

## НАНОЧАСТИНКИ ЗОЛОТА ЯК КОМПОНЕНТИ ФОТОСЕНСИБІЛІЗАТОРІВ ТРЕТЬОГО ПОКОЛІННЯ ДЛЯ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ ПУХЛИН

Штонь І.О., Гамалія М.Ф.

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Е.Кавецького НАН України,  
вул. Васильківська, 45, м. Київ, 03022 Україна,  
тел.: +38(044)258-16-58, e-mail: gamaleia@onconet.kiev.ua

*Наночастинки золота привертають особливу увагу спеціалістів у галузі медицини. Унікальні властивості цих наночастинок дають змогу використовувати їх не лише в якості транспортерів терапевтичних препаратів, але й як важливі компоненти при створенні нанокомпозитних засобів таргетної фотодинамічної та фототермічної терапії пухлин. У статті розглядаються особливості наночастинок золота, які визначають ефективність нанокомпозиту, та аналізуються перспективні напрямки у розробці композитних фотосенсибілізаторів.*

**Ключові слова:** наночастинки, золото, фотодинамічна терапія, фотосенсибілізатори.

### Вступ

Стрімкий розвиток нанотехнологій – одна з найбільш характерних тенденцій сучасного наукового прогресу. Масштабними дослідженнями в цій області з'ясовані основні властивості наноструктур і визначена доцільність їх використання у тій чи іншій галузі.

Безумовно перспективним уявляється сьогодні застосування наноматеріалів у медицині. Сотні статей присвячені конструюванню протипухлинних препаратів з використанням ліпосом, різноманітних полімерних наночастинок, дендримерів, квантових точок та ін. Особливе місце серед цих матеріалів займають наночастинки (НЧ) золота.

Для медичного застосування надзвичайно важливими особливостями їх є біосумісність та відносна нетоксичність. Розподіл НЧ золота в організмі, а також їх біологічно важливі властивості можуть бути змінені залежно від розміру та форми, при цьому отримати велику кількість НЧ золота певного розміру досить легко, корегуючи окремі етапи їх синтезу. При необхідності комплексування НЧ з молекулами інших речовин, наявність у структурі цих молекул тіольних та аміногруп здатна обумовлювати їх приєднання до поверхні НЧ золота. Це відкриває широкі перспективи їх функціоналізації різноманітними речовинами, включаючи, зокрема, фотосенсибілізатори (ФС).

Зменшення розміру частинок забезпечує відносне збільшення площі їх поверхні на одиницю маси речовини і дає можливість транспортува-

ти на НЧ більшу кількість приєднаних молекул. Більш того - зв'язування, наприклад, протипухлинних препаратів з наночастиною знижує імовірність швидкого руйнування молекул препарату на шляху до пухлини, а також зменшує його токсичність для здорових тканин. Здатність НЧ золота проникати крізь фенестрований ендотелій пухлинних судин забезпечує більшу вибірковість накопичення препарату в пухлині і навіть допомагає подолати пухлинну полірезистентність.

На даний час активно ведуться розробки препаратів для фотодинамічної терапії (ФДТ), сконструйованих шляхом комплексування ФС з НЧ золота різної форми та розмірів. На шляху до створення ефективного нанокомпозитного ФС мають бути вирішені принаймні три основні питання: які НЧ золота володіють оптимальними властивостями для транспорту ФС; який з відомих ФС слід обрати для комплексування з наночастиною; і, нарешті, яким чином слід поєднати ці два компоненти для отримання максимального фототерапевтичного ефекту.

### І. Основні характеристики НЧ золота як носіїв фотосенсибілізуючих препаратів

Існують два найпоширеніших способи синтезу сферичних НЧ золота. Історично перший з них був розроблений у 1951 р. Turkevich зі співавторами [63]; він передбачає відновлення золотохлороводневої кислоти ( $\text{HAuCl}_4$ ) цитратом натрію у киплячій воді. Від співвідношення реагентів у середовищі зале-

жить діаметр синтезованих наносфер колоїдного розчину (від 16 до 150 нм). Цитрат натрію формує на поверхні утворених НЧ негативний заряд, що дає можливість приєднувати до нанозолота позитивно заряджені молекули [23]. Такі НЧ схильні за кілька хвилин агрегувати у фосфатно-сольовому буфері, тому без додаткової функціоналізації їх використання для доставки терапевтичних молекул є малоефективним. Інший метод, розроблений Brust зі співавт. у 1994 р. [9], передбачає відновлення золотохлороводневої кислоти боргідридом натрію за присутності алкантіолів у водно-толуоловій системі. Такі наносфери надзвичайно стабільні і можуть бути висушені та знову розчинені в органічних розчинниках. Та основною їх перевагою є можливість функціоналізації за рахунок безпосереднього обміну алкантіолів, що містяться на їх поверхні, на інші ліганди [69].

Різноманітні молекули можуть бути приєднані до поверхні НЧ ковалентно (за допомогою лінкерів, що містять на кінці тіольну чи аміногрупу) або нековалентно (наприклад, за рахунок електростатичних взаємодій) [42]. Це дає змогу варіювати властивості наноконструкції. Так, у випадку нековалентного з'єднання молекула препарату не модифікується, а отже, після транспортування у пухлину зберігає свою терапевтичну ефективність і характерну для неї кінетику виведення з організму. Але нековалентний зв'язок більш чутливий до зміни фізичних властивостей середовища, а тому існує велика імовірність руйнування такого зв'язку [18]. З іншого боку, ковалентно зв'язана молекула може набувати нових непередбачуваних властивостей, що нерідко знижує її активність [45]. В той же час, ковалентний зв'язок значно стабільніший, тому терапевтична молекула потрапляє до пухлини та інших органів разом із наночастинкою, що дозволяє в певних випадках більш селективно вивільняти і активувати препарат [19]. Незалежно від обраного методу комплексування, ефективність навантаження нанозолота ФС є одним із найважливіших параметрів для конструювання наноконструкцій для ФДТ. При цьому обрана НЧ золота повинна виконувати свою роль, не впливаючи на функціонування різних систем організму.

НЧ золота, що входять до складу конструкцій, поділяють на дві основні групи – пасивні та активні, - залежно від ролі, яку вони виконують при фотосенсибілізації пухлини [71]. Пасивні НЧ не впливають на ефективність ФС при ФДТ і служать в основному для транспорту молекул, іммобілізованих на поверхні НЧ або розміщених всередині наноструктури. До таких належать, наприклад, НЧ золота сферичної форми.

Активні НЧ здатні самі ефективно поглинати світлову енергію та переносити її на ФС, активуючи його і сприяючи продукції синглетного кисню та вільних радикалів. До таких можна віднести плазмонно-резонансні НЧ золота, зокрема нанострижні та нанооболонки [19, 20, 41].

НЧ вводять в організм, як правило, внутрішньовенно, хоча іноді застосовують інтра- та перитуморальне введення [27, 33, 38, 59, 62]. Для накопичення в пухлині циркулюючі НЧ у кров'яному руслі повинні бути достатньо тривалою (не менше 2 годин) [32]. Чим більшу кількість НЧ введено в кровотік, тим вищим є концентраційний градієнт, що змушує їх проникати крізь щілини в судинному ендотелії до пухлини [24]. Розмір, форма, поверхневий заряд та характер функціоналізації НЧ грають при цьому важливу роль [34, 47].

Розмір НЧ великою мірою визначає і характер їх розподілу в організмі [2]. Так, НЧ діаметром до 10 нм швидко елімінуються нирками із кров'яного русла, що не дозволяє їм ефективно накопичуватись у пухлині. З іншого боку НЧ, більші за 100 нм, стають добре помітними для клітин ретикуло-ендотеліальної системи і активно транспортуються ними у печінку та селезінку [54]. А НЧ великого діаметру можуть спровокувати блокування судин [48].

