

UNIVERSITATEA "BABEȘ-BOLYAI" CLUJ-NAPOCA

FACULTATEA DE FIZICĂ

SPECIALIZAREA FIZICĂ MEDICALĂ

LUCRARE DE LICENȚĂ

Coordonator științific

Conf. Dr. Monica Foçșan

Absolvent

Rusu Cătălina Ioana

[2024]

UNIVERSITATEA "BABEȘ-BOLYAI" CLUJ-NAPOCA

FACULTATEA DE FIZICĂ

SPECIALIZAREA FIZICĂ MEDICALĂ

LUCRARE DE LICENȚĂ

Nanoparticule de aur

Sinteză, caracterizare și funcționalizare

Coordonator științific

Conf. Dr. Monica Foșan

Absolvent

Rusu Cătălina Ioana

[2024]

Abstract

The medical field is in a constant evolution process, marked by the development of new methods and techniques. In recent years, researchers have been exploring nanotechnology in biomedical applications, especially for therapy and diagnostics. This work is also based on the study in the field of nanotechnology, as it involves the synthesis, characterization, and functionalization of spherical gold nanoparticles. To begin with, I successfully obtained the colloidal gold nanoparticles by two different methods of synthesis, i.e., the well-known Turkevich method, in which they are reduced and stabilized by sodium citrate, and yet another more complex one, in which they are stabilized by cetrimonium chloride (CTAC) surfactant. The reason for using these syntheses is to obtain spherical gold nanoparticles with different covering surface areas. The method in which the nanoparticles are synthesized by CTAC brings the possibility to modulate the plasmonic resonance between 524 nm and 600 nm and implicitly their diameter. The characterization of the nanoparticles was performed both optically by UV-Vis-NIR extinction spectroscopy, Dynamic Light Scattering (DLS) and zeta potential measurements, and morphologically by Transmission Electron Microscopy (TEM).

Once I had successfully synthesized the spherical gold nanoparticles, I followed a functionalization protocol to attach different biological agents, i.e, avastin drug, bovine serum albumin (BSA) and poly A, to their surfaces. Avastin was chosen because of its properties. It is used as a cancer treatment and also to treat diabetic rethropathy. The purpose of functionalising AuNPs with avastin was for targeted delivery of the drug. BSA was used because it has structures similar to body proteins. The purpose of functionalization was to achieve biocompatibility. Poly A is part of the DNA strand and due to its properties, I used AuNPS conjugated to poly A for further use in biodetection applications. This is followed by an optical analysis of the spectra obtained for the free-state functionalizing agent, the non-functionalized AuNPs and the functionalized AuNPs. The recorded red shift of the plasmonic band after the Au surface grafting in tandem with the increase of the hydrodynamic diameter and the charge of the electrical surface, confirm the success of the functionalization protocol employed and, implicitly, the possibility of the further translation of these new hybrid bionanosystems in future medical applications.

Cuprins

Introducere	6
Capitolul I: Introducere în nanoștiință și a nanotehnologie	8
I.1 Istoria nanoștiinței și nanotehnologie	8
I.2 Nanoparticulele de aur	9
I.2.1 Metode de sinteză ale Nanoparticulelor de aur	10
I.2.2 Proprietățile Nanoparticulelor de aur	11
I.2.3 Rezonanța plasmonică localizată de suprafață	12
I.3 Funcționalizarea Nanoparticulelor de aur	13
I.3.1 Funcționalizarea Nanoparticulelor de aur cu medicamente	14
I.3.2 Funcționalizarea Nanoparticulelor de aur cu proteine	17
I.3.3 Funcționalizarea Nanoparticulelor de aur cu aptameri	19
I.4 Aplicațiile Nanoparticulelor de aur	20
Capitolul II: Secțiune experimentală	24
II.1 Materiale	24
II.2 Metode	24
II.2.1 Sinteza de Nanoparticule de aur prin metoda Turkevich	24
II.2.2 Sinteza de Nanoparticule stabilizata de surfactantul CTAC	25
II.2.3 Funcționalizarea Nanoparticulelor de aur	26
II.3 Caracterizarea optică și morfologică	27
II.3.1 Măsurători de absorbție UV-Vis-NIR	27
II.3.2 Împrăștierea dinamică a luminii (DLS)	27
II.3.3 Potențialul Zeta	27
II.3.4 Microscopia electronică prin transmisie (TEM)	27
Capitolul III: Rezultate experimentale și discuții	29
III.1 Sinteza și caracterizarea Nanoparticulelor de aur	29
III.2 Funcționalizarea Nanoparticulelor	31
III.2.1 Funcționalizarea Nanoparticulelor de aur cu avastin	31

III.2.2 Funcționalizarea Nanoparticulelor de aur cu BSA	33
III.2.3 Funcționalizarea Nanoparticulelor de aur cu poly A.....	35
Concluzii finale și perspective viitoare	37
ANEXE	38
Bibliografie.....	46

Introducere

În ultimii ani, nanoparticulele de aur (AuNPs) au fost subiectul principal al mai multor direcții de cercetare, având un rol esențial în progresul științific, oferind numeroase avantaje datorită proprietăților lor unice, atât optice cât și morfologice. Acestea sunt ideale pentru detecție analitică și bioimagistică. Nanoparticulele (NPs) au o lungă istorie în utilizarea în aplicații terapeutice deoarece nu prezintă toxicitate. Capacitatea de a modifica forma și dimensiunea permite utilizarea lor în aplicații de terapie și în diagnosticul cancerului. Versatilitatea chimică a suprafeței, permite funcționalizarea AuNPs cu diverși agenți biomoleculari având o gamă largă de scopuri diferite, de la livrarea de medicamente, la agenți de contrast, biosenzoristică și biocompatibilitate.

Concret, în lucrarea de față dezvoltată în cadrul Institutul de Cercetări Interdisciplinare în Bio-Nano-Știință mi-am propus să sintetizez AuNPs prin două metode, prima fiind metoda Turkevich, în care AuNPs sunt stabilizate cu citrat de sodiu, iar a doua, și optimizată de către mine, în care acestea sunt stabilizate de surfactantul clorură de cetrimoniu (CTAC). AuNPs dețin o multitudine de proprietăți unice ce pot fi exploatare în cercetare. Eu m-am folosit de posibilitate de funcționalizare, pentru a putea atașa diverși bioagenți pe suprafața AuNPs cu scopul final al utilizării lor în aplicații biomedicale.

Astfel, primul pas a fost acela de a sintetiza într-o manieră reproductibilă AuNPs, prima dată prin metoda Turkevich, o metodă simplă și cunoscută, și prin stabilizare de CTAC. După sintetizarea cu succes și caracterizarea riguroasă a acestora, următorul pas a fost acela de a le funcționaliza suprafața cu medicamentul avastin, proteina BSA și aptamerul poly A.

Lucrarea este compusă din trei capitole. **Primul capitol** începe cu o prezentare a istorie domeniul nanoștiinței și a nanotehnologiei. Acesta oferă de asemenea informații generale despre AuNPs, proprietățile lor, evidențiind importanța formei și a dimensiunii acestora, deoarece influențează proprietățile lor fizice și chimice. În plus, este scoasă în evidență implicarea lor în dezvoltarea aplicațiilor biomedicale, focalizându-ne pe proprietatea de fi funcționalizate.

În capitolul al doilea am descris cele două protocoale de sinteză urmate pentru obținerea AuNPs, precum și protocolul de funcționalizare a acestora. Am prezentat de asemenea și tehnicile de caracterizare optică: spectroscopia de extincție UV-Vis-NIR, împrăștierea dinamică a luminii (*eng. Dynamic Light Scattering - DLS*) și măsurători de potențial zeta, iar pentru analiza

morfologică am utilizat microscopia electronică în transmisie (*eng. Transmission Electron Microscopy - TEM*).

Al treilea capitol constă în prezentarea rezultatelor experimentale obținute. Am caracterizat pentru început AuNPs obținute prin cele două metode de sintetizare și apoi am continuat cu analiza diferențelor care apar la nivel spectral în urma funcționalizării.

În ultima parte a lucrării sunt prezentate concluziile finale din urma rezultatelor obținute, precum și perspective de viitor ale lucrării.

Capitolul I: Introducere în nanoștiință și a nanotehnologie

I.1 Istoria nanoștiinței și nanotehnologie

Manipularea și controlul la scară nanometrică a interacțiunii luminii cu substanța reprezintă o provocare continuă a cercetătorilor în domeniul nanoștiințelor și nanotehnologiilor. Fenomenele optice bine cunoscute la scara macroscopică sunt departe de a fi pe deplin înțelese și mai ales exploatare și implementate tehnologic la scară nanometrică. De fapt, nanoclusteri, nanoparticule, etc. prezintă proprietăți fizico-chimice de natură electrică, magnetică, optică, catalitică, diferite sau complet noi în comparație cu structurile macroscopice. Noile proprietăți ale acestora sunt determinate în principal de efecte cuantice de dimensiune, efecte de suprafață, grad de organizare, interacțiuni, funcționalizare chimică sau biologică.

În acest context, nanoștiința și nanotehnologia sunt utilizate în diferite domenii, cum ar fi fizică, chimie, biologie și informatică. Nanotehnologia se ocupă cu formarea și studiul particulelor de dimensiuni foarte mici. Are diverse aplicații în medicină, în diagnostic și tratament, iar prin exploatarea proprietăților unice ale materialelor la scară nanometrică, acesta oferă soluții inovative atât pentru provocările tehnologice cât și pentru cele medicale.

Dezvoltarea unor noi metode de sinteză, au dus la posibilitatea de a crea noi structuri inovative la scară nano. Rădăcinile istorice ale prefixului „nano” provin din greaca veche și înseamnă „pitic”. Nanoștiința are la bază cercetarea particulelor cu dimensiuni cuprinse între 1-100 nm. Asupra acestora avem un control precis datorită proprietăților fizice și chimice [1].

Nanoștiința și nanotehnologia au fost într-un proces continuu de dezvoltare încă din perioada dacică, iar în prezent fac parte din cele mai promițătoare tehnologii, având capacitatea de a transforma în aplicații practice materialul teoretic. Rolul nanotehnologiei constă în analizarea lucrurilor foarte mici astfel încât să se poată profita de proprietățile noi, unice, și funcțiile datorate scării nanometrice [2].

În timpul Imperiului Roman, s-au produs și utilizat obiecte ce implică structuri nanometrice. Cupa Lycurgus din colecția Muzeului Britanic (**Figura I.1**), este un exemplu remarcabil al nanotehnologiei în lumea antică. Aceasta reprezintă una dintre cele mai vechi exemplare cunoscute, de sticlă dicromă, și prezintă două culori diferite în funcție de cum este iluminată. Analiza acestei cupe cu ajutorul microscopiei electronice de transmisie (TEM) a arătat că fenomenul este posibil datorită prezenței în structura sticlei a nanoparticulelor de argint-aur cu diametru de 50-100 nm [2].



Figura I.1 Cupa Lycurgus. Sticla este verde când lumina este reflectată (A) și roșie când lumina este transmisă (B) [2]

Un fenomen similar este și în cazul vitraliilor bisericilor, unde putem observa diferite culori, datorită prezenței nanoparticulelor de aur și argint în sticlă (**Figura I.2**) [2].

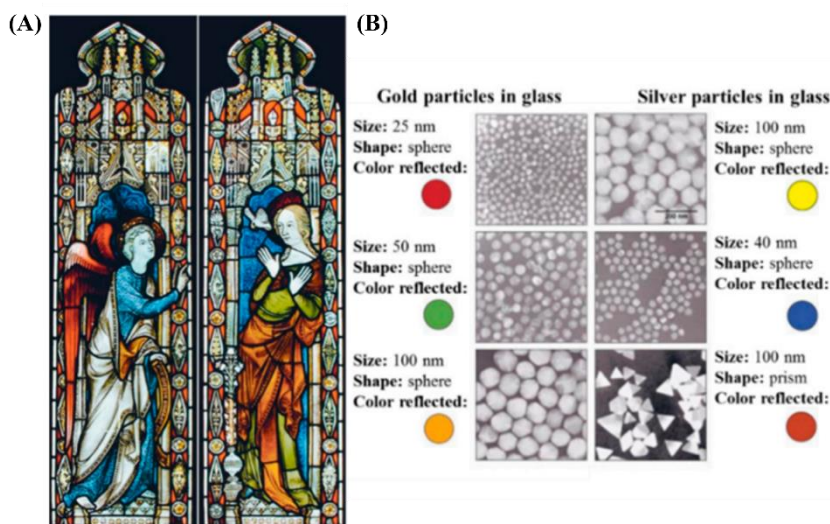


Figura I.2 Vitraliu în componența căruia se regăesc NPs plasmonice (A) dimensiunea și forma NPs plasmonice din componența sticlei (B) [2]

I.2 Nanoparticulele de aur

De-a lungul anilor, nanoparticulele precum cele magnetice (de oxid de fier), de aur sau argint au fost continuu utilizate și modificate cu succes pentru a fi implementate ca nanoagenți în diagnostic și terapie [3].

Dar, de un interes particular se bucură nanoparticulele de metale nobile, în special cele de aur. Acestea sunt biocompatibile sau pot fi ușor biocompatibilizate prin diferite legături chimice

specifice (de exemplu tiol sau amine). Mai mult, acestea interacționează specific cu lumina, iar lumina este cel mai non-invaziv semnal de biodetecție. În acest context, coloizii de aur sunt preferați înaintea altor tipuri de nanoparticule datorită faptului că sunt lipsiți de toxicitate (adică sunt biocompatibili) și pot forma complecși activi cu numeroase biomolecule /substrate biologice, având așadar aplicabilitate directă în aplicații medicale.

În cercetarea biomedicală se folosesc în special nanoparticule plasmonice, datorită proprietăților lor unice, precum dimensiunea la scară nanometrică controlabilă, stabilitatea la temperaturi ridicate, suprafață chimică versatilă, eficiența interacțiunii cu celulele, etc. De asemenea, proprietățile lor optice sunt remarcabile, acestea fiind utilizate în tehnici de imagistică avansate [4].

Nanoparticulele anorganice, față de cele organice, permit o tunabilitate a caracteristicilor optoelectronice prin manipularea formei și a dimensiunilor particulelor, ceea ce le face adecvate pentru o gamă variată de aplicații de interes [5].

În ceea ce privește AuNPs, dețin proprietăți optice extraordinare, stabilitate chimică remarcabilă precum și posibilitatea de a le funcționaliza cu succes. Gradul de toxicitate le-a consacrat ca fiind un prototip ideal pentru investigația unui spectru extins de fenomene [6]. În biomedicină, acestea sunt utilizate pentru livrarea țintită a medicamentelor și transferul precis al materialului genetic [4].

1.2.1 Metode de sinteză ale Nanoparticulelor de aur

AuNPs sunt importante datorită istoricului lor lung în aplicații terapeutice. Pentru sinteza acestora au fost dezvoltate o serie de tehnici diferite de sinteze biologice, fizice și chimice [7].

Numeroase cercetări au fost realizate pentru ca, prin intermediul diferitelor metode de sinteză dezvoltate, să se poată manipula și controla atât dimensiunea acestora, cât și forma; să crească stabilitatea și să existe posibilitatea funcționalizării suprafeței cu molecule relevante. O metodă accesibilă și performantă pentru obținerea AuNPs este sinteza chimică controlată. Coloizii de aur sunt ușor de preparat, lipsiți de toxicitate (adică biocompatibili) și pot forma diferiți complecși activi cu numeroase biomolecule de interes și substraturi biologice relevante. În funcție de agentul chimic folosit în reducerea sau stabilizarea acestora, dimensiunea și forma nanoparticulei poate varia de la 1 nm la 100 nm.

