

Warszawa, 27.04.2021

Mgr Lidia Jagoda Opuchlik
Pracownia Teorii i Zastosowań Elektrod
Wydział Chemii
Uniwersytet Warszawski

Autoreferat rozprawy doktorskiej pt.

Złote elektrody i nanocząstki złota modyfikowane związkami zawierającymi siarkę oraz ich wybrane zastosowania

(Gold electrodes and gold nanoparticles modified with sulphur-containing compounds and their selected applications).

Promotor: prof. dr hab. Renata Bilewicz

Nanocząstki złota (AuNPs) znane są od zamierzchłych czasów, ale od ponad wieku cieszą się również dużym zainteresowaniem wśród naukowców. Badania w tej dziedzinie znacznie przyspieszyły z początkiem XXI wieku wraz z wynalezieniem i rozwojem nowych metod syntezy wielu różnorodnych jedno-, dwu- i trójwymiarowych struktur. Pożądane cechy, które złote nanostruktury posiadają, takie jak mały rozmiar, różnorodne właściwości strukturalne i optyczne, biokompatybilność czy łatwość modyfikacji ich powierzchni sprawiają, że są one bardzo obiecującymi nanostrukturami i w związku z tym znajdują zastosowania w wielu dziedzinach. Zastosowania te mogą być mniej lub bardziej praktyczne, ale we wszystkich przypadkach są ekscytujące i roją nowymi odkryciami w wielu kierunkach ludzkiej działalności.

Łatwość funkcjonalizacji m. in. z wykorzystaniem związków zawierających siarkę (tiole, disiarczki, siarczki dialkylowe) wynika z procesu samoorganizacji, podczas którego powstają trwałe, kowalencyjne wiązania Au-S. W ten sposób, na powierzchnię nanocząstek można wprowadzić dodatkowe substancje modyfikujące posiadające różne właściwości – związki elektrochemicznie czynne, np. pochodne ferrocenu, terapieutyki, np. leki, fragmenty materiału genetycznego, biologiczne substancje naprowadzające, np. kwas foliowy, substancje nadające trwałość (stabilizatory), substancje zmieniające rozpuszczalność czy zwiększające biokompatybilność, np. PEG, substancje zmieniające właściwości optyczne, np. luminofory itd. Możliwości na tym polu są właściwie ograniczone jedynie wyobraźnią naukowca. Warto tu wspomnieć, że można tworzyć połączenia trwałe pomiędzy nanostrukturą a substancją modyfikującą oraz połączenia rozpadające się w określonych warunkach otaczającego je środowiska, np. dezintegracja koniugatów pod wpływem pH. Specyficzna budowa nanocząstek i cechy takie jak duży stosunek powierzchni do objętości, obecność zróżnicowanych struktur krystalograficznych czy duża liczba krawędzi z miejscami o niewysyczonej koordynacji (miejscami o dużej aktywności) wpływają natomiast na dobre właściwości elektrochemiczne, w tym katalityczne złotych nanostruktur. Najczęściej eksplorowane właściwości optyczne nanocząstek złota zależą przede wszystkim takich czynników jak rozmiar oraz kształt, ale również skład nanostruktury, ładunek powierzchniowy, interakcje międzycząsteczkowe czy obecność substancji zaadsorbowanych na ich powierzchni. Należy tu wyraźnie podkreślić, że właściwości struktur niesferycznych (niesymetrycznych) różnią się od właściwości struktur kulistych (wysoce symetrycznych).

Najważniejszą optyczną właściwością nanocząstek anizotropowych jest fakt wykazywania wielokrotnych sygnałów SPR w zakresie światła widzialnego jak i bliskiej podczerwieni, co sprawia, że są one interesujące i przydatne z medycznego punktu widzenia (terapia termiczna, terapie bimodalne czy obrazowanie).

W swoich badaniach nad nanocząstkami złota wykorzystywałam szczególnie właściwości takie jak łatwość funkcjonalizacji ich powierzchni, korzystne właściwości strukturalne, nietypowe właściwości optyczne, oraz fakt, że nie wykazują toksyczności wobec komórek/organizmów biologicznych.

Celem pracy doktorskiej było otrzymanie różnego rodzaju (nano)struktur złotych i zademonstrowanie ich wybranych, ważnych zastosowań roztworowych oraz po unieruchomieniu na elektrodach złotych lub węglowych.

W ramach mojej pracy doktorskiej zbadałam:

- 1) Oddziaływania pochodnej alkanotiolu (11-(ferrocenylo)undekanotiolu) w postaci wolnej lub immobilizowanej na nanocząstkach złota z hydrofobowymi (GCE, HOPG) i hydrofilowymi (Au, ITO) elektrodami.

Oceeniłam rolę nanocząstek złota w takich oddziaływaniach na podstawie pomiarów elektrochemicznych i obrazowania metodą mikroskopii sił atomowych. Uzyskane wyniki elektrochemiczne pozwoliły określić:

- (1) najlepsze sposoby unieruchamiania badanych układów na powierzchni elektrod,
- (2) optymalne warunki dla uzyskania trwałej modyfikacji powierzchni,
- (3) różnice w zachowaniu elektrochemicznym przygotowanych układów.

Wyzaczyłam parametry procesów elektrochemicznych, takie jak wartości potencjałów formalnych, parametry kinetyczne oraz szerokości w połowie wysokości pików woltamperometrycznych, odzwierciedlające występowanie oddziaływań między unieruchomionymi substancjami elektroaktywnymi.

Obrazowanie AFM pozwoliło poznać topografie powierzchni i śledzić zmiany strukturalne nanocząstek. Potwierdziło także obecność silnych oddziaływań z podłożem przewodzącym.

- 2) Reakcję redukcji tlenu (ORR) na specjalnie zaprojektowanych powierzchniach elektrokatalitycznych – podłożach węglowych pokrytych nanotrójkątami złota.

Pomiary wykonane przy pomocy odpowiednio zmodyfikowanej wirującej węglowej elektrody dyskowej pozwoliły mi na określenie kinetyki i mechanizmu redukcji tlenu oraz porównanie wydajności tak przygotowanej powierzchni elektrodowej z dobrze już poznaną i wyczerpująco opisaną w literaturze, niepokrytą polikrystaliczną elektrodą złotą.

Wykazałam wpływ procesu przygotowania i czystości powierzchni katalitycznej (pomiary prowadziłam zarówno przed, jak i po zastosowaniu procedury aktywacyjnej – woltamperometrycznego cyklowania utleniająco-redukującego w roztworze kwasu siarkowego) na potencjał początkowy, gęstość prądu, liczbę elektronów przenoszonych podczas reakcji, liczbę etapów reakcji i produkty końcowe.

Interesującym odkryciem w tej części mojej rozprawy było stwierdzenie, że centra aktywne złota z niewysoczoną koordynacją, znajdujące się na krawędziach

nanotrójkątów, są odpowiedzialne za właściwości katalityczne nanostrukturalnej powierzchni – nazwałam to „efektem krawędzi” nanocząstek złota o kształcie nanotrójkątów. Wykazałam, że czystość podłoża odgrywa kluczową rolę w badanym procesie katalitycznym. Zaletami tego typu nanocząstek, są prostota przygotowania powierzchni elektrokatalitycznej, a przygotowane elektrody są znacznie tańsze niż powszechnie stosowane czyste metaliczne złoto czy platyna.

3) Przydatność nanocząstek złota – w tym nanosfer (symetrycznych) i nanotrójkątów do ich zastosowań jako potencjalnych nośników leków w terapiach przeciwnowotworowych.

W badaniach tej części pracy wykorzystałam łatwość biokonjugacji, stabilność antyagregacyjną, dobrą biokompatybilność i dostrajalne właściwości optyczne złotych nanotrójkątów. Możliwość przekształcania przez nie energii świetlnej w termiczną nadaje tym nanomateriałom szczególny walor wielofunkcyjności terapeutycznej przejawiającej się nie tylko jako cytotoksyczność pochodzenia lekowego, ale także hipertermiczna.

W swoich badaniach porównałam właściwości cytotoksyczne symetrycznych nanocząstek złota modyfikowanych doksorubicyną oraz anizotropowych, wrażliwych na bliską podczerwień nanotrójkątów na dwóch różnych liniach komórek nowotworowych: raka płuc i szyjki macicy. Lek przeciwnowotworowy – doksorubicynę przyłączałam do nośników na dwa różne sposoby: (1) wiązaniem amidowym niezależnym od pH i (2) wiązaniem hydrazonowym o trwałości zależnej od pH otaczającego środowiska. Zbadałam proces uwalniania leku z nośników przy pomocy spektroskopii fluorescencyjnej, natomiast przeprowadzone testy MTT i związane z nimi badania mikroskopii konfokalnej umożliwiły ustalenie zmian cytotoksyczności w czasie i określenie typu śmierci komórkowej. Uzyskane wyniki jednoznacznie wskazały, że zaproponowany układ nośnik-lek jest obiecujący dla terapii antynowotworowej i powinien być wykorzystany w dalszych badaniach.

Podczas doktoratu realizowałam również badania interdyscyplinarne niezwiązane bezpośrednio z tematyką mojego doktoratu, a wyniki przeprowadzonych przeze mnie eksperymentów były podstawą do przygotowania poniższych prac, w tym 3 bezpośrednio związanych z tematyką doktoratu (pogrubiona czcionka):

1. P. Piotrowski, J. Pawłowska, J. Pawłowski, L. J. Opuchlik, R. Bilewicz, A. Kaim Aromatic Thioacetate-Functionalized C₆₀ Fullerenes for Efficient Binding to Gold Electrode and Gold Nanoparticles, RSC Advances, 2014, 4, 64310-64318.

2. **O. A. Swiech, L. J. Opuchlik, G. Wojciuk, T. M. Stepkowski, M. Kruszewski, R. Bilewicz Doxorubicin carriers based on Au nanoparticles – effect of shape and gold-drug linker on the carrier toxicity and therapeutic performance, RSC Advances, 2016, 6, 31960-31967.**

3. **L. J. Opuchlik, J. Pawłowska, S. Sek, R. Bilewicz Ferrocenylated gold nanoparticles self – assemble at carbon surfaces to form stable films, Journal of Electroanalytical Chemistry, 2018, 825, 22-29.**

4. L. J. Opuchlik, M. Kizling, P. Bacal, R. Bilewicz Catalytic Activity of Anisotropic Gold Nanoplates towards Oxygen Reduction, *Electroanalysis*, 2019, 31, 2048-2056.

5. A. Trebinska–Stryjewska, O. Swiech, L. J. Opuchlik, E. A. Grzybowska, R. Bilewicz Impact of Medium pH on DOX Toxicity toward HeLa and A498 Cell Lines, *ACS Omega*, 2020, 5, 14, 7979-7986.

6. O. Swiech, M. Majdecki, L. J. Opuchlik, R. Bilewicz Impact of pH and cell medium on the interaction of doxorubicin with lipoic acid cyclodextrin conjugate as the drug carrier, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 2020, 97, 129-136.