonych), co skutkuje odbiciem fal niebieskich i niebieską lub fioletową barwą roztworu [18].

Zjawisko SPR można dostosowywać również poprzez zmianę kształtu nanocząstek - przykładowo, złote nanotrójkąty mają tendencję do absorpcji światła bliskiej podczerwieni przy fioletowej barwie roztworu [20]. Jedne z najciekawszych zsyntezowanych AuNPs, w kształcie owocu karamboli, wykazywały absorpcję światła czerwonego (około 630 nm), przy niebiesko-zielonym zabarwieniu roztworu [21]. Na pozycję pasma plazmonowego mają wpływ także stopień agregacji cząstek oraz fluktuacje w stałej dielektrycznej środowiska, które z kolei zależą od stężenia użytego do syntezy czynnika stabilizującego [22].

Złoto jako metal o dużej liczbie atomowej Z (79) silnie pochłania promieniowanie X. Uważa się, że jego oddziaływanie z kwantami rentgenowskimi skutkuje głównie emisją fotoelektronów i elektronów Augera (inne możliwości to m.in. zaistnienie efektu fotoelektrycznego, Comptona, rozpraszanie Rayleigha, czy emisja fotonów fluorescencji [23]). Zasięg tych elektronów jest bardzo mały w porównaniu z zasięgiem fotonów, wywołana energia jest więc deponowana w komórkach zawierających AuNPs lub bezpośrednio przy atomach złota. Rezultaty badań wrażliwości AuNPs na promieniowanie X byłyby bardzo różne, dlatego przeprowadzono też testy uwzględniające takie czynniki jak kształt, rozmiar, stężenie nanocząstek, typ linii komórkowej czy energię i rodzaj promieniowania. Najbardziej wydajne okazały się duże AuNPs o wysokim stężeniu molowym, absorbujące fotony o energii 50 keV - oszacowano, że nanocząstki w takich warunkach mogłyby zwiększyć dawkę pochłanianych kwantów rentgenowskich aż 6 razy [24]. Wrażliwość złota na promieniowanie rentgenowskie sprawia, że AuNPs można potencjalnie wykorzystać w roli kontrastu do tomografii komputerowej (CT) oraz w teleradioterapii.

Ze względu na swoje rozmiary, nanocząstki złota ulegają również efektowi wzmocnionej przepuszczalności i retencji (EPR). Efekt ten, obserwowany w przypadku części nowotworów, polega na zwiększonej i dłuższej trwającej akumulacji leku w tkankach zmienionych chorobowo, a jego istnienie powodowane jest nieuszczelnnością układu naczyniowego danego guza [25]. W przypadku nanocząstek do terapii celowanych, koniugowanych z wybranymi biomolekułami wiążącymi się z celami molekularnymi, efekt EPR w sposób pasywny (poprzez dyfuzję) zwiększa efektywność gromadzenia AuNPs.

#### 4. Toksyczność

Rosnące zainteresowanie zastosowaniem nanomateriałów ze złota w medycynie zrodziło obawy przed potencjalnie toksycznym efektem oddziaływania AuNPs z systemami biologicznymi. Każdy projekt wykorzystujący nanostruktury musi być w tym kierunku szczegółowo zbadany przed dopuszczeniem go do użytku. Niektóre koniugaty nanocząstek złota z substancjami, takimi jak środki kontrastowe, przeciwciała, peptydy, ligandy, leki i geny, są już z powodzeniem stosowane w leczeniu nowotworów. Ograniczenia w stosowaniu AuNPs w terapii i diagnostyce wynikają głównie z toksyczności stosowanego w syntezie czynnika stabilizującego, wiążą się też ze stabilnością nanocząstek w środowisku biologicznym oraz farmakokinetyką [22].

Jednym z najczęściej stosowanych czynników stabilizujących jest CTAB (bromek cetylotrimetyloamoniowy), wykazujący działanie toksyczne. Obecność wolnych molekuł CTAB w roztworze może być spowodowana niedostatecznym oczyszczeniem nanocząstek lub desorpcją surfaktantu z powierzchni AuNPs. Stosowane są więc procedury mające na celu zmniejszenie toksyczności i ustabilizowanie nanocząstek w środowisku fizjologicznym poprzez między innymi pokrywanie powierzchni AuNPs cienkimi filmami (na przykład soli sodowej kwasu poli(4-styrenosulfonowego) [26]) czy dołączenie do nich biokompatybilnych cząstek, takich jak poli(tlenek etylenu) (PEG). Niektóre badania potwierdziły, że to właśnie swobodne cząsteczki CTAB były odpowiedzialne za zaobserwowane działania toksyczne, nie zaś same nanocząstki złota [22].

Przeprowadzono wiele badań *in vitro*, które wykazały, że cytotoxyczność (czyli toksyczność względem komórek w danym organizmie) nanocząstek złota silnie zależy od ich wielkości i stężenia. Zmniejszenie wielkości AuNPs skorelowane było z poszerzoną dystrybucją tkankową, podwyższonym potencjałem do głębszej penetracji w określonych tkankach, bardziej efektywnym przyswajaniem nanocząstek przez komórki oraz zwiększonymi efektami toksycznymi [27]. W jednym z badań [28] wykazano, że bardzo małe nanocząstki złota (około 1,4 nm) spowodowały martwicę komórek na skutek stresu oksydacyjnego i zniszczeń mitochondrialnych. W innym eksperymencie [29] potwierdzono, że dla niskich stężeń (1 ppm) AuNPs o rozmiarach 2-20 nm nie występowały efekty toksyczne w stosunku do linii komórkowej mysich makrofagów, podczas gdy stężenia wyższe niż 10 ppm wywołały apoptozę komórek i zwiększenie ekspresji genów pro-zapalnych. Stres oksydacyjny zaobserwowano także przy badaniach na komórkach fibroblastów MRC-5 ludzkiego płuca (pochodzących od płodu) poddanych działaniu 20 nm AuNPs, z jednoczesnym zmniejszeniem ekspresji genów kodujących białka regulujące cykl komórkowy w fazie G2/M oraz punkt kontrolny wrzeciona mitotycznego, a także uszkodzeniem genów odpowiedzialnych za mechanizmy naprawy DNA [30].

Podsumowując, czynniki odpowiedzialne za toksyczność nanocząstek złota to ich wielkość, kształt, powierzchnia (ligandy oraz ładunek elektryczny), stopień agregacji, interakcje z czynnikami biologicznymi oraz typ i rodzaj użytego medium hodowlanego do komórek [22]. Zauważalnej toksyczności można uniknąć przede wszystkim poprzez metody modyfikacji powierzchni. Uogólniając, nanocząstki złota są dużo mniej toksyczne niż nanocząstki innych metali, a ich optymalizacja dla potencjalnych zastosowań może być w prosty sposób kontrolowana.

#### 5. Radiofarmaceutyki i systemy dostarczania leku

Nanocząstki złota mogą być wykorzystywane do tworzenia wyjątkowych koniugatów. Ze względu na rodzaj użytego izotopu Au (radioaktywne  $^{198}\text{Au}$  i  $^{199}\text{Au}$  lub stabilny  $^{197}\text{Au}$ ), koniugaty takie tworzą radiofarmaceutyki lub chemoterapeutyki, choć opracowywane są już metody terapii synergicznej, w której cząsteczka aktywna biologicznie i znakowana radionuklidem może być jednocześnie nośnikiem leku stosowanego w chemioterapii.