Cu acest scop, față de sinteza clasică de AuNPs sferice, au fost făcute progrese semnificative în sinteza NPs de forme diferite, precum nanobastonașe, nanocuburi, nanocelule, nanoprisme, nanotriunghiuri și nanohexagoane (**Figura I.3**) [8].

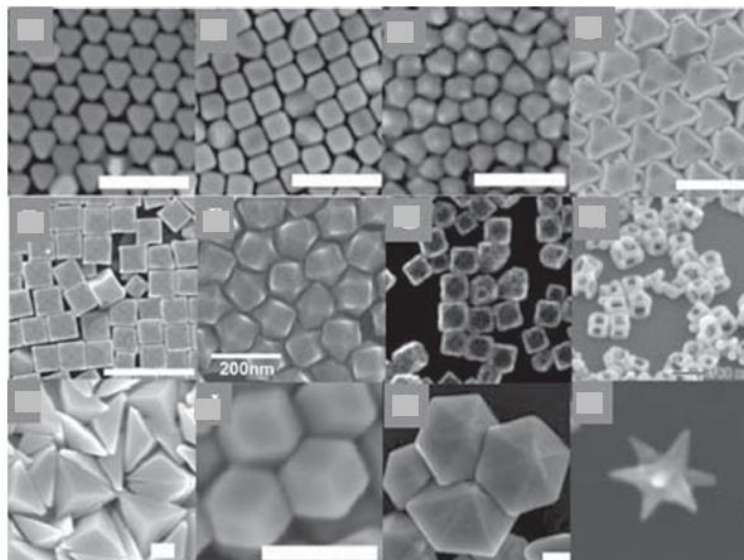


Figura I.3 Imagini de microscopie electronică de baleiaj ale unor AuNPs de diferite forme [8]

I.2.2 Proprietățile Nanoparticulelor de aur

AuNPs au proprietăți fizice și chimice unice, care sunt direct influențate de mărimea și forma lor. În cazul proprietăților fizice, în funcție de dimensiune și formă, diferă culoarea, densitatea, punctul de topire, rezistența mecanică și conductivitatea. Reactivitatea chimică a AuNPs este crescută datorită atomilor de la suprafață, în special colțuri și margini care au un număr redus de coordonare [8].

Lungimea de undă la care are loc răspunsul plasmonic este direct corelată cu dimensiunea și forma nanoparticulelor. Soluțiile coloidale pot avea o gamă de culori variată, de la maro și portocaliu, la roșu, violet și albastru, în funcție de mărimea nanoparticulelor sau starea de agregare (**Figura I.4**) [9].

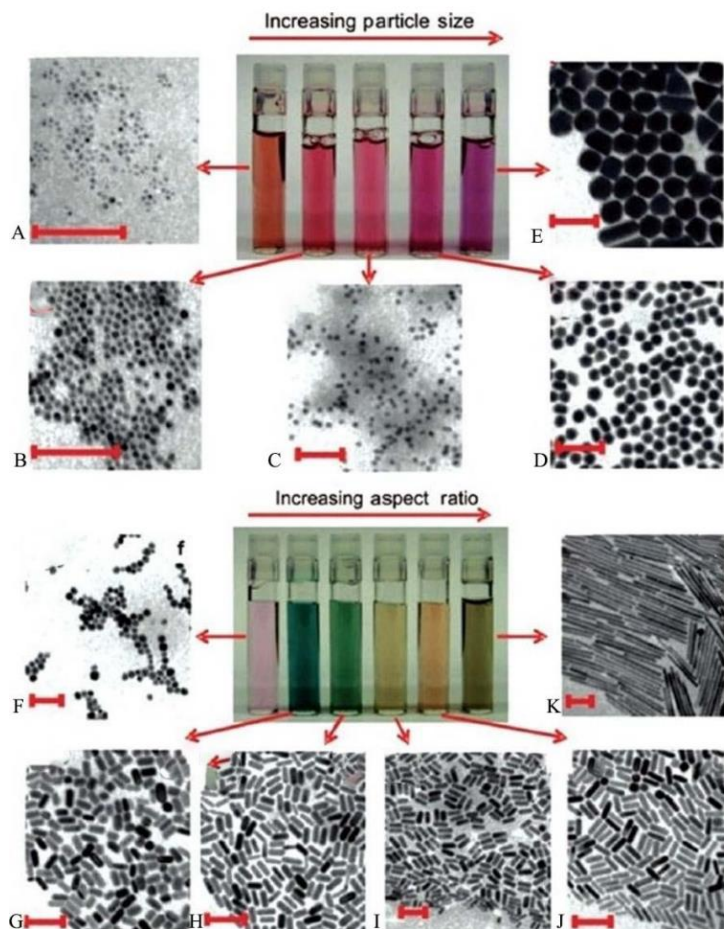


Figura I.4 Imagini digitale și imagini TEM reprezentative, achiziționate asupra AuNPs de diferite forme și dimensiuni. Dimensiunea și forma AuNPs este în corelare directă cu culoarea coloidală a acestora [9]

Proprietățile optice ale AuNPs le fac utile ca biomarker în diverse aplicații precum detectarea și imagistica [8]. De exemplu, s-au utilizat AuNPs funcționalizate cu epitopi antigenici scurți pentru detectarea anticorpilor IgG împotriva SARS-CoV-2 în plasma pacienților [10].

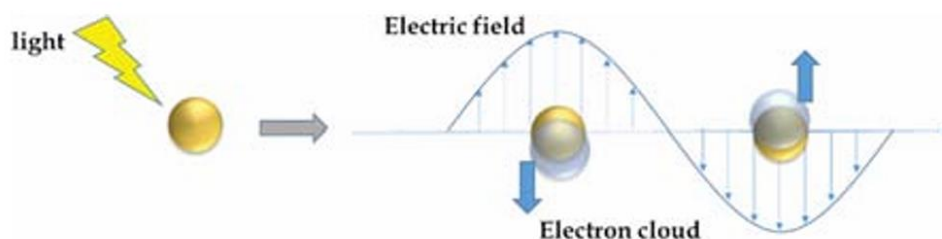
I.2.3 Rezonanța plasmonică localizată de suprafață

AuNPs sunt utilizate frecvent în domeniul senzorilor de rezonanță plasmonică localizată de suprafață (*eng. Localized Surface Plasmon Resonance - LSPR*). Acestea sunt recunoscute pentru caracteristicile lor excelente precum sensibilitatea suprafeței [11].

Fenomenul LSPR pentru AuNPs se manifestă atunci când lumina aplicată induce oscilații ale electronilor de pe suprafață, determinând astfel o amplificare a câmpului electromagnetic. Dacă frecvența radiației electromagnetice este aceeași ca frecvența de rezonanță a NPs, învelișul electric

oscilează cu o amplitudine maximă. Propriu-zis această oscilație este cunoscută sub denumirea de LSPR [12] (**Schema I.1**).

În plus, caracteristicile bazate pe fenomenul LSPR ale AuNPs sunt influențate semnificativ de configurația nanostructurilor lor [13]. Posibilitatea de a modifica forma, dimensiunea și compoziția acestor NPs, aduce în consecință schimbări la nivelul proprietăților optice, ceea ce duce la îmbunătățiri ale secțiunilor transversale de absorbție și dispersie [9].



Schema I.1 Reprezentare schematică a fenomenului LSPR [8]

I.3 Funcționalizarea Nanoparticulelor de aur

AuNPs prezintă un potențial de cercetare foarte mare, datorită posibilității funcționalizării suprafeței acestora [14]. Folosirea AuNPs în radioterapie și terapia fototermică, spre exemplu, a creat deschiderea către o nouă metodă de diagnostic și terapie a cancerului. Pe suprafața NPs prin legături, se pot funcționaliza grupări chimice sau molecule biologice, precum medicamente sau receptori, făcându-le astfel un suport bun pentru livrarea țintită a medicamentelor. Astfel, proprietățile unice precum bicompatibilitatea, citotoxicitatea redusă și proprietățile optice la fac valoroase în domeniul biomedical, incluzând biosenzoristica, bioimagistica, terapia cancerului și livrarea de medicamente [15].

Figura I.5 prezintă o strategie de direcționare a NPs către celule, folosind diferiți liganzi modificați pe suprafață. Liganzii sunt molecule care se pot atașa de alte molecule sau receptori în celule și au un rol important în transmiterea semnalelor celulare și în direcționarea NPs către locuri țintite în organism. Unele proteine blochează moleculele de legătură de pe suprafața NPs, dar prin funcționalizare, proteinele funcționalizate pot ghida NPs spre celula țintită [16].

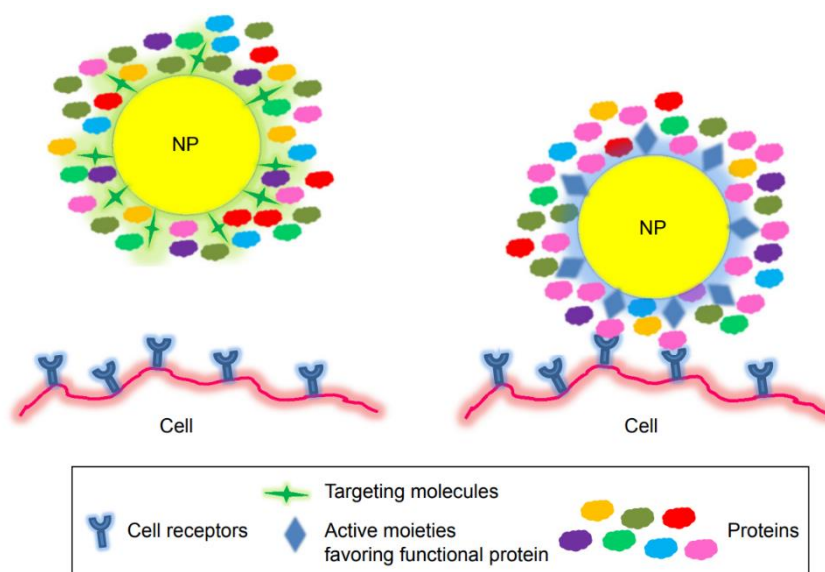
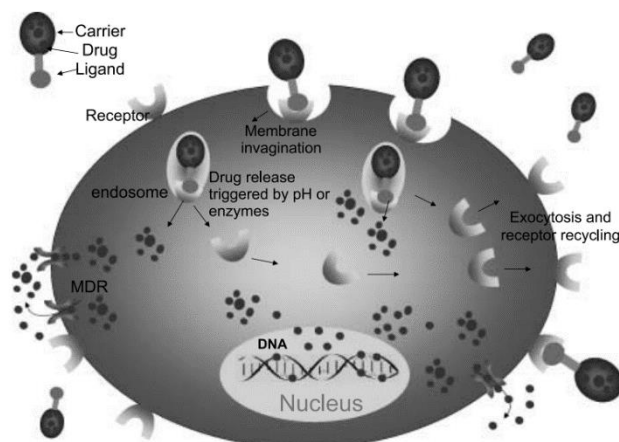


Figura I.5 Strategie de direcționare a NP către celule, utilizând liganzi modificați la suprafață [16]

I.3.1 Funcționalizarea Nanoparticulelor de aur cu medicamente

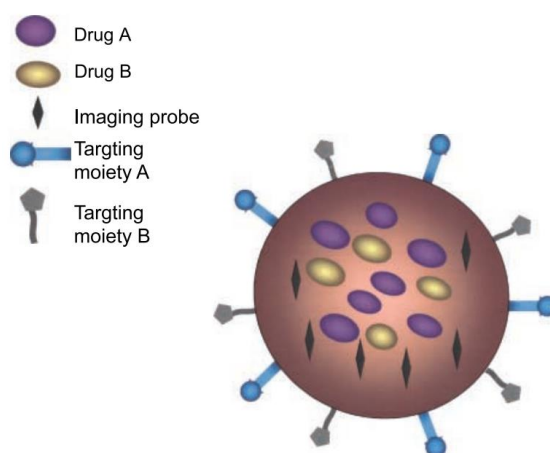
Biofuncționalizarea suprafeței AuNPs este importantă în domeniul cercetării actuale, și poate fi modificată cu o varietate de biomoleculă, cum ar fi anticorpi, peptide, medicamente și ADN. Modificările la nivelul structural se pot face prin interacțiuni covalente, care sunt cele mai stabile, sau non-covalente, pentru a oferi reproductibilitate și stabilitate. Tipul de legătură influențează eliberarea medicamentelor prin stabilitatea și controlul pe care îl oferă. Interacțiunile non-covalente sunt mai simple și rapide de realizat, dar mai puțin stabile, ceea ce poate duce la o eliberare necontrolată și eficiență redusă. Interacțiunile covalente oferă o legare mai solidă și stabilă, asigurând o eliberare controlată și specifică a medicamentului la ținta dorită, deși necesită un efort mai mare de pregătire [17].

În **Schema I.2** este o reprezentare a AuNPs funcționalizate cu medicament și felul în care reacționează la nivelul celulei. Pe măsură ce valoarea pH-ului din interior devine acidă, medicamentul este eliberat din AuNPs și ajunge în citoplasmă [18].



Schema I.2 Reprezentarea activității AuNPs la nivelul celulei. Liganzii sau anticorpilor specifici tumorilor de pe nanoparticule se leagă de receptorii de la suprafața celulei, ceea ce face ca nanoparticulele să fie absorbite de celulă prin intermediul endozomilor [18]

De asemenea, AuNPs au capacitatea de a transporta unul sau mai mulți agenți biologici de interes, prezentat ilustrativ în **Schema I.3**. Aceste NPs vor fi în cele din urmă capabile să detecteze celulele maligne, să vizualizeze locația lor în corp (imagistică *in vivo* în timp real), să distrugă celulele canceroase fără efecte secundare, protejând celulele normale (sistem de țintire activă și eliberare controlată a medicamentului) și să monitorizeze efectul tratamentului în timp real [18].



Schema I.3 AuNPs funcționalizată cu două tipuri de medicamente. Este ilustrată i) capacitatea de a transporta unul sau mai mulți agenți; ii) țintirea biomoleculară prin unul sau mai mulți anticorpi conjugați sau alți agenți de recunoaștere; iii) amplificarea semnalului de imagistică [18]

Livrarea de medicamente, pe baza AuNPs, se încearcă a fi îmbunătățită prin prelungirea timpului lor în circulație și creșterea captării celulare. Proprietățile AuNPs precum mărimea, forma și încărcarea suprafeței, influențează funcția de livrare [19].

Studiile au arătat că AuNPs au o suprafață activă care permite atașarea mai eficientă a medicamentelor, comparativ cu nanoparticulele în formă de bastonașe [20]. În ceea ce privește încărcarea electrică de la suprafață, AuNPs încărcate pozitiv au capacitatea să penetreze mai ușor bariera celulară, față de cele încărcate negativ, deoarece, în general, celulele sunt încărcate negativ [21].