Для селективної доставки препарату в пухлину властивості НЧ мають бути максимально «підігнаними» під відмінності будови пухлинної та нормальної тканин. Так, розмір щілин між ендотеліальними клітинами судин у нормі складає 5-10 нм. В той же час між клітинами ендотелію, який устилає судини пухлин, розмір щілин на 1-2 порядки більший (100-780 нм) [26], що дозволяє вільно проникати крізь них НЧ з діаметром до 400 нм [4].

Лише порівняно нещодавно були намічені шляхи конструювання НЧ, здатних водночас уникати нейтралізації імунною системою і за допомогою активного транспорту ефективно накопичуватись у пухлині [3, 10]. Це стало можливим за рахунок модифікації поверхні НЧ [54]. Одним з найпоширеніших модифікаторів є поліетиленгліколь (ПЕГ) – полімер, дозволений Американським агентством з нагляду за якістю харчових та лікарських препаратів (FDA) для внутрішньовенного введення людині. НЧ золота, синтезовані цитратним методом і покриті ПЕГ, досить стабільні у крові і уникають як абсорбції на їх поверхні протеїнів крові, так і фагоцитозу [8]. При цьому чим довша молекула ПЕГ і чим більше молярне співвідношення ПЕГ:Ау, тим стабільніші НЧ [39]. За рахунок своєї структури ПЕГ створює амфіфільне середовище для транспорту гідрофобних ФС, які нековалентно приєднані до НЧ [14].

Але НЧ золота приваблює для ФДТ не лише як засоби доставки ФС [12, 13] - вони володіють унікальними оптичними властивостями. Зокрема, для них характерне явище поверхневого плазмонного резонансу, котрий призводить до значного підвищення поглинання світла (і нагріву НЧ) та його розсіювання. Встановлено, що відношення енергії поглинутого світла до енергії розсіяного зменшується зі збільшенням розміру НЧ. Тому менші частинки можуть успішніше використовуватись для фототермічної терапії (ФТТ) [36], а більші – для діагностики пухлин шляхом реєстрації розсіяного світла. При ФДТ активне розсіювання НЧ світла в пухлині є також додатковим джерелом активації ФС, а поєднання ФДТ та ФТТ за допомогою композитних ФС може стати новим перспективним напрямком терапії пухлин. В США було створено золоті нанооболонки для ФТТ [49, 58], які під комерційною назвою AuroLase проходять клінічні випробування для лікування раку голови та шиї і раку легень.

Ще одна особливість НЧ золота – їх антиангіогенні властивості. При безпосередньому контакті з поверхнею золотих НЧ такі білки, як васкулярний ендотеліальний фактор росту 165 (VEGF 165) і фактор росту фібробластів b (FGF b), стають неактивними за рахунок зміни конформації або денатурації [5]. Ці властивості НЧ золота можуть бути використані при розробці антиангіогенних варіантів ФДТ.

Серед перспективних напрямків досліджень треба особливо виділити випробування кон'югатів НЧ золота з різноманітними протипухлинними препаратами: паклітакселем, метотрексатом, даунорубіцином, гемцитабіном, 6-меркаптопурином, додецилцестеїном, сульфонамідом, 5-фторурацилом, комплексами платини та ін. [20]. Це відкриває нові можливості для створення методів комбінованої лікарської і фотодинамічної терапії пухлин.

## II. Підбір ФС для створення нанокompозиту

Вибір ФС для створення ефективного композиту з НЧ має враховувати переваги і недоліки сенсibilізатора, які впливають з властивих йому фізико-хімічних характеристик та особливостей взаємодії з організмом – динаміки розподілу, шляхів накопичення в пухлині і клітині, кінетики виведення з організму, наявності побічних ефектів, тощо.

Ідеальний ФС мав би відповідати низці вимог. Серед них: хімічна чистота фотосенсibilізуючої сполуки, визначеність її фізико-хімічних властивостей і стабільність у фізіологічних розчинах;

інтенсивне поглинання червоного або ближньо-інфрачервоного світла, що порівняно добре проникає вглиб тканин; мінімальна темнова токсичність; швидке, активне, відносно вибіркоче накопичення в пухлині і виведення зі здорових тканин; ефективна і довготривала генерація синглетного кисню та вільних радикалів; нарешті, виробнича і комерційна доступність, що забезпечує успішне впровадження в клінічну практику [70].

Швидкий прогрес у створенні препаратів для ФДТ призвів до співіснування на теперішній час трьох поколінь ФС. До першого входять дериват гематопорфірину та фотофрин. Друге покоління представлено ФС, котрі завдяки їх властивостям виявились більш ефективними та/або менш токсичними; серед них – 5-амінолевулінова кислота, мезо-тетрагідроксифенілхлорин і деякі інші хлоринові препарати, вертепорфін, фталоціанін та ін.

Проте, і препарати цієї групи не позбавлені певних недоліків, таких як гідрофобність і недостатня селективність накопичення в пухлині, що зумовило необхідність створення ФС третього покоління [51]. Це комплексні препарати, які включають, крім власне ФС, ще й молекули, тропні до компонентів пухлинних клітин (фолієву кислоту, трансферин, антитіла до ростових факторів), та НЧ, при чому перші є активними, а другі – пасивними транспортерами ФС у пухлину. Ефективність цього транспортування залежить, зокрема, від того, наскільки вдається послабити певні небажані реакції захисних систем організму на введення ФС, які призводять до його нейтралізації та усунення з циркуляторного русла. Після внутрішньосудинного введення всіх ФС спостерігається їх взаємодія з білками (в першу чергу, з альбуміном) та ліпопротеїнами у плазмі крові, що надалі значною мірою визначає характер розподілу препарату в організмі і впливає на його активність. Було встановлено, наприклад, що при внутрішньовенному введенні онкохворим моно-N-аспартилхлорину еб близько 63% ФС зв'язувалось з альбуміном, а 31% – з ліпопротеїнами високої щільності [35].

Переважає більшість ФС є гідрофобними сполуками, у структурі яких містяться гетероциклічні кільця. Це обумовлює планарність молекули та її схильність до формування агрегатів у воді; цим ускладнюється розробка протоколу ФДТ, бо вважається, що фотоактивними є мономерні форми ФС [16]. Отже, однією з вимог до нанокompозиту є приєднання молекул ФС до НЧ золота у мономерній формі. Важливо також, щоб нанокompозит був гідрофільним (водорозчинність потрібна для його внутрішньосудинного введення), хоча в іде-

алі, потрапляючи в пухлину, він мав би перетворюватись на гідрофобний для полегшеного проникнення крізь клітинну мембрану.

Суттєву роль у фотодинамічній активності ФС відіграє спосіб його проникнення у клітину і наступний розподіл в ній, що залежить, в першу чергу, від фізико-хімічних властивостей ФС: гідрофобності/гідрофільності, кількості та локалізації заряджених груп, присутності центрального атома у тетрапірольному макроциклі та ін. [56]. В клітині ФС може потрапляти шляхом дифузії [7] і неспецифічного або специфічного ендоцитозу [57] (в останньому випадку ФС має бути асоційований з лігандом до певної таргетної молекули пухлинних клітин). Агрегати молекул ФС великого розміру можуть поглинатись фагоцитуючими клітинами. Щодо розподілу в клітині його молекул, які вже потрапили до неї, то негативно чи позитивно заряджені і ліпофільні ФС зазвичай агрегують з компонентами мембран [68]. Нейтрально заряджені водорозчинні ФС більш дифузно поширюються по всій клітині. Так, фотофрин, дифундує в клітину, виявляється в мембрані мітохондрій [55]. Тетрасульфонат мезотетрафенілпорфірину та тетрасульфонат алюміній-фталоціаніну локалізуються на плазматичній мембрані [56]. Моно- та дисульфонати алюміній-фталоціаніну виявляли, в основному, в цитоплазмі клітин меланоми людини LOX, а три- та тетрасульфонати – у лізосомальних структурах на периферії клітин [52, 53]. Агрегати протопорфірину IX знаходять як на плазматичній мембрані, так і в лізосомах або ендосомах клітин [43]. Порівняльні дослідження дозволяють вважати, що ФС, які знаходяться всередині клітин, призводять до більшого їх пошкодження, ніж приєднанні до плазматичної мембрани [6].