Radiofarmaceutyki wykorzystujące znakowane nanocząstki mogą być klasyfikowane jako typ A lub B. W typie A radioizotop jest inkorporowany w biodegradowalnych nanocząstkach matryc organicznych. Typ B pochodzi natomiast od bezpośredniego pokrywania nieorganicznych nanomaterii radionuklidem - takie cząstki mogą być powierzchniowo koniugowane z przeciwciałami, peptydami lub proteinami [31].

Izotop złota  $^{198}\text{Au}$  (tabela 1) wykazuje odpowiednie właściwości do zastosowania w roli terapeutyki: optymalny okres połowicznego rozpadu, tj. 2,7 dnia, czy emisja krótkozasięgowych cząstek  $\beta^-$  penetrujących miękkie tkanki na odległość maksymalnie 3,8 mm (połowa cząstek przebywa jednak odległość jedynie 0,38 mm). Produkty rozpadu opisywanego izotopu złota powstają w ilościach dużo niższych od poziomu toksyczności chemicznej. Wytwarzanie  $^{198}\text{Au}$  polega na bombardowaniu neutronami folii z naturalnego izotopu złota  $^{197}\text{Au}$  [31].

Tabela 1. Dane dotyczące izotopu  $^{198}\text{Au}$  [31,32].

Ścieżka rozpadu	$\beta^-$
Izotop macierzysty (w przypadku produkcji poprzez aktywację szybkimi bądź termicznymi neutronami)	$^{197}\text{Au}$
Izotop potomny	$^{198}\text{Hg}$ (trwały)
Równanie reakcji ścieżki rozpadu	$^{198}\text{Au} \rightarrow ^{198}\text{Hg} + \beta^-$
Równanie reakcji głównej metody otrzymania	$^{197}\text{Au} + n_{\text{th/f}} \rightarrow ^{198}\text{Au}$
Przekrój czynny reakcji otrzymania [b]	99
Czas półtrwania [dni]	2,695
Energia emitowanych cząstek $\beta^-$ (98,99 %) [keV]	960,7

Jedną z udanych syntez radiofarmaceutyku znakowanego izotopem  $^{198}\text{Au}$  przeprowadzono poprzez redukcję  $\text{H}^{198}\text{AuCl}_4$  trimeryczną fosfiną opartą na alaninie (THPAL - *tris(hydroxymethyl)phosphine-alanine*) w obecności biokompatybilnej matrycy z gumy arabskiej (GA), tworząc  $\text{GA-}^{198}\text{AuNPs}$  z bardzo wysoką wydajnością [31]. Guma arabska jest ekstraktem roślinnym powszechnie stosowanym w przemyśle spożywczym. W innej z prac [33] poprzez reakcję z arabinoksylenem (bez dodatku innych reduktorów i stabilizatorów) uzyskano wysoce stabilne  $^{198}\text{AuNPs}$ , po podaniu dostępnym głównie akumulowane w okrężnicy. Z sukcesem przeprowadzono również „zieloną” syntezę radioaktywnych nanocząstek funkcjonalizowanych mangiferyną, które wykazały wysokie powinowactwo do komórek PC3 nowotworu prostaty [34]. W badaniach *in vivo* udowodniono, że nanocząstki te spowodowały pięciokrotne zmniejszenie guza w ciągu 3 tygodni od ich podania.

Radioaktywne nanocząstki mają duży potencjał jeśli chodzi o zastosowanie w tworzeniu planu leczenia pacjenta. Głównymi wyzwaniami obecnych badań są skuteczność w celowanym dostarczaniu radioaktywnych nanocząstek do nowotworu, opracowanie nowych metod znakowania promieniotwórczego oraz koniugacja z ligandem ukierunkowującym transport molekuly, pożądany profil bezpieczeństwa, a także znaczące przeszkody handlowe i regulacyjne [35].

Jednym z ważniejszych zastosowań stabilnych AuNPs jest ich wykorzystanie w roli nośników leków. Wykazano, że właściwości, takie jak rozmiar, ładunek elektryczny i chemia powierzchni nanocząstek mają wpływ zarówno na ich wychwyt do komórek, jak i późniejsze działanie wewnątrzkomórkowe. Przy wydajnym dostarczaniu leków należy wziąć pod uwagę także naturę oddziaływania lek-nanocząstka (wiązania kowalencyjne lub niekowalencyjne) oraz sposób uwalniania tego kompleksu do komórek. Idealny byłby nośnik, którego trwałość ograniczałaby się czasowo do okna terapeutycznego. Kolejnym czynnikiem, który należy brać pod uwagę jest szybkość penetracji nowotworu przez nanocząstki oraz specyfika miejsc docelowych. Za główną przeszkodę, którą muszą pokonać AuNPs, uważa się bariery nabłonka i śródbłonka - użyteczne mogą stać się w tym przypadku środki zwiększające penetrację, takie jak metaloproteazy przeciwko błonom podstawnym oraz toksyny w stosunku do ścisłych połączeń wewnątrzkomórkowych. Ważny jest także czas cyrkulacji AuNPs we krwi, który według niektórych badaczy zależy od rozmiaru nanocząstek. Czas ten skorelowany jest z szybkością dotarcia leku do nowotworu - z rosnącym czasem cyrkulacji rośnie też szybkość, z jaką chemoterapeutyk dociera do guza [27].

Już w 2008 roku Huang i in. opisali w swojej pracy [36] dwie metody kierowania leku do nowotworu: w pierwszej następowała koniugacja nanocząstek złota z poli(tlenkiem

etylenu) (PEG), w drugiej zaś ze specyficznymi przeciwciałami, które wiążą się z receptorami występującymi na komórkach guza. PEG zapobiega agregacji nanocząstek i wydłuża czas ich retencji we krwi. Użycie tego polimeru skutkuje pasywnym dostarczaniem leku do nowotworu, w przeciwieństwie do aktywnego mechanizmu z udziałem przeciwciał. Po wychwycie przez komórki, AuNPs są gromadzone w pęcherzykach endo- lub lizosomalnych. W celu uwolnienia nanocząstek i wprowadzenia leku do cytoplazmy komórek nowotworowych, AuNPs muszą być modyfikowane poprzez koniugację z peptydowymi sekwencjami przepuszczalnymi przez błony, co umożliwia pokonywanie pojedynczych warstw komórki [37].

Nanocząstki złota były już wielokrotnie wykorzystywane jako nośniki takich leków, jak doksorubicyna [38-40], cisplatyna [41,42] czy docetaksel [43,44]. Zastosowanie ich w tej formie może prowadzić do zmniejszenia efektu toksycznego w przypadku komórek prawidłowych przy jednocześnie wzmożonej efektywności terapii dla komórek nowotworowych, poszerzenia okna terapeutycznego dla danego leku czy zwiększenia poziomu akumulacji leku w tkankach zmienionych chorobowo. Omówione wcześniej właściwości fizykochemiczne nanocząstek złota, a także stosunkowo prosta modyfikacja ich powierzchni (funkcjonalizacja), rozmiaru i kształtu, dają możliwość utworzenia wyjątkowo dużej liczby leków opartych na AuNPs do terapii celowanych.

