

Związki złota jako potencjalne leki przeciwnowotworowe nowej generacji

Urszula Śliwińska-Hill, Joanna Celmer, Lilianna Trynda-Lemiesz

W terapii chorób nowotworowych od lat stosowane są kompleksy platyny, ale skutki uboczne oraz oporność komórek nowotworowych na te leki zmusza do poszukiwania nowych, lepszych cytostatyków. W prowadzonych badaniach testowane są nie tylko nowe związki platyny, ale również kompleksy innych metali, w tym również kompleksy złota. Złoto (Au, łac. *aurum*) było stosowane w lecznictwie od czasów starożytnych. Prawdopodobnie najwcześniej używano go w medycynie chińskiej, między innymi do leczenia ospy. Obecnie preparaty na bazie złota stosuje się przede wszystkim jako leki przeciwartretyczne. Związki złota hamują między innymi proliferację limfocytów oraz produkcję reaktywnych form tlenu w makrofagach, a także produkcję interleukiny 1. Izotop ^{198}Au (czas połowicznego rozpadu — 2,7 dnia) jest używany w terapii niektórych nowotworów [1].

W poniższym przeglądzie opisane zostały związki koordynacyjne złota, które wydają się być najbardziej obiecujące jako nowe, potencjalne leki przeciwnowotworowe. Mechanizm aktywności przeciwnowotworowej kompleksów złota jest inny niż stosowanych leków platynowych, a niektóre z otrzymanych związków wykazują znacznie wyższą aktywność. Auranofina, stosowany antyartretyczny, fosfinowy kompleks Au(I) wykazuje również wysoką aktywność przeciwnowotworową w stosunku do komórek białaczki P388. Lek ten indukuje apoptozę poprzez selektywną inhibicję mitochondrialnej izoformy reduktazy tioredoksyny, enzymu, który odgrywa istotną rolę w regulacji apoptozy komórek nowotworowych, czyniąc ją atrakcyjną „tarczą” dla nowych leków przeciwnowotworowych. Kompleksy Au(III) w warunkach fizjologicznych mogą ulegać szybkiej redukcji do Au(I), jednak (III) stopień utlenienia może być stabilizowany przez dobór odpowiednich ligandów. Związki te mogą znaleźć zastosowanie w terapii nowotworów jajnika, pierwotnych nowotworów wątroby czy nowotworów nosowo-gardłowych. Podobnie jak w przypadku kompleksów Au(I), oddziaływanie kompleksów Au(III) z DNA jest bardzo słabe, a ich cytotosycyzność wynika z indukcji mitochondrialnych ścieżek apoptozy.

Review of gold compounds as next generation potential anticancer drugs

Platinum complexes have been used in the treatment of cancer diseases since the 1970s, but the side effects and resistance of tumor cells to these drugs have triggered the search for new and improved cytostatic agents. Nowadays, new platinum compounds and other metal complexes, including gold complexes, are tested.

Gold (Au, lat. *Aurum*) has been used in medicine since antiquity. Probably the earliest use was in Chinese medicine for the treatment of smallpox. Currently gold complexes are used as anti-arthritis medicines. These compounds inhibit lymphocyte proliferation, production of reactive oxygen species in macrophages, and production of interleukin 1. The isotope ^{198}Au (half-life — 2.7 days) is used to treat certain cancers [1].

In this review we describe the gold coordination compounds that appear to be very promising as new potential anticancer drugs. Many of the complexes exhibit high antitumor activity and these compounds are active via mechanisms that differ from those of the Pt(II) antitumor agents such as cisplatin. The anti-arthritic Au(I) phosphine drug, auranofin, shows high antitumor activity against P388 leukemia cells. It has been shown to induce apoptosis via selective inhibition of the mitochondrial isoform of thioredoxin reductase. This is an enzyme which plays a critical role in the regulation of cancer cell apoptosis, making it an attractive target for the new anticancer drugs. Au(III) complexes are rapidly reduced to Au(I) under physiological conditions, but some Au(III) complexes have been identified which have significant antitumor properties, and in which the Au(III) oxidation state is stabilized by appropriate choice of

ligands. These compounds can be used in the treatment of ovarian cancer, hepatocellular carcinoma or nasopharyngeal carcinoma. Similarly to Au(I), the interactions of Au(III) compounds with DNA are very weak, and there is evidence that they induce apoptosis by mechanisms involving mitochondrial cell death pathways.

NOWOTWORY Journal of Oncology 2013; 63, 6: 456–462

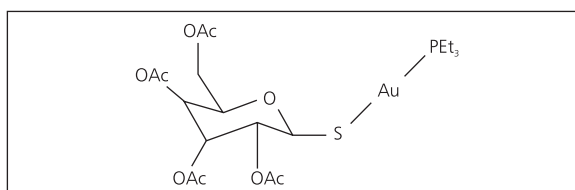
Słowa kluczowe: kompleksy złota (I), kompleksy złota (III), reduktaza tioredoksyny, mitochondria, nanocząsteczki złota
Key words: Gold (I) complexes, Gold (III) complexes, Thioredoxin reductase, mitochondria, gold nanoparticles