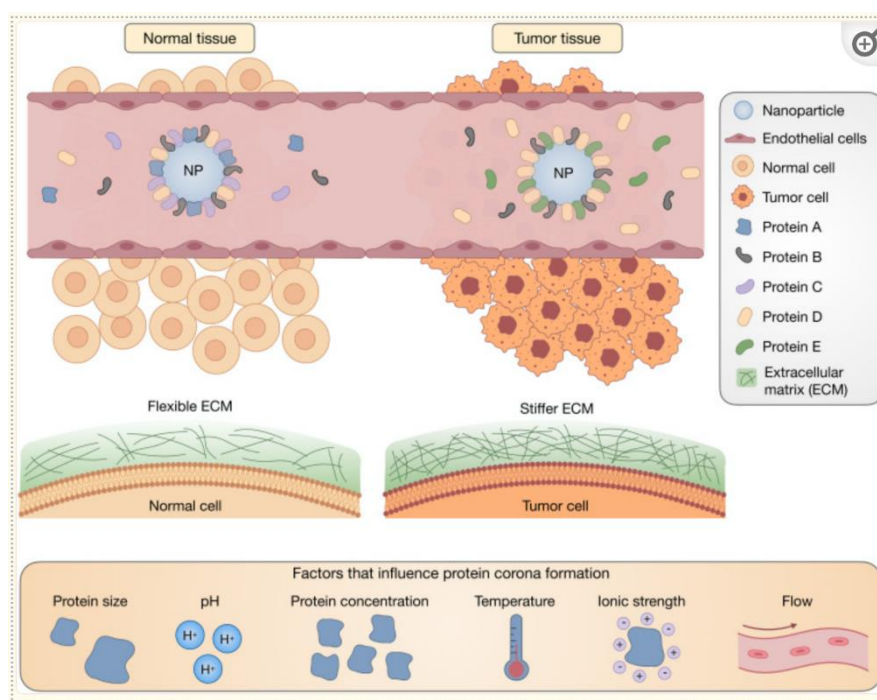
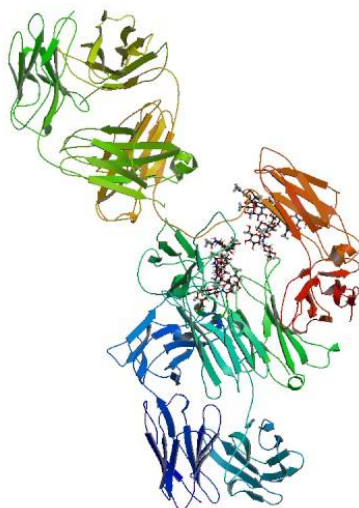


Figura I.6 Ilustrarea factorilor biologici care afectează evoluția. NPs în funcție de calea de administrare și de starea generală a organismului, interacționează cu diferite tipuri de proteine de dimensiuni și concentrații diferite. Variațiile parametrilor de mediu, cum ar fi pH-ul, temperatura afectează structura coroanei pe măsură ce NPs circulă *in vivo* [22]

Eliberarea medicamentului în țesut este influențată de pH și temperatură [23] (**Figura I.6**). În tratarea cancerului, AuNPs pot fi funcționalizate cu molecule specifice pentru a îmbunătăți livrarea lor țintită în țesuturi canceroase. Tratamentele convenționale, precum chirurgia, chimioterapia și radioterapia, din cauza toxicității, prezintă efecte secundare negative, motiv pentru care se încearcă dezvoltarea tratamentelor ce implică AuNPs, datorită riscurilor reduse. Se

exploarează astfel noi metode de livrare a medicamentelor, pe baza AuNPs conjugate cu antibiotice sau alte medicamente, pentru a îmbunătăți eficiența [24].

Unul dintre medicamentele cu care AuNPs pot fi funcționalizate este Bevacizumabul (avastin). Bevacizumabul este un medicament ce face parte din tratamentul împotriva cancerului de mai bine de 15 ani. Inițial a fost utilizat în tratarea cancerului colorectal metastatic, dar acum are funcții și în alte tipuri de cancer [25]. Structura sa este reprezentată în **Schema I.4**.



Schema I.4 Reprezentare schematică a structurii avastin

Cancerul colorectal este una dintre cele mai periculoase forme de cancer, iar tratamentul pentru acesta este într-o continuă dezvoltare și testare. Tratamentul standard implică chimioterapia, dar această metodă poate avea efecte secundare severe, și mai mult decât atât, poate afecta și țesuturile sănătoase. Medicamentul avastin, o formă de anticorp, este inclus în tratament, alături de chimioterapie, dar vine cu limitările sale, una dintre ele fiind faptul că doar un procent mic din doza administrată ajunge la tumoră. De asemenea, acest tip de tratament necesită administrări multiple, rezultând doze mari și o terapie costisitoare. Incorporarea medicamentelor pe suprafața NPs îmbunătățește proprietățile farmaceutice ale medicamentului, cum ar fi stabilitatea, solubilitatea, timpul de circulația și acumularea în tumoră. Nanotehnologia oferă posibilitatea de a îmbunătăți livrarea medicamentelor, în cazul nostru avastinul, având ca țintă exactă celulele canceroase, astfel producând o creștere a eficacității, reducerea toxicității și totodată se minimizează efectele adverse [26].

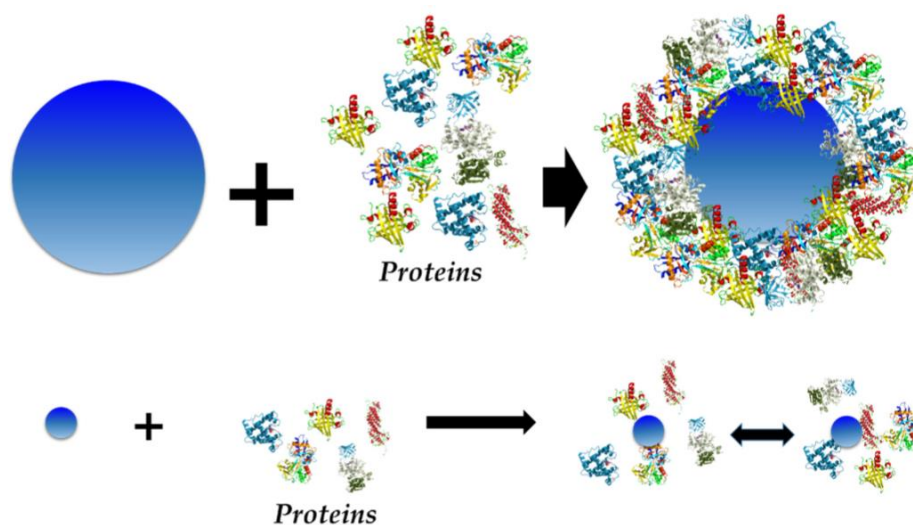
I.3.2 Funcționalizarea Nanoparticulelor de aur cu proteine

Dezvoltarea metodologiei de bioconjugare a AuNPs cu proteine este foarte importantă, datorită aplicațiilor în domeniul biomedical și biotehnologic, cum ar fi în livrarea de medicamente

și biosenzori [27]. Albumina serică bovină (BSA) și glucoza pot fi atașate pe suprafața AuNPs, pentru a îmbunătăți legarea la receptori specifici ai țesuturilor [19]. Există diferite metode prin care se poate realiza funcționalizarea, trei dintre acestea fiind prin adsorbție, prin interacțiuni electrostatice sau prin legare covalentă prin intermediul grupurilor. Conjugarea la nivelul suprafeței aduce cu sine schimbări ale activității nanoparticulei [27].

AuNPs pot fi introduse în corpul uman prin diferite metode, inhalare, administrare orală, injecție intravenoasă și expunere dermică. Odată de AuNPs pătrund în corp, intră în contact cu diverse molecule biologice, proteine, lipide, polizaharide și acizi nucleici [28].

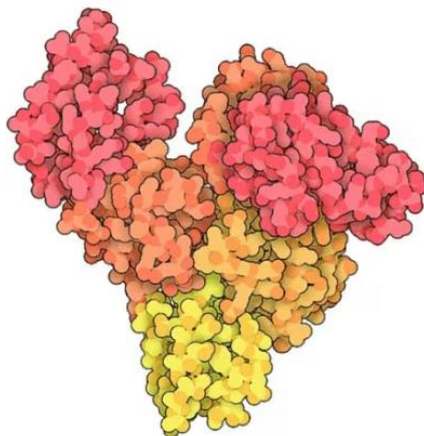
NPs mici interacționează cu proteinele într-un mod reversibil, fără a forma o coroană durabilă. Acest lucru sugerează că interacțiunile dintre NPs și celule pot varia în funcție de dimensiunea diametrului. În cazul NPs de dimensiuni mari, adsorbția proteinelor este ireversibilă și duce la schimbarea identității biologice. Pentru NPs de dimensiuni foarte mici, procesul de adsorbție a proteinelor este reversibil, ceea ce poate influența modul în care membrana celulară interacționează cu NPs (**Schema I.5**) [29].



Schema I.5 Interacțiunea NPs de diferite dimensiuni cu proteine [29]

BSA este o proteină derivată din serul sanguin al vacilor. În cercetările biochimice și medicale, ea este utilizată datorită stabilității sale, este folosită frecvent în diverse teste imunologice, servește ca referință ajutând compararea cu alte proteine, amplifică permeabilitatea membranei, și acționează ca un strat protector la congelarea/decongelarea celulelor și proteinelor.

Scopul funcționalizării AuNPs cu proteina BSA, care are o structură asemănătoare cu proteinele din corpul uman, este de a obține biocompatibilitate în momentul introducerii acestora în organismul omului. Structura BSA este prezentată în **Schema I.6**.



Schema I.6 Reprezentare schematică a structurii BSA

O varietate de biomolecule, în special proteinele, au fost utilizată în cercetare în ultimii ani, datorită proprietăților sale de a stabiliza suprafața AuNPs. Funcționalizarea AuNPs cu BSA este realizată pentru a avea biocompatibilitate, alte scopuri fiind administrarea de medicamente țintită, bioimagine și diagnostic [30].

I.3.3 Funcționalizarea Nanoparticulelor de aur cu aptameri

În domeniul medical există o multitudine de metode de detecție ce se bazează pe: i) interacțiunea antigen-anticorp ex. ELISA (*eng. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*); ii) utilizarea aptamerilor (se leagă selectiv de ținte specifice); iii) metode electrochimice (detectarea semnalelor generate de interacțiuni între biomolecule și electrozi); iv) nanotehnologie (AuNPs amplifică semnalele de detecție).

O direcție de dezvoltare a acestui domeniu este funcționalizarea AuNPs cu aptamerul poly A. Adenina (A) este una dintre cele patru baze azotate ce alcătuiesc nucleotidele ADN-ului și ARN-ului. Este formată din 20 de aminoacizi, capetele lanțului de poly A sunt numerotate cu 3' și 5', iar în cazul nostru la capătul 5' lanțul de poly A a fost modificat cu o grupare de tiol (-SH) ce facilitează prinderea de suprafața AuNPs (**Schema I.7**).



Schema I.7 Reprezentare schematică a lanțului poly A

Funcționalizarea AuNPs cu poly A reprezintă o alternativă promițătoare ale metodelor tradiționale care se bazează pe anticorpi. Această metodă vine și cu o serie de avantaje semnificative, precum gama largă de detecție și administrarea unei concentrații scăzute pentru identificarea anumitor afecțiuni. Se poate utiliza eficient în diagnosticul precoce al unor probleme medicale sau monitorizarea anumitor boli [31].

De exemplu, această conjugare se poate folosi în detecția trombinei. Au fost identificate semnale electrochimice cu concentrația de trombină într-un interval de la 0.1 pM la 10 nM și limita de detecție obținută a fost de 35 fM, demonstrând astfel având o sensibilitate ridicată [32].

Datorită utilizării AuNPs, care pot fi ușor observate și măsurate, această metodă reprezintă o modalitate rapidă de a evalua prezența trombinei în probe biologice. Astfel, poate fi implementată eficient în laboratoarele de diagnostic sau în îngrijirea medicală a pacienților [31].

I.4 Aplicațiile Nanoparticulelor de aur

AuNPs sunt utilizate într-o varietate de aplicații biomedicale. În domeniul terapiei cancerului, datorită proprietăților optice și terapeutice, dau rezultate în tratamente și diagnostic. Cele mai multe tehnici de diagnostic și terapie se bazează pe acumularea țintită a NPs la nivelul tumorii. Acumularea pasivă poate fi îmbunătățită prin funcționalizarea chimică și de asemenea direcționată prin conjugarea NPs cu anticorpi, proteine sau biomarkeri specifici [8].

Biocompatibilitatea și posibilitatea de a fi funcționalizate, sunt avantaje ale AuNPs, ceea ce facilitează utilizarea acestora ca senzori [7]. De exemplu, pentru a detecta cancerul pulmonar, s-au folosit AuNPs funcționalizate cu sonde ADN monocatenare specifice biomarkerului hnRNPB. hnRNPB1 face parte din familia de proteine ribonucleoproteice nucleare heterogene (hnRNP), care sunt proteine ce se leagă de ARN. Acest biomarker este utilizat datorită capacității sale de a identifica modificările specifice asociate cu cancerul pulmonar, adică prezența celulelor canceroase. Fiecare set de AuNPs conjugate era complementar la un capăt al biomarkerului

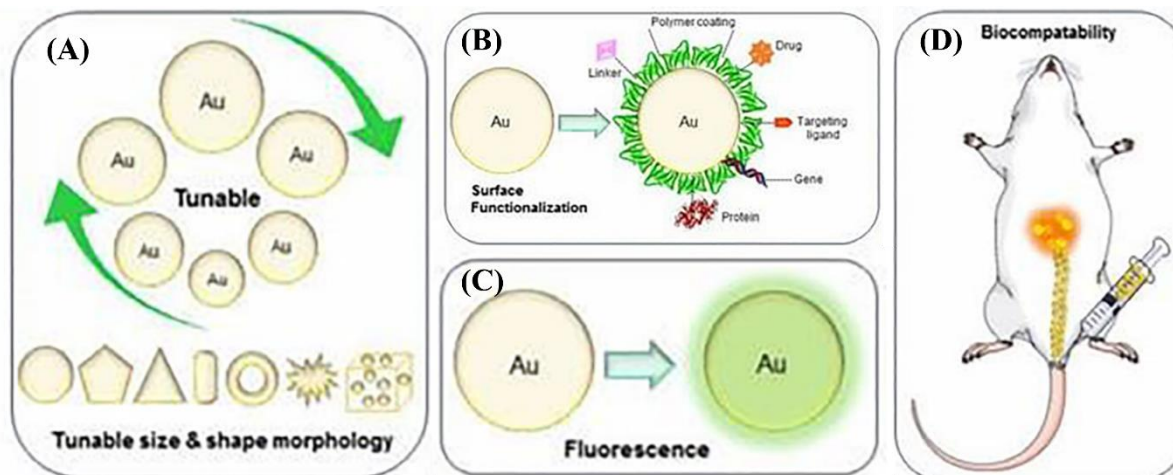
hnRNPB1, adică au fost proiectate să se lege specific de capetele opuse ale secvenței, iar sondele erau concentrate pe țintă [33].

AuNPs pot fi folosite și ca markeri biologici pentru detecția unor boli precum diabetul sau insuficiența renală [7]. În literatura de specialitate s-a urmărit posibilitatea utilizării AuNPs pentru detectarea hemoglobinei glicolizate (HbA1c), care este importantă în monitorizarea concentrației de glucoză plasmatică într-un interval de 3 luni. AuNPs au fost măsurate prin două metode și s-a demonstrat eficiența în măsurarea HbA1c atât la pacienții cu diabet, cât și la persoanele fără probleme [34].