## 6. Diagnostyka *in vitro*

Testy *in vitro* stanowią kluczowy element opieki klinicznej, wykorzystując próbki biologiczne, takie jak krew, mocz oraz pobrane tkanki pacjenta. Testy tego typu stosuje się przede wszystkim do ustalenia lub potwierdzenia obecności różnych schorzeń. Procedura pobierania próbek jest zwykle nieinwazyjna i bezpieczna dla pacjenta, dzięki czemu możliwe jest uniknięcie wszelkiego rodzaju powikłań pozabiegowych, a wyniki badań są relatywnie szybko dostępne. Jest to szczególnie ważne w przypadku wykrywania ciężkich i szybko postępujących chorób. Ze względu na wymienione wcześniej właściwości nanocząstek złota, stanowią one doskonały surowiec do badań nad nowymi materiałami do detekcji chemicznej i biologicznej. Wysoki stosunek powierzchni do objętości oraz możliwość łatwej funkcjonalizacji powierzchni nanocząstek umożliwia dotarcie do nich różnego rodzaju przetworników sygnału (fluoroforów, DNA czy enzymów), co z kolei pozwala na znaczące obniżenie limitów detekcji oraz jednoczesną analizę wielu parametrów. Dotychczasowe badania wykazały, że istnieje możliwość zastosowania AuNPs w takich rodzajach diagnostyki *in vitro*, jak oznaczanie kolorymetryczne, elektrochemiczne, fluorescencyjne czy wykorzystujące powierzchniowo wzmocnioną spektroskopię ramanowską (SERS), a także wykorzystanie

systemów opartych na nanocząstkach złota w badaniach w miejscu opieki nad pacjentem [45]. W dalszej części tej sekcji omówione zostaną wybrane układy wykorzystujące AuNPs w różnych rodzajach testów *in vitro*.

Jedną z ciekawszych metod diagnostycznych wykorzystujących nanocząstki złota jest analiza biologicznego „kodu kreskowego”. Po raz pierwszy przedstawiona w pracy z 2003 roku [46], pokazała możliwość użycia AuNPs funkcjonalizowanych przeciwciałami wiążącymi się z celem molekularnym oraz dwuniciowym DNA stanowiącymi barkod do detekcji swoistego antygeny sterczowego (PSA, markeru nowotworu prostaty) z bardzo wysoką czułością. W dalszych badaniach [47] udowodniono także skuteczność tej metody w jednoczesnej detekcji wielu markerów nowotworowych, oznaczając PSA, ludzką gonadotropinę kosmówkową (marker nowotworu jąder) i  $\alpha$ -fetoproteinę (marker raka wątrobowokomórkowego) równocześnie. W podejściu tym stosuje się dwie próbki - mikrocząstki magnetyczne połączone z przeciwciałami monoklonalnymi, specyficznymi dla określonego epitopu danego celu molekularnego, oraz nanocząstki złota sfunkcjonalizowane oligonukleotydami (stanowiącymi barkod) i przeciwciałami rozpoznającymi inny niż rozpoznawany przez mikrocząstki magnetyczne epitop danego celu molekularnego. Po połączeniu celów molekularnych z obydwoma próbkami otrzymywany jest kompleks, który następnie jest rozdzielany za pomocą pola magnetycznego i przemywany. Nici analizowanego barkodu uwalnia się za pomocą indukowanej przez dodatek ditiotritolu wymiany ligandów i identyfikuje przy użyciu metody skanometrycznej [47]. Zastosowanie tej koncepcji pozwala na detekcję wybranych markerów nowotworowych na poziomie femtomoli.

Wiele badań nad zastosowaniem AuNPs dotyczy również techniki SERS. W tym rodzaju spektroskopii wykorzystuje się zjawisko wzmocnienia (aż do  $10^{14}$  razy) intensywności światła pochodzącego z rozproszenia ramanowskiego (czyli rozproszenia nieelastycznego) i obserwuje się je m.in. w układach zawierających nanocząstki metali szlachetnych [48]. Jednym z wyjaśnień istnienia tego zjawiska jest efekt SPR, opisany w podrozdziale 3. Już w 2011 roku Wang i in. [49] opisali metodę detekcji krążących komórek nowotworowych za pomocą metody SERS wykorzystującej nanocząstki złota z przyłączonym reporterem ramanowskim (cząsteczką wrażliwą na obecność analitu) i peptydem EGF (ang. *epidermal growth factor* - nabłonkowy czynnik wzrostu) w roli ligandu celującego oraz funkcjonalizowanych polimerami. Po zbadaaniu krwi obwodowej pochodzącej od 19 pacjentów z płaskonabłonkowym rakiem głowy i szyi skutecznie wykryto krążące komórki nowotworowe na poziomie od 1 do 720 komórek/ml krwi.

Odrębną grupę związków opartych na AuNPs tworzą sferyczne kwasy nukleinowe (SNA), zaprojektowane przez grupę badawczą pod kierownictwem Chada Mirkina z Uniwersytetu Northwestern. Są to trójwymiarowe struktury zbudowane zazwyczaj z nanocząstek złota w formie sferycznych powłok związanych kowalencyjnie z gęsto funkcjonalizowanymi i wysoce zorientowanymi kwasami nukleinowymi [50]. Ich potencjalne zastosowanie obejmuje nie tylko diagnostykę, ale również terapię ukierunkowaną na regulację genową oraz immunoterapię. Jednym z kluczowych osiągnięć grupy Mirkina było stworzenie tzw. „NanoFlare”, dostępnych handlowo jako SmartFlare™, do detekcji wewnątrzkomórkowego mRNA w żywych komórkach [51]. Związki te są zbudowane z nanocząstek złota koniugowa-

nych z SNA, których sekwencja „rozpoznająca” cel molekularny jest zhybrydowana do krótszych odcinków zawierających fluorescencyjny reporter - „flare”, wygaszany w małej odległości od nanocząstki. W momencie połączenia celu molekularnego z odpowiadającą sekwencją SNA „flara” zostaje przemieszczona i uwolniona, co pozwala na detekcję fluorescencji. Zastosowanie tych związków w połączeniu z cytometrią przepływową może służyć do fluorescencyjnej detekcji genetycznych markerów krążących komórek nowotworowych we krwi pacjenta, umożliwiając wykrycie na poziomie 100 żywych komórek nowotworowych/ml krwi [51].