Першим офіційним нанокompatним препаратом для ФДТ став Visudyne, що містить комплекс ФС вертепорфіну та наноносія (ліпосому). Він схвалений FDA для лікування вікової макулярної дегенерації [51]. Інший ліпосомальний препарат Foslip, що являє собою 5,10,15,20-тетра-(*m*-гідроксифеніл)хлорин у ліпосомах з дипальмітоїл-фосфатидилхоліну та дипальмітоїл-фосфатидилгліцеролу, зараз проходить доклінічні випробування. На стадії клінічних випробувань перебуває нанокompatнот фталоціаніну 4 з кремнієвими НЧ [72].

### III. Композитні ФС на основі НЧ золота

Недоліки застосовуваних нині ФС, з одного боку, і надзвичайно перспективні фізико-хімічні і біологічні властивості НЧ золота, з другого,

роблять доцільними пошуки шляхів створення на основі останніх композитних ФС, які дозволили би подолати існуючі обмеження застосування ФДТ і підвищити її ефективність.

НЧ золота є хорошими транспортерами ФС, що особливо важливо за гідрофобності останніх. Існують два основних варіанти транспорту ФС: його молекули можуть знаходитись або на поверхні НЧ, або ж бути інкапсульованими в середині її. Кожен з цих варіантів має свої достоїнства і недоліки. ФС, що переноситься на поверхні НЧ, після досягнення пухлини може ензиматично (у випадку ковалентного приєднання), або самостійно (при нековалентному зв'язку) від'єднуватись від носія, потрапляти на плазматичну мембрану чи всередину клітини і після опромінення світлом призводити до руйнування пухлини [30, 37].

У випадку знаходження ФС всередині НЧ він є більш надійно захищеним від деградації на шляху до пухлини. В той же час його фотореакційна здатність може бути обмежена. Порівнюючи ці дві системи, деякі автори зазначають, що молекули ФС, приєднані до поверхні НЧ, значно краще, ніж інкапсульовані, сприяють утворенню і дифузії синглетного кисню [66].

Серед ФС, що активно випробовуються зараз у нанокompatнотній формі, значне місце займають фталоціаніни у зв'язку з їх високим коефіцієнтом екстинкції для червоного випромінювання з довжиною хвилі ~670 нм, великим квантовим виходом збуджених станів і легкою функціоналізацією. Так, в роботі [44] була показана можливість створення самозбірних моношарів тетра-заміщеного Zn-фталоціаніну на НЧ золота; при розчиненні такого комплексу у диметилсульфоксиді близько 100% молекул ФС знаходились у мономерній формі (порівняно з 12% при розчиненні вільного ФС). Виявилось, що після приєднання Zn-фталоціаніну до НЧ збільшується квантовий вихід синглетного кисню у порівнянні з вільним ФС.

Система, запропонована іншими дослідниками [67], також базувалась на приєднаних до НЧ золота (2-4 нм) похідних Zn-фталоціаніну. І в цьому випадку молекули ФС у композиті залишались при розчиненні у мономерній формі. Як і в попередній роботі, такі ФС після опромінення світлом демонстрували більший вихід синглетного кисню ( $\Phi_{\Delta}=0,65$ ) у порівнянні з вільним ФС ( $\Phi_{\Delta}=0,45$ ). Опромінення клітин лінії HeLa, інкубованих з цим нанокompatнотом, призводило до їх загибелі; при цьому він потрапляв всередину клітин. Ефективність цього нанокompatноту *in vivo* була продемонстрована на амеланотичній меланомі мишей лінії C57/Bl [11]. Фталоціанін у

формі композиту більш вибірково накопичувався у пухлині: за добу після введення вільного фталоціаніну його рівень в пухлині був у 2,3 рази більшим, ніж у шкірі, а при ін'єкції тваринам нанокompозиту – у 5,5 разів. Автори відмітили добру фотодинамічну ефективність нанокompозиту при здійсненні опромінення пухлин через 3 години після введення препарату, коли досить велика кількість його ще знаходилась у крові. Композит був здатний ефективно пошкоджувати ендотелій судин, що живлять пухлину.

У [13] показано ефективність композиту, створеного на базі ПЕГ-ільованих НЧ золота і гідрофобного фталоціаніну 4. Як відомо, ПЕГ є одним з небагатьох матеріалів, які не взаємодіють з протеїнами сироватки крові і збільшують час циркуляції препарату. На поверхні НЧ він створює біосумісну «сітку», що, з одного боку, дає змогу транспортувати до пухлини гідрофобні ФС, а з іншого, робить поверхню композиту гідрофільною. Як показали дослідження *in vitro* та *in vivo*, процес транспорту ФС проходить у цьому випадку надзвичайно ефективно. Внутрішньовенне введення фталоціаніну 4 у складі нанокompозиту приводило до зменшення часу накопичення ФС у пухлині, перещепленій мишам, до 2 годин, в той час як вільний ФС досягав максимальної концентрації у пухлині лише через 2 дні. Авторами підраховано, що всю сферичну поверхню НЧ діаметром 5 нм покриває до 100 молекул фталоціаніну. Але при заповненні поверхні НЧ фталоціаніном більше, ніж на 30%, НЧ швидше агрегують, що зменшує тривалість життя композиту. Імовірно, одним із факторів, що забезпечив позитивний результат у цих дослідженнях, була водорозчинність композиту.

В іншій роботі та ж група показала, як різні способи приєднання ФС впливають на транспорт нанокompозиту, і, відповідно, на результат ФДТ [14]. Для цього в якості ФС було обрано дві гідрофобні сполуки: фталоціанін 4 та його тіольований аналог – фталоціанін 129. До ПЕГ-ільованих НЧ золота фталоціанін 4 приєднувався нековалентно через аміногрупу, а фталоціанін 129 – ковалентно через тіольну групу. Для перевірки ефективності вивільнення обох ФС із композитів *in vitro* використано водно-толуолову систему. Композит вносили в водну фазу та після визначеного терміну реєстрували накопичення гідрофобного ФС у толуолі. Накопичення фталоціаніну 4 сягало максимуму приблизно через годину. Для фталоціаніну 129 цей час був у 10 разів більшим.

Аналогічні результати було отримано при порівнянні накопичення цих ФС у пухлинних кліти-

нах лінії HeLa. Основна маса НЧ, навантажених фталоціаніном 4, зупинялись на плазматичній мембрані і вивільняли ФС у клітину. В кінцевому результаті переважна більшість молекул цього ФС накопичувалось у мітохондріях. Композит з фталоціаніном 129 потрапляв у клітину шляхом ендцитозу і всередині везикули повільно вивільняв ФС. При цьому лише незначна кількість НЧ потрапляла всередину клітин. Відповідно, загибель клітин HeLa, опромінених після інкубації з композитом НЧ-фталоціанін 4, була значно вищою, ніж з композитом НЧ-фталоціанін 129.

Значний інтерес становлять спроби цілеспрямованого транспорту до пухлини НЧ з ФС, приєднаним до них за допомогою антитіл. У роботі [61] було скомпоновано НЧ золота (4 нм), похідне фталоціаніну та антитіло до HER2. В якості лінкера використовували модифікований поліетиленгліколь HS-ПЕГ-COON. Тіольною групою ПЕГ приєднувався до НЧ, а до його карбоксильної групи ковалентно приєднувалось антитіло. При цьому одна така НЧ несла на собі близько 10 молекул ФС. Присутність у композиті ПЕГ робила його розчинним і стабільним у воді та збільшила час циркуляції препарату в крові. Опромінення композиту червоним світлом призводило до активного генерування синглетного кисню. Експерименти, проведені *in vitro*, показали, що з двох використаних клітинних моделей ефективною мішенню для цього композиту були клітини раку молочної залози SK-BR-3, на поверхні яких зареєстровано гіперекспресію рецептора епідермального фактору росту HER2. В той же час, ефективність ураження клітин раку молочної залози лінії MDA-MB-231, в яких відсутня гіперекспресія цього рецептора, була значно нижчою порівняно з клітинами SK-BR-3.