Cu ajutorul imagisticii prin fluorescență *in vivo*, se poate detecta insuficiența renală într-un mod non invaziv. Acest lucru este posibil datorită faptului că AuNPs emit semnal în infraroșu și sunt eliminate renal. Rezultatele au fost obținute în urma experimentării pe un model de șoarece cu nefropatie obstructivă unilaterală, care nu poate fi diagnosticată cu markerii de funcție renală obișnuiți [35].

De asemenea, pot avea rol în livrarea precisă a medicamentelor precum și la monitorizarea livrării acestora. De exemplu, AuNPs se pot folosi în livrarea țintită a medicamentelor pentru chimioterapie, pentru a trata cancerul hematologic [36] sau pentru livrarea antibioticelor [37].

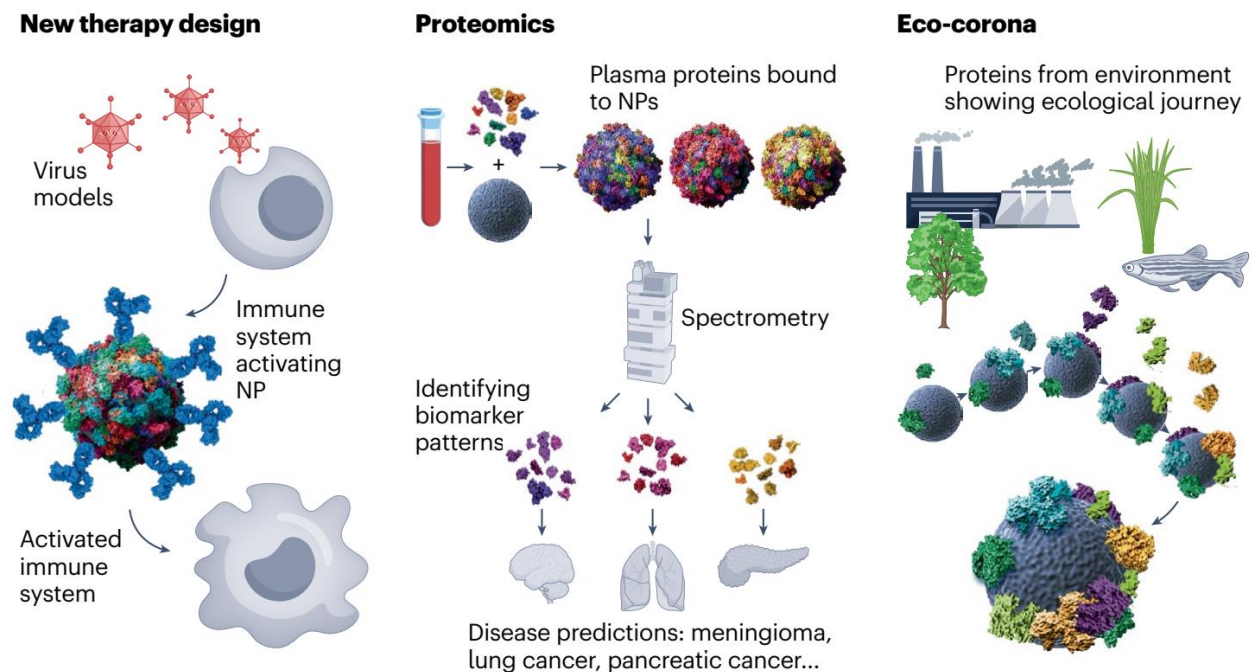
Datorită proprietăților optice și a fenomenului LSPR, AuNPs au devenit parte importantă a domeniului biomedical. În **Schema I.8** sunt ilustrate schematic proprietăți importante pe care AuNPs le dețin, de exemplu tunabilitatea în diferite forme și dimensiuni, apoi funcționalizarea la suprafață cu o varietate de agenți inclusiv medicamente sau proteine, precum și agenți de contrast fluorescenți. De asemenea, biocompatibilitatea este foarte importantă deoarece deschide posibilitatea testărilor pe șoricei.



Schema I.8 Reprezentarea schematică a proprietăților AuNPs, tunabilitatea în diferite forme și dimensiuni (A) funcționalizarea cu o varietate de agenți (B) funcționalizarea cu agenți de contrast fluorescenți (C) biocompatibilitatea (D) Imagine modificată, preluată din [7]

Pe lângă beneficiile aduse medicinei, AuNPs pot fi folosite inclusiv într-o varietate de ramuri agricole, și pot servi ca un ajutor în creșterea speciilor de plante pe cale de dispariție. S-a demonstrat că datorită includerii AuNPs în germinare semințelor, duce la alungirea nodului și creșterea vegetativă a plantelor [7].

NPs conjugate cu proteinele care activează sistemul imunitar, pot modula sistemul imunitar și cataliza dezvoltarea de noi terapii. Analiza proteomică a coronelor proteice ale diferitelor NPs oferă o oportunitate unică pentru a identifica noi modele biomoleculare cu capacitate de detectare a bolilor. Eco-corona se formează atunci când NPs intră în medii ecologice, rezultând o adsorbția spontană a proteinelor din surse ecologice. Reprezentarea schematică a proceselor enumerate este ilustrată în **Schema I.9** [38].



Schema I.9 i) NPs conjugate cu fragmente țintă, pot modula sistemul imunitar și sprijini dezvoltarea de noi terapii (stânga); ii) analiza proteică a coronelor proteice, permite identificarea de noi modele biomoleculare care pot detecta boli (centru); iii) formarea eco-coronelor, nanoparticulele intră în medii ecologice și adsorb proteine din aceste medii (dreapta) [38]

Utilizarea AuNPs prezintă avantaje semnificative, datorită proprietăților sale, și capacității de a fi funcționalizate pentru a-și îmbunătăți performanțele.

Capitolul II: Secțiune experimentală

II.1 Materiale

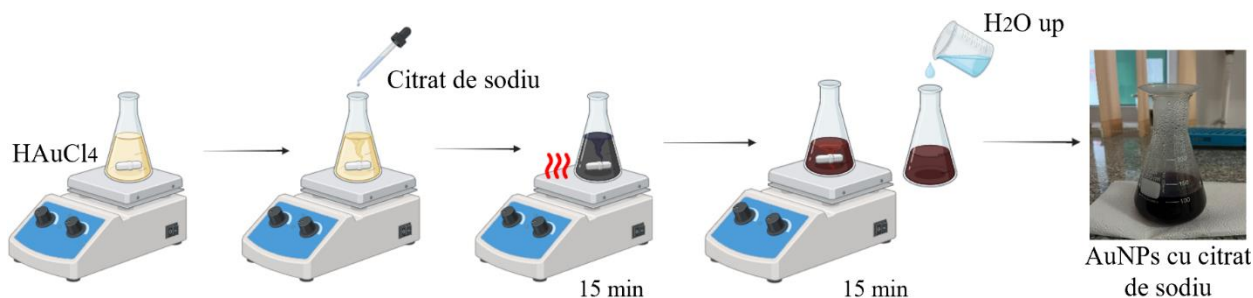
Pentru realizarea experimentală a lucrării am folosit următoarele materialele: clorura de cetrimoniu (CTAC) – 25% în apă, clorura de aur (III) trihidrat (HAuCl_4), bromura de cetrimoniu (CTAB), acid ascorbic (AA), borohidruă de sodiu (NaBH_4), procurate de la Sigma Aldrich (USA). citrat de sodiu procurat de la Sigma Aldrich (Japonia). Pentru funcționalizarea NPs am folosit avastin 25 mg/mL de la Roche, albumină serică bovină (BSA) – 7.5% în apă, de la Sigma Aldrich (Germania) și poly A de la Eurogentec (Belgia).

Apa ultrapură ($\text{H}_2\text{O up}$) a fost obținută cu ajutorul sistemului de purificare Milli-Q (Millipore, Merck, Massachusetts, USA) și a fost utilizată pentru soluțiile apoase.

II.2 Metode

II.2.1 Sinteza de Nanoparticule de aur prin metoda Turkevich

Pentru prima metodă de sinteza am utilizat 100 mL HAuCl_4 (10^{-3} M) care a fost introdus într-un pahar Erlenmayer în care se află un magnet. Paharul a fost plasat pe un agitator termic pentru a fi încălzit, a fost marcat paharul la volumul inițial, iar deasupra lui am pus un capac. În momentul în care proba a început să fiarbă, am adăugat 10 mL de citrat de sodiu (38.8 mM) iar amestecul a fost menținut la fiert pentru încă 15 minute. Pe parcursul acestei perioade, culoarea inițială gălbuie s-a transformat treptat în negru. Am oprit încălzirea, dar agitarea a continuat pentru alte 15 minute, culoarea soluției devenind vișinie. Amestecul s-a lăsat la răcit și ulterior am completat cu apă ultrapură până la atingerea volumul inițial. Protocolul sintezei este ilustrat în **Schema II.1**.



Schema II.1 Schemă ce ilustrează protocolul sintezei prin metoda Turkevich

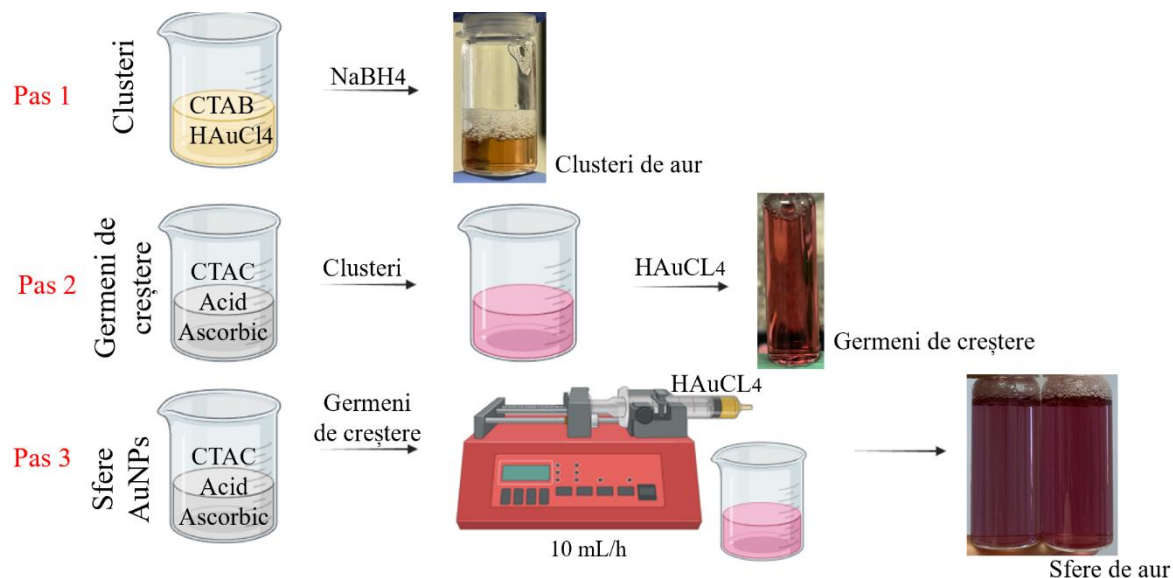
II.2.2 Sinteza de Nanoparticule stabilizata de surfactantul CTAC

A doua metodă de sinteza este formată din 3 pași succesivi, spre deosebire de prima care se realizează doar într-un singur pas.

Primul pas al sintezei AuNPs de CTAC implică formarea clusterilor de aur. Clusterii sunt NPs cu dimensiuni între 2-5 nm. Într-un recipient de sticlă am pus 1 mL CTAB (200 mM) și 1 mL HAuCl₄ (0.5 mM), peste care am adăugat imediat 120 μL NaBH₄ (10 mM). În această etapă, am observat vizual o modificare a culorii soluției de clusteri, din galben în maro. Ulterior, am plasat recipientul într-un thermoshaker setat la 300 RPM pentru 2 minute. Mai departe, acesta a fost introdus în etuvă pentru o durată de 3 ore, la temperatura de 27°C.

Pasul doi implica sinteza germenilor de creștere. În acest proces, într-un recipient de sticlă am pus 4 mL CTAC (200 mM) la care am adăugat 3 mL acid ascorbic (100 mM), 100 μL clusteri și 4 mL HAuCl₄ (0.5 mM). Sinteza de germeni am lăsat-o la incubat timp de 15 minute la 27°C, iar apoi a urmat o procedură de spălare prin centrifugare la 14500 RPM pentru 30 minute. Supernatantul rezultat a fost eliminat, iar germenii de creștere redispersați în CTAC 20 mM.

În continuare, într-un recipient de sticlă am introdus 10 mL CTAC (100 mM) și 650 μL acid ascorbic (10 mM) peste care am adăugat cantitatea dorită de germeni de creștere obținută anterior. În cadrul acestei lucrări am folosit diverse volume de germeni de creștere care au variat între 50 μL și 1.5 mL, cu scopul de a tună răspunsul LSPR și pentru a modifica dimensiunea AuNPs finale. Cu ajutorul unei seringi am adăugat HAuCl₄ (0.5 mM), la o rată de 10 mL/h. În final, recipientul l-am plasat pentru 10 minute la temperatura de 27°C în etuvă. Ca rezultat final, am obținut sfere de AuNPs, culoarea probei variază în funcție de dimensiunea acestora. În funcție de cantitatea de germeni de creșteri adăugată, culoarea substanței se va modifica din roz deschis, în mov și mov-albăstrui. Protocolul sintezei este prezentat în **Schema II.2**.



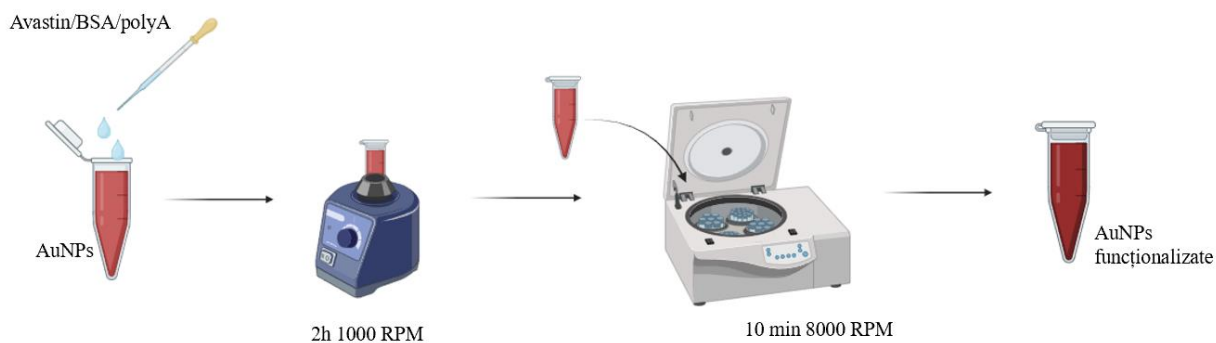
Schema II.2 Schemă ce ilustrează protocolul sintezei de AuNPs stabilizate de CTAC

II.2.3 Funcționalizarea Nanoparticulelor de aur

Am funcționalizat atât AuNPs obținute prin metoda Turkevich, precum și prin metoda stabilizării de CTAC.

Pentru funcționalizare am selectat 3 molecule de interes și anume: i) medicamentul avastin (1 mg/mL), ii) proteina BSA (7.5% în apă) și iii) aptamerul poly A_SH cu 20 de baze (10^{-4} M).