## 7. Zastosowanie w diagnostyce SPECT, CT oraz w radioterapii

Wspomniane już kilkakrotnie właściwości nanocząstek złota wywołały ogromne zainteresowanie wykorzystaniem ich w technikach SPECT (tomografii komputerowej emisji pojedynczego fotonu) i CT (tomografii komputerowej). SPECT wykorzystuje promieniowanie gamma pochodzące od izotopu promieniotwórczego w radiofarmaceutyku, wcześniej podanego pacjentowi. Zakres energii kwantów gamma możliwych do detekcji przez tomograf SPECT to około 30-250 keV [52], zwykle jednak wykorzystuje się energie od 100 do 200 keV. Potencjalne zastosowanie w tym badaniu mogą więc mieć radioaktywne nanocząstki złota. Dwa izotopy złota,  $^{198}\text{Au}$  i  $^{199}\text{Au}$ , emitują promieniowanie gamma o energiach odpowiednich do zarejestrowania przez aparat SPECT, jednak energia kwantów wysyłanych przez  $^{198}\text{Au}$  (412 keV) [32] nie jest optymalna do tego rodzaju badania - tak wysoka wartość powoduje problemy w kolimacji wiązki. Natomiast energia gamma pochodząca od  $^{199}\text{Au}$  (37%, 159 keV i 22%, 208 keV [32]), jest bardzo bliska energii emitowanej przez najpopularniejszy radioizotop używany w SPECT i innych technikach medycyny nuklearnej, czyli  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  (140 keV). Badania nad obrazowaniem z wykorzystaniem  $^{199}\text{Au}$  pozwoliłyby na oszacowanie indywidualnego wychwytu przez tkanki oraz określenie biodystrybucji i wydalania leku. Tym samym, uzyskane dane umożliwiłyby obliczenie dokładnej dawki dla konkretnego pacjenta przed rozpoczęciem terapii stosującej izotop  $^{198}\text{Au}$ . Rozwój jednoczesnej diagnostyki i terapii („teranostyki”) może zapewnić wyjątkową spójność kolejnych badań w dziedzinie terapii i skrócić drogę prawną ku akceptacji projektu przez Agencję Żywności i Leków [31].

W jednym z badań nad wykorzystaniem nanocząstek złota w diagnostyce SPECT Zhao i in. [53] zastosowali izotop  $^{199}\text{Au}$ , bezpośrednio inkorporując go na siatce krystalicznej stabilnych nanocząstek, osiągając tym samym wysoką stabilność preparatu. Poprzez funkcjonalizację otrzymanych nanocząstek peptydem DAPTA, specyficznie wiążącym się z receptorem chemokiny CCR5 (w tym przypadku użytym do diagnostyki raka piersi), udało się uzyskać wysokiej jakości obrazy z poprawionym profilem biodystrybucji w stosunku do niemodyfikowanych nanocząstek.

Tomografia komputerowa wykorzystuje różnice w zdolności pochłaniania kwantów rentgenowskich przez dane tkanki. W badaniu tym zazwyczaj stosuje się kontrasty mające na celu poprawienie jakości uzyskiwanego obrazu. Kwanty rentgenowskie są emitowane z zewnętrznego źródła, ustawionego dokładnie naprzeciw detektora. Ze względu na wysoką zdolność pochłaniania promieniowania X przez złoto, AuNPs wydają się być obiecującą alternatywą dla środków kontrastowych do CT. Liczba atomowa złota (79) jest dużo większa niż jodu (53), obecnie stosowanego

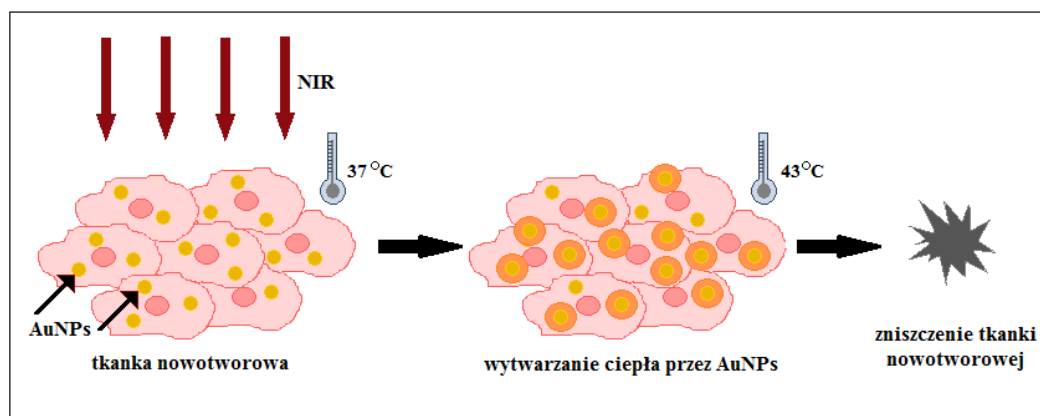
kontrastu, dlatego Au może powodować dużo silniejsze tłumienie promieniowania X. Dodatkowo, bardzo mały rozmiar cząsteczek jodu umożliwia jedynie krótki czas skanowania z powodu szybkiego usuwania kontrastu przez nerki. Nanocząstki złota można natomiast tak modyfikować, aby były one w stanie pokonać bariery biologiczne i pozostać w obszarze ograniczonym do przestrzeni wewnątrznaczyniowej na czas dużo dłuższy [54]. Jedne z badań nad zastosowaniem AuNPs jako kontrastu krwi w rentgenowskiej tomografii komputerowej przeprowadzono w 2007 roku [55]. Nanocząstki złota pokryte PEG (o wymiarach 38 nm) wstrzyknięto w dawce 493 mg Au/kg m.c. do organizmu myszy, a następnie wykonano skanowanie za pomocą aparatu mikro-CT. Zaobserwowano długotrwałą poprawę kontrastu w naczyniach krwionośnych myszy - wzrost tłumienia promieniowania o 100 HU (jednostki Hounsfielda odnoszące się do współczynnika pochłaniania promieniowania przez tkanki) - wciąż widoczną 24 godziny po wkluciu. Dla porównania, kontrast pochodzący od standardowych środków dla tej samej dawki zanika po kilku minutach. W badaniu z 2018 roku [56] zaproponowano natomiast nanocząstki złota modyfikowane gumą arabską w medium będącym cieczą jonową, mrówczanie glukozamony, w roli kontrastu do CT. Jako główne zalety takiego koniugatu wskazano biokompatybilność i brak toksyczności użytych prekursorów (gumy arabskiej i cieczy jonowej). W badaniu z użyciem fantomu udowodniono też, że stworzony związek wykazywał lepsze działanie w stosunku do wybranego, komercyjnie stosowanego kontrastu.

Radioterapia, polegająca na naświetlaniu chorego narządu źródłem promieniowania X, jest wiodącym narzędziem terapeutycznym w walce z prawie połową typów nowotworów. Lokalna kontrola guza jest osiągnięta poprzez zapewnienie wystarczająco dużej dawki do zniszczenia objętości nowotworu oraz zahamowania postępu i nawrotów choroby. Całkowita dawka terapeutyczna promieniowania rentgenowskiego zależy od rodzaju guza i waha się od kilkadziesiąt do około 100 Gy. Najbardziej znaczące dla tego rodzaju terapii są rozproszone fotony i kwanty X, fotoelektrony, elektrony komptonowskie, Augera oraz fluorescencyjne. Energia kinetyczna wybitego przez foton elektronu w tkance odgrywa ważną rolę w głębokości penetracji przez elektron. Efekt fotoelektryczny zachodzi z prawdopodobieństwem  $\sim (Z/E)^3$ , gdzie E to energia padającego kwantu X, a Z jest liczbą atomową atomu, z którego wybijany jest elektron - dlatego właśnie złoto ( $Z=79$ ) wykazuje większy efekt oddziaływania z promieniowaniem rentgenowskim niż inne, czyste na promieniowanie pierwiastki, na przykład węgiel ( $Z=6$ ), jod ( $Z=53$ ), gadolin ( $Z=64$ ) czy platyna ( $Z=78$ ). Polimery używane do pokrywania nanocząstek złota o potencjalnym zastosowaniu w teleradioterapii to głównie PEG, polisacharydy, poloksaminy i poloksamery. Większość dotychczasowych eksperymentów badających wrażliwość złotych nanocząstek na promieniowanie wykonywana była na fantomach wodnych, z użyciem AuNPs o rozmiarach 4-250 nm [57]. W ostatnich latach Shi i in. przeprowadzili badanie na modelu komórkowym i mysim [58], sprawdzając efekt podania nanocząstek złota pokrytych tioproniną na radioterapię nowotworu okrężnicy. W badaniu tym udowodniono, że poprzez bezpośrednie wstrzyknięcie związku do guza udało się znacząco opóźnić jego wzrost - nastąpił po 54 dniach w stosunku do 37 dni dla grupy kontrolnej.