Burda зі співавт. [15] розробили пептид-кон'юговані НЧ для транспорту гідрофобних ФС до однієї з найзлякніших і важкодоступних для лікування пухлин – гліобластоми (табл. 1). До НЧ золота приєднували фрагмент епідермального фактору росту (ЕФР) і фталоціанін 4. Розмір використаних в цьому кон'югаті НЧ (діаметр 5 нм) забезпечував, на думку авторів, приєднання необхідної кількості молекул ФС і не занадто швидке виведення препарату з крові нирками. З іншого боку, такий розмір дозволяв НЧ проникати через гематоенцефалічний бар'єр. Як і у попередній роботі, лінкером для поєднання НЧ з пептидом слугував HS-ПЕГ-COON. Було показано, що у кон'югаті спостерігається гасіння флуоресценції фталоціаніну 4, котра відновлювалась лише при від'єднанні ФС від НЧ, зокрема при його пере-

ході у мембрану мітохондрій. В ході дослідження було встановлено, що основним шляхом потрапляння фталоціаніну 4 в клітини гліобластоми є рецептор-опосередкований ендоцитоз, при чому самі НЧ майже не потрапляли в середину клітин. Автори зробили також висновок, що пептид дає змогу кон'югату довше залишатись приєднаним до плазматичної мембрани. В результаті вдається досягти 10-кратної різниці в накопиченні у

пухлині ФС при використанні в якості його транспортера НЧ з фрагментом ЕФР, у порівнянні з менш ефективним кон'югатом без пептиду. При вивченні тканинного розподілу препарату було показано, що у більшості тканин, в тому числі і в пухлині, максимум накопичення НЧ золота реєструвався через 4 години після введення, і лише у селезінці він спостерігався пізніше – через 7 днів після введення.

Таблиця 1

Композитні ФС з НЧ золота

Форма та розмір НЧ	ФС	Дослідницька модель	Джерело
Наносфери (5 нм)	Тетра-заміщений Zn-фталоціанін	<i>in vitro</i> – розчини	[44]
Наносфери (2-4 нм)	Похідне Zn-фталоціаніну	<i>in vitro</i> – клітинна лінія HeLa	[67]
Наносфери (2-4 нм)	Похідне Zn-фталоціаніну	<i>in vivo</i> – миші з меланомою	[11]
Наносфери (5 нм)	Фталоціанін 4	<i>in vitro</i> – розчини; <i>in vivo</i> – nude миші-пухлиноносії	[13]
Наносфери (5 нм)	Фталоціанін 4, фталоціанін 129	<i>in vitro</i> – розчини, клітинна лінія HeLa	[14]
Наносфери (4 нм)	Кон'югат Zn-фталоціаніну з HER2	<i>in vitro</i> – клітинні лінії з різною експресією HER2	[61]
Наносфери (5 нм)	Фталоціанін 4	<i>in vitro</i> – клітинна лінія гліоми 9L.E29; <i>in vivo</i> – миші з гліомою людини Gli36Δ5	[15]
Наносфери (14,7 нм)	Кон'югат порфірину і бруцину	<i>in vitro</i> – клітинні лінії карцином 4T1 та PE/CA-PJ34; <i>in vivo</i> – миші з карциномою PE/CA-PJ34	[71]
Наносфери (15 та 45 нм)	Гематопорфірин	<i>in vitro</i> – клітинні лінії лейкозу людини MT-4 та Jurkat	[21]
Наносфери (15 нм)	Хлорин е6	<i>in vitro</i> – клітинні лінії лейкозу людини MT-4 та Namalwa; <i>in vivo</i> – миші з карциномою Льюїс	[1]
Наносфери (15 нм)	Хлорин е6	<i>in vitro</i> – клітинна лінія лейкозу людини MT-4	[22]
Наносфери (~30 нм)	5-амінолевулінова кислота	<i>in vitro</i> – неонатальні фібробласти людини, клітинна лінія фібросаркоми людини HT1080	[50]
Наносфери (13, 50 та 100 нм)	Індоціаніновий зелений	<i>in vitro</i> – клітинна лінія карциноми людини A549	[37]
Нанострижні (35x9,3 нм)			
Нанострижні (aspect ratio 3,3)	Хлорин е6	<i>in vitro</i> – клітинні лінії лейкозів людини CCRF-CEM та Ramos	[65]
Нанострижні (33,7x9,1 нм)	Похідне Al-фталоціаніну	<i>in vitro</i> – клітинна лінія карциноми SCC7; <i>in vivo</i> – миші з карциномою SCC7	[30]
Нанострижні (50x12 нм)	Хлорин е6	<i>in vitro</i> – клітинні лінії карцином людини HeLa та KB	[28]
Нанострижні (33,6x8,7 нм)	Пірофеофорбід-α	<i>in vitro</i> – клітинні лінії фібросаркоми людини HT1080 та аденокарциноми BT20	[31]
Декаедри (8-25 нм)	Похідне пурпурину-18	<i>in vitro</i> – клітинна лінія карциноми людини A549	[17]
Декаедри (8-25 нм)	Похідне пурпурину-18	<i>in vitro</i> – клітинна лінія карциноми людини A549	[40]
Наноклітки (~50 нм)	Похідне пірофеофорбїду	<i>in vitro</i> – розчини, клітинна лінія карциноми миші Colon-26; <i>in vivo</i> – миші з карциномою Colon-26	[60]

Якщо застосування сферичних НЧ золота мотивовано тільки виграшем від їх транспортної функції, то використання золотих НЧ у формі нанострижнів дозволяє реалізувати їх унікальні оптичні властивості, в першу чергу локальний поверхневий плазмонний резонанс [29]. Цим пояснюється інтерес дослідників до таких НЧ. Застосування золотих нанострижнів завдяки зсуву смуги плазмонного світлопоглинання в ближньо-інфрачервону область спектру здатне, зокрема, забезпечити досягнення фототермічного ефекту і здійснення комбінованої ФДТ та ФТТ пухлин. Так, у дослідженні [30] було іммобілізовано негативно заряджений ФС (тетрасульфонат Al(III)-фталоціанін-хлориду) на покритих ПЕГ нанострижнях золота за допомогою електростатичної взаємодії. Нековалентний зв'язок між НЧ і ФС давав можливість останньому за певних умов від'єднуватись від композиту. Показано, що НЧ, навантажені ФС, накопичувалися шляхом ендоситозу в ендосомах та лізосомах сквамозноклітинної карциноми SCC7 і після опромінення інфрачервоним світлом активно вивільняли молекули ФС. Це підтверджувалось тим, що флуоресценція клітин, проінкубованих з композитом, була у 4 рази вищою за таку у клітин, проінкубованих лише з ФС. Відповідно, виживаність клітин після їх інкубації з композитом та опромінення лазером на довжині хвилі 670 нм була нижчою, ніж в опроміненіх після інкубації з вільним ФС. У досліджах *in vivo* даний композит добре накопичувався в підшкірно перещепленій мишам пухлині SCC7. Після ФДТ вдалось досягнути зменшення розміру пухлин на 79%, а при поєднанні ФДТ і ФТТ – на 95%.