Într-un eppendorf am pus 500 μ L AuNPs, la care am adăugat 100 μ L avastin/BSA/poly A, pentru a obține trei funcționalizări diferite. Probele au fost plasate într-un thermoshaker la 1000 RPM timp de 2 ore la temperatura 21°C, apoi în centrifugă pentru 20 de minute la 12000 RPM, cu scopul de a facilita legarea electrostatică a moleculelor de interes de AuNPs. După finalizarea procesului, supernatantul a fost îndepărtat și am adăugat 600 μ L H₂O up. Protocolul funcționalizării AuNPs este ilustrat în **Schema II.3**.



Schema II.3 Schemă ce ilustrează protocol de funcționalizare a moleculelor de interes de suprafața AuNPs

II.3 Caracterizarea optică și morfologică

II.3.1 Măsurători de absorbție UV-Vis-NIR

Aparatul utilizat pentru efectuarea măsurătorilor de absorbție este spectrofotometrul Jasco V-670 UV-Vis-NIR (**Anexa 1**), achiziționat de la Jasco International CO., Ltd (Tokyo, Japonia), are o bandă de lățime de 2 nm și o rezoluție spectrală de 1nm. Am utilizat cuve din cuarț de la Hellma (Germania) a căror drum optic este de 2 mm. Solventul ce a servit ca și referință este apa ultrapură. Programul utilizat pentru înregistrarea spectrelor este Spectra Manager.

II.3.2 Împrăștierea dinamică a luminii (DLS)

Diametrul sferelor de AuNPs sintetizate a fost determinat cu ajutorul tehnicii de împrăștiere dinamică a luminii (*eng. Dynamic Light Scattering - DLS*). Aparatul utilizat este Zetasizer NanoZS90 (**Anexa 2**), de la Malvern Panalytical Ltd. (Worcestershire, UK). Măsurătorile au fost efectuate în triplicat pentru fiecare probă, iar cuvele utilizate au fost de unică folosință.

II.3.3 Potențialul Zeta

Pentru măsurătorile de potențial Zeta am folosit același echipament, Zetasizer NanoZS90 (**Anexa 3**) de la Malvern Panalytical Ltd. (Worcestershire, UK). Seria de măsurători a fost realizată triplicat, și am reprezentat valoarea medie. Cuvele folosite sunt de tipul DTS1060C.

II.3.4 Microscopia electronică prin transmisie (TEM)

Cu ajutorul microscopului JEOL JEM 100CX II (Tokyo, Japonia) (**Anexa 4**) am reușit să determinăm distribuția în mărime a nanoparticulelor, confirmând astfel diametrul AuNPs. Acestea au fost diluate în apă, dispersate pe griduri de carbon, și pentru obținerea contrastului, s-a adăugat acetat de uranil.

Graficele și analizele prezentate în lucrarea de față au fost obținute folosind programul Origin(Pro), versiunea 9.0 OriginLab Corporation (Northampton, MA, USA).

Capitolul III: Rezultate experimentale și discuții

III.1 Sinteza și caracterizarea Nanoparticulelor de aur

Primul pas a fost de a obține AuNPs stabilizate de citrat prin metoda Turkevich. Citratul, în acest caz are dublu rol: de a reduce ionii de aur și induce formarea NPs la o dimensiune nanometrică, și de a stabiliza AuNPs.

Cea de a doua metodă pe care am folosit-o pentru sinteza AuNPs, în care acestea sunt stabilizate de surfactantul CTAC, deși este o metodă mai complexă și prevede un timp de lucru mai îndelungat, oferă avantajul de a tună NPs, atât din punct de vedere al răspunsului LSPR cât și a dimensiunii.

Pentru caracterizarea optică a AuNPs stabilizate de citrat, am analizat AuNPs, prin intermediul spectroscopiei de extincție UV-Vis-NIR. Am obținut un maxim de extincție la 521 nm, **Figura III.1 (A)**. În metoda în care AuNPs au fost stabilizate de CTAC, scopul a fost același, și anume formarea nanoparticulelor sfere de aur. Astfel, din punct de vedere al caracterizării optice, am obținut un maxim de extincție la 524 nm **Figura III.1 (B)**.

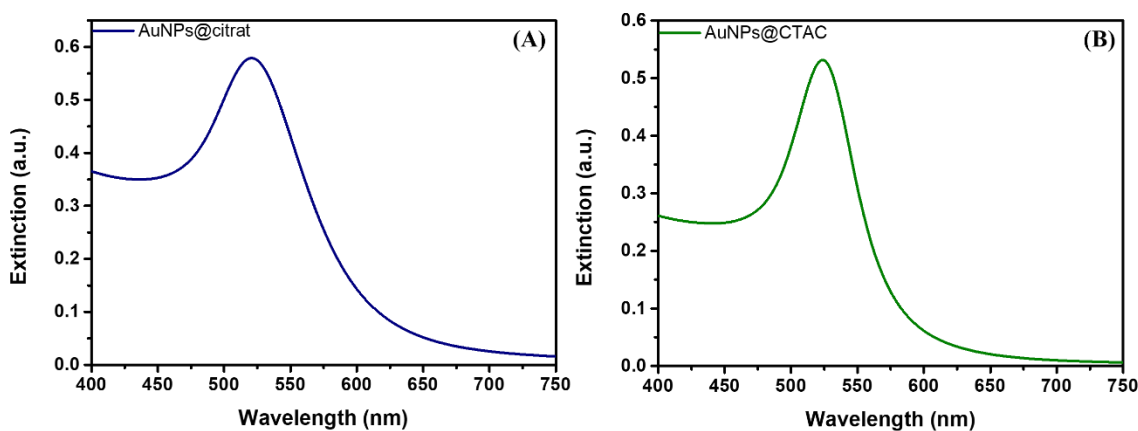


Figura III.1 Spectrele de extincție al AuNPs obținute prin metoda Turkevich (A) și AuNPs stabilizarea de CTAC (B)

În cazul metodei Turkevich am obținut sfere ce au un diametru hidrodinamic de 13.03 ± 0.9 nm (**Figura III.2 (A)**). Forma sferică a fost de asemenea confirmată și prin imaginea TEM prezentată în **Figura III.2 (B)**. În imaginea TEM am inserat o histogramă a mărimilor diametrelor AuNPs obținute, ca o dovadă suplimentară a dimensiunii NPs.

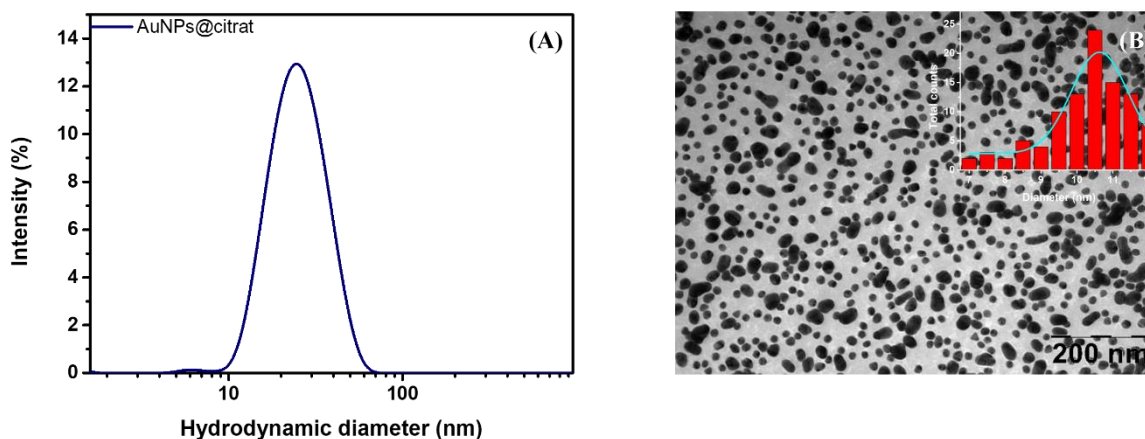


Figura III.2 Spectru DLS al AuNPs stabilizate de citrat, confirmând diametrul de 13.03 ± 0.9 nm al AuNPs (A)

Imagine TEM achiziționată asupra AuNPs stabilizate de citrat, demonstrând forma sferică a acestora, inserție: histograma dimensiunii AuNPs, cu o medie de 10.5 nm (B)

În cea de a doua metodă, în care AuNPs sunt stabilizate de CTAC, am obținut un diametru hidrodinamic cu o valoare de 45.56 ± 1.3 nm (**Figură III.3 (A)**), iar forma sferică este prezentată în **Figură III.3 (B)** prin intermediul imaginii TEM. Cu ajutorul histogramei inserate în cadrul imaginii TEM, am adus o dovadă suplimentară a dimensiunii NPs.

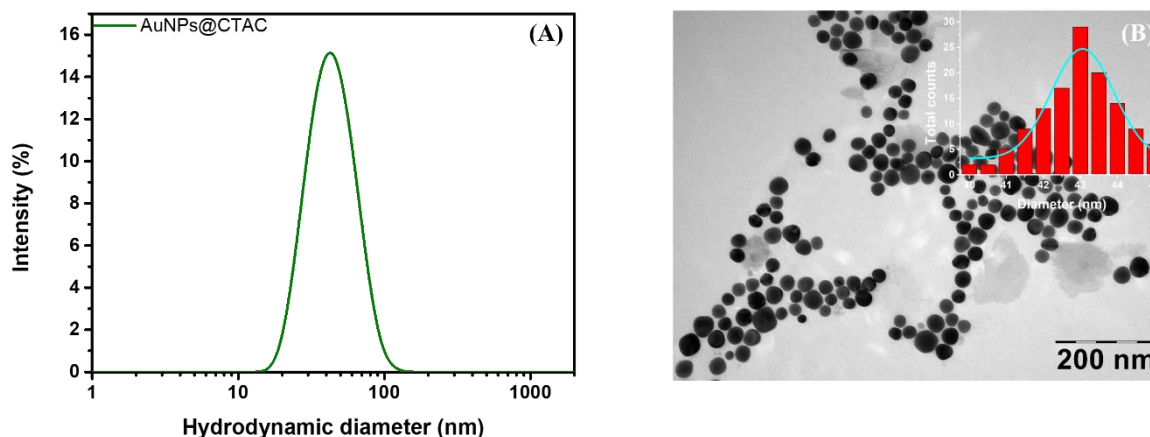


Figura III.3 Spectru DLS al AuNPs stabilizate de CTAC confirmând diametrul de 45.56 ± 1.3 nm al AuNPs (A)

Imagine TEM achiziționată asupra AuNPs stabilizate de CTAC, demonstrând forma sferică a acestora, inserție: histograma dimensiunii AuNPs, cu o medie de 43 nm (B)

Pentru analiza încărcării de la suprafața NPs am utilizat măsurători de potențialul zeta. În cazul AuNPs obținute prin metoda Turkevich, avem o încărcare negativă a suprafeței (-14.1 ± 1.3 mV) - **Figura III.4 (A)**, iar în cazul AuNPs stabilizate de CTAC, suprafața are o valoare pozitivă (5.52 ± 0.8 mV) - **Figura III.4 (B)**.

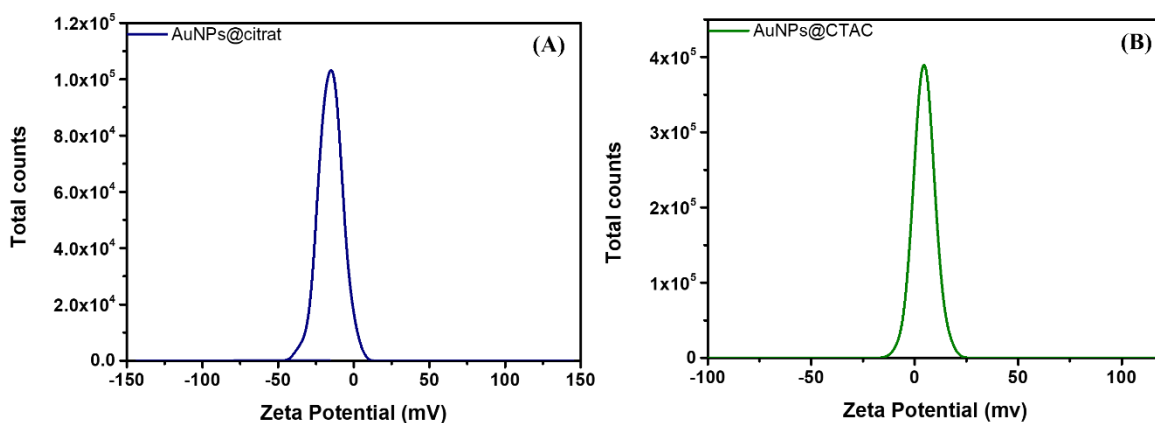


Figura III.4 Potențial zeta cu valoarea -14.1 ± 1.3 mV pentru AuNPs stabilizate cu citrat **(A)**
Potențial zeta cu valoarea 5.52 ± 0.8 mV pentru AuNPs stabilizate de CTAC **(B)**

III.2 Funcționalizarea Nanoparticulelor

III.2.1 Funcționalizarea Nanoparticulelor de aur cu avastin

Pentru funcționalizarea AuNPs cu medicamentul avastin (AuNPs-Avastin) am folosit AuNPs obținute prin metoda de sintetizare în care sunt stabilizate de CTAC (AuNPs@CTAC). Scopul funcționalizării este de a forma un agent de livrare de medicamente.

Suprapunerea datelor obținute în laborator prin măsurarea spectrelor de extincție la UV-Vis-NIR se află în **Figura III.5**. Inițial, maximul spectrului de extincție al AuNPs se află la 524 nm – spectrul negru, și am observat că în momentul funcționalizării a crescut la 525 nm – spectrul roșu. Valoarea maximului spectrului de extincție pentru avastin este de 278 nm – spectrul albastru. Această deplasare spre roșu indică funcționalizarea cu succes a avastinului pe suprafața AuNPs.

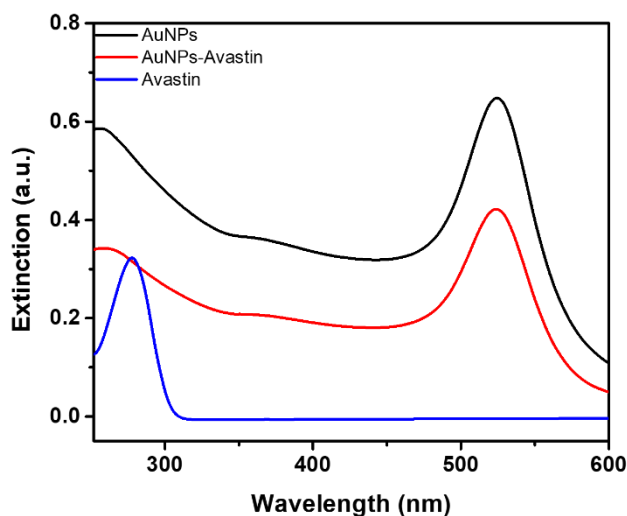


Figura III.5 Măsurători de extincție achiziționate asupra AuNPs libere (spectru negru), AuNPs-Avastin (spectru roșu) și avastin liber (spectru albastru)

Din măsurătorile DLS (**Figura III.6 (A)**) și de potențial zeta (**Figura III.6 (B)**) am arătat că avastin în stare liberă (spectrul albastru) are un diametru hidrodinamic de 299.5 ± 15.12 nm și un potențial de suprafață pozitiv cu valoarea $6,58 \pm 0,54$ mV.