## 8. Terapia fototermiczna

Terapia fototermiczna (PTT) jest rodzajem leczenia nowotworu, w którym wykorzystuje się zjawisko hipertermii, czyli stan podwyższonej temperatury ciała. Hipertermia jest niemal zawsze stosowana razem z innymi rodzajami leczenia, takimi jak chemio- i radioterapia. Sprawia ona, że komórki nowotworowe stają się bardziej wrażliwe na promieniowanie, często też powoduje niszczenie tych komórek, które nie zostały uszkodzone poprzez napromienianie (schemat działania PTT przedstawiono na Ryc. 2). Wzrost temperatury w okolicy guza zwiększa tempo zarówno endocytozy, jak i fagocytozy, które następnie mogą nasilać wychwyty makrocząsteczkowy oraz transport wewnątrzkomórkowy, ważne w dostarczaniu leków [57]. Przy ogrzewaniu guza do  $43^{\circ}\text{C}$ , zauważono na poziomie naczyniowym dwukrotne podwyższenie przepływu krwi przez chore tkanki, co ostatecznie skutkuje wzrostem wynacynienia makrocząsteczkowego [57]. Selektywne dostarczanie ciepła do komórek nowotworowych uzyskuje się głównie poprzez zastosowanie fotosensorów takich jak AuNPs, naświetlanych światłem NIR, czyli bliskiej podczerwieni (ze względu na jego przenikalność i zdolność penetracji). Komórki rakowe są nieodwracalnie uszkodzane przy hipertermii powodowanej temperaturą z zakresu  $41-47^{\circ}\text{C}$ , trwającej około 10 minut [57]. Hipertermia aktywuje mechanizmy przekazywania sygnałów prowadzące do śmierci komórki na drodze apoptozy, a w przypadku zastosowania temperatur powyżej  $50^{\circ}\text{C}$  śmierć komórek następuje głównie poprzez nekrozę [57].

W PTT wykorzystuje się zakres światła NIR, co sprawia, że nanocząstki złota (ze względu na występowanie SPR), stają się odpowiednim narzędziem do tego rodzaju leczenia. Przeprowadzono już wiele badań ukazujących synergistyczne działanie hipertermii z chemioterapią. W jednym z takich badań [59] stworzono czuły na zmiany pH, dendrymerowy nano-koniugat do transportu doksorubicyny (popularnie stosowany cytostatyk), w którym AuNPs były uwięzione wewnątrz dendrymerów. W trakcie leczenia zaobserwowano synergistyczny efekt pomiędzy PTT i chemioterapią. W innym eksperymencie [60] zastosowano podejście kombinacyjne oparte na nowotworowych komórkach macierzystych (CSCs), wykorzystując w synergii również te same rodzaje terapii. Nanorurki ze złota sprzęgano z czwartorzędową grupą amoniową między innymi poli(chlorku diallilodimetyloamoniowego) w celu zwiększenia wychwyty AuNRs przez komórki nowotworowe. Nanorurki wykazały efekt fototermiczny, wybiórczo eliminując CSCs w linii komórkowej MCF-7 raka piersi. Platforma termochemioterapii została stworzona poprzez dodanie salinomycyny, inhibitora CSC. W badaniu opisanym w roku 2019 zastosowano kolejną „zieloną” syntezę nanocząstek złota z użyciem ekstraktu z kurkumy [61]. Udowodniono przeciwnowotworowe działanie preparatu po naświetleniu komórek MCF-7 promieniowaniem laserowym, kierowane głównie przez mechanizm apoptozy. W jesszym innym eksperymencie z tego samego roku [62] wykazano natomiast efekt synergistyczny pomiędzy PTT i radioterapią, wykorzystując pustę w środku nanosfery złota pokryte PEG. Zasugerowano również możliwość zastosowania takiego związku w teranostyce, łącząc dwa wymienione rodzaje terapii z diagnostyką CT.



Ryc. 2. Schemat działania terapii fototermicznej.

### 9. Nanocząstki złota w zastosowaniach klinicznych

Realizacja badań translacyjnych, czyli procesu przetestowania wyników eksperymentów naukowych do zastosowań klinicznych, w przypadku nanomedycyny stanowi duże wyzwanie. Specyfika pracy z materiałami w tak małej skali wymaga od badaczy ciągłego doskonalenia stanu wiedzy na temat interakcji nanocząstek z układami biologicznymi oraz układem odpornościowym człowieka. Dla naukowców opracowujących preparaty lecznicze jednym z kluczowych zadań jest scharakteryzowanie właściwości farmakologicznych oraz biodystrybucji danego leku. W przypadku nanocząstek złota żaden z wymienionych powyżej problemów nie jest jeszcze dostatecznie dobrze poznany, stąd stosunkowo niewielka liczba prowadzonych badań klinicznych w porównaniu z ilością publikacji na temat AuNPs.

W 2018 roku Singh i in. [63] stworzyli podsumowanie preparatów opierających się na nanocząstkach złota, znajdujących się w badaniach klinicznych różnych faz. Wśród tych preparatów wyróżnić należy między innymi lek Aurimune® (CYT-6091) opracowany przez Cytimmune (w obecnych badaniach w partnerstwie z AstraZeneca). Lek ten, w postaci nanocząstek złota pokrytych PEG, działa jako nośnik dla rekombinowanego ludzkiego czynnika martwicy nowotworu (rhTNF), dostarczając go do obszaru zajętego przez nowotwór w celu zniszczenia jego naczyń krwionośnych. Pierwsza faza badań klinicznych przyniosła bardzo dobre wyniki, pokazując, że dzięki zastosowaniu nanocząstek złota dawka rhTNF dostarczana pacjentom może być nawet trzykrotnie wyższa niż dotychczas, bez dodatkowych efektów toksycznych [64]. Warto zaznaczyć, że na pierwszą fazę badań przedklinicznych czeka już następny preparat Cytimmune, CYT-21625, który oprócz rhTNF dostarczać ma do nowotworu również lek cytotatyczny, paklitaksel [65].

Innym przykładem leku opartego na AuNPs w badaniach klinicznych jest AuroShells®, stworzony przez Nanospectra [66]. Preparat ten dedykowany jest do zastosowania w ablacji laserowej guzów litych, a obecne badania kliniczne skupiają się na pacjentach z nowotworami prostaty - wcześniej technologię testowano również w przypadkach guzów płuc, głowy i szyi. Nanosfery stworzone z połączenia złota i krzemionki i pokryte PEG są wprowadzane do ciała pacjenta poprzez wstrzyknięcie, a następnie wzbudzone wiązką lasera z zakresu NIR, co prowadzi do lokalnego wzrostu temperatury i niszczenia guza. Ze względu na brak zastosowania substancji aktywnych w tej metodzie, efekt toksyczny w stosunku do tkanek zdrowych jest skutecznie zminimalizowany [63].