В іншій роботі [37] для забезпечення підвищеної фотоабсорбції в тепловій (інфрачервоній) частині спектру було створено нанокompозит на базі гідрофільного негативно зарядженого ФС індоціаніну зеленого, максимум поглинання якого лежить в інфрачервоній області спектру. В цьому дослідженні використовували нанострижні (35×9,3 нм) або наносфери золота різного діаметру (13, 50 та 100 нм). З метою досягнення електростатичної взаємодії у композиті негативний заряд сферичних НЧ було змінено на протилежний за рахунок приєднання до їх поверхні позитивно зарядженого полімеру поліетиленіміну. Крім того, для активного транспорту ФС до клітин карциноми легень людини A549, яка характеризується гіперекспресією рецептора ЕФР, всі композити були також електростатично поєднані з антитілами до цього рецептора. Встановлено, що опромінення клітин світлом ближньої інф-

рачервоній області спектру значно ефективніше елімінувало клітини після їх преінкубації з тими композитами, які містили антитіла. При цьому зі збільшенням розміру сферичних НЧ збільшувалась і загибель клітин. Це дослідження ще раз підтверджує важливість розмірних параметрів НЧ для ефективності композиту.

Цікаву розробку на базі нанострижнів золота запропонували Wang зі співавт. [65]. Молекули хлорину еб були спочатку приєднані до 3' кінця специфічного аптамерного ДНК сенсора. Далі цю конструкцію іншим кінцем аптамера з'єднали з нанострижнями золота. Особливістю такого композиту є те, що у звичайному стані одноланцюгова ДНК аптамера є закритою (формує шпильку), так як її кінці містять комплементарні ділянки. В такому стані ФС знаходиться близько до НЧ і при опроміненні світлом не здатен флуоресцювати. Відомо, що НЧ золота здатні гасити енергію збудження флуорохромів навіть на відстані близько 40 нм [25]. Приєднання композиту до клітини-мішені призводило до зміни конформації аптамеру, віддаленню ФС від НЧ та його флуоресценції при опроміненні клітин світлом.

На противагу попередній роботі, Huang зі співавт. при використанні нанострижнів золота розміром 50×12 нм вдалось досягти підсилення збудження молекул ФС [28]. Хлорин еб був приєднаний до НЧ електростатично. Один з максимумів поглинання, що виявлявся у нанокompозиту (але не у вільного хлорину еб), був розташований біля довжини хвилі 515 нм. При опроміненні розчинів препаратів світлом з такою довжиною хвилі флуоресценція композиту ефективно збільшувалась, в той час як флуоресценція вільного ФС була дуже слабкою. Автори зробили висновок, що поглинута НЧ енергія переносилась на кон'югований ФС. Накопичення вільного хлорину еб у пухлинних клітинах HeLa після 2 годин інкубації було значно меншим, ніж для ФС у складі композиту. Автори пояснюють це тим, що хлорин еб, як і плазматична мембрана клітин, заряджений негативно, а отже ФС відштовхувався від клітин. В той же час нанокompозит був заряджений позитивно, а тому приєднувався до клітини. Базуючись на результатах флуоресцентних вимірювань, автори підраховали, що накопичення вільного ФС у клітинах було в 3,3 рази нижче, ніж у складі композиту. У подальших досліджах на культурі HeLa було показано, що для досягнення однакового рівня загибелі клітин при фотодинамічному впливі концентрація вільного хлорину еб мала бути утричі вища за концентрацію ФС, зв'язаного з НЧ золота.

Високу ефективність композитних препаратів, створених на основі плазмонно-резонансних НЧ іншої форми (нанокліток), було встановлено у дослідях з використанням ФС, котрий являв собою похідне пірофеофорбіду [60]. У цьому композиті молекули ФС нековалентно приєднували до НЧ, покритих функціоналізованим ПЕГ. Присутність в інкубаційному середовищі сироватки крові значно стимулювала вивільнення з композиту пірофеофорбіду. Компоненти композиту були підібрані таким чином, що максимум плазмонного резонансу НЧ співпадав з максимумом флуоресценції ФС, що, на думку авторів, і стало причиною збільшення продукції синглетного кисню композитним ФС у порівнянні з вільним пірофеофорбідом. Фотодинамічний вплив на пухлинні клітини *in vitro* та досліди, проведені *in vivo*, продемонстрували переваги нанокompозиту над вихідним ФС.

Низка дослідницьких груп працюють над проблемою підвищення вибіркової накопичення у пухлині НЧ золота, комплексованих з ФС, і намагаються створити композит, який би вивільняв ФС лише в зоні пухлини, що відповідно зводило би до мінімуму імовірність пошкодження здорових тканин під час ФДТ. У роботі [31] ФС було приєднано до нанострижнів золота за допомогою поліпептидного лінкера, сконструйованого таким чином, що він міг слугувати субстратом для протеаз. Таку конструкцію було розроблено з розрахунку на те, що флуоресценція та фототоксичність кон'югованого із золотом ФС (пірофеофорбіду- $\alpha$ ) будуть відсутні до моменту розрізання лінкера матричною металопротеїназою-2 – ферментом, важливим для дисемінації та інвазії пухлин [46]. Для експериментів *in vitro* було обрано клітини лінії фібросаркоми людини HT1080, що характеризуються гіперекспресією матричної металопротеїнази-2, та клітини аденокарциноми грудей BT20, у яких цей фермент не експресується. Після інкубації обох типів клітин з композитом флуоресценція ФС спостерігалась лише при опроміненні світлом клітин HT1080. Передбачувано, і загибель цих клітин після ФДТ з композитом була вищою, ніж клітин BT20.

Існують окремі роботи, присвячені синтезу нанокompозитів з нетрадиційними ФС. Наприклад, один такий нанокompозит синтезовано на базі ФС хлоринного ряду пурпурину-18, максимум поглинання якого знаходиться у ближній інфрачервоній області спектру (довжина хвилі 767 нм) [17]. Цей ФС використали як відновник  $\text{HAuCl}_4$  у реакції синтезу НЧ золота, і в результаті було одержано стабільний у водних розчинах

композит з НЧ золота декаедричної форми (середній діаметр 8-25 нм), покритих ФС. Пізніше у дослідях *in vitro* на культурі клітин раку легень A549 цими ж авторами було показано високу терапевтичну перспективність отримання композитів такого типу [40].

Ще одним успішним композитом виявилось поєднання НЧ золота діаметром близько 15 нм з порфірин-бруциновими кон'югатами [71]. Опромінення світлом сквамозно-клітинної карциноми PE/CA-PJ34 через 6 годин після внутрішньовенного введення Nude мишам нанокompозиту призводило до повної елімінації пухлини у всіх мишей групи.

Практично важливим є безпосереднє порівняння активності нанокompозитів золота з різними ФС, але, на жаль, таких робіт мало. Дослідження на одній і тій же культурі малігнізованих лімфоцитів людини лінії МТ-4 фотодинамічної активності композитів золота (наносфери діаметром 15 та 45 нм), поєднаного з гематопорфірином [21] або офіційним препаратом хлорину еб – фотолоном [1], показало значно більший потенціуючий ефект НЧ у відношенні гематопорфірину в порівнянні з хлорином еб. Можливою причиною такої різниці може бути перерозподіл відносного внеску у механізм цитотоксичної дії цих ФС синглетного кисню і вільних радикалів – основних ефекторів ФДТ [22].

Окреме місце слід відвести дослідженню [50]. Використовуючи поліетиленімін, автори синтезували позитивно заряджені сферичні НЧ золота з діаметром близько 30 нм, після чого приєднували до них за допомогою електростатичної взаємодії прекурсор протопорфірину IX – 5-амінолевулінову кислоту. У дослідженнях *in vitro* композит було виявлено на поверхні плазматичної мембрани неонатальних фібробластів шкіри людини NHDF (немалігнізовані клітини) та фібросаркоми людини HT1080 (пухлинні клітини). Накопичення протопорфірину IX в обох типах клітин було максимальним через 24-26 годин після внесення нанокompозиту. Але для HT1080 воно було у 5 разів більшим, ніж для NHDF. Смертність клітин, інкубованих з нанокompозитом, після опромінення світлом статистично достовірно відрізнялась від такої для клітин, проінкубованих з вільною 5-амінолевуліновою кислотою, лише для малігнізованих клітин HT1080. Отже, вибірковість дії на малігнізовані клітини нанокompозиту золота з 5-амінолевуліновою кислотою показала переваги застосування композиту цього препарату, хоча в даному випадку НЧ були комплексовані не з самим ФС, а з його метаболічним попередником.



Так як синглетний кисень є одною з основних цитотоксичних сполук, що генеруються при ФДТ, існують спроби розробити на базі НЧ золота препарати, які здатні утворювати синглетний кисень без ФС [64]. Хоча квантовий вихід синглетного кисню у цих НЧ доволі малий (3,7%), такі наноконізати дуже стабільні навіть при високих концентраціях. Можливо, після вдосконалення вони стануть альтернативною класичним ФС для ФДТ.

### Висновок

Певні успіхи у створенні ефективних наноконізатних ФС на основі золота були досягнуті шляхом раціонального дизайну конізату, що врахував усі значимі властивості його конізатів: НЧ золота, ФС і допоміжних молекул (лінкерів, стабілізаторів та ін.), а також способу їх поєднання. Наноконізат має бути, в першу чергу, безпечним для організму і ефективно транспортувати ФС у пухлину. Інші вимоги до таких конізатних ФС включають: водорозчинність – для зручності внутрішньосудинного введення та запобігання агрегації частинок у кров'яному

руслі; здатність тривалий час уникати захоплення клітинами ретикуло-ендотеліальної системи і циркулювати в крові, не зазнаючи швидкого виведення нирками; спроможність екстравазації крізь аномальні (збільшені) щілини між ендотеліальними клітинами судин у пухлині; а також можливість проникнення крізь щільну строму до пухлинних клітин і довге затримання у пухлині.

Протягом останніх років було апробовано значну кількість оригінальних ідей, спрямованих на вирішення цих задач, і отримані результати дозволяють дійти загального висновку про принципову можливість підвищення ефективності ФДТ пухлин шляхом застосування нанозолота. Тим не менш, жоден конізат ФС з НЧ золота поки що не був зареєстрований FDA або агентствами інших країн. Побічні наслідки використання наноконізатних ФС, – такі, як довготривале виведення препаратів з організму і накопичення їх в неуражених пухлиною органах, зокрема в печінці та селезінці, – є важливою проблемою, що має бути вирішена для успішного запровадження конізатів у клінічну практику.

### Література

1. Гамалія М.Ф. Фотодинамічна активність сенсифілізаторів другого покоління — фотолону (хлорину е6) та його золотого наноконізату: досліді in vitro та in vivo / М.Ф.Гамалія, С.Д.Шишко, І.О.Штонь та ін. // Фотобіологія та фотомедичина.— 2012.— Т.9, №1,2.— С.94–98.
2. Хлебцов Н.Г. Биораспределение и токсичность золотых наночастиц / Н.Г.Хлебцов, Л.А.Дыкман // Нанобиология.— 2010.— Т.6, №1–2.— С.39–59.
3. Acharya S. Targeted epidermal growth factor receptor nanoparticle bioconjugates for breast cancer therapy / S.Acharya, F.Dilnawaz, S.K.Sahoo // Biomaterials.— 2009.— Vol.30, №29.— P.5737–5750.
4. Alexis F. Nanoparticle technologies for cancer therapy / F.Alexis, E.M.Pridgen, R.Langer et al. // Handb. Exp. Pharmacol.— 2010.— Vol.197.— P.55–86.
5. Arvizo R.R. Mechanism of anti-angiogenic property of gold nanoparticles: role of nanoparticle size and surface charge / R.R.Arviso, S.Rana, O.R.Miranda et al. // Nanomedicine.— 2011.— Vol.7, №5.— P.580–587.
6. Berg K. Cellular uptake and relative efficiency in cell inactivation by photoactivated sulfonated meso-tetraphenylporphines / K.Berg, J.C.Bommer, J.W.Winkelman et al. // Photochem. Photobiol.— 1990.— Vol.52, №4.— P.775–781.
7. Berg K. Lysosomes and microtubules as targets for photochemotherapy of cancer / K.Berg, J.Moan // Photochem. Photobiol.—1997.— Vol.65, №3.— P.403–409.
8. Boisselier E. Gold nanoparticles in nanomedicine: preparations, imaging, diagnostics, therapies and toxicity / E.Boisselier, D.Astruc // Chem. Soc. Rev.— 2009.— Vol.38, №6.— P.1759–1782.
9. Brust M. Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase liquid-liquid system / M.Brust, M.Walker, D.Bethell et al. // J. Chem. Soc., Chem. Commun.— 1994.— №7.— P.801–802.
10. Byrne J.D. Active targeting schemes for nanoparticle systems in cancer therapeutics / J.D.Byrne, T.Betancourt, L.Brannon-Peppas // Adv. Drug Deliv. Rev.— 2008.— Vol.60, №15.— P.1615–1626.
11. Camerin M. The in vivo efficacy of phthalocyanine-nanoparticle conjugates for the photodynamic therapy of amelanotic melanoma / M.Camerin, M.Magaraggia, M.Soncin et al. // Eur. J. Cancer.— 2010.— Vol.46, №10.— P.1910–1908.
12. Chatterjee D.K. Nanoparticles in photodynamic therapy: an emerging paradigm / D.K.Chatterjee, L.S.Fong, Y.Zhang // Adv. Drug Deliv. Rev.— 2008.— Vol.60, №15.— P.1627–1637.
13. Cheng Y. Highly efficient drug delivery with gold nanoparticle vectors for in vivo photodynamic therapy of cancer / Y.Cheng, C.A.Samia, J.D.Meyers et al. // J. Amer. Chem. Soc.— 2008.— Vol.130, №32.— P.10643–10647.
14. Cheng Y. Delivery and efficacy of a cancer drug as a function of the bond to the gold nanoparticle surface / Y.Cheng, A.C.Samia, J.Li et al. // Langmuir.— 2010.— Vol.26, №4.— P.2248–2250.
15. Cheng Y. Addressing brain tumors with targeted gold nanoparticles: a new gold standard for hydrophobic drug delivery? / Y.Cheng, J.D.Meyers, R.S.Agnes et al. // Small.— 2011.— Vol.7, №16.— P.2301–2306.
16. Damoiseau X. Increase of the photosensitizing efficiency of the Bacteriochlorin a by liposome-incorporation

- / X.Damoiseau, H.J.Schuitmaker, J.W.Lagerberg et al. // *J. Photochem. Photobiol. B.*— 2001.— Vol.60, №1.— P.50–60.
17. Demberelnyamba D. Newly synthesized water soluble cholinium-purpurin photosensitizers and their stabilized gold nanoparticles as promising anticancer agents / D.Demberelnyamba, M.Ariunaa, Y.K.Shim // *Int. J. Mol. Sci.*— 2008.— Vol.9, №5.— P.864–871.
18. Doane T. Nanoparticle mediated non-covalent drug delivery / T.Doane, C.Burda // *Adv. Drug Deliv. Rev.*— 2013.— Vol.65, №5.— P.607–621.
19. Dreaden E.C. The golden age: gold nanoparticles for biomedicine / E.C.Dreaden, A.M.Alkilany, X.Huang et al. // *Chem. Soc. Rev.*— 2012.— Vol.41, №7.— P.2740–2779.
20. Dykman L.A. Gold nanoparticles in biology and medicine: recent advances and prospects / L.A.Dykman, N.G.Khlebtsov // *Acta Naturae.*— 2011.— Vol.3, №2.— P.34–55.
21. Gamaleia N.F. Photodynamic activity of hemato-porphyrin conjugates with gold nanoparticles: experiments in vitro / N.F.Gamaleia, E.D.Shishko, G.A.Dolinsky et al. // *Exp. Oncol.*— 2010.— Vol.32, №1.— P.44–47.
22. Gamaleia N.F. Photodynamic activity of nano-gold-doped Fotolon: free radicals versus singlet oxygen / N.F.Gamaleia, G.A.Dolinsky, E.D.Shishko et al. // *Forum Immunopathol. Dis. Therap.*— 2011.— Vol.2, №3.— P.237–246.
23. Ge J. Core-satellite nanocomposite catalysts protected by a porous silica shell: controllable reactivity, high stability, and magnetic recyclability / J.Ge, Q.Zhang, T.Zhang et al. // *Angew. Chem. Int. Ed.*— 2008.— Vol.47, №46.— P.8924–8928.
24. Gil P.R. Composite nanoparticles take aim at cancer / P.R.Gil, W.J.Parak // *ACS Nano.*— 2008.— Vol.2, №11.— P.2200–2205.
25. Griffin J. Size- and distance-dependent nanoparticle surface-energy transfer method for selective sensing of hepatitis C virus RNA / J.Griffin, A.K.Singh, D.Senapati et al. // *Chemistry.*— 2009.— Vol.15, №2.— P.342–351.
26. Haley B. Nanoparticles for drug delivery in cancer treatment / B.Haley, E.Frenkel // *Urol. Oncol.*— 2008.— Vol.26, №1.— P.57–64.
27. Huang P. Photosensitizer-conjugated silica-coated gold nanoclusters for fluorescence imaging-guided photodynamic therapy / P.Huang, J.Lin, S.Wang et al. // *Biomaterials.*— 2013.— Vol.34, №19.— P.4643–4654.
28. Huang X. The conjugates of gold nanorods and chlorin e6 for enhancing the fluorescence detection and photodynamic therapy of cancers / X.Huang, X.J.Tian, W.L.Yang et al. // *Phys. Chem. Chem. Phys.*— 2013.— Добавить том, номер журнала и страницы.
29. Jain P.K. Noble metals on the nanoscale: optical and photothermal properties and some applications in imaging, sensing, biology, and medicine / P.K.Jain, X.Huang, I.H.El-Sayed et al. // *Acc. Chem. Res.*— 2008.— Vol.41, №12.— P.1578–1586.
30. Jang B. Gold nanorod-photosensitizer complex for near-infrared fluorescence imaging and photodynamic/ photothermal therapy in vivo / B.Jang, J.Y.Park, C.H.Tung et al. // *ACS Nano.*— 2011.— Vol.5, №2.— P.1086–1094.
31. Jang B. Photosensitizer-conjugated gold nanorods for enzyme-activatable fluorescence imaging and photodynamic therapy / B.Jang, Y.Choi // *Theranostics.*— 2012.— Vol.2, №2.— P.190–197.
32. Jia X. Nanoparticles improve biological functions of phthalocyanine photosensitizers used for photodynamic therapy / X.Jia, L.Jia // *Curr. Drug Metab.*— 2012.— Vol.13, №8.— P.1119–1122.
33. Jiang J. Effect of timing, dose and interstitial versus nanoparticle delivery of tumor necrosis factor alpha in combinatorial adjuvant cryosurgery treatment of ELT-3 uterine fibroid tumor / J.Jiang, J.Bischof // *Cryo. Letters.*— 2010.— Vol.31, №1.— P.50–62.
34. Jiang W. Nanoparticle-mediated cellular response is size-dependent / W.Jiang, B.Y.Kim, J.T.Rutka et al. // *Nat. Nanotechnol.*— 2008.— Vol.3, №3.— P.145–150.
35. Kessel D. Pharmacokinetics of N-aspartyl chlorin e6 in cancer patients // *J. Photochem. Photobiol. B.*— 1997.— Vol.39, №1.— P.81–83.
36. Khlebtsov B.N. Silver nanocubes and gold nanocages: fabrication and optical and photothermal properties / B.N.Khlebtsov, V.A.Khanadeev, I.L.Maksimova et al. // *Nanotech. in Russia.*— 2010.— Vol.5, №7-8.— P.454–468.
37. Kuo W.S. Gold nanomaterials conjugated with indocyanine green for dual-modality photodynamic and photothermal therapy / W.S.Kuo, Y.T.Chang, K.C.Cho et al. // *Biomaterials.*— 2012.— Vol.33, №11.— P.3270–3278.
38. Lee D.E. Multifunctional nanoparticles for multimodal imaging and theragnosis / D.E.Lee, H.Koo, I.C.Sun et al. // *Chem. Soc. Rev.*— 2012.— Vol.41, №7.— P.2656–2672.
39. Liu Y. Synthesis, stability, and cellular internalization of gold nanoparticles containing mixed peptide-poly(ethylene glycol) monolayers / Y.Liu, M.K.Shipton, J.Ryan et al. // *Anal. Chem.*— 2007.— Vol.79, №6.— P.2221–2229.
40. Lkhagvadulam B. Synthesis and photodynamic activities of novel water soluble purpurin-18-N-methyl-D-glucamine photosensitizer and its gold nanoparticles conjugate / B.Lkhagvadulam, J.H.Kim, I.Yoon et al. // *J. Porphyrins Phthalocyanines.*— 2012.— Vol.16, №4.— P.331–340.
41. Lowery A.R. Immunonanoshells for targeted photothermal ablation of tumor cells / A.R.Lowery, A.M.Gobin, E.S.Day et al. // *Int. J. Nanomedicine.*— 2006.— Vol.1, №2.— P.149–154.
42. Lu F. Gold nanoparticles for diagnostic sensing and therapy / F.Lu, T.L.Doane, J.J.Zhu et al. // *Добавить название журнала.*— 2012.— Vol.393, №1.— P.142–153.
43. Malik Z. Fourier transform multipixel spectroscopy and spectral imaging of protoporphyrin in single melanoma cells / Z.Malik, M.Dishi, Y.Garini // *Photochem. Photobiol.*— 1996.— Vol.63, №5.— P.608–614.
44. Moeno S. Synthesis and photophysical properties of a novel zinc photosensitizer and its gold nanoparticle conjugate / S.Moeno, E.Antunes, T.Nyokong et al. // *J. Photochem. Photobiol. A.*— 2011.— Vol.222?, №2.— P.343–350.

45. Morgan M.T. Dendrimer-encapsulated camptothecins: increased solubility, cellular uptake, and cellular retention affords enhanced anticancer activity in vitro / M.T.Morgan, Y.Nakanishi, D.J.Kroll et al. // *Cancer Res.*— 2006.— Vol.66, №24.— P.11913–11921.
46. Murray N.P. Differential expression of matrix metalloproteinase-2 expression in disseminated tumor cells and micrometastasis in bone marrow of patients with nonmetastatic and metastatic prostate cancer: theoretical considerations and clinical implications — an immunocytochemical study / N.P.Murray, E.Reyes, P.Tapia et al. // *Bone Marrow Res.*— 2012.— Vol.2012.— P.1–9.
47. Nativo P. Uptake and intracellular fate of surface-modified gold nanoparticles / P.Nativo, I.A.Prior, M.Brust // *ACS Nano.*— 2008.— Vol.2, №8.— P.1639–1644.
48. Nguyen K.T. Targeted nanoparticles for cancer therapy: promises and challenges // *J. Nanomedic. Nanotechnol.*— 2011.— Vol.2, №5.— P.1–2.
49. O'Neal D.P. Photo-thermal tumor ablation in mice using near infrared-absorbing nanoparticles / D.P.O'Neal, L.R.Hirsch, N.J.Halas et al. // *Cancer Lett.*— 2004.— Vol.209, №2.— P.171–176.
50. Oo M.K. 5-aminolevulinic acid-conjugated gold nanoparticles for photodynamic therapy of cancer / M.K.Oo, X.Yang, H.Du et al. // *Nanomedicine (Lond.)*— 2008.— Vol.3, №6.— P.777–786.
51. Paszko E. Nanodrug applications in photodynamic therapy / E.Paszko, C.Ehrhardt, M.O.Senge et al. // *Photodiagnosis. Photodyn. Ther.*— 2011.— Vol.8, №1.— P.14–29.
52. Peng Q. Localization of potent photosensitizers in human tumor LOX by means of laser scanning microscopy / Q.Peng, J.Moan, G.Farrants et al. // *Cancer Lett.*— 1990.— Vol.53, №2-3.— P.129–139.
53. Peng Q. Subcellular localization, redistribution and photobleaching of sulfonated aluminum phthalocyanines in a human melanoma cell line / Q.Peng, G.W.Farrants, K.Madslie et al. // *Int. J. Cancer.*—1991.— Vol.49, №2.— P.290–295.
54. Prabhu V. Nanoparticles in drug delivery and cancer therapy: the giant rats tail / V.Prabhu, S.Uzzaman, V.M.B.Grace et al. // *J. Cancer Ther.*— 2011.— Vol.2, №3.— P.325–334.
55. Roberts W.G. In vitro photosensitization I. Cellular uptake and subcellular localization of mono-L-aspartyl chlorin e6, chloro-aluminum sulfonated phthalocyanine, and photofrin II / W.G.Roberts, M.W.Berns // *Lasers Surg. Med.*— 1989.— Vol.9, №2.— P.90–101.
56. Rosenkranz A.A. Targeted intracellular delivery of photosensitizers to enhance photodynamic efficiency / A.A.Rosenkranz, D.A.Jans, A.S.Sobolev // *Immunol. Cell Biol.*— 2000.— Vol.78, №4.— P.452–464.
57. Scully A.D. Laser line-scanning confocal fluorescence imaging of the photodynamic action of aluminum and zinc phthalocyanines in V79-4 Chinese hamster fibroblasts / A.D.Scully, R.B.Ostler, A.J.MacRobert et al. // *Photochem. Photobiol.*—1998.— Vol.68, №2.— P.199–204.
58. Sershen S.R. Temperature-sensitive polymer-nanoshell composites for photothermally modulated drug delivery / S.R.Sershen, S.L.Westcott, N.J.Halas et al. // *J. Biomed. Mater. Res.*— 2000.— Vol.51, №3.— P.293–298.
59. Shukla R. Laminin receptor specific therapeutic gold nanoparticles (198AuNP-EGCg) show efficacy in treating prostate cancer / R.Shukla, N.Chanda, A.Zambre et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*— 2012.— Vol.109, №31.— P.12426–12431.
60. Srivatsan A. Gold nanocage-photosensitizer conjugates for dual-modal image-guided enhanced photodynamic therapy / A.Srivatsan, S.V.Jenkins, M.Jeon et al. // *Theranostics.*— 2014.— Vol.4, №2.— P.163–174.
61. Stuchinskaya T. Targeted photodynamic therapy of breast cancer cells using antibody-phthalocyanine-gold nanoparticle conjugates / T.Stuchinskaya, M.Moreno, M.J.Cook et al. // *Photochem. Photobiol. Sci.*— 2011.— Vol.10, №5.— P.822–831.
62. Sun I.C. Biocompatible glycol chitosan-coated gold nanoparticles for tumor-targeting CT imaging / I.C.Sun, J.H.Na, S.Y.Jeong et al. // *Pharm. Res.*— 2013. **Добавить том, номер и страницы**
63. Turkevich J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold / J.Turkevich, P.C.Stevenson, J.Hillier // *Discuss. Faraday Soc.*— 1951.— Vol.11.— P.55–75.
64. Vankayala R. Metal nanoparticles sensitize the formation of singlet oxygen / R.Vankayala, A.Sagadevan, P.Vijayaraghavan et al. // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*— 2011.— Vol.50, №45.— P.10640–10644.
65. Wang J. Assembly of aptamer switch probes and photosensitizer on gold nanorods for targeted photothermal and photodynamic cancer therapy / J.Wang, G.Zhu, M.You et al. // *ACS Nano.*— 2012.— Vol.6, №6.— P.5070–5076.
66. Wang S. Nanomaterials and singlet oxygen photosensitizers: potential applications in photodynamic therapy / S.Wang, R.Gao, F.Zhou et al. // *J. Mater. Chem.*— 2004.— Vol.14.— P.487–493.
67. Wieder M.E. Intracellular photodynamic therapy with photosensitizer-nanoparticle conjugates: cancer therapy using a «Trojan horse» / M.E.Wieder, D.C.Hone, M.J.Cook et al. // *Photochem. Photobiol. Sci.*— 2006.— Vol.5, №8.— P.727–734.
68. Wood S.R. The subcellular localization of Zn(II) phthalocyanines and their redistribution on exposure to light / S.R.Wood, J.A.Holroyd, S.B.Brown // *Photochem. Photobiol.*— 1997.— Vol.65, №3.— P.397–402.
69. Ye T.Y. Controlling the packing of gold nanoparticles with grafted liquid crystals / T.Y.Ye, X.F.Chen, K.Qian et al. // *J. Nanopart. Res.*— 2012.— Vol.14, №1055.— P.1–12.
70. Yoon I. Advance in photosensitizers and light delivery for photodynamic therapy / I.Yoon, J.Z.Li, Y.K.Shim // *Clin. Endosc.*— 2013.— Vol.46, №1.— P.7–23.
71. Zaruba K. Modified porphyrin-brucine conjugated to gold nanoparticles and their application in photodynamic therapy / K.Zaruba, J.Kralova, P.Rezanka et al. // *Org. Biomol. Chem.*— 2010.— Vol.8, №14.— P.3202–3206.
72. Zhao B. Enhanced photodynamic efficacy towards melanoma cells by encapsulation of Pc4 in silica nanoparticles / B.Zhao, J.J.Yin, P.J.Bilski et al. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.*— 2009.— Vol.241, №2.— P.163–172.

**НАНОЧАСТИЦЫ ЗОЛОТА КАК КОМПОНЕНТЫ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ ТРЕТЬЕГО  
ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ**

*Штонь И.А., Гамалея Н.Ф.*

*Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е.Кавецкого НАН  
Украины,*

*ул. Васильковская, 45, г. Киев, 03022 Украина,  
тел.: +38(044) 259-01-67, e-mail: gamaleia@onconet.kiev.ua*

*Наночастицы золота привлекают особое внимание специалистов в области медицины. Уникальные свойства этих наночастиц позволяют использовать их не только в качестве транспортеров терапевтических препаратов, но и как важные компоненты при создании нанокomпозитных средств таргетной фотодинамической и фототермической терапии опухолей. В статье рассматриваются особенности наночастиц золота, которые определяют эффективность нанокomпозита, и анализируются перспективные направления в разработке композитных фотосенсибилизаторов.*

**Ключевые слова:** *наночастицы, золото, фотодинамическая терапия, фотосенсибилизаторы.*

**GOLD NANOPARTICLES AS COMPONENTS FOR THIRD GENERATION  
PHOTOSENSITIZERS FOR PHOTODYNAMIC THERAPY OF TUMOURS**

*Shton I.A., Gamaleia N.F.*

*R.E.Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology NAS of Ukraine  
tel.: +38(044) 259-01-67, e-mail: gamaleia@onconet.kiev.ua*

*Gold nanoparticles are one of the most attractive to the medical science specialists. Unique properties of gold nanoparticles allow to use them not only as therapeutic agents transporters, but also as an important components of nanocomposite drugs for targeted photodynamic and photothermal therapy of tumors. The authors discuss main features of gold nanoparticles that determine nanocomposite effectiveness and analyze the promising trends in composite photosensitizers development.*

**Keywords:** *nanoparticles, gold, photodynamic therapy, photosensitizers.*