Am demonstrat de asemenea funcționalizarea cu succes AuNPs-Avastin – spectrul roșu, dimensiunea diametrului hidrodinamic a acestora crescând până la 167 ± 1.76 nm (**Figura III.6 (A)**) și potențialul de la suprafață modificându-se la $-1,95 \pm 0,85$ mV (**Figura III.6 (B)**).

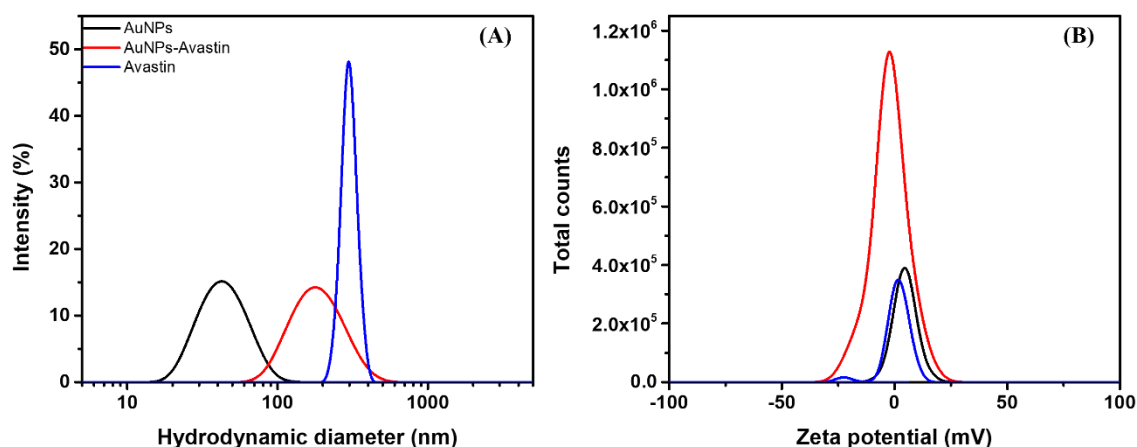


Figura III.6 Măsurători DLS achiziționate asupra AuNPs libere (spectru negru), AuNPs funcționalizate cu avastin (spectru roșu) și avastin liber (spectru albastru) (**A**); Măsurători de potențial zeta achiziționate asupra AuNPs libere (spectru negru), AuNPs funcționalizate cu avastin (spectru roșu) și avastin liber (spectru albastru) (**B**)

III.2.2 Funcționalizarea Nanoparticulelor de aur cu BSA

Pentru acest proces de funcționalizare am folosit AuNPs sintetizate prin ambele metode, pentru a demonstra versatilitatea funcționalizării cu BSA. Atât NPs negative, cât și pozitive au fost funcționalizate cu succes cu BSA.

În **Figura III.7** am reprezentat spectrele de extincție obținute, și am observat pentru proba de AuNPs stabilizate de citrat (AuNPs@citrat) și funcționalizate cu BSA, o creștere a maximului de extincție cu 5 nm, de la 525 nm (spectrul verde), la 530 nm (spectrul roșu). Maximul extincției BSA-ului liber se află la 278 nm – spectrul albastru.

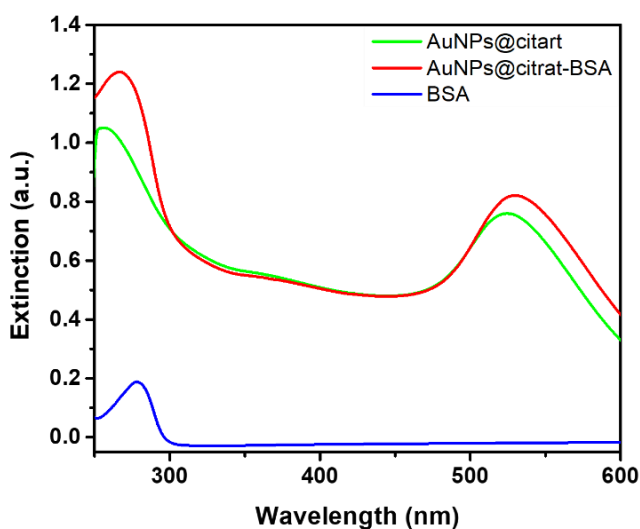


Figura III.7 Măsurători UV-Vis-NIR achiziționate asupra AuNPs libere, metoda Turkevich (spectru verde), AuNPs-BSA (spectru roșu) și BSA liber (spectru albastru)

În continuare, am analizat BSA în stare liberă, AuNPs și AuNPs-BSA prin măsurători DLS și de potențial zeta. Valorile pentru BSA liber (spectrul albastru) la măsurătoarea DLS este de 7.73 ± 0.2 nm (**Figura III.8 (A)**), iar potențialul zeta -1.13 ± 0.3 mV (**Figura III.8 (B)**). Funcționalizarea cu succes a AuNPs@citrat cu BSA este demonstrată prin măsurătorile DLS și de potențial zeta. Pentru valorile inițiale ale AuNPs@citrat am folosit valorile spectrelor obținute anterior caracterizate la metoda de sinteză Turkevich (**Subcapitolul III.1**) și sunt reprezentate de culoarea verde a spectrului. Diametrul hidrodinamic pentru AuNPs-BSA (spectrul roșu) a crescut la 55.75 ± 0.9 nm (**Figura III.8 (A)**), iar potențialul zeta la 26.9 ± 0.7 mV (**Figura III.8 (B)**).

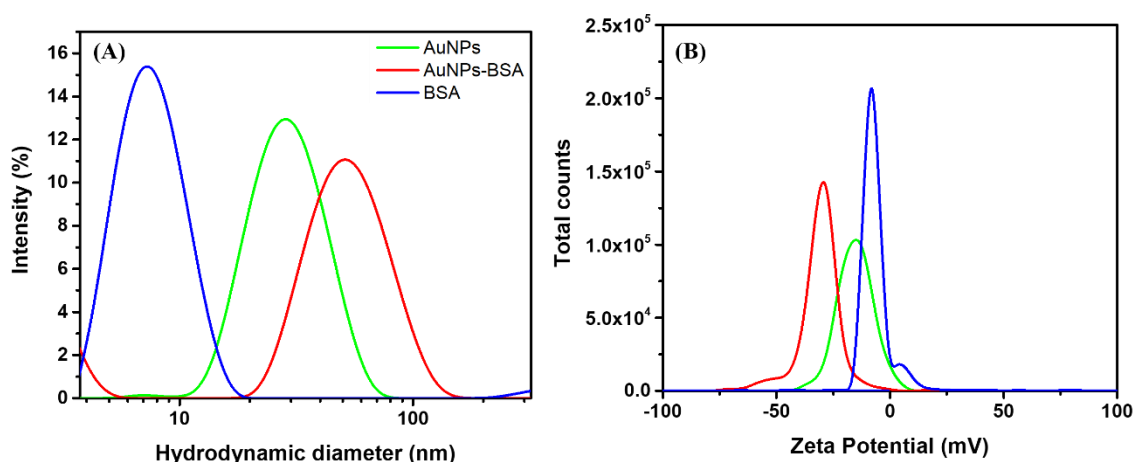


Figura III.8 Măsurători DLS achiziționate asupra AuNPs@citrăt (spectru verde), AuNPs-BSA (spectru roșu) și BSA liber (spectru albastru) (A); Măsurători de potențial zeta achiziționate asupra AuNPs@citrăt (spectru verde), AuNPs-BSA (spectru roșu) și BSA liber (spectru albastru) (B)

În cazul funcționării AuNPs de CTAC cu BSA, observăm o deplasare de 1 nm spre roșu a maximului de extincție (**Figura III.9**), de la 524 nm la 525 nm.

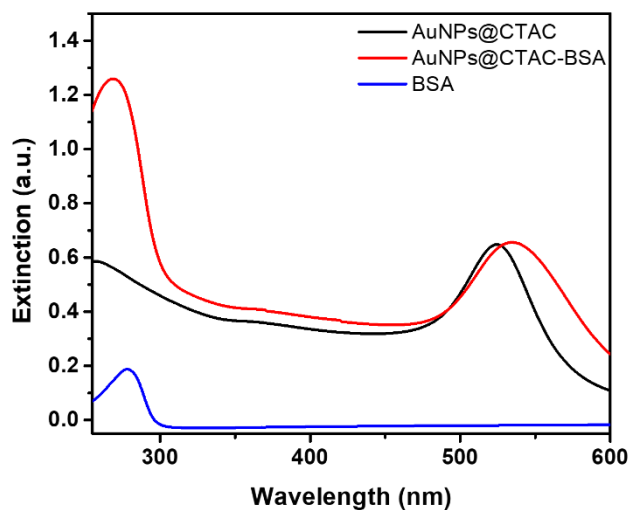


Figura III.9 Măsurători UV-Vis-NIR achiziționate asupra AuNPs@CTAC (spectru negru), AuNPs-BSA (spectru roșu) și BSA liber (spectru albastru)

În măsurătorile DLS, diametrul hidrodinamic obținut în urma funcționalizării (spectru roșu), are valoarea de 79.1 ± 2.85 nm (**Figura III.10 (A)**), iar potențialul zeta -1.16 ± 0.9 mV (**Figura III.10 (B)**). Aceste valori confirmă din nou funcționalizarea cu succes.

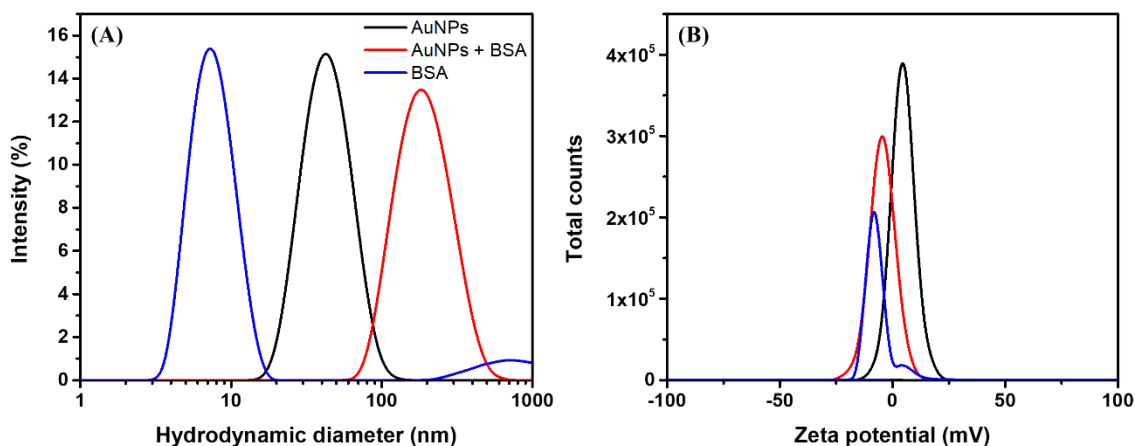


Figura III.10 Măsurători DLS achiziționate asupra AuNPs@CTAC (spectru negru), AuNPs-BSA (spectru roșu) și BSA liber (spectru albastru) (**A**);

Măsurători de potențial zeta achiziționate asupra AuNPs@CTAC (spectru negru), AuNPs-BSA (spectru roșu) și BSA liber (spectru albastru) (**B**)

III.2.3 Funcționalizarea Nanoparticulelor de aur cu poly A

Pentru funcționalizarea cu poly A am utilizat AuNPs@CTAC caracterizate anterior. Maximul de extincție a AuNPs este localizat la 524 nm, iar în urma funcționalizării s-a deplasat spre roșu, la 539 nm. Pentru aptamerul poly A maximul de extincție se află la 257 nm. Spectrele de extincție caracteristice sunt ilustrate în **Figura III.11**.

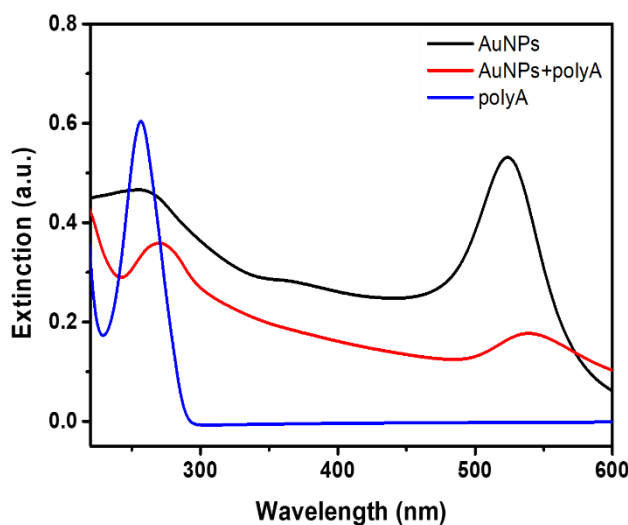


Figura III.11 Măsurători UV-Vis-NIR achiziționate asupra AuNPs (spectru negru), AuNPs-poly A (spectru roșu) și poly A liber (spectru albastru)

Pentru poly A – spectru albastru valoarea din urma măsurătorilor DLS este 189.7 ± 9.8 nm (**Figura III.12 (A)**) și potențialul zeta -26.7 ± 2.65 mV (**Figura III.12 (B)**). Diametrul hidrodinamic după realizarea funcționalizării (spectru roșu) este 167 ± 13.88 nm (**Figura III.12 (A)**), iar potențialul zeta atestă încărcarea negativă a suprafeței AuNPs, având o valoare de -46 ± 0.4 mV (**Figura III.12 (B)**). Schimbările ce apar la nivelul măsurătorilor DLS și potențial zeta, atestă de asemenea funcționalizarea cu succes a AuNPs.

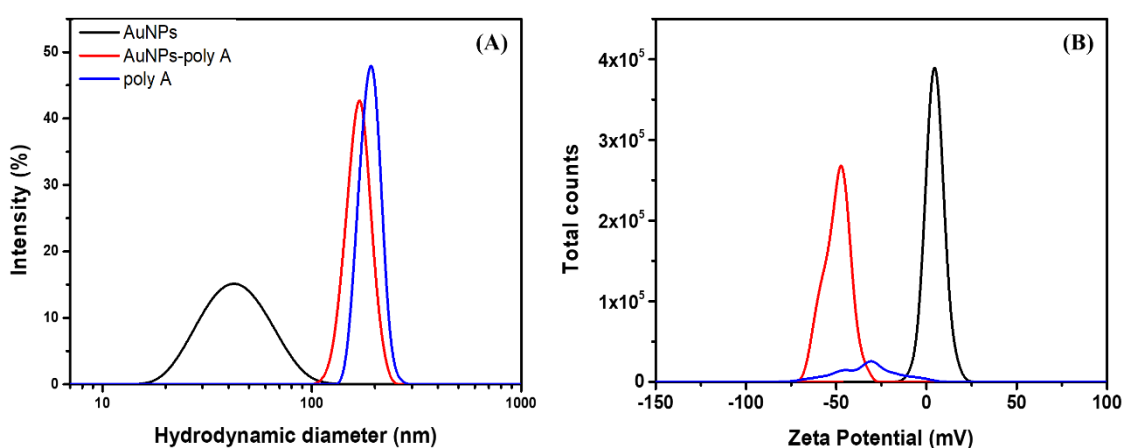


Figura III.12 Măsurători DLS achiziționate asupra AuNPs (spectru negru), AuNPs-poly A (spectru roșu) și poly A liber (spectru albastru) (**A**);

Măsurători de potențial zeta achiziționate asupra AuNPs (spectru negru), AuNPs-poly A (spectru roșu) și poly A liber (spectru albastru) (**B**)

Concluzii finale și perspective viitoare

În cadrul acestei lucrări de licență am realizat două sinteze de AuNPs sferice, reproductibile. Prin dezvoltarea metodei în care AuNPs sunt stabilizate de CTAC, am obținut o sinteză controlată prin care putem modifica dimensiunea NPs, spre deosebire de metoda Turkevich care vine cu limitări în tunabilitatea sintezei. Limitările sintezei de AuNPs stabilizate de citrat, prin metoda Turkevich, au fost depășite prin optimizarea sintezei de AuNPs stabilizate de CTAC. Astfel, am reușit să tunăm dimensiunea și răspunsul plasmonic al AuNPs de la 524 nm până la 600 nm.

Datorită suprafeței versatile am realizat cu succes funcționalizarea AuNPs, fapt confirmat prin caracterizarea optică a probelor funcționalizate, în comparație cu soluțiile coloidale de AuNPs. Comparând soluția inițială de AuNPs, molecula de interes în stare liberă și AuNPs funcționalizate cu molecula de interes, am observat modificări atât în spectrul de extincție al probelor, cât și în măsurătorile DLS și de potențial zeta. Funcționalizarea cu succes este în primul rând demonstrată de deplasarea maximumului de extincție spre lungimi de unda mai mari, iar apoi de modificarea diametrului hidrodinamic al NPs și a încărcării de la suprafața a acestora.

Prin funcționalizarea AuNPs cu cele trei entități biologice diferite, și anume avastin, BSA și poly A - am demonstrat versatilitatea și implicit adaptabilitatea suprafeței lor pentru a fi translatate în aplicații biologice, cu scopul de le spori biocompatibilitatea, a fi utilizate ca agenți de livrare de medicamente, sau ca biosenzori pentru detecție.

Ca activitate științifică viitoare, intenționez să utilizez acești agenți plasmonici funcționalizați cu molecule active de interes pentru studiul eficienței lor în aplicații biomedicale. Doresc să studiez capacitatea AuNPs funcționalizate cu avastin pentru livrarea țintită a medicamentului la celulele canceroase. De asemenea, voi utiliza AuNPs funcționalizate cu BSA în studii de viabilitate celulară asupra mai multor tipuri de celule, în comparație cu soluția coloidală de AuNPs, cu scopul de a demonstra biocompatibilitatea sporită a nanosistemului conjugat. În final, doresc să utilizez și să evaluez capacitatea funcționalizării AuNPs cu poly A în detecția biomarkerului cardiac - Troponina I (TnI).

Ca urmare a acestor procese, am sintetizat AuNPs pentru viitoare posibile utilizări în direcții medicale importante, și anume imagistică, diagnostic și tratarea cancerului.

ANEXE**Anexa 1****Spectrometrul Jasco V-670 UV-Vis-NIR**

Spectrometria de absorbție se bazează pe interacțiunea radiațiilor electromagnetice din domeniul UV, vizibil sau NIR cu moleculele substanței chimice. Când lumina interacționează cu proba vizată, o parte din ea este supusă procesului de absorbție, iar restul poate fi redirecționat în direcții diferite.

Spectroscopia de absorbție UV-Vis-NIR utilizează această interacțiune pentru a analiza compoziția moleculară sau atomică a unei probe. Undele electromagnetice sunt absorbite selectiv în funcție de caracteristicile substanței, iar electronii de valență se mută din starea lor fundamentală într-o stare excitată. Aparatul utilizat în cadrul acestei lucrări este ilustrat în **Figura A1.1**.



Figura A1.1 Spectrofotometrul Jasco V-670 UV-Vis-NIR

Nanoparticulele plasmonice, față de cele organice, nu absorb lumina, ci o împrăștie. Extincția este suma pierderilor de absorbție și dispersie a luminii din cauza eșantionului.

În spectrometrele convenționale, radiația electromagnetică se împarte în două raze, una trece prin probă, iar cealaltă prin referința în care se află solventul. Ambele raze sunt analizate în același timp. Ca recipiente pentru a pune cele două soluții, se folosesc cuve mici și transparente cu o lățime de 2 sau 10 mm.

Fotocelele detectează radiația transmisă, iar spectrofotometrul înregistrează absorbția prin înregistrarea diferențelor care apar între intensitatea radiației care trece prin probă și cea care trece prin solvent.

Cantitatea de lumină absorbită la o anumită lungime de undă este dată de densitatea optică (OD). Densitatea optică depinde de coeficientul de absorbție molară (ϵ_{PNPS}), grosimea cuvei (d) și concentrația probei (C) (**Ecuția 1**). Coeficientul de împrăștiere, este influențat de dimensiunea și forma nanoparticulelor (**Ecuția 2**).

$$OD = \epsilon_{PNPS} \times d \times C \quad (1)$$

$$\epsilon_{PNPS} = \sum \epsilon_{Abs} + \epsilon_{imp} \quad (2)$$

În lucrarea mea, spectroscopia de absorbție UV-Vis-NIR a fost utilizată pentru caracterizarea proprietăților optice ale AuNPs sferice. Măsurătorile au fost efectuate într-un interval de lungimi de undă cuprins între 190 nm și 800 nm, evidențiind intervalul 400 nm – 750 nm în spectrele prezentate anterior, pentru a ilustra caracteristicile care depind de dimensiunea NPs analizate. Din spectrul de extincție, putem obține astfel informații precum: forma și mărimea, dar mai ales am putut evidenția schimbările care apar în urma funcționalizării cu proteina BSA, medicamentul avastin și aptamerul poly A.

Anexa 2**Împrăștierea dinamică a luminii (DLS) – Zetasizer Nano ZS90 Malvern**

Spectroscopia de împrăștiere dinamică a luminii (DLS) este o tehnică cunoscută utilizată cu scopul de a determina distribuția dimensiunilor particulelor într-o soluție. Se bazează pe măsurarea fluctuației în intensitatea luminii împrăștiate cauzate de mișcarea Browniană a particulelor. Aparatul utilizat în cadrul acestei lucrări este ilustrat în **Figura A2.1**.

**Figura A2.1** Zetasizer Nano ZS90 Malvern

Prin analizarea semnalului de împrăștiere obținem informații despre dimensiunea particulelor care sunt deduse din viteza de difuzie. Ecuația Stokes-Einstein ajută la determinarea diametrului particulei (**Ecuația 3**).

$$D_H = \frac{kT}{3\pi\eta D} \quad (3)$$

unde: D_H – diametru hidrodinamic, D – coeficientul de difuzie translațional, k – constanta Boltzmann, T – temperatura absolută, η – vâscozitatea probei.

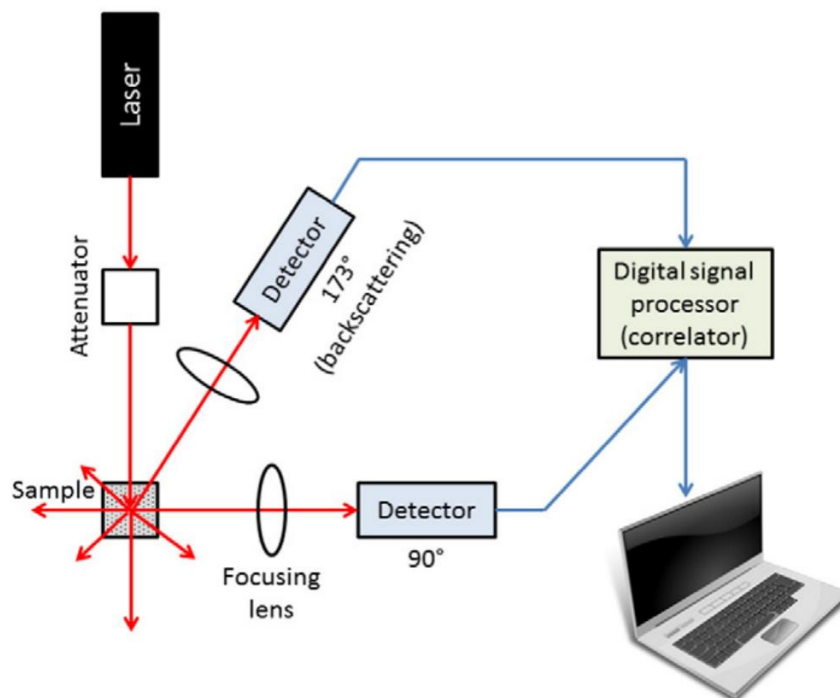


Figura A2.2 Configurația schematică a tehnicii DLS [39]

În cadrul unei măsurători DLS, avem proba care este iluminată de un fascicol coerent de lumină, în cazul nostru un laser (HeNe 633 nm). Particulele din probă, odată ce sunt supuse iradierii, împrăștie lumina în diferite direcții. Lumina împrăștiată pentru măsurătorile de dimensiune este detectată la un unghi de este de 90° . În funcție de mărime, formă și fluctuația mișcării Browniene a particulelor este stabilită intensitatea. Aceasta este colectată de un detector și procesată de un software pentru a determina distribuția mărimii particulelor. Reprezentarea schematică a procesului este ilustrată în **Figura A2.2**.

Pentru lucrarea mea, am folosit tehnica DLS cu scopul de a determina diametrul hidrodinamic a AuNPs. Ulterior, în urma funcționalizării cu proteina BSA, medicamentul avastin și aptamerul poly A, , am evidențiat diferențele care apar asupra mărimii. Măsurătorile DLS prezentate au fost achiziționate cu aparatul Zetasizer Nano ZS90 Malvern.

Anexa 3

Aparatura utilizat pentru măsurătorile de potențial zeta au fost efectuate cu același aparat ca măsurătorile DLS, și anume Zetasizer Nano ZS90 Malvern (**Figura A2.1**).

Potențialul Zeta este sarcina electrică aflată la suprafața unei particule în soluție, și are scopul de a măsura magnitudinea electrostatică sau sarcina de repulsie/atracție dintre particule. Dublul strat electric este format din două părți, stratul Stern, unde ionii sunt puternic legați, și stratul difuz, o zonă în care densitatea ionică scade treptat, iar ionii și particulele formează o entitate stabilă până la o limită virtuală. Când particula se deplasează, ionii din interiorul barierei se deplasează împreună cu ea, în timp ce ionii din afara acesteia nu sunt influențați (**Figura A3.1**).

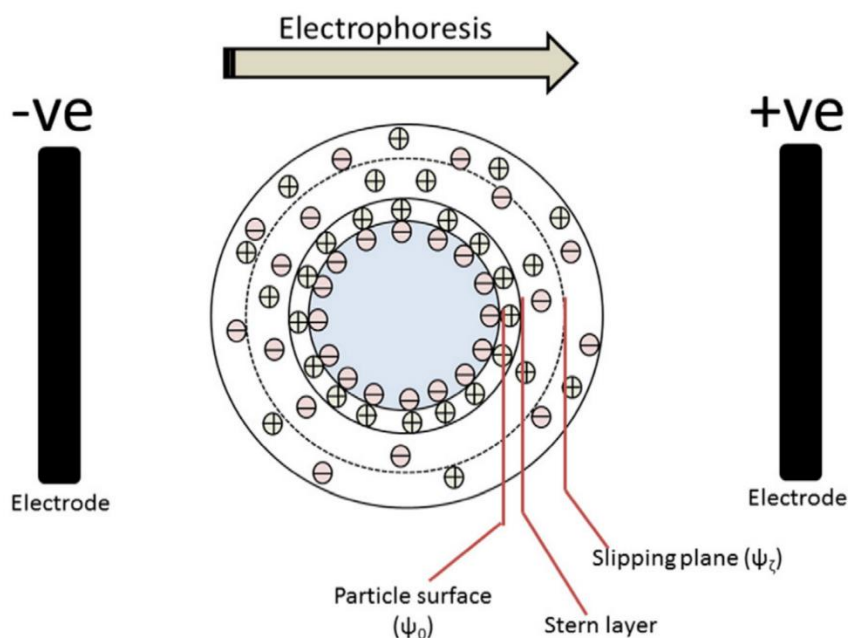


Figura A3.1 Reprezentare schematică a potențialului zeta [39]

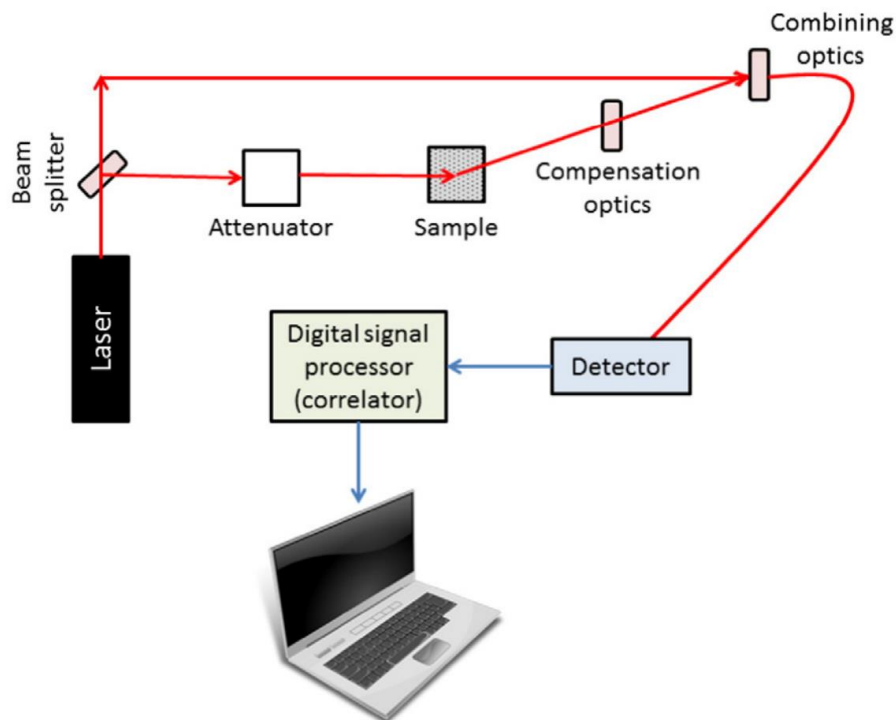


Figura A3.2 Configurația schematică a tehnologiei de preluare a potențialului zeta [39]

Cu ajutorul acestei tehnici putem determina diferite proprietăți ale unor particule sau molecule de interes aflate într-un mediu lichid, printre care doi parametrii fundamentali, dimensiunea și potențialul zeta. În **Figura A3.2** este prezentată configurația schematică a tehnologiei de preluare a potențialului zeta.

Pentru această lucrare, măsurătorile de potențial zeta au fost efectuate asupra AuNPs sferice, pentru a le evalua încărcarea electrică de suprafață. Ulterior, în urma funcționalizării cu proteina BSA, medicamentul avastin și aptamerul poly A au apărut schimbări evidențiate prin intermediul spectrelor la nivelul suprafeței.

Anexa 4

Microscopul electronic prin transmisie (TEM) - JEOL JEM 100CX II

Scopul utilizării microscopiei TEM a fost de a confirma diametrul și morfologia sferică a AuNPs pe care le-am sintetizat.

TEM este o tehnică prin care o probă este expusă la un fascicol de electroni, și astfel se generează o imagine la o rezoluție semnificativ mai mare decât microscopia luminoasă, permițând vizualizarea detaliilor la nivel atomic. Această diferență se manifestă datorită lungimii de undă de Broglie a electronilor. Proba analizată trebuie să fie la scală nanometrică, astfel încât electronii să poată trece prin ea, totuși dacă secțiunea este prea subțire, apare o deviere mică iar imaginile sunt lipsite de contrast, iar în cazul în care este prea groasă, imaginea devine neclară.

Odată ce fascicolul de electroni întâlnește proba, o parte din electroni sunt absorbiți, împrăștiați sau transmiși. Această interacțiune afectează intensitatea electronilor care ajung la detector, și totodată astfel se formează contrastul în imaginea finală ce prezintă compoziția și structura internă. În **Figura A4.1** este ilustrat aparatul TEM.

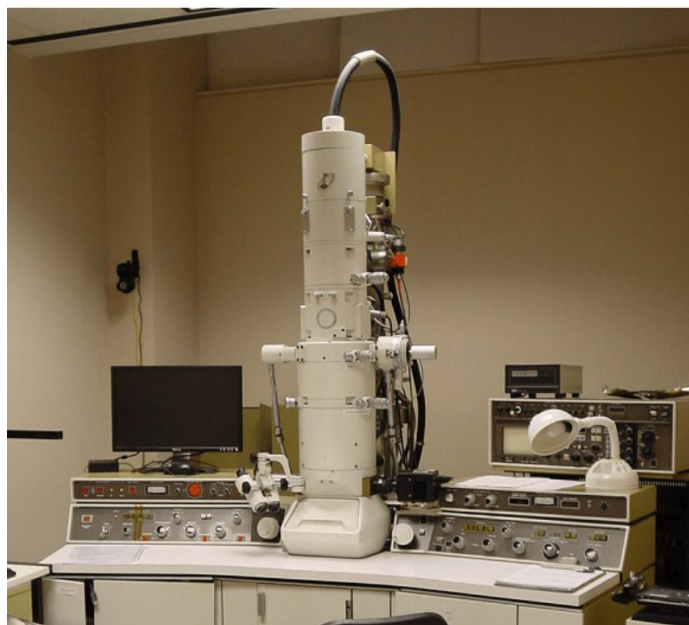


Figura A4.1 JEOL JEM 100CX II

Proba de AuNPs a fost dispersată pe griduri de carbon și s-a adăugat acetat de uraniu 0.5% pentru contrastul negativ.

Imaginile microscopice din lucrare au fost preluate pentru a prezenta forma sferică nanoparticulelor de aur rezultată în urma celor două metode de sintetizare și pentru a arăta cum s-

a realizat funcționalizarea AuNPs cu proteina BSA. Aparatul folosit pentru obținerea imaginilor este JEOL JEM 100CX II dotat cu o cameră MegaView G3, iar tensiunea utilizată pentru imagistica TEM a fost setată pe 80 Kv.

Imaginile TEM au fost achiziționate de Dr. Lucian Barbu în cadrul Institutului Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Tehnologii Izotopice și Moleculare.

Bibliografie

- [1] J. A. Schwarz, C. I. Contescu, and K. Putyera, *Dekker encyclopedia of nanoscience and nanotechnology*, vol. 5. CRC press, 2004.
- [2] F. A. Buot, “Mesoscopic physics and nanoelectronics: nanoscience and nanotechnology,” *Physics Reports*, vol. 234, no. 2–3, pp. 73–174, Nov. 1993, doi: 10.1016/0370-1573(93)90097-W.
- [3] V. Mody, R. Siwale, A. Singh, and H. Mody, “Introduction to metallic nanoparticles,” *J Pharm Bioall Sci*, vol. 2, no. 4, p. 282, 2010, doi: 10.4103/0975-7406.72127.
- [4] P. Tiwari, K. Vig, V. Dennis, and S. Singh, “Functionalized Gold Nanoparticles and Their Biomedical Applications,” *Nanomaterials*, vol. 1, no. 1, pp. 31–63, Jun. 2011, doi: 10.3390/nano1010031.
- [5] M. S. Khan, G. D. Vishakante, and Siddaramaiah H, “Gold nanoparticles: A paradigm shift in biomedical applications,” *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 199–200, pp. 44–58, Nov. 2013, doi: 10.1016/j.cis.2013.06.003.
- [6] R. Sardar, A. M. Funston, P. Mulvaney, and R. W. Murray, “Gold Nanoparticles: Past, Present, and Future,” *Langmuir*, vol. 25, no. 24, pp. 13840–13851, Dec. 2009, doi: 10.1021/la9019475.
- [7] I. Hammami, N. M. Alabdallah, A. A. Jomaa, and M. Kamoun, “Gold nanoparticles: Synthesis properties and applications,” *Journal of King Saud University - Science*, vol. 33, no. 7, p. 101560, Oct. 2021, doi: 10.1016/j.jksus.2021.101560.
- [8] S. Alex and A. Tiwari, “Functionalized Gold Nanoparticles: Synthesis, Properties and Applications—A Review,” *j nanosci nanotechnol*, vol. 15, no. 3, pp. 1869–1894, Mar. 2015, doi: 10.1166/jnn.2015.9718.
- [9] M. Shah *et al.*, “Gold nanoparticles: various methods of synthesis and antibacterial applications,” *Front. Biosci*, vol. 19, no. 8, p. 1320, 2014.
- [10] T. T. S. Lew *et al.*, “Epitope-Functionalized Gold Nanoparticles for Rapid and Selective Detection of SARS-CoV-2 IgG Antibodies,” *ACS Nano*, vol. 15, no. 7, pp. 12286–12297, Jul. 2021, doi: 10.1021/acsnano.1c04091.
- [11] N. D. Samsuri, W. M. Mukhtar, A. R. Abdul Rashid, K. Ahmad Dasuki, and A. A. R. Hj. Awangku Yussuf, “Synthesis methods of gold nanoparticles for Localized Surface Plasmon Resonance (LSPR) sensor applications,” *EPJ Web Conf.*, vol. 162, p. 01002, 2017, doi: 10.1051/epjconf/201716201002.

- [12] S. Peiris, J. McMurtrie, and H.-Y. Zhu, “Metal nanoparticle photocatalysts: emerging processes for green organic synthesis,” *Catal. Sci. Technol.*, vol. 6, no. 2, pp. 320–338, 2016, doi: 10.1039/C5CY02048D.
- [13] M.-Q. He, Y.-L. Yu, and J.-H. Wang, “Biomolecule-tailored assembly and morphology of gold nanoparticles for LSPR applications,” *Nano Today*, vol. 35, p. 101005, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.nantod.2020.101005.
- [14] J. Fan, Y. Cheng, and M. Sun, “Functionalized Gold Nanoparticles: Synthesis, Properties and Biomedical Applications,” *The Chemical Record*, vol. 20, no. 12, pp. 1474–1504, Dec. 2020, doi: 10.1002/tcr.202000087.
- [15] K. Nejati, M. Dadashpour, T. Gharibi, H. Mellatyar, and A. Akbarzadeh, “Biomedical Applications of Functionalized Gold Nanoparticles: A Review,” *J Clust Sci*, vol. 33, no. 1, pp. 1–16, Jan. 2022, doi: 10.1007/s10876-020-01955-9.
- [16] V. H. Nguyen and B.-J. Lee, “Protein corona: a new approach for nanomedicine design,” *IJN*, vol. Volume 12, pp. 3137–3151, Apr. 2017, doi: 10.2147/IJN.S129300.
- [17] Y.-S. S. Yang *et al.*, “Targeting small molecule drugs to T cells with antibody-directed cell-penetrating gold nanoparticles,” *Biomater. Sci.*, vol. 7, no. 1, pp. 113–124, 2019, doi: 10.1039/C8BM01208C.
- [18] K. Cho, X. Wang, S. Nie, Z. (Georgia) Chen, and D. M. Shin, “Therapeutic Nanoparticles for Drug Delivery in Cancer,” *Clinical Cancer Research*, vol. 14, no. 5, pp. 1310–1316, Mar. 2008, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1441.
- [19] I. A. Mohammed and F. J. Al-Gawhari, “Gold Nanoparticle: Synthesis, Functionalization, Enhancement, Drug Delivery and Therapy: A Review.,” *Systematic Reviews in Pharmacy*, vol. 11, no. 6, 2020.
- [20] W. P. Savarimuthu, P. Gananathan, A. P. Rao, E. Manickam, and G. Singaravelu, “Protoporphyrin IX-Gold Nanoparticle Conjugates for Targeted Photodynamic Therapy—An *In-Vitro* Study,” *j nanosci nanotechnol*, vol. 15, no. 8, pp. 5577–5584, Aug. 2015, doi: 10.1166/jnn.2015.10302.
- [21] S. Kang *et al.*, “Effects of gold nanoparticle-based vaccine size on lymph node delivery and cytotoxic T-lymphocyte responses,” *Journal of Controlled Release*, vol. 256, pp. 56–67, Jun. 2017, doi: 10.1016/j.jconrel.2017.04.024.
- [22] G. Bashiri, M. S. Padilla, K. L. Swingle, S. J. Shepherd, M. J. Mitchell, and K. Wang, “Nanoparticle protein corona: from structure and function to therapeutic targeting,” *Lab Chip*, vol. 23, no. 6, pp. 1432–1466, 2023, doi: 10.1039/D2LC00799A.

- [23] B. Duncan, C. Kim, and V. M. Rotello, “Gold nanoparticle platforms as drug and biomacromolecule delivery systems,” *Journal of Controlled Release*, vol. 148, no. 1, pp. 122–127, Nov. 2010, doi: 10.1016/j.jconrel.2010.06.004.
- [24] N. Li *et al.*, “A chemophotothermal and targeting multifunctional nanoprobe with a tumor-diagnosing ability,” *Nano Res.*, vol. 11, no. 8, pp. 4333–4347, Aug. 2018, doi: 10.1007/s12274-018-2021-0.
- [25] J. Garcia *et al.*, “Bevacizumab (Avastin®) in cancer treatment: A review of 15 years of clinical experience and future outlook,” *Cancer Treatment Reviews*, vol. 86, p. 102017, Jun. 2020, doi: 10.1016/j.ctrv.2020.102017.
- [26] A. Baião, F. Sousa, A. V. Oliveira, C. Oliveira, and B. Sarmiento, “Effective intracellular delivery of bevacizumab via PEGylated polymeric nanoparticles targeting the CD44v6 receptor in colon cancer cells,” *Biomater. Sci.*, vol. 8, no. 13, pp. 3720–3729, 2020, doi: 10.1039/D0BM00556H.
- [27] R. Kozłowski, A. Ragupathi, and R. B. Dyer, “Characterizing the Surface Coverage of Protein–Gold Nanoparticle Bioconjugates,” *Bioconjugate Chem.*, vol. 29, no. 8, pp. 2691–2700, Aug. 2018, doi: 10.1021/acs.bioconjchem.8b00366.
- [28] P. Wang, X. Wang, L. Wang, X. Hou, W. Liu, and C. Chen, “Interaction of gold nanoparticles with proteins and cells,” *Science and Technology of Advanced Materials*, vol. 16, no. 3, p. 034610, Jun. 2015, doi: 10.1088/1468-6996/16/3/034610.
- [29] R. García-Álvarez and M. Vallet-Regí, “Hard and Soft Protein Corona of Nanomaterials: Analysis and Relevance,” *Nanomaterials*, vol. 11, no. 4, p. 888, Mar. 2021, doi: 10.3390/nano11040888.
- [30] E. Mohamad, M. Rageh, R. Ezz-Aldoula, and M. Ramadan, “Examination of the interaction between bovine albumin and gold nanoparticles,” *Egypt. J. Chem.*, vol. 0, no. 0, pp. 0–0, Aug. 2023, doi: 10.21608/ejchem.2023.223345.8267.
- [31] O. H. Shayesteh and A. G. Khosroshahi, “A polyA aptamer-based label-free colorimetric biosensor for the detection of kanamycin in human serum,” *Anal. Methods*, vol. 12, no. 14, pp. 1858–1867, 2020, doi: 10.1039/D0AY00326C.
- [32] T. Fan *et al.*, “Rolling circle amplification triggered poly adenine-gold nanoparticles production for label-free electrochemical detection of thrombin,” *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 266, pp. 9–18, Aug. 2018, doi: 10.1016/j.snb.2018.03.112.
- [33] H. Daraee, M. Pourhassanmoghadam, A. Akbarzadeh, N. Zarghami, and M. Rahmati-Yamchi, “Gold nanoparticle–oligonucleotide conjugate to detect the sequence of lung cancer

- biomarker,” *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, vol. 44, no. 6, pp. 1417–1423, Aug. 2016, doi: 10.3109/21691401.2015.1031905.
- [34] Lee, Soo Suk, “Novel Detection Technology for Glycated Hemoglobin using Gold Nanoparticles,” *Journal of Sensor Science and Technology*, vol. 25, no. 6, pp. 435–439, Nov. 2016, doi: 10.5369/JSST.2016.25.6.435.
- [35] M. Yu *et al.*, “Noninvasive Staging of Kidney Dysfunction Enabled by Renal-Clearable Luminescent Gold Nanoparticles,” *Angewandte Chemie*, vol. 128, no. 8, pp. 2837–2841, Feb. 2016, doi: 10.1002/ange.201511148.
- [36] S. Song, Y. Hao, X. Yang, P. Patra, and J. Chen, “Using Gold Nanoparticles as Delivery Vehicles for Targeted Delivery of Chemotherapy Drug Fludarabine Phosphate to Treat Hematological Cancers,” *J Nanosci Nanotechnol*, vol. 16, no. 3, pp. 2582–2586, Mar. 2016, doi: 10.1166/jnn.2016.12349.
- [37] Pradeepa, S. M. Vidya, S. Mutalik, K. Udaya Bhat, P. Huilgol, and K. Avadhani, “Preparation of gold nanoparticles by novel bacterial exopolysaccharide for antibiotic delivery,” *Life Sciences*, vol. 153, pp. 171–179, May 2016, doi: 10.1016/j.lfs.2016.04.022.
- [38] M. Mahmoudi, M. P. Landry, A. Moore, and R. Coreas, “The protein corona from nanomedicine to environmental science,” *Nat Rev Mater*, vol. 8, no. 7, pp. 422–438, Mar. 2023, doi: 10.1038/s41578-023-00552-2.
- [39] S. Bhattacharjee, “DLS and zeta potential – What they are and what they are not?,” *Journal of Controlled Release*, vol. 235, pp. 337–351, Aug. 2016, doi: 10.1016/j.jconrel.2016.06.017.

DECLARAȚIE PE PROPRIE RĂSPUNDERE

Subsemnatul, Rusu Cătălina Ioana, declar că Lucrarea de licență pe care o voi prezenta în cadrul examenului de finalizare a studiilor la Facultatea de Fizică, din cadrul Universității Babeș-Bolyai, în sesiunea de vară, sub îndrumarea coordonatorului științific Conf. Dr. Monica Focșan, reprezintă o operă personală. Menționez că nu am plagiat o altă lucrare publicată, prezentată public sau un fișier postat pe Internet. Pentru realizarea lucrării am folosit exclusiv bibliografia prezentată și nu am ascuns nici o altă sursă bibliografică sau fișier electronic pe care să le fi folosit la redactarea lucrării.

Data

17.06.2024

Absolvent

Rusu Cătălina Ioana