W fazie badań klinicznych znajduje się również lek NU-0129, oparty na sferycznych kwasach nukleinowych przyłączonych do powierzchni nanosfer złota [67]. Skuteczność i bezpieczeństwo preparatu badane są obecnie w przypadku leczenia pacjentów z nawracającym glejakiem wielopostaciowym oraz glejakomięśniakiem. Jeszcze inne badania kliniczne przeprowadzono nad zastosowaniem nanocząstek złota jako nanosensorów w analizie oddechu pacjenta, w celu rozpoznawania chorób nowotworowych żołądka. Poprzez zastosowanie takiego podejścia możliwe byłoby nieinwazyjne rozróżnienie raka żołądka od związanych z nim zmian przednowotworowych [68].

### 10. Podsumowanie

Nanocząstki złota ze względu na swoje unikalne własności oraz duże możliwości modyfikacji ich rozmiarów i kształtów stanowią dużą nadzieję dla terapii i diagnostyki nowotworowej. Mogą być potencjalnie użyte zarówno w roli materiału bazowego, do tworzenia bardziej złożonych struktur z markerami biologicznymi i ligandami, jak i samodzielnego leku. Na uwagę zasługują przede wszystkim występowanie w AuNPs efektu powierzchniowego rezonansu plazmonowego, dzięki czemu nanocząstki złota stanowią obecnie jeden z najważniejszych materiałów do badań nad hipertermią, a także możliwość prowadzenia syntez będących częścią „zielonej” chemii. Obecnie wśród problemów związanych z opracowaniem preparatów medycznych bazujących na nanocząstkach złota znajdują się m.in. efektywne zredukowanie toksyczności i poprawa biokompatybilności, stworzenie leku specyficznego wiążącego się z wybranym nowotworem, w tym dalsze badania nad poszukiwaniem skutecznych biomarkerów, oraz opracowanie syntezy korzystnej z ekonomicznego punktu widzenia. W przypadku preparatyki i badań materiałowych, największe wyzwanie stanowi otrzymanie produktu homogenicznego [69]. Istnieje więc konieczność prowadzenia dalszych badań, które pomogą w głębszym zrozumieniu właściwości nanocząstek złota, ich biodystrybucji w organizmie oraz zachodzących oddziaływań, a co za tym idzie opracowaniu efektywniejszych metod wykorzystania AuNPs jako leków bądź nośników leków.

Wkład Emilii Balcer został zrealizowany w ramach Projektu Nr POWR.03.02.00-00-I009/17-00 (Program Operacyjny Wiedza Edukacja Rozwój 2014-2020 współfinansowany ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego).

## 11. Wykaz skrótów

AuNPs	nanocząstki złota (ang. <i>Gold NanoParticles</i> )
AuNRs	nanorurki złota (ang. <i>Gold NanoRods</i> )
CSCs	nowotworowe komórki macierzyste (ang. <i>cancer stem cells</i> )
CT	tomografia komputerowa (ang. <i>computed tomography</i> )
CTAB	bromek cetylotrimetyloamoniowy (ang. <i>cetyltrimethylammonium bromide</i> )
EPR	efekt wzmocnionej przepuszczalności i retencji (ang. <i>enhanced permeability and retention</i> )
NIR	bliska podczerwień (ang. <i>near-infrared</i> )
PEG	poli(tlenek etylenu) (ang. <i>polyethylene glycol</i> )
PSA	swoisty antygen sterczowy (ang. <i>prostate specific antigen</i> )
PTT	terapia fototermiczna (ang. <i>photothermal therapy</i> )
rhTNF	rekombinowany ludzki czynnik martwicy nowotworu (ang. <i>recombinant human tumor necrosis factor</i> )
SERS	powierzchniowo wzmocniona spektroskopia ramanowska (ang. <i>surface enhanced Raman spectroscopy</i> )
SNA	sferyczne kwasy nukleinowe (ang. <i>spherical nucleic acids</i> )
SPECT	tomografia emisyjna pojedynczych fotonów (ang. <i>single photon emission computed tomography</i> )
SPR	powierzchniowy rezonans plazmonowy (ang. <i>surface plasmon resonance</i> )

## 12. Bibliografia

- Grodziński P.: Rak i nanotechnologia - nowe lokalne terapie i techniki diagnostyczne, <https://www.agh.edu.pl/blog-naukowy/info/article/rak-i-nanotechnologia-nowe-lokalne-terapie-i-techniki-dia-gnostyczne/>
- McNeil S. E.: Nanoparticle therapeutics: A personal perspective, *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotech.*, 2009, 1: 264-271.
- Wender H., Andrezza M. L., Correia R. R. B., Teixeira S. R., Dupont J.: Synthesis of gold nanoparticles by laser ablation of an Au foil inside and outside ionic liquids, *Nanoscale*, 2011, 3: 1240-1245.
- Kimling J., Maier M., Okenve B., Kotaidis V., Ballot H., Plech A.: Turkevich Method for Gold Nanoparticle Synthesis Revisited, *J. Phys. Chem. B*, 2006, 110: 15700-15707.
- Brust M., Walker M., Bethell D., Schiffrin D.J., Whyman R.: Synthesis of Thiol-derivatised Gold Nanoparticles in a Two-phase Liquid-Liquid System, *Chem. Commun.*, 1994, 7: 801-802.
- Manna A., Chen P., Akiyama H., Wei T., Tamada K., Knoll W.: Optimized Photoisomerization on Gold Nanoparticles Capped by Unsymmetrical Azobenzene Disulfides, *Chem. Mater.*, 2003, 15: 20-28.
- Perrault S.D., Chan W.C.W.: Synthesis and Surface Modification of Highly Monodispersed, Spherical Gold Nanoparticles of 50-200 nm, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, 131: 17042-17043.
- Martin M.N., Basham J.I., Chando P., Eah S.-K.: Charged Gold Nanoparticles in Non-Polar Solvents: 10-min Synthesis and 2D Self-Assembly, *Langmuir*, 2010, 26: 7410-7417.
- Baigent C.L., Müller G.: A colloidal gold prepared using ultrasonics, *Experientia*, 1980, 36: 472-473.
- Zhang J., Du J., Han B., Liu Z., Jiang T., Zhang Z.: Sonochemical Formation of Single-Crystalline Gold Nanobelts, *Angew. Chem.*, 2006, 118: 1134-1137.
- Navarro J.R.G., Lerouge F., Cepraga C., Micouin G., Favier A., Chateau D., Charreyre M.-T., Lanoë P.-H., Monnereau C., Chaputa F., Marotte S., Leverrier Y., Marvel J., Kamada K., Andraud C., Baldeck P.L., Parola S.: Nanocarriers with ultrahigh chromophore loading for fluorescence bio-imaging and photodynamic therapy, *Biomaterials*, 2013, 34: 8344-835.
- Sakai T. in.: Mechanism of Gold Metal Ion Reduction, Nanoparticle Growth and Size Control in Aqueous Amphiphilic Block Copolymer Solutions at Ambient Conditions, *J. Phys. Chem. B*, 2005, 109: 7766-7777.
- Sharma R.K., Shikha G., Shilpa M.: Preparation of Gold Nanoparticles using Tea: A Green Chemistry Experiment, *J. Chem. Edu.*, 2012, 89: 1316-1318.
- Pattanayak M., Nayak P.L.: Green Synthesis of Gold Nanoparticles using *Elettaria Cardamomum* (ELAICHI) Aqueous Extract, *World*, 2013, 2: 1-5.
- Chanda N. in.: An Effective Strategy for the Synthesis of Biocompatible Gold Nanoparticles using Cinnamon Phytochemicals for Phantom CT Imaging and Photoacoustic Detection of Cancerous Cells, *Pharmaceutical research*, 2011, 28: 279-291.
- Chandran S.P., Chaudhary M., Pasricha R., Ahmad A., Sastry M.: Synthesis of Gold Nanotriangles and Silver Nanoparticles Using Aloe Vera Plant Extract, *Biotech. Prog.*, 2006, 22: 577-583.
- Hvolbæk B., Janssens T.V.W., Clausen B.S., Falsig H., Christensen C.H., Nørskov J.K.: Catalytic activity of Au nanoparticles, *Nano Today*, 2007, 2: 14-18.
- Gold Nanoparticles: Properties and Applications: <http://www.sigmaaldrich.com/materials-science/nanomaterials/gold-nanoparticles.html>
- Hutter E., Fendler J.H.: Exploitation of Localized Surface Plasmon Resonance, *Adv. Mat.*, 2004, 16: 1685-1706.
- Miranda A., Malheiro E., Skiba E., Quaresma P., Carvalho P. A., Eaton P., de Castro B., Shelnett J. A., Pereira E.: One-pot synthesis of triangular gold nanoparticles allowing broad and fine tuning of edge length, *Nanoscale*, 2010, 2: 2209-2216.
- Vigderman L., Zubarev E.R.: Starfruit-Shaped Gold Nanorods and Nanowires: Synthesis and SERS Characterization, *Langmuir*, 2012, 28: 9034-9040.
- Alkilany A. M., Murphy C. J.: Toxicity and cellular uptake of gold nanoparticles: what we have learned so far? *J. Nanopart. Res.*, 2010, 12: 2313-2333.
- Hainfeld J.F., Dilmanian F.A., Slatkin D.N., Smilowitz H.M.: Radiotherapy enhancement with gold nanoparticles, *J. Pharm. Pharmacol.*, 2008, 60: 977-985.
- Mesbahi A.: A review on gold nanoparticles radiosensitization effect in radiation therapy of cancer, *Rep Pract Oncol Radiother*, 2010, 15: 176-180.
- Bahrami B., Hojjat-Farsangi M., Mohammadi H., Anvari E., Ghalamfarsa G., Yousefi M., Jadidi-Niaragh F.: Nanoparticles and targeted drug delivery in cancer therapy, *Immunol. Lett.*, 2017, 190: 64-83.
- Venkatesan R., Pichaimani A., Hari K., Balasubramanian P.K., Kurlandaivel J., Premkumar K.: Doxorubicin conjugated gold nanorods: a sustained drug delivery carrier for improved anticancer therapy, *J. Mater. Chem. B*, 2013, 1: 1010-1018.
- Lim Z.-Z.J., Li J.-E.J., Ng C.-T., Yung L.-Y.L., Bay B.-H.: Gold nanoparticles in cancer therapy, *Acta Pharm. Sinica*, 2011, 32: 983-990.
- Pan Y. in.: Au nanoparticles of diameter 1.4 nm trigger necrosis by oxidative stress and mitochondrial damage, *Small*, 2009, 5: 2067-2076.
- Yen H.J., Hsu S.H., Tsai C.L.: Cytotoxicity and immunological response of Au and silver nanoparticles of different sizes, *Small*, 2009, 5: 1553-1561.
- Li J., Zou L., Hartono D., Ong C., Bay B., Yung L.: Gold nanoparticles induce oxidative damage in lung fibroblasts, *Adv. Mater.*, 2008, 20: 138-142.
- Kannan R., Katti K.V., Cutler C., Radioactive Gold Nanoparticles for Tumor Therapy. Cho S. H., Krishnan S. (red.), *Cancer Nanotechnology: Principles and Applications in Radiation Oncology* (s. 157-162), CRC Press 2013.
- Chu S.Y.F., Ekström L.P., Firestone R.B.: The Lund/LBNL Nuclear Data Search: <http://nucleardata.nuclear.lu.se/toi/index.asp>
- Iram F., Iqbal M.S., Khan I.U., Rasheed R., Khalid A., Khalid M., Aftab S., Shakoori A.R.: Synthesis and Biodistribution Study of Biocompatible <sup>198</sup>Au Nanoparticles by use of Arabinoxylan as Reducing and in vitro Stabilizing Agent, *Biol. Trace Elem. Res.*, 2019, 1-12.
- Al-Yasiri A.Y., Khoobchandani M., Cutler C.S., Watkinson L, Carmack T., Smith C.J., Kuchuk M., Loyalka S.K., Lugão A.B., Katti K.V.: Mangiferin functionalized radioactive gold nanoparticles (MGF-<sup>198</sup>AuNPs) in prostate tumor therapy: green nanotechnology for production, *in*



- vivo tumor retention and evaluation of therapeutic efficacy, *Dalton Trans.*, 2017, 46: 14561-14571.
35. Hao H., Yin Z., Jiangtao S., Weibo C.: Molecular imaging and therapy of cancer with radiolabeled nanoparticles, *Nano Today*, 2009, 4: 399-413.
  36. Huang X., Jain P., El-Sayed I., El-Sayed M.: Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles, *Lasers Med. Sci.*, 2008, 23: 217-228.
  37. Koch A., Reynolds F., Merkle H., Weissleder R., Josephson L.: Transport of surface-modified nanoparticles through cell monolayers, *Chembiochem*, 2005, 6: 337-345.
  38. Cui T., Liang J.J., Chen H., Geng D.D., Jiao L., Yang J.Y., Qian H., Zhang C., Ding Y.: Performance of Doxorubicin-Conjugated Gold Nanoparticles: Regulation of Drug Location, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2017, 9: 8569-8580.
  39. Ramalingam V., Varunkumar K., Ravikumar V., Rajaram R.: Target delivery of doxorubicin tethered with PVP stabilized gold nanoparticles for effective treatment of lung cancer, *Sci. Rep.*, 2018, 8: 3815.
  40. Farooq M.U., Novosad V., Rozhkova E.A., Wali H., Ali A., Fateh A.A., Neogi P.B., Neogi A., Wang Z.: Gold Nanoparticles-enabled Efficient Dual Delivery of Anticancer Therapeutics to HeLa Cells, *Sci. Rep.*, 2018, 8: 2907.
  41. Gotov O., Battogtokh G., Shin D., Ko Y.T.: Hyaluronic acid-coated cisplatin conjugated gold nanoparticles for combined cancer treatment, *J. Ind. Eng. Chem.*, 2018, 65: 236-243.
  42. Zhao X., Pan J., Li W., Yang W., Qin L., Pan Y.: Gold nanoparticles enhance cisplatin delivery and potentiate chemotherapy by decompressing colorectal cancer vessels, *Int. J. Nanomed.*, 2018, 13: 6207-6221.
  43. Wan J., Ma X., Xu D., Yang B., Yang S., Han S.: Docetaxel-decorated anticancer drug and gold nanoparticles encapsulated apatite carrier for the treatment of liver cancer, *J. Photochem. Photobiol. B*, 2018, 185: 73-79.
  44. Gotov O., Battogtokh G., Ko Y.T.: Docetaxel-Loaded Hyaluronic Acid-Cathepsin B-Cleavable-Peptide-Gold Nanoparticles for the Treatment of Cancer, *Mol. Pharm.*, 2018, 15: 4668-4676.
  45. Zhou W., Gao X., Liu D., Chen X.: Gold nanoparticles for in vitro diagnostics, *Chem. Rev.*, 2015, 115: 10575-10636.
  46. Nam J.M., Thaxton C.S., Mirkin C.A.: Nanoparticle-based bio-bar codes for the ultrasensitive detection of proteins, *Science*, 2003, 301: 1884-1886.
  47. Stoeva S.I., Lee J.S., Smith J.E., Rosen S.T., Mirkin C.A.: Multiplexed detection of protein cancer markers with biobarcode nanoparticle probes, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128: 8378-8379.
  48. Andreou C., Kishore S.A., Kircher M.F.: Surface-enhanced Raman spectroscopy: a new modality for cancer imaging, *J. Nucl. Med.*, 2015, 56: 1295-1299.
  49. Wang X., Qian X., Beitler J.J., Chen Z.G., Khuri F.R., Lewis M.M., Shin H.J.C., Nie S., Shin D.M.: Detection of circulating tumor cells in human peripheral blood using surface-enhanced Raman scattering nanoparticles, *Cancer Res.*, 2011, 71: 1526-1532.
  50. Cutler J.I., Auyeung E., Mirkin C.A.: Spherical nucleic acids, *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, 134: 1376-1391.
  51. Halo T.L., McMahon K.M., Angeloni N.L., Xu Y., Wang W., Chinen A.B., Malin D., Strelakova E., Cryns V.L., Cheng C., Mirkin C.A., Thaxton C.S.: NanoFlares for the detection, isolation, and culture of live tumor cells from human blood, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2014, 111: 17104-17109.
  52. Peterson T.E., Furenliid L.R.: SPECT detectors: the Anger Camera and beyond, *Phys. Med. Biol.*, 2011, 56: 145-182.
  53. Zhao Y., Pang B., Luehmann H. i in.: Gold nanoparticles doped with <sup>199</sup>Au atoms and their use for targeted cancer imaging by SPECT, *Adv. Healthc. Mater.*, 2016, 5: 928-935.
  54. Curry T., Kopelmana R., Shilob M., Popovtzer R.: Multifunctional theranostic gold nanoparticles for targeted CT imaging and photothermal therapy, *Contrast Media Mol. I.*, 2014, 9: 53-61.
  55. Cai Q.Y., Kim S.H., Choi K.S., Kim S.Y., Byun S.J., Kim K.W., Park S.H., Juhng S.K., Yoon K.H.: Colloidal gold nanoparticles as a blood-pool contrast agent for X-ray computed tomography in mice, *Invest. Radiol.*, 2007, 42: 797-806.
  56. Iranpour P., Ajamian M., Safavi A., Iranpoor N., Abbaspour A., Javanmardi S.: Synthesis of highly stable and biocompatible gold nanoparticles for use as a new X-ray contrast agent, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 2018, 29: 48.
  57. Muddineti O.S., Ghosh B., Biswas S.: Current trends in using polymer coated gold nanoparticles for cancer therapy, *Int. J. Pharm.*, 2015, 484: 252-267.
  58. Shi M., Paquette B., Thippayamontri T., Gendron L., Guérin B., Sanche L.: Increased radiosensitivity of colorectal tumors with intratumoral injection of low dose of gold nanoparticles, *Int. J. Nanomed.*, 2016, 11: 5323-5333.
  59. Li X., Takashima M., Yuba E., Harada A., Kono K.: PEGylated PAMAM dendrimer-doxorubicin conjugate-hybridized gold nanorod for combined photothermal-chemotherapy, *Biomaterials*, 2014, 35: 6576-6584.
  60. Xu Y., Wang J., Li X., Liu Y., Dai L., Wu X., Chen C.: Selective inhibition of breast cancer stem cells by gold nanorods mediated plasmonic hyperthermia, *Biomaterials*, 2014, 35: 4667-4677.
  61. Foo Y.Y., Saw W.S., Periasamy V., Chong W.Y., Malek S.N.A., Tayyab S.: Green synthesised-gold nanoparticles in photothermal therapy of breast cancer, *Micro & Nano Letters*, 2019, 14: 470-474.
  62. Wang R., Deng J., He D., Yang E., Yang W., Shi D., Jiang Y., Qiu Z., Webster T.J., Shen Y.: PEGylated hollow gold nanoparticles for combined X-ray radiation and photothermal therapy in vitro and enhanced CT imaging in vivo, *Nanomedicine*, 2019, 16: 195-205.
  63. Singh P., Pandit S., Mokkalapati V.R.S.S., Garg A., Ravikumar V., Mijakovic I.: Gold Nanoparticles in Diagnostics and Therapeutics for Human Cancer, *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, 19: 1979.
  64. Libutti S.K., Paciotti G.F., Byrnes A.A., Alexander H.R., Jr., Gannon W.E., Walker M., Seidel G.D., Yuldasheva N., Tamarkin L.: Phase I and pharmacokinetic studies of CYT-6091, a novel PEGylated colloidal gold-rhTNF nanomedicine, *Clin. Cancer Res.*, 2010, 16: 6139-6149.
  65. Nilubol N., Yuan Z., Paciotti G.F., Tamarkin L., Sanchez C., Gaskins K., Freedman E.M., Cao S., Zhao J., Kingston D.G.I., Libutti S.K., Kebebew E.: Novel dual-action targeted nanomedicine in mice with metastatic thyroid cancer and pancreatic neuroendocrine tumors, *J. Natl. Cancer Inst.*, 2018, 110: 1019-1029.
  66. Rastinehad A.R., Anastos H., Wajswol E., Winoker J.S., Sfakianos J.P., Doppalapudi S.K., Carrick M.R., Knauer C.J., Taouli B., Lewis S.C., Tewari A.K., Schwartz J.A., Canfield S.E., George A.K., West J.L., Halas N.J.: Gold nanoshell-localized photothermal ablation of prostate tumors in a clinical pilot device study, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2019, 116: 18590-18596.
  67. Kumthekar P., Rademaker A., Ko C., Dixit K., Schwartz M.A., Sonabend A.M., Sharp L., Lukas R.V., Stupp R., Horbinski C., McCortney K., Stegh A.H.: A phase 0 first-in-human study using NU-0129: A gold base spherical nucleic acid (SNA) nanoconjugate targeting BCL2L12 in recurrent glioblastoma patients, *J. Clin. Oncol.*, 2019, 37: 3012-3012.
  68. Amal H., Leja M., Funke K., Skapars R., Sivins A., Ancans G., Liepniece-Karele I., Kikuste I., Lasina I., Haick H.: Detection of precancerous gastric lesions and gastric cancer through exhaled breath, *Gut*, 2016, 65: 400-407.
  69. Bao C., Conde J., Polo E., del Pino P., Moros M., Baptista P.V., Grazu V., Cui D., de la Fuente J.M.: A promising road with challenges: where are gold nanoparticles in translational research?, *Nanomedicine (Lond.)*, 2014, 9: 2353-2370.