Wprowadzenie

Związki koordynacyjne metali przejściowych zajmują obecnie ważną pozycję w medycynie i chemii medycznej. Podstawą ich struktury jest centralny atom metalu związany z otaczającymi go ligandami — anionami lub obojętnymi cząsteczkami (NH_3 , H_2O , pirydyna). Metale odgrywają ważną rolę w procesach biologicznych i biomedycznych oraz znajdują coraz większe zastosowanie w diagnostyce medycznej i terapii wielu schorzeń. Związki gadolinu(III), manganu(II) i żelaza(III) stosowane są jako czynniki kontrastowe w obrazowaniu MRI, a kompleksy baru(II) — w diagnostyce *X-ray*. Radioaktywne izotopy wielu metali, np. $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{111}In , ^{89}Sr , ^{153}Sm są wykorzystywane w diagnostyce klinicznej i radioterapii, a związki srebra(I) znalazły zastosowanie jako środki przeciwbakteryjne. Jednak najwięcej uwagi poświęca się kompleksom metali przejściowych jako potencjalnym lekami przeciwnowotworowym. Odkąd w 1960 roku zostały odkryte przeciwnowotworowe właściwości cisplatyny, związek ten jest jednym z najskuteczniejszych i najczęściej stosowanych cytostatyków w terapii guzów litych. Pomimo ugruntowanej pozycji cisplatyny terapia tym lekiem niesie ze sobą wiele skutków ubocznych, a komórki nowotworowe często nabywają oporność na ten chemoterapeutyk. W związku z tym trwają intensywne prace nad projektowaniem nowych, skuteczniejszych leków przeciwnowotworowych, których podstawę stanowi atom metalu. Wśród tysięcy badanych związków znajdują się m. in. kompleksy rutenu [2–4], miedzi [5–7], kobaltu [8–10], rodu [11] czy irydu [12], wykazujących wysoką aktywność przeciwnowotworową, a mechanizm ich działania jest odmienny od tego, który cechuje cisplatynę i jej pochodne. W niniejszej pracy chcemy zwrócić szczególną uwagę na właściwości przeciwnowotworowe związków złota, które wykazują „nieklasyczne” miejsca aktywności, co stwarza nowe możliwości leczenia chorób nowotworowych.

Chryzoterapia — początki

Zastosowanie związków złota w medycynie zostało zapoczątkowane w latach dwudziestych XX wieku, kiedy to niemiecki bakteriolog Robert Koch wykazał, że $\text{K}[\text{Au}(\text{CN})_2]$ działa przeciwbakteryjnie w stosunku do szczepów odpowiedzialnych za rozwój gruźlicy [13]. Jednak ze względu na poważne efekty uboczne, jakie ten związek wywoływał,



Rycina 1. Auranofina

zrezygnowano z jego stosowania na rzecz mniej toksycznych tiolowych kompleksów Au(I). Kompleksy te podawano w terapii reumatoidalnego zapalenia stawów, stanu chorobowego — jak ówczesnie uważano — związanego z gruźlicą. Przez dekady tiolowe kompleksy stosowane były jako leki pierwszego rzutu w leczeniu przewlekłego, postępującego gościca, niemniej jednak efekty uboczne skłaniały do poszukiwania nowych, mniej toksycznych połączeń tego metalu [13]. Efektem tych poszukiwań była synteza auranofiny (ryc. 1). Niestety, również ona powodowała działania niepożądane takie jak neurotoksyczność, zaburzenia hematologiczne oraz reakcje uboczne ze strony układu pokarmowego [14]. Ze względu na stosunkowo dużą toksyczność została usunięta z pozycji leku pierwszego rzutu i stosowana jest jako lek ostatniej szansy wyłącznie w ciężkich stanach chorobowych. W 1979 roku przeprowadzono również pierwsze badania aktywności przeciwnowotworowej auranofiny [15, 16], które wykazały, że hamuje ona wzrost ludzkich komórek nowotworowych, a jej aktywność porównywalna jest z aktywnością cisplatyny [13]. Zdecydowało to o poszukiwaniu czynników cytotoksycznych wśród kompleksów złota.

Związki złota(III) jako środki przeciwnowotworowe znalazły się w szczególnym kręgu zainteresowań ze względu na: a) podobieństwo do kompleksów platyny(II) — oba metale tworzą połączenia o strukturze płaskiej kwadratowej, są izoelektronowe i izostrukuralne; b) analogię do efektów immunomodulacyjnych czynników przeciwgośćcowych złota(I); c) możliwość kompleksowania Au(I) oraz Au(III) ze znanymi czynnikami przeciwnowotworowymi w celu utworzenia nowych związków o zwiększonej aktywności [14]. Właściwości te sprawiają, że związki złota mogą przyczynić się do stworzenia nowej klasy leków przeciwnowotworowych z innowacyjnym mechanizmem działania oraz — co się z tym łączy — odmiennym profilem wrażliwych komórek nowotworowych [17].

Nieklasyczne cele działania cytostatyków na bazie złota

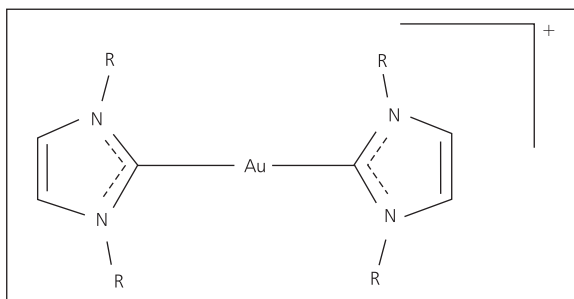
Ze względu na strukturalne podobieństwo związków złota(III) do kompleksów platyny(II) początkowo badano hipotezę, która zakładała, że aktywność biologiczna oraz działanie cytotoksyczne kompleksów złota wynikają z ich bezpośrednich interakcji z DNA. Sądzone, że prawdopodobnymi miejscami wiązania tego metalu z kwasami nukleinowymi są — podobnie jak ma to miejsce dla kompleksów Pt(II) — atomy N(1) i N(7) adenozyiny, N(7) guanozyiny, N(3) cytydyny lub N(3) tymidyny. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały jednak, że związki złota tworzą nieporównywalnie silniejsze wiązania z cząsteczkami białek. Okazało się, że cytotoksyczność związków złota(III) skorelowana jest ze zdolnością modyfikacji funkcji mitochondrium i inhibicji syntezy białek poprzez zmianę oddziaływania DNA — białko. Stwierdzono również duże powinowactwo kompleksów złota(III) do ligandów S-donorowych takich jak glutation i cysteina oraz ograniczoną reaktywność z nukleozydami i zasadami azotowymi [13].

Mitochondria jako cel terapii cytostatykami

Mitochondria są zaangażowane w liczne procesy biochemiczne komórki — biorą udział w metabolizmie, kontrolują stan redox oraz pełnią główną rolę w procesach energetycznych komórki — są odpowiedzialne za syntezę 80% ATP. Jednak najnowsze doniesienia podkreślają istotną rolę tych organelli w kontroli procesów zaprogramowanej śmierci komórki. W związku z tym mitochondria stanowią atrakcyjny cel nowych leków przeciwnowotworowych. Mitochondrialne DNA wydaje się być potencjalnym miejscem działania czynników terapeutycznych ze względu na większą podatność na deformacje niż DNA jądrowe, brak ochronnego działania histonów, a także ograniczoną zdolność naprawy [18]. Ścieżka mitochondrialna indukcji apoptozy stanowi podstawowy mechanizm śmierci komórek kręgowców. Krytycznym punktem procesu jest wzrost przepuszczalności zewnętrznej błony mitochondrialnej (MOMP). Indukcja MOMP stymulowana jest poprzez liczne czynniki proapoptotyczne. W następstwie MOMP uwalniany jest cytochrom c i inne białka aktywne proapoptotycznie, zapoczątkowujące kaskadę kaspaz, efektem czego jest kontrolowana śmierć komórki. Drugim istotnym punktem na szlaku mitochondrialnej apoptozy jest MPT, czyli mitochondrialna przepuszczalność przez otwarte pory błony wewnętrznej. Pomimo tego, że MPT związane jest głównie z nekrozą, pełni również ważną rolę w procesie apoptozy [19].

Związki złota o selektywnej aktywności wobec mitochondrium

Innowacyjnym podejściem w leczeniu chorób nowotworowych jest wykorzystanie zdelokalizowanych lipofilowych kationów (DLC), które, napędzane błonowym potencjałem



Rycina 2. Struktury N-heterocyklicznych karbenów złota(I) — $[[((i\text{-Pr})_2\text{Im})_2\text{Au}]^+ \text{Cl}^-$ (1), $[[((n\text{Pr})_2\text{Im})_2\text{Au}]^+ \text{Br}^-$ (2), $[[((\text{Et})_2\text{Im})_2\text{Au}]^+ \text{Br}^-$ (3) [20]

mitochondriów ($\Delta\psi_m$) wygenerowanym w łańcuchu oddechowym, z łatwością przechodzą przez lipidowe bariery organelli i kumulują się w mitochondriach. Zaobserwowano, że DLC selektywnie koncentrują się w mitochondriach komórek nowotworu ze względu na charakterystyczny dla tych komórek zwiększony potencjał błonowy i powodują indukcję procesu apoptozy [20]. Liczne kompleksy złota(I) z N-heterocyklicznymi karbenami (NHC) wykazują złożony mechanizm działania nakierowany na mitochondria. Działają poprzez selektywną akumulację w mitochondriach nowotworu, jak również selektywną inhibicję reduktazy tioredoksyny. Badane związki — $[[((i\text{-Pr})_2\text{Im})_2\text{Au}]^+ \text{Cl}^-$, $[[((n\text{-Pr})_2\text{Im})_2\text{Au}]^+ \text{Br}^-$, $[[((\text{Et})_2\text{Im})_2\text{Au}]^+ \text{Br}^-$ (gdzie: i-Pr — izo-propyl, n-Pr — n-propyl, Et — etyl) (ryc. 2) wykazują optymalną lipofilowość, która koreluje z ukierunkowanym działaniem na ścieżki mitochondrialne apoptozy. Kompleksy te w badaniach wykazały selektywne działanie wobec linii komórkowych MDA-MB-231 i MDA-MB-468 nowotworu piersi, jednocześnie nie wywierając wpływu na komórki zdrowe (HMEC). Związek $[[((i\text{-Pr})_2\text{Im})_2\text{Au}]^+ \text{Cl}^-$ dzięki umiarkowanej lipofilowości wykazywał optymalną selektywność i cytotoksyczność wobec komórek nowotworowych i jako najbardziej obiecujący wszedł do kolejnej fazy testów [20].

Reduktaza tioredoksyny jako „tarcza” dla leków przeciwnowotworowych

Białka o charakterze enzymatycznym — tioredoksyna (Trx), reduktaza tioredoksyny (TrxR) oraz NADPH pozyskiwane w cyklu pentozofosforanowym stanowią układ tioredoksyny, który bierze udział we wszelkich procesach kontrolowanych przez reakcje redox. Z tego względu układ ten obecny jest w niemal każdej żywej komórce [21]. Przy udziale sprawnego układu Trx-TrxR przebiega wiele istotnych szlaków biochemicznych oraz procesów fizjologicznych. Układ ten jest kofaktorem syntezy DNA, pełni istotną funkcję w powstawaniu deoksyrybonukleotydów — podstawowej jednostki strukturalnej DNA niezbędnej do proliferacji komórek. Zasadniczą rolę omawianego układu jest ochrona komórki przed reaktywnymi formami tlenu i zabezpieczenie

jej przed zaprogramowaną śmiercią [22]. Tiodredoksyna dostarcza elektrony niezbędne do redukcji rybozy poprzez reduktazę rybonukleotydów. Prawdopodobnie poprzez wpływ na wzmożoną produkcję cytokin (np. interleukin IL-1 oraz IL-2, ale również TNF α) i spotęgowanie aktywności czynnika wzrostu stymuluje proliferację komórek [23]. Stymuluje także aktywność wielu czynników transkrypcji i zwiększa aktywność wiązania z DNA, między innymi NF- κ B, AP-1 i AP-2 [23]. Liczna grupa czynników transkrypcyjnych wymaga redukcji poprzez tiodredoksyny przed związaniem z DNA, tym sposobem reduktory tiolowe pełnią istotną funkcję kontroli sygnałowych szlaków redox [19]. Dodatkowo zredukowana forma Trx1 (cytozolowa) wiąże się z wieloma białkami komórkowymi i dzięki temu reguluje ich aktywność biologiczną. Tiodredoksyna wiąże się z sygnałową kinazą regulującą apoptozę (ASK1), która ma za zadanie aktywować JNK, a następnie szlak kinaz MAP oraz jest niezbędna do wywołania apoptozy zależnej od TNF. Wiąże miejsce aktywne N-końca ASK1, przez co wywołuje inhibicję kinazy i blokuje indukcję procesu apoptozy zależnej od ASK1 [23].

W związku z aktywnością układu Trx-TrxR w wielu procesach biochemicznych uczestniczy on również w kancerogenezie. Bierze udział w procesach proliferacji, wzrostu komórek oraz hamowaniu apoptozy [22].

Udowodniono, że — w porównaniu z komórkami prawidłowymi — komórki nowotworowe wykazują zmieniony metabolizm. Najczęściej dochodzi do zaburzenia metabolizmu glukozy i zachwiania jego równowagi z oddychaniem komórkowym ze względu na wzmożoną glikolizę i aktywność cyklu pentozofosforanowego. NADPH, powstały w cyklu przemiany pentoz, stanowi źródło równoważników redukujących dla rozkładu hydroperoksydaz zależnego od glutationu poprzez system peroksydaza/glutation lub Trx — poprzez układ peroksydaza Trx/Tr [24]. Efektem tego jest podwyższenie poziomu Trx w komórkach nowotworowych charakteryzujących się znaczną agresywnością i wysokim prawdopodobieństwem wystąpienia przerzutów [22]. Ekspresja Trx jest zwiększona w nowotworach złośliwych płuc, jelita grubego, wątroby i trzustki. Związek między aktywnością TrxR i wzrostem nowotworu nie jest jeszcze do końca poznany [23].

Badania dowodzą, że tiodredoksyna jest jednym z czynników oporności komórkowej. Związek Trx z opornością na cisplatynę stwierdzono między innymi w badaniach prowadzonych na liniach komórkowych raka jajnika oraz komórkach białaczki z wewnątrzkomórkowym wzrostem poziomu Trx1. Również w przypadku raka wątroby ze zwiększonym stężeniem Trx1 w komórkach zauważalna jest mniejsza wrażliwość na leczenie cisplatyną [23].

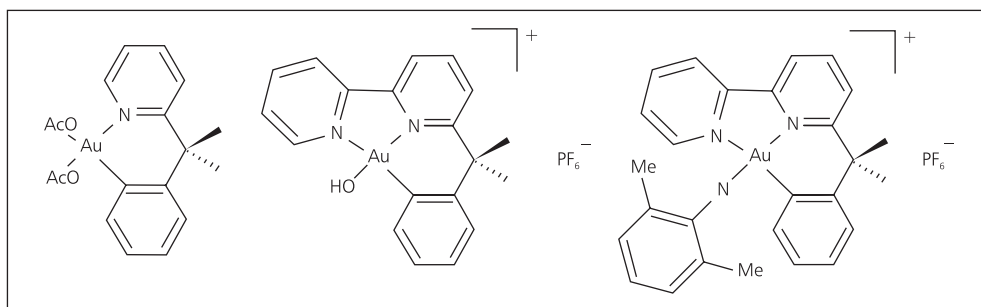
Kompleksy złota jako inhibitory mitochondrialnej reduktazy tiodredoksyny

Badania nad kompleksami złota(I) — auranofiną oraz (Et₃P)AuCl (Et₃P — trietylofosfina) wykazały wpływ tych

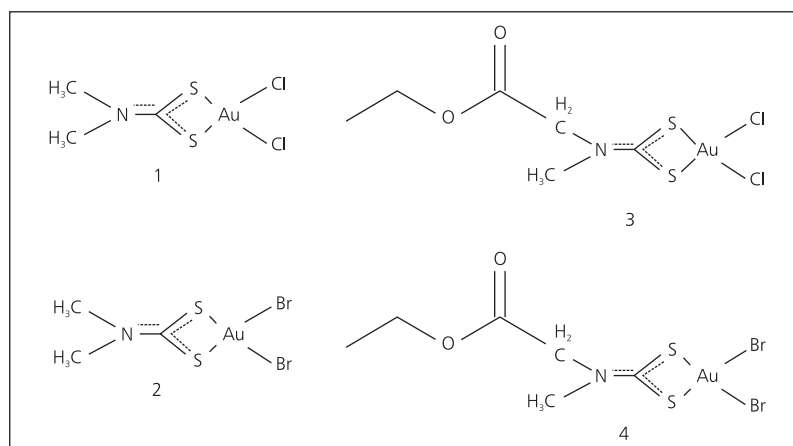
związków na funkcjonowanie mitochondriów. Mechanizm ich działania związany jest głównie z indukcją apoptozy. Submikromolowe stężenia auranofiny indukują otwarcie porów błony mitochondrialnej i wzrost przepuszczalności, co jest obserwowane jako puchnięcie mitochondriów i utrata potencjału błonowego. Zmiany przepuszczalności błony następowały przy stężeniach ściśle związanych z selektywną inhibicją mitochondrialnej TrxR, modyfikacjami łańcucha transportu elektronów w mitochondrium lub inhibicją reduktazy glutationowej [19]. Kluczowym czynnikiem w kontroli potencjału błonowego mitochondrium jest stopień utlenienia tioli, na który istotnie wpływa układ Trx-TrxR. Zaobserwowano, że (Et₃P)AuCl i aurotiomaleinian w stężeniach submikromolowych są również silnymi inhibitorami mitochondrialnej reduktazy tiodredoksyny, jednak słabszymi od auranofiny. Auranofina — poprzez inhibicję TrxR — powoduje, że utleniona przez białka forma Trx nie zostaje zredukowana do formy aktywnej. Utleniona tiodredoksyna prowadzi do otwarcia porów wewnątrz membrany lub do wzrostu przepuszczalności zewnętrznej błony, uwalniając czynniki apoptotyczne [19].

Obiecujące w terapii przeciwnowotworowej wydają się również karbenowe kompleksy złota(II) o wzorze ogólnym NHC-Au-L (gdzie L = 2-merkaptopirymidyna, NHC = N-heterocykliczny karben). Właściwości antyproliferacyjne tych związków zostały zbadane na liniach komórkowych ludzkiego nowotworu jajnika, wrażliwych (A2780S) i opornych (A2780R) na działanie cisplatyny. Wykonano również testy aktywności w stosunku do komórek zdrowych (HEK-293T). Z przeprowadzonych badań wynika, że związki te wykazują działanie cytotoksyczne i wysoką aktywność w stosunku do komórek opornych na działanie cisplatyny. Nie zaobserwowano natomiast dużego wpływu kompleksów na komórki zdrowe. Ponadto połączenia te są inhibitorami cytozolowej (TrxR1) oraz mitochondrialnej (TrxR2) reduktazy tiodredoksyny, co wskazuje na prostą korelację pomiędzy cytotoksycznością a inhibicją TrxR w komórkach nowotworowych. Prawdopodobny mechanizm działania powyższych kompleksów obejmuje bezpośrednią koordynację atomu metalu z selenocysteiną w miejscu aktywnym enzymu [25].

Badaniom aktywności przeciwnowotworowej poddane zostały również kompleksy złota(III) z pochodnymi 2'2-bipirydyny jako ligandami (ryc. 3). Wcześniejsze badania [26] dowiodły, że oddziaływania związków złota(III) z DNA są stosunkowo słabe, co dowodzi, że kwasy nukleinowe nie są głównym miejscem ich aktywności. Wśród tej grupy kompleksów badano ich wpływ na funkcje mitochondrium oraz zdolność hamowania mitochondrialnej reduktazy tiodredoksyny [27]. Związki te prowadziły do indukcji MPT (*mitochondrial permeability transition*) w izolowanych mitochondriach, jednocześnie nie oddziałując na mitochondrialny łańcuch oddechowy. Ponadto badane kompleksy okazały się silnymi inhibitorami TrxR. W komórkach nowotworu jajnika A280,



Rycina 3. Wybrane kompleksy złota(III) jako inhibitory reduktazy tioredoksyny [19]



Rycina 4. Pochodne ditiokarbaminianów złota(III): [Au(DMDT)Cl₂] (1), [Au(DMDT)Br₂] (2), [Au(ESDT)Br₂] (3), [Au(ESDT)Cl₂] (4) [13]

poddanych ich działaniu, zauważono większe natężenie apoptozy w porównaniu z komórkami poddanymi działaniu cisplatyny. Związki te modyfikują cykl komórkowy w niewielkim stopniu, dlatego też zaproponowano mitochondrialny mechanizm procesu apoptozy poprzez selektywną inhibicję TrxR [19, 28].

Proteasom celem działania ditiokarbaminianów złota(III)

Kolejną grupą związków złota wykazującą *in vitro* i *in vivo* znakomite właściwości przeciwnowotworowe i zredukowaną systemową toksyczność w porównaniu z cisplatyną są kompleksy złota(III) z pochodnymi ditiokarbaminianu [29]. Wybrane z tej grupy związki: [Au(DMDT)Cl₂] (1), [Au(DMDT)Br₂] (2), [Au(ESDT)Cl₂] (3), [Au(ESDT)Br₂] (4) (gdzie: DMDT — N,N – dimetyloditiokarbaminian, ESDT — etylosarkozynoditiokarbaminian) (ryc. 4) poddano badaniom na ludzkich liniach komórek nowotworowych, które wykazały większą cytotoxyczność kompleksów oraz mniejszą oporność komórek w porównaniu z cisplatyną [30, 31]. Związki te w roztworze ulegają szybkiej hydrolizie, jednak metal zachowuje swój stopień utlenienia. W przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że wchodzi one w interakcje z DNA, jednak nie jest to ich podstawowe miejsce działania, a mechanizm

oddziaływań jest dalece odmienny od tego, który charakteryzuje cisplatynę. Aktywność [Au(DMDT)Br₂] w nienaruszonych komórkach MDA-MB-231 została potwierdzona zwiększonym poziomem białek na szlaku ubiquityny oraz białka P27. Powyższe obserwacje dowodzą, że związek ten wykazuje *in vivo* bezpośrednią, ukierunkowaną aktywność wobec nowotworowego proteasomu [13]. Dodatkowo rozważa się stymulację produkcji wolnych rodników tlenowych przez działanie kompleksu (2), co prowadzi do procesów utleniania i inaktywuje aktywność proteasomu [19]. Badania *in vivo* nie wykazały efektów toksycznych, nie zaobserwowano utraty wagi, obniżonej aktywności czy anoreksji u myszy doświadczalnych. Strategia celowanej aktywności kompleksów złota wobec proteasomu wymaga jeszcze wielu badań, ale stanowi obiecujący trend w rozwoju nowych przeciwnowotworowych leków z niską toksycznością. Jest to cenne odkrycie ze względu na odmienne miejsce działania tych związków w porównaniu ze stosowanymi kompleksami platyny, dające szansę na wyeliminowanie procesu przerzutowania oraz typowych działań niepożądanych [13].

Złoto w nanotechnologii

Rozwój nanotechnologii powoduje, że coraz większe znaczenie zyskuje złoto w postaci „nano”. Z punktu widzenia

medycyny szczególne znaczenie mają nanocząsteczki złota (AuNPs) w diagnostyce i terapii chorób nowotworowych. Ze względu na unikalne właściwości wchodzą one między innymi w skład elektrochemicznych i amperometrycznych biosensorów używanych w diagnostyce medycznej [32]. Połączenie nanozłota z kalsekwestryną (CSQ, białkiem zdolnym do odwracalnego wiązania dużej ilości jonów wapnia) znalazło zastosowanie w oznaczaniu poziomu jonów wapnia w surowicy. Kalsekwestryna pod wpływem wiązania dużych ilości Ca^{2+} ulega zmianom konformacyjnym i polimeryzacji, które skutkują wyraźną zmianą barwy oraz strąceniem agregatów CSQ. Reakcja ta jest specyficzna dla jonów wapnia. Ponieważ jego nieprawidłowy poziom w organizmie może prowadzić do wielu schorzeń, w tym nowotworów złośliwych, łatwe i szybkie oznaczenie tych jonów we krwi jest niezwykle istotne [33]. Nanocząsteczki złota mogą odegrać duże znaczenie również jako nowe środki kontrastowe w diagnostyce obrazowej. Stosowane obecnie w tomografii komputerowej kontrasty oparte na małowadnych związkach jodu mogą być nefrotoksyczne, a ich małe rozmiary determinują krótki czas obrazowania. Powyższe problemy mogą być wyeliminowane poprzez czynniki kontrastowe oparte na nanocząsteczkach złota. Cząsteczki nanozłota modyfikowane chitozaniem glikolowym (GC) i sprzężone z MMP (*matrix metalloprotein*) wykazywały wysoką stabilność fizjologiczną i skutecznie akumulowały się w komórkach nowotworowych, co pozwoliło na bardzo dokładną detekcję chorobowo zmienionych tkanek zarówno metodą TK, jak i obrazowania optycznego. Układ $[\text{Fe}_3\text{O}_4]\text{-Au-Poly(DMA-r-mPEGMA-r-MA)}$ dzięki obecności nanozłota oraz tlenku żelaza umożliwia rejestrację obrazu metodą TK, jak również rezonansu magnetycznego. Dożyłne podanie tej nanocząstki myszom z nowotworem wątroby skutkowało otrzymaniem dużego kontrastu pomiędzy komórkami nowotworowymi a normalnymi tkankami w obu metodach obrazowych [34].

Unikalne właściwości chemiczne i fizyczne nanocząsteczek złota umożliwiają wykorzystanie tego metalu jako nośnika leków. Systemy dostarczania leków do tkanek chorobowo zmienionych oparte na nanocząsteczkach złota mają duże znaczenie ze względu na większą skuteczność terapeutyczną (wzrasta ilość leku w tkankach celowanych) oraz mniejsze efekty uboczne (ograniczenie ilości leku w zdrowych tkankach). Ponadto systemy dostarczania leków zwiększają stabilność leku, wpływają na jego biodostępność oraz rozpuszczalność [34, 35]. Nanocząstki złota są stabilne i nietoksyczne, co powoduje, że nie następuje ich rozkład podczas transportu, a zatem są bezpieczne dla komórek prawidłowych. Przyłączenie leku, przeciwciała lub innego czynnika wektorowego (który zapewni dostarczenie leku w określone miejsce) do AuNPs następuje poprzez tworzenie wiązań kowalencyjnych grup tiolowych lub połączeń niekowalencyjnych z wybranym fragmentem nośnika,

a następnie uwolnienie leku w pożądanym miejscu [36–38]. Rozpuszczalny w wodzie nanokonjugat oparty na modyfikowanych glikolem polietylenowym AuNPs i związanym niekowalencyjnie Pc4 (silikon ftalocyjaninowy 4) ma długi czas cyrkulacji we krwi, przez co — poprzez pasywną akumulację — może dostarczać hydrofobowe leki skutecznie i głęboko do komórek nowotworowych. Przeprowadzone badania pokazały, że iniekcja układu powodowała nekrozę komórek nowotworowych i zmniejszenie rozmiarów guza [39]. Oksaliplatyna, pochodna cisplatyny, lek III generacji, stosowana jest w monoterapii lub terapii skojarzonej głównie w leczeniu nowotworów jelita grubego. Jednak wysoka neurotoksyczność, wywoływane nudności i wymioty ograniczają jej zastosowanie. W celu udoskonalenia systemu dostarczania tego leku przyłączono oksaliplatynę do konjugatu PEG-GNPs. Testy przeprowadzone w stosunku do różnych linii komórek nowotworowych jelita grubego dowiodły, że konjugat GNPs-oksaliplatyna wykazuje około 6-krotnie wyższą skuteczność w porównaniu z niezwiązaną oksaliplatyną [34].

Nanocząsteczki złota mogą znaleźć również zastosowanie w terapii genowej. Obecnie wykorzystywane w tej metodzie terapeutycznej wektory wirusowe są bardzo skuteczne, jednak ich stosowanie jest dyskusyjne ze względu na wysoką cytotoxycyzość i immunogenność. Systemy dostarczania plazmidów DNA oraz siRNA do komórek nowotworowych oparte na nanocząsteczkach złota stanowią alternatywę dla wirusów. Badane były układy, w których nośnikami siRNA były poli(β -amino estry) osadzone na nanocząsteczkach złota. Układ ten sprawdzał się jako system ochronny kwasów nukleinowych przed degradacją podczas uwalniania w komórce, a ponadto może być wykorzystany w celu ułatwienia wewnątrzkomórkowych ruchów ujemnie naładowanych molekuł związanych z lekami czy genami poprzez kompleksowanie z dodatnio naładowanymi poli(β -amino estrami) [40].

Podsumowanie

Kompleksy metali mają coraz większe znaczenie w diagnostyce i terapii wielu schorzeń. Ze względu na swoją budowę i właściwości wiele z tych związków wykazuje wysoką aktywność przeciwnowotworową, przeciwzapalną oraz przeciwbakteryjną. Mechanizmy działania potencjalnych leków zawierających w swym składzie jon metalu nie są do końca jasne. Ostatnie doniesienia mówią, że kompleksy metali mogą działać jako specyficzne inhibitory proteasomu i aktywatory apoptozy. W związku z tym, że komórki nowotworowe w większym stopniu niż komórki zdrowe są uzależnione od szlaku ubikwityna-proteasom, inhibicja proteasomu może prowadzić do ich selektywnej apoptozy. Obok kompleksów złota, również kompleksy miedzi wydają się bardzo obiecującymi czynnikami przeciwnowotworowymi, gdyż ostatnie prace nad tymi związkami doprowadziły

do powstania strategii celowanego wzrostu poziomu miedzi w komórce nowotworowej, mającej na celu inhibicję proteasomu i indukację apoptozy.

Te pozytywne wyniki badań dają nadzieję na opracowanie nowych leków, których działanie, dzięki nieklasycznym miejscom aktywności, będzie bardziej selektywne, a co za tym idzie, mniej toksyczne. Przyszłość chemioterapii związana jest głównie z badaniami nowych, potencjalnych tarcz dla leków przeciwnowotworowych, ich wychwytu przez komórki i biodostępności. Udoskonalenie najważniejszych parametrów farmakokinetycznych nowych cytostatyków na bazie metalu jest gwarancją ich potencjalnego klinicznego sukcesu.

Dr Urszula Śliwińska-Hill

Katedra i Zakład Chemii Analitycznej
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich
ul. Borowska 211A, 50–566 Wrocław
e-mail: urszula.sliwinska-hill@am.wroc.pl

Otrzymano: 21 lutego 2013 r.

Przyjęto do druku: 11 kwietnia 2013 r.

Piśmiennictwo

- Shuklaa R, Chanda N, Zambre A i wsp. Laminin receptor specific therapeutic gold nanoparticles (198AuNP-EGCG) show efficacy in treating prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 31: 12426–12431.
- Zhang CX, Lippard SJ. New metal complexes as potential therapeutics. *Curr Opin Chem Biol* 2003; 7: 481–489.
- Bergamo A, Sava G. Ruthenium complexes can target determinants of tumour malignancy. *Dalton Trans* 2007; 1267–1272.
- Antonarakis E, Emadi A. Ruthenium-based chemotherapeutics: are they ready for prime time? *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 66: 1–9.
- Porchia M, Benetollo F, FR i wsp. Synthesis and structural characterization of copper(I) complexes bearing N methyl-1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane (mPTA). Cytotoxic activity evaluation of a series of water soluble Cu(I) derivatives containing PTA, PTAH and mPTA ligands. *J Inorg Biochem* 2009; 103: 1644–1651.
- Galal S, Hegab K, Kassab A i wsp. New transition metal ion complexes with benzimidazole-5-carboxylic acid hydrazides with antitumor activity. *Eur J Med Chem* 2009; 44: 1500–1508.
- Sathisha M, Shetti U, Revankar V i wsp. Synthesis and antitumor studies on novel Co(II), Ni(II) and Cu(II) metal complexes of bis(3 acetyl coumarin)thiocarbohydrazone. *Eur J Med Chem* 2008; 43: 2338–2346.
- Ware DC, Brothers PJ, Clark GR i wsp. Synthesis, structures and hypoxia-selective cytotoxicity of cobalt(III) complexes containing tridentate amine and nitrogen mustard ligands. *J Chem Soc, Dalton Trans* 2000; 925–932.
- Reisner E, Arion V, Keppler B i wsp. Electron-transfer activated metal-based anticancer drugs. *Inorg Chim Acta* 2008; 361: 1569–1583.
- Failes T, Cullinane C, Diakos C i wsp. Studies of a cobalt(III) complex of the MMP inhibitor marimastat: a potential hypoxia-activated prodrug. *Chem Eur J* 2007; 13: 2974–2982.
- Śliwińska U, Pruchnik F, Pelińska I i wsp. Synthesis, structure and antitumor activity of [RhCl₃(N–N)(DMSO)] polypyridyl complexes. *J Inorg Biochem* 2008; 102: 1947–1951.
- Śliwińska U, Pruchnik F, Ulaszewski S i wsp. Properties of m5-pentamethylcyclopentadienyl rhodium(III) and iridium(III) complexes with quinolin-8-ol and their cytostatic activity. *Polyhedron* 2010; 29: 1653–1659.
- Chen D, Milacic V, Frezza M i wsp. Metal complexes, their cellular targets and potential for cancer therapy. *Curr Pharm Des* 2009; 15: 777–791.
- Wang Y, Chiu Y. Proteomic approaches in understanding action mechanisms of metal-based anticancer drugs. *Metal-Based Drugs* 2008; 1–9.
- Simon TM, Kunishima DH, Vibert GJ i wsp. Cellular antiproliferative action exerted by Auranofin. *J Rheumatol* 1979; 6 (Suppl 5): 91–97.
- Simon TM, Kunishima DH, Vibert GJ i wsp. Inhibitory effects of a new oral gold compound on HeLa cells. *Cancer* 1979; 44: 1965–1975.
- Kostova I. Gold coordination complexes as anticancer agents. *Anticancer Agents Med Chem* 2006; 6: 19–32.
- Farrell N. Biomedical uses and applications of inorganic chemistry. An overview. *Coord Chem Rev* 2002; 232: 1–4.
- Barnard PJ, Berners-Price SJ. Targeting the mitochondrial cell death pathway with gold compounds. *Coord Chem Rev* 2007; 251: 1889–1902.
- Hickey JL, Ruhayel RA, Barnard PJ i wsp. Mitochondria-targeted chemotherapeutics: the rational design of gold(II) n-heterocyclic carbene complexes that are selectively toxic to cancer cells and target protein selenols in preference to thiols. *J Am Chem Soc* 2008; 130: 12570–12571.
- Arnér ESJ, Holmgren A. The thioredoxin system in cancer. *Seminars in Cancer Biology* 2006; 6: 420–426.
- Szokalska A. Układ tioredoksyna-reduktaza tioredoksyny jako nowy cel terapii przeciwnowotworowych. *Postepy Biol Komorki* 2008; 3: 391–402.
- Biaglow JE, Miller RA. The Thioredoxin reductase/thioredoxin system. *Canc Biol Ther* 2005; 1: 6–13.
- Smart DK, Ortiz KL, Mattson D i wsp. Thioredoxin reductase as a potential molecular target for anticancer agents that induce oxidative stress. *Cancer Res* 2004; 64: 6716–24.
- Schuh E, Pflüger C, Citta A i wsp. Gold(II) carbene complexes causing thioredoxin 1 and thioredoxin 2 oxidation as potential anticancer agents. *J Med Chem* 2012; 55: 5518–5528.
- Messori L, Marcon G. Gold complexes as antitumor agents. *Metal Ions in Biological Systems* 2004; 42: 385–424.
- Rigobello MP, Messori L, Marcon G i wsp. Gold complexes inhibit mitochondrial thioredoxin reductase: consequences on mitochondrial functions. *J Inorg Biochem* 2004; 98: 1634–1641.
- Coronnello M, Mini E, Caciagli B i wsp. Mechanisms of cytotoxicity of selected organogold(III) compounds. *J Med Chem* 2005; 48: 6761–6765.
- Márta E, Ronconi L, Nardon C i wsp. Noble metal-dithiocarbamates precious allies in the fight against cancer. *Mini-Rev Med Chem* 2012; 12: 1216–1229.
- Cattaruzza L, Fregona D, Mongiat M i wsp. Antitumor activity of gold(III)-dithiocarbamate derivatives on prostate cancer cells and xenografts. *Int J Cancer* 2011; 1: 206–215.
- Marzano C, Ronconi L, Chiara F i wsp. Gold(III)-dithiocarbamate anticancer agents: Activity, toxicology and histopathological studies in rodents. *Int J Cancer* 2011; 2: 487–494.
- Zhuo Y, Yuan R, Chai Y i wsp. A reagentless amperometric immunosensor based on gold nanoparticles/thionine/Nafion-membrane-modified gold electrode for determination of α -1-fetoprotein. *Electrochem Commun* 2005; 7: 355–360.
- Kim S, Park JW, Kim D i wsp. Bioinspired colorimetric detection of calcium(II) ions in serum using calsequestrin-functionalized gold nanoparticles. *Angew Chem Int Ed Engl* 2009; 48: 4138–4141.
- Kim D, Jon S. Gold nanoparticles in image-guided cancer therapy. *Inorg Chim Acta* 2012; 393: 154–164.
- Li Q, Guo D, Zhang R i wsp. Increasing anticancer drug internalization induced by new Au-MWCNTS nanocomposite. *J Nanosci Nanotechnol* 2012; 3: 2192–2198.
- Lu F, Doane TL, Zhu JJ i wsp. Gold nanoparticles for diagnostic sensing and therapy. *Inorg Chim Acta* 2012; 393: 142–153.
- Ponyala NR, Pena-Mendez EM, Havel J. Gold and nano-gold medicine: overview, toxicology and perspectives. *J Appl Biomed* 2009; 7: 75–91.
- Botella P, Ortega I, Quesada M i wsp. Multifunctional hybrid materials for combined photo and chemotherapy of cancer. *Dalton Trans* 2012; 31: 9286–9296.
- Cheng Y, Meyers JD, Broome AM i wsp. Deep penetration of a PDT drug into tumors by noncovalent drug-gold nanoparticle conjugates. *J Am Chem Soc* 2011; 133: 2583–2591.
- Lee JS, Green JJ, Love KT i wsp. Gold, poly(β -amino ester) nanoparticles for small interfering rna delivery. *Nano Lett* 2009; 9: 2402–2406.