



## การปรับแต่งพื้นผิวนอนุภาคนาโนเพื่อการประยุกต์ใช้ในทางชีวการแพทย์ Surface Modifications of Nanoparticles for Biomedical Application

เฉลิมชัย ปิละพงศ์<sup>1</sup>

### บทคัดย่อ

การนำอนุภาคนาโนมาประยุกต์ใช้ในทางวิทยาศาสตร์ชีวการแพทย์มีการศึกษาอย่างกว้างขวางเพราะมีศักยภาพที่จะนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงของการวินิจฉัยและการรักษาโรคต่าง ๆ ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการนำอนุภาคนาโนมาใช้งานจริงนั้นต้องมีการปรับแต่งพื้นผิวก่อนเพื่อที่จะปรับเปลี่ยนสมบัติทางกายภาพและเคมีให้เหมาะสม ในบทความนี้ จะเริ่มต้นด้วยการกล่าวถึงสมบัติการละลายน้ำของอนุภาคนาโนและตามด้วยตัวอย่างวิธีการที่ทำให้อนุภาคนาโนสามารถละลายในน้ำได้ เช่น การแลกเปลี่ยนลิแกนด์ การเคลือบด้วยซิลิกา และการเคลือบด้วยพอลิเมอร์ เป็นต้น ในส่วนถัดมาเป็นการกล่าวถึงเคมีของการคอนจูเกตระหว่างอนุภาคนาโนและสารชีวโมเลกุลอย่างคร่าว ๆ และในที่สุดท้ายจะเป็นการกล่าวถึงตัวอย่างของการประยุกต์ใช้อ้อนุภาคนาโนในทางชีวการแพทย์

### ABSTRACT

Applications of nanoparticles in biomedical science have been studied extensively because of their potentials to bring tremendous changes in diagnostic and treatment for many diseases. Firstly, however, surface of nanoparticles have to be modified in order to improve their physicochemical properties. In this review, it starts with a brief introduction regarding water solubilization of nanoparticles, followed by example approaches to solubilize them into aqueous solution such as ligand exchange, silica coating and polymer coating. Next, bioconjugate chemistry between nanoparticles and specific biomolecules was mentioned briefly. Finally, the selected biomedical applications of nanoparticles were also mentioned.

<sup>1</sup>หน่วยวิจัยเคมีฟิสิกส์ ชีววิทยาาระดับเซลล์และโมเลกุล ศูนย์วิจัยเพื่อความเป็นเลิศด้านการสร้างภาพระดับโมเลกุล ภาควิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200  
E-mail: chalerchai.pilapong@cmu.ac.th

**คำสำคัญ:** อนุภาคนาโน การปรับแต่งพื้นผิวของอนุภาคนาโน เคมีของการคอนจูเกต

**Keywords:** Nanoparticles, Surface modifications of nanoparticles, Conjugation chemistry

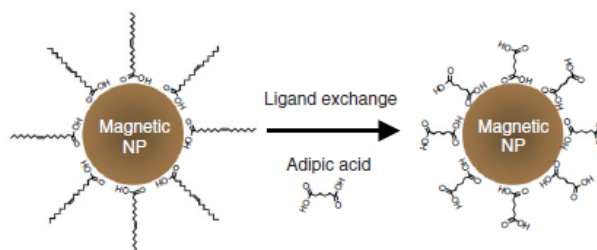
## บทนำ

อนุภาคนาโน (nanoparticles) เป็นอนุภาคที่มีขนาดเล็กตั้งแต่ 1-100 นาโนเมตร โดยอนุภาคเหล่านี้จะมีสมบัติเด่นหลายประการที่แตกต่างจากวัสดุหยาบ (bulk material) ปัจจุบันนี้ได้มีการนำอนุภาคนาโนมาประยุกต์ใช้ในทางชีวการแพทย์อย่างแพร่หลาย ไม่ว่าจะเป็น อนุภาคนาโนของโลหะ สารกึ่งตัวนำและสารแม่เหล็ก เป็นต้น ตัวอย่างการประยุกต์ใช้อาทิเช่น การขนส่งยาเพื่อการรักษาที่ตรงเป้า (Liong et al., 2008) การวินิจฉัยโรค (Gao et al., 2012) หรือทั้งรักษาและวินิจฉัยพร้อมกัน (Choi et al., 2012) ในการใช้อนุภาคนาโนกับการประยุกต์ใช้ในทางชีวการแพทย์นั้น มีสิ่งที่ต้องคำนึงถึงหลายประการ เช่น ความจำเพาะเจาะจงกับเป้าหมาย ความเป็นพิษต่อเซลล์ การเข้ากันได้ของอนุภาคนาโนกับสภาวะในร่างกาย และความเสถียร ฯลฯ เป็นต้น ดังนั้นการปรับแต่งพื้นผิว (surface modifications) ของอนุภาคนาโนเพื่อให้ได้สมบัติที่ต้องการจึงเป็นเรื่องที่สำคัญ นอกจากนี้การทำให้อนุภาคนาโนมีสมบัติเฉพาะตัวโดยการคอนจูเกต (conjugation) กับสารชีวโมเลกุลที่จำเพาะเจาะจงก็เป็นสิ่งต้องที่พิจารณาด้วยเช่นกัน ในบทความนี้จะกล่าวถึงวิธีการที่จะทำให้อนุภาคนาโนมีสมบัติการละลายน้ำและการทำให้อนุภาคนาโนมีสมบัติเฉพาะตัวโดยวิธีการคอนจูเกตต่าง ๆ

## 1. การละลายน้ำของอนุภาคนาโน

การละลายน้ำของอนุภาคนาโนนั้นหมายถึงการที่อนุภาคนาโนสามารถกระจายอยู่ในตัวกลางที่เป็นน้ำได้โดยไม่เกิดการเกาะกลุ่มกัน (aggregation) สลายตัว (dissociation) หรือทำปฏิกิริยากับตัวทำละลายซึ่งจะแตกต่างกันกับการละลายน้ำของโมเลกุลทางเคมีที่เกิดโซลเวชัน (solvation) กับตัวทำละลาย

การทำให้อนุภาคนาโนละลายน้ำได้นั้นสามารถทำได้ตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมอนุภาคนาโน กล่าวคือ เตรียมอนุภาคนาโนในตัวทำละลายที่ละลายน้ำได้ (aqueous solution) แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้เป็นวิธีที่ไม่มีประสิทธิภาพในการควบคุมขนาดและรูปร่างของอนุภาคส่งผลทำให้สมบัติทางกายภาพหรือทางเคมีไม่ดีเท่าที่ควร อีกวิธีเป็นการเตรียมอนุภาคนาโนในตัวทำละลายที่ไม่ละลายน้ำ (organic solvent) จากนั้นจึงจะมาปรับแต่งพื้นผิวให้มีความสามารถในการละลายน้ำภายหลัง วิธีนี้ได้รับการยอมรับว่าเป็นวิธีที่สามารถควบคุมสมบัติทางกายภาพและเคมีของอนุภาคนาโนได้ค่อนข้างดี เพราะมีการใช้ capping agent เข้ามาช่วยในการควบคุมขนาดและรูปร่างของอนุภาคนาโน แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้ก็ยังมีข้อเสียเช่นกัน อาทิเช่น ความเป็นพิษของสารตั้งต้นและ capping agent ที่ใช้ เป็นต้น



รูปที่ 1 การแทนที่ลิแกนด์กรดโอเลอิกโดยกรดอะดิพิคของอนุภาคแม่เหล็กนาโน

การทำให้อนุภาคนาโนมีความสามารถละลายหรือกระจายตัวอยู่ในน้ำนั้น สามารถแบ่งได้ ดังนี้

### 1.1 การแลกเปลี่ยนลิแกนด์ (ligand exchange)

อย่างที่กล่าวไปแล้ว การเตรียมอนุภาคนาโนในตัวทำละลายอินทรีย์เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมขนาดและรูปร่างมากที่สุดวิธีหนึ่ง แต่พบว่าพื้นผิวของอนุภาคนาโนจะแสดงสมบัติความเป็น hydrophobic เนื่องจาก capping agent ที่ใช้จะหั่นสายไฮโดรคาร์บอนออกมาด้านนอก ทำให้อนุภาคนาโนไม่สามารถกระจายตัวในตัวกลางที่เป็นน้ำได้ การแลกเปลี่ยน capping agent ที่ไม่ชอบน้ำบนอนุภาคนาโนอาจสามารถทำได้โดยการใช้ลิแกนด์ที่ประกอบด้วยส่วนหัวที่สามารถจับกับพื้นผิวของอนุภาคนาโนได้และส่วนหางที่ชอบน้ำหรือละลายน้ำได้ (hydrophilic tails) ดังตัวอย่างในรูปที่ 1 อนุภาคแม่เหล็กนาโนถูกเตรียมโดยใช้ กรดโอเลอิก (oleic acid) เป็น capping agent โดยกรดโอเลอิก จะหั่นหมู่ฟังก์ชันที่เป็นคาร์บอกซิลิก (COOH) เข้าหาพื้นผิวของอนุภาคแม่เหล็กนาโนแล้วหั่นสายไฮโดรคาร์บอนออกมาด้านนอกซึ่งทำให้พื้นผิวอนุภาคแม่เหล็กนาโนนี้ไม่ชอบน้ำ หลังจากการแลกเปลี่ยนลิแกนด์ด้วย กรดอะดิพิค (adipic acid) พบว่าอนุภาคแม่เหล็กนาโนสามารถกระจายตัวอยู่ในน้ำได้เพราะส่วนหางของกรดอะดิพิคมีส่วนที่ชอบน้ำ เช่น หมู่คาร์บอกซิลิก เป็นต้น

การเลือกใช้ลิแกนด์ที่จะมาแทนที่อีกลิแกนด์หนึ่งนั้นต้องคำนึงถึงความแรงของลิแกนด์หรือธรรมชาติของลิแกนด์กับชนิดของอนุภาคนาโนด้วยเช่นกัน โดยทั่วไปลิแกนด์ที่มีความแรงกว่าก็จะสามารถแทนที่ลิแกนด์ที่อ่อนกว่าได้ แต่อย่างไรก็ตาม การแทนที่ลิแกนด์ที่มีความแรงกว่าด้วยลิแกนด์ที่อ่อนกว่าสามารถทำได้โดยใช้ลิแกนด์ที่อ่อนกว่าในปริมาณมาก ๆ (excess) และความเข้มข้นสูง ๆ เช่น สามารถแทนที่กรดโอเลอิกด้วยแอลกอฮอล์ เป็นต้น (White et al.,

2006) อย่างไรก็ตามในการประยุกต์ใช้กับร่างกาย (*In vivo*) หรือในทางคลินิก ลิแกนด์ที่ใช้ต้องมีความเสถียรมากพอที่จะป้องกันไม่ให้เกิดการแลกเปลี่ยนหรือทำปฏิกิริยากับลิแกนด์อื่น ๆ ที่มีอยู่ในร่างกายเช่น คาร์บอกซิลิก ไทออล เปปไทด์ น้ำตาลหรือฟอสเฟต เป็นต้น ข้อจำกัดของการใช้วิธีการแลกเปลี่ยนลิแกนด์คือ ลิแกนด์อาจหลุดออกจากพื้นผิวของอนุภาคนาโนได้ง่าย ลิแกนด์จับกับพื้นผิวอนุภาคนาโนได้บางส่วนเป็นเหตุให้เกิดการจับตัวกันของอนุภาคนาโน (aggregate) หรือประสิทธิภาพในการคอนจูเกตกับสารชีวโมเลกุลไม่ดีเท่าที่ควร (Zhiyong et al., 2011)

ลิแกนด์สามารถแบ่งออกได้หลายประเภทตามชนิดของอะตอมที่ใช้ในการเกิดอันตรกิริยากับอนุภาคนาโน เช่น

#### ออกซิเจนลิแกนด์ (oxygen-based ligands)

กลุ่มของลิแกนด์ประเภทนี้จะใช้อะตอมของออกซิเจนในการจับกับอนุภาคนาโน ตัวอย่างเช่น พอลิออล (polyols) (Sun et al., 2000) ซึ่งสามารถที่จะจับกับพื้นผิวของอนุภาคนาโนของโลหะออกไซด์ได้ และสามารถทำให้อนุภาคนาโนกระจายตัวในน้ำได้ ลิแกนด์อีกชนิดในกลุ่มนี้ที่นิยมใช้ในการเปลี่ยนสมบัติพื้นผิวของอนุภาคนาโนคือ พอลิเอทิลีนไกลคอล (polyethylene glycol, PEG) กลูโคส ซูโครส (Schofield et al., 2006) เป็นต้น กลุ่มของลิแกนด์ประเภทนี้ที่มีประจุเป็นลบเช่น อนุพันธ์ของกรดคาร์บอกซิลิกต่าง ๆ ตัวอย่างเช่น กรดโอเลอิก (oleic acid) โดยที่โมเลกุลนี้สามารถใช้หมู่คาร์บอกซิลิกจับกับอนุภาคนาโน และ หันด้านที่เป็นสายโซ่ของไฮโดรคาร์บอนออกด้านนอก ทำให้อนุภาคนาโนที่จับอยู่กับกรดโอเลอิกไม่สามารถกระจายตัวในน้ำได้ การใช้โมเลกุลอื่นเช่น ซิเตรท (citrate) สามารถที่จะจับกับอนุภาคนาโนของทองคำได้เป็นอย่างดีและทำให้อนุภาคนาโนนี้สามารถกระจายตัวในน้ำได้ดี และนอกจากนี้

สามารถใช้แทนที่กรดโอเลอิกเพื่อเปลี่ยนสมบัติของอนุภาคนาโนได้เช่นกัน ตัวอย่างอื่นของลิแกนด์ประเภทนี้ เช่น พอลิอะคริลิก [poly(acrylic)] พอลิเมทาคริลิก [poly(methacrylic acid)] และอนุพันธ์ต่าง ๆ (Lu et al., 2008; Lin et al., 2005; Wang et al., 2007)

### **ฟอสฟอรัสลิแกนด์ (phosphorous-based ligands)**

หนึ่งในลิแกนด์ที่สำคัญในกลุ่มนี้คือ ไตรออกทิลฟอสฟีน (trioctylphosphine oxide, TOPO) ซึ่งสามารถเป็นได้ทั้งตัวทำละลายและ capping agent ในการเตรียมอนุภาคนาโนของสารกึ่งตัวนำ (quantum dot) (Bin et al., 2007) (Kim et al., 2005) สารออกาโนฟอสเฟตและฟอสโฟเนตก็มีความเหมาะสมในการจับกับพื้นผิวของอนุภาคนาโนเช่นเดียวกับ TOPO แต่เนื่องจากการที่ลิแกนด์ประเภทนี้เป็นโมเลกุลที่ใหญ่เมื่อเทียบกับคาร์บอกซิลิกทำให้สัดส่วนของโมเลกุลที่อยู่บนพื้นผิวของอนุภาคนาโนมีน้อย (White et al., 2006) นอกจากนี้ลิแกนด์ในกลุ่มฟอสฟีน (phosphines) อาทิเช่น ไตรฟีนิลฟอสฟีน (triphenyl phosphine) ก็นิยมใช้ในการเตรียมอนุภาคนาโนของโลหะเพราะลิแกนด์ประเภทนี้สามารถถูกแทนที่ด้วยลิแกนด์ตัวอื่นได้ง่าย

### **ซัลเฟอร์ลิแกนด์ (sulfur-based ligand)**

อัลเคนไทออล (alkanethiol) จัดเป็นลิแกนด์ชนิดอ่อนของลิแกนด์ในกลุ่มนี้ โดยจะนิยมใช้จับกับพื้นผิวของอนุภาคนาโนของโลหะเช่น Au, Ag, Pt และ Pd เป็นต้น (Daniel et al., 2004; Xu et al., 2004; Stellacci et al., 2003) ในกรณีของอนุภาคนาโนที่มี

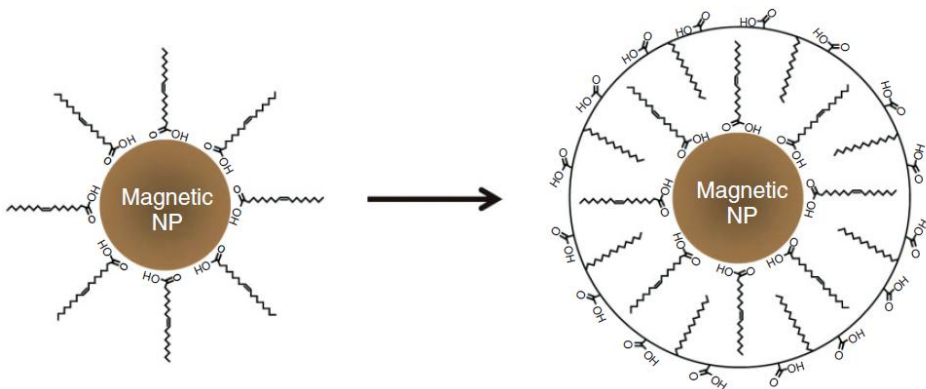
S, Se หรือ Te พบว่าการใช้โมโนเดนเตทไทออล (monodentate thiol) นั้นจะทำให้หมุดควอนตัมจะไม่เสถียร แต่การใช้โพลีเดนเตทไทออล (polydentate thiol) จะมีความเสถียรมากกว่า (Medintz et al., 2005; Uyeda et al., 2005) ลิแกนด์อื่นๆในกลุ่มนี้เช่น ไทโอคาร์บาเมต (thiocarbamates) และ แซนเทต (xanthates) ก็สามารถใช้เป็น capping agent กับโลหะทรานซิชันหลายชนิด แต่ความสามารถในการจับนั้นน้อยกว่าไทออล นอกจากลิแกนด์สามประเภทที่ได้กล่าวมาแล้วยังมีลิแกนด์อีกหลายประเภทที่นิยมใช้เช่น ไนโตรเจนลิแกนด์ คาร์บอนลิแกนด์ เป็นต้น (Gittins et al., 2001; Biver et al., 2012)

### **1.2. การเคลือบด้วยพอลิเมอร์ (polymer coating)**

พอลิเมอร์ที่ใช้ในการเคลือบผิวอนุภาคนาโนนอกจากจะทำให้อนุภาคนาโนกระจายหรือละลายอยู่ในน้ำได้แล้ว ยังสามารถป้องกันการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนได้อย่างมีประสิทธิภาพวิธีหนึ่งเนื่องจากสายโซ่พอลิเมอร์จะล้อมรอบพื้นผิวอนุภาคนาโนอย่างหนาแน่น แต่ผลดังกล่าวทำให้ขนาดของอนุภาคนาโน (hydrodynamic size) จะเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการกระจายตัวของอนุภาคนาโนในร่างกายหรือเซลล์ (biodistribution) (Shyh-Dar et al., 2008) นอกจากนี้อนุภาคนาโนที่ถูกเคลือบด้วยพอลิเมอร์ยังสามารถที่จะใช้ ขนส่งยาหรือโมเลกุลอื่น ๆ ที่ใช้ในการสร้างภาพในระดับโมเลกุลได้ด้วยเช่นกัน โดยในตารางที่ 1 แสดงพอลิเมอร์หลายชนิดที่ใช้ในการปรับแต่งอนุภาคนาโนให้สามารถละลายน้ำได้

ตารางที่ 1 ตัวอย่างพอลิเมอร์ที่ใช้เคลือบอนุภาคนาโนชนิดต่าง ๆ

ชนิดของพอลิเมอร์	ชนิดของอนุภาคนาโน
Poly(amidoamine) (Lin et al., 2008)	Au
Poly(D-glucosamidoethylmethacrylate) (Lin et al., 2008)	Au
Alkyl thioether end-functionalised poly(methacrylic acid) (Lu et al., 2008)	Co, Au
Poly(vinyl pyrrolidone) (Graf et al., 2006)	CdSe/ZnS QDs, Au, Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
PAA modified with cysteamine and ethylene diamine (Smith, 2008)	CdTe QDs
Poly(maleic anhydride-alt-1-octadecene) (Yu et al., 2007)	CdSe QDs
Poly(ethylacrylate) (Gao et al., 2004)	ZnS QDs
Pyrene-poly(dimethylaminoethylethacrylate) (Wang et al., 2006)	CdSe QDs
Poly[2-(methacryloyloxy)ethyl phosphorylcholine]- block-(glycerol monomethacrylate) (Yuan et al., 2006)	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>
<b>C</b> -Acetylene-poly(tert-butyl acrylate) (White et al., 2006)	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>
Poly(N-isopropylacrylamide) (Deng et al., 2003)	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
Poly( <b>E</b> -caprolactone) (Mikhaylova et al., 2004)	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>
Poly(2-methoxyethyl methacrylate) (Gelbrich et al., 2006)	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>
Poly(vinyl alcohol) (Chastellain et al., 2004)	<b>Y</b> -Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>
Poly(acrylic acid) (Lin et al., 2005)	<b>Y</b> -Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , Fe <sub>3</sub> O <sub>5</sub>
Poly(N-isopropyl-co-t-butylacrylamide) (Robinson et al., 2009)	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> and Co

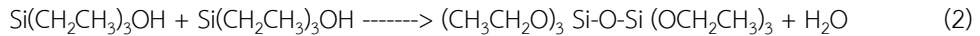
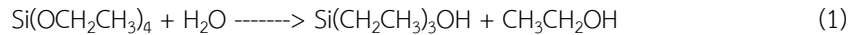


รูปที่ 2 แสดงการเกิด polymer encapsulation ของอนุภาคแม่เหล็กนาโน

1.3. การเคลือบด้วยซิลิกาแบบอสัณฐาน (amorphous silica coating)

การเคลือบผิวอนุภาคนาโนด้วยซิลิกาแบบอสัณฐานถือว่าเป็นวิธีหนึ่งที่มีความนิยม เนื่องจากสามารถละลายน้ำได้ มีความเสถียรสูง ความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำ เป็นต้น (Zhelev et al., 2006; Domitille et

al., 2008) สารตั้งต้นที่นิยมใช้ทำปฏิกิริยาเช่น tetraethyl orthosilicate (TEOS) ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเรียกว่า ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส-คอนเดนเซชันในตัวทำละลายผสมระหว่างน้ำและเอทานอล โดยมีเบสเป็นตัวเร่ง (base catalyzed hydrolysis-condensation reaction) ดังสมการ



โดยทั่วไปความหนาของชั้นซิลิกาที่เคลือบบนอนุภาคนาโนจะขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างน้ำและเอทานอลที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (Park et al., 2008) และนอกจากนี้ pH ที่ใช้ในการทดลองก็มีผลต่ออนุภาคที่ได้ เช่นที่ pH ต่ำ ๆ อนุภาคนาโนหลายอนุภาคจะกระจายอยู่ในซิลิกาแบบไม่เป็นระเบียบที่ pH ที่เป็นเบสอ่อน ๆ พบว่าโครงสร้างที่ได้มีลักษณะเป็น core shell อย่างเป็นระเบียบแต่ที่ pH สูง ๆ พบว่าไม่เกิดการเคลือบของซิลิกาบนพื้นผิวของอนุภาคนาโน สารตั้งต้นอีกชนิดที่นิยมใช้ในการเคลือบอนุภาคนาโนคือ 3-aminopropyl triethoxysilane (APTES) ชั้นของซิลิกาที่ได้จะมีลักษณะที่บางมาก โดยทั่วไปจะใช้ APTES ร่วมกับ TEOS เพื่อให้ อนุภาคนาโนมีหมู่ -NH<sub>2</sub> (อะมิโน) อยู่บนผิวซึ่งจะง่ายในการคอนจูเกตกับสารชีวโมเลกุลต่อไป

## 2. การทำให้อนุภาคนาโนมีหน้าที่หรือมีฟังก์ชัน (functionalization)

การทำให้อนุภาคนาโนมีฟังก์ชันหรือมีคุณสมบัติพิเศษเพื่อนำไปประยุกต์ทางด้านวิทยาศาสตร์ชีวภาพและการแพทย์นั้นสามารถทำได้โดยการนำอนุภาคนาโนที่ผ่านการปรับเปลี่ยนสมบัติทางพื้นผิวมาแล้วคอนจูเกตกับสารชีวโมเลกุลที่มีความจำเพาะเจาะจงหรือสมบัติพิเศษอย่างอื่น เช่น โปรตีน ดีเอ็นเอ (DNA) อาร์เอ็นเอ (RNA) แอนติบอดี (Ab) หรือ แอปทาเมอร์ (aptamer) เป็นต้น การคอนจูเกตอนุภาคนาโนกับสารชีวโมเลกุลสามารถทำได้โดยใช้แรงทางกายภาพ (physical force) และพันธะเคมี ดังจะกล่าวต่อไปนี้

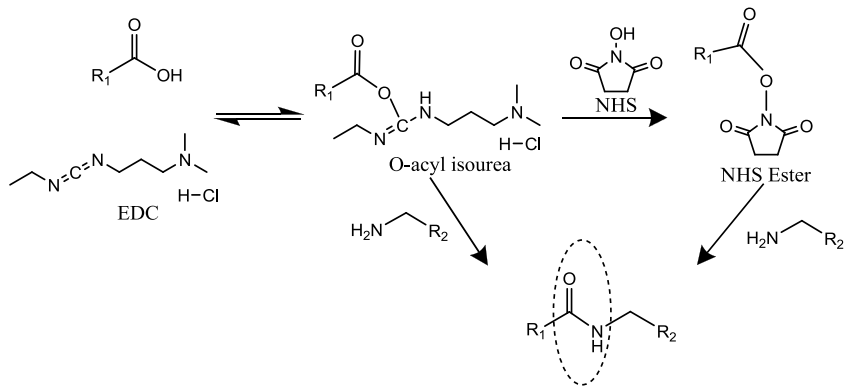
### 2.1 EDC/NHS coupling

การใช้เอเจนต์ควบคู่ (coupling agent) ชนิดนี้จะสามารถใช้เชื่อมหมู่คาร์บอกซิลิกเข้ากับหมู่อะมิโน โดยการเกิดพันธะเอไมด์ (Gao et al., 2004) การใช้ NHS ช่วยในการทำปฏิกิริยาจะช่วยเพิ่มความเสถียรของสารมัธยันต์ (intermediate) ที่เกิดขึ้นโดยการเกิด succinimide ester (Zhou et al., 2011) ดังรูปที่ 3

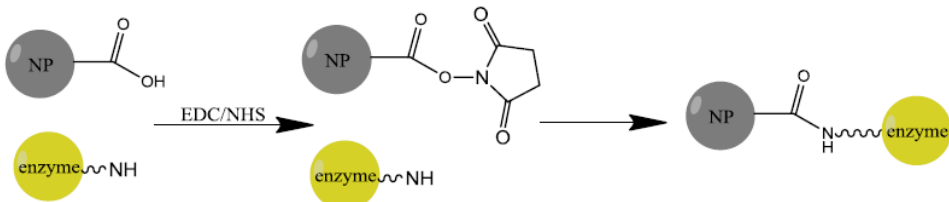
จะเห็นว่าวิธีการนี้จะไม่มีการใช้ตัวเชื่อม (linker) อื่นช่วยในการคอนจูเกต ดังนั้นวิธีนี้จะส่งผลให้ขนาดของอนุภาคนาโนหลังจากการคอนจูเกต (hydrodynamic size) ไม่มีขนาดใหญ่เกินไป ตัวอย่างการใช้การรีเอเจนต์คู่ควบประเภทนี้เช่นการคอนจูเกตอนุภาคแม่เหล็กนาโนกับเอนไซม์ (รูปที่ 4) โดยอนุภาคนาโนที่ใช้จะมีหมู่คาร์บอกซิลิกอยู่บนพื้นผิว ส่วนเอนไซม์จะมีหมู่อะมิโน หลังจากการทำปฏิกิริยาโดยใช้รีเอเจนต์ควบคู่ดังกล่าวก็จะเกิดพันธะเอไมด์ที่เชื่อมระหว่างอนุภาคนาโนและเอนไซม์ อย่างไรก็ตามแม้ว่าวิธีนี้จะได้รับความนิยมในการคอนจูเกตอนุภาคนาโนกับสารชีวโมเลกุลเข้าด้วยกัน แต่เนื่องจากรีเอเจนต์ควบคู่ที่ใช้ไม่มีตัวเชื่อมที่ช่วยในการลด non-specific interaction เช่น พอลิเอทิลีนไกลคอล (polyethylene glycol, PEG) ดังนั้นในการคอนจูเกตอาจพบปัญหาเช่นนี้ได้

### 2.2 maleimide coupling

วิธีนี้ใช้ในการคอนจูเกตหมู่อะมิโนเข้ากับหมู่ไทออล (Brinkley, 2008) โดยใช้ซัลโฟเนตเอสเทอร์เป็นเอเจนต์ควบคู่เช่น sulfosuccinimidyl-4-(maleimido methyl) cyclohexane-1-carboxylate (sulfo-SMCC) ปฏิกิริยาการควบคู่ดังกล่าวแสดงดังรูปที่ 5



รูปที่ 3 การเกิดปฏิกิริยาควบคู่ระหว่างโมเลกุลที่หมู่ฟังก์ชัน -COOH และ -NH<sub>2</sub> โดยใช้ EDC/NHS เป็นเอเจนต์ควบคู่

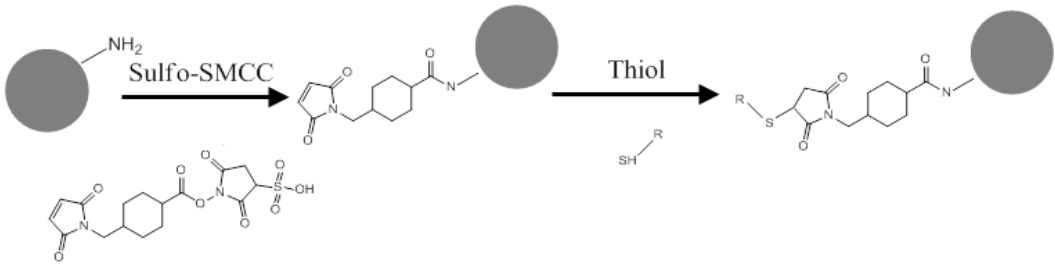


รูปที่ 4 ตัวอย่างการคอนจูเกตเอนไซม์บนพื้นผิวของอนุภาคนาโนโดยใช้ EDC/NHS coupling

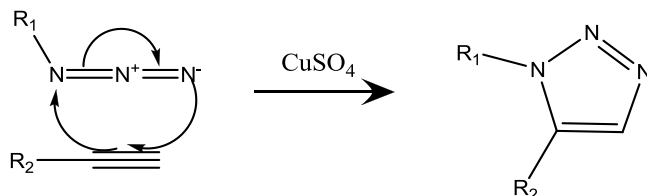
2.3 click chemistry

click chemistry เป็นคำที่ใช้เรียกการเกิดปฏิกิริยาเคมีระหว่างหมู่อัลไคน์ (alkyne) กับเอไซด์ (azide) โดยมีสารประกอบคอปเปอร์ซัลเฟตเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นวงแหวนของ 1,2,3-

triazole (White et al., 2006) ดังรูปที่ 6 แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือการเตรียมหมู่เอไซด์หรืออัลไคน์ให้ติดบนโมเลกุลของสารชีวโมเลกุลก่อนนั้นทำได้ค่อนข้างยาก (Sun et al., 2006) ถึงแม้ผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา click นี้จะเกิดได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพก็ตาม



รูปที่ 5 การคอนจูเกตหมู่เอมิโนที่อยู่บนอนุภาคนาโนกับหมู่ไทออลโดยใช้ Sulfo-SMCC เป็นรีเอเจนต์ควบคู่



รูปที่ 6 การเกิด click reaction ระหว่างหมู่อัลไคน์และเอไซด์

**2.4 ionic coupling**

ในบางกรณีอนุภาคนาโนที่มีประจุก็จะสามารถคอนจูเกตกับสารชีวโมเลกุลที่มีประจุได้โดยผ่านแรงทางไฟฟ้าสถิต (electrostatic interaction) เช่นอนุภาคนาโนที่มีประจุลบคอนจูเกตกับสายของ RNA ที่มีประจุบวก อนุภาคนาโนที่มีประจุบวกกับไลโซไซม์ (Deybyshire et al., 2012) เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามความแข็งแรงของการการเกิดคอนจูเกชันชนิดนี้จะขึ้นอยู่กับความเป็นกรด-เบสของสภาพแวดล้อมนั้น ๆ ดังนั้นในการใช้งานจริง ๆ จำเป็นต้องคำนึงถึง pH ของสภาวะแวดล้อมที่ใช้งานด้วยเช่นกัน

**2.5 glutaraldehyde**

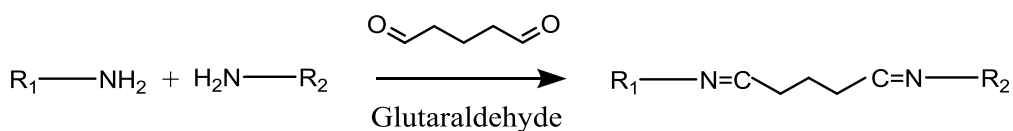
การใช้ glutaraldehyde เป็นวิธีที่นิยมในการคอนจูเกตหมู่อะมิโนกับหมู่อะมิโนเข้าด้วยกัน เช่นโปรตีนกับเอนไซม์ (รูปที่ 7 และ 8)

ตัวอย่างงานวิจัยที่ได้ใช้ glutaraldehyde เป็นเอเจนต์ควาคุมสำหรับการคอนจูเกตอนุภาคแม่เหล็กนาโนกับเอนไซม์ไลเปสเพื่อใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ (biocatalyst) ดังรูปที่ 8 พบว่าการเกิดพันธะโควาเลนต์อย่างแข็งแรงระหว่างอนุภาคนาโนกับ

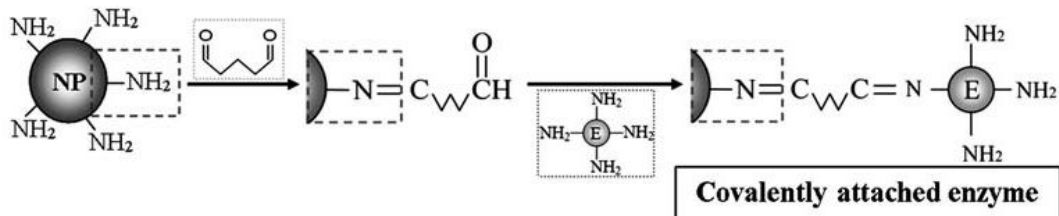
เอนไซม์สามารถคงประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ได้เช่นเดิมแม้เวลาจะผ่านไปนานถึง 15 วัน แต่ในกรณีของเอนไซม์ที่ไม่ได้คอนจูเกตกับอนุภาคนาโนพบว่าประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเวลาผ่านไป (Lee et al., 2008)

**2.6 specific bio-recognition interaction**

ในทางชีววิทยาก็มีโมเลกุลที่มีความจำเพาะจงเช่นกัน เช่น Biotin-Avidin, Biotin-Streptavidin หรือ Biotin-NeutrAvidin เป็นต้น (Senarath-Yapa et al., 2007; Garcia et al., 2011) ตัวอย่างงานวิจัยหนึ่งที่ผู้เขียนได้ทำการวิจัยเช่น คอนจูเกตอนุภาคนาโนเข้ากับสายของ DNA โดยใช้แอนติการิยาระหว่าง Biotin ที่อยู่บนผิวของอนุภาคนาโนกับ NeutrAvidin ที่อยู่ในสายของ DNA เพื่อสร้างเป็นนาโนเซนเซอร์ที่ใช้ในการตรวจวัดไบโอมาร์คเกอร์ (biomarker) ของโรคมะเร็งและโรคอื่น ๆ ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบสมบัติและความสามารถในการเกิดอันตรกิริยาของโปรตีนต่างๆ เช่น Avidin, Streptavidin และ NeutrAvidin กับ biotin



รูปที่ 7 การคอนจูเกตโมเลกุลสองโมเลกุลที่มีหมู่อะมิโนเข้าด้วยกันโดยใช้ glutaraldehyde เป็นเอเจนต์ควาคุม



รูปที่ 8 ตัวอย่างการคอนจูเกตเอนไซม์บนอนุภาคนาโนโดยใช้ glutaraldehyde เป็นรีเอเจนต์ควาคุม<sup>46</sup>



ตารางที่ 2 สมบัติของโปรตีนต่าง ๆ ที่ใช้ในการจับกับ biotin (Thermo scientific, 2013)

Properties of biotin-binding proteins			
Protein	Avidin	Streptavidin	NeutrAvidin
Molecular Weight (kDa)	67	53	60
Biotin-binding Sites	4	4	4
Isoelectric Point (pI)	10	6.8 to 7.5	6.3
Specificity	low	high	highest
Affinity for Biotin (K <sub>d</sub> )	~10 <sup>-15</sup> M	~10 <sup>-14 to -15</sup> M	~10 <sup>-15</sup> M
Nonspecific Binding	high	low	lowest

### 3. ตัวอย่างการประยุกต์ใช้นาโนในทางชีวการแพทย์

การประยุกต์ใช้นาโนในทางการแพทย์นั้นต้องมีการบูรณาการความรู้จากหลายสาขา เช่น เคมี ชีววิทยา ฟิสิกส์ และอื่น ๆ การประยุกต์นี้จะครอบคลุมไปถึงการใช้นาโนในการตรวจวินิจฉัยโรค รักษาโรค หรือทั้งวินิจฉัยและรักษาโรคพร้อม ๆ กัน หัวข้อที่จะกล่าวต่อไปนี้เป็นตัวอย่างของการใช้นาโนในทางชีวการแพทย์

#### 3.1 นาโนโพรบ (nanoprobes)

การสร้างภาพในระดับโมเลกุลโดยใช้นาโนที่ผ่านการปรับแต่งพื้นผิวหรือที่เรียกว่านาโนโพรบนั้นสามารถให้สัญญาณภาพที่มีความไวและความเสถียรของสัญญาณสูง อีกทั้งมีสัญญาณรบกวนต่ำ อนุภาคนาโนที่นิยมใช้เป็นนาโนโพรบเช่น อนุภาคควอนตัม (quantum dots) อนุภาคแม่เหล็กนาโน (magnetic nanoparticles) อนุภาคนาโนของโลหะ (metal nanoparticles) และโลหะนาโนคลัสเตอร์ (metal nanoclusters) เป็นต้น การคอนจูเกตอนุภาคนาโนเหล่านี้เข้ากับสารชีวโมเลกุลที่มีความจำเพาะ ทำให้นาโนโพรบนี้สามารถที่จะใช้สร้างภาพการเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยาในระดับโมเลกุลได้ เช่น การแสดงออกของโปรตีนและการตายของเซลล์ ฯลฯ เป็นต้น ซึ่งจะนำไปสู่การตรวจโรคในระยะเริ่มแรกและการติดตาม

ประสิทธิภาพของการรักษาโรค เป็นต้น นอกจากนี้ นาโนโพรบดังกล่าวสามารถที่จะคอนจูเกตกับโมเลกุลของสารเภสัชรังสีเพื่อการสร้างภาพด้วยเทคนิคต่าง ๆ ได้เช่นกัน (Lee et al., 2012; Lee et al., 2012; Kong et al., 2013)

#### 3.2 ระบบขนส่งยานาโน (nano-carriers)

โดยทั่วไปการใช้เคมีบำบัดสำหรับการรักษาโรคโดยเฉพาะโรคมะเร็งนั้นมียกเสียดหลายประการเช่น ความไม่จำเพาะเจาะจง กล่าวคือ โมเลกุลยาที่ใช้สามารถทำลายได้ทั้งเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็ง อีกประการหนึ่งที่สำคัญคือการทำให้เกิดการดื้อยา ทำให้การรักษาโดยเคมีบำบัดแบบเก่านี้ไม่ได้ผล การใช้นาโนในการขนส่งยานั้นได้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง โดยสามารถที่จะออกแบบให้มีความจำเพาะเจาะจงต่ออวัยวะเป้าหมายมากขึ้นโดยการคอนจูเกตอนุภาคนาโนเข้ากับกับโมเลกุลที่มีความจำเพาะเจาะจงกับอวัยวะนั้น ๆ อีกทั้งยังสามารถควบคุมการบรรจุ/ปลดปล่อยโมเลกุลของยาได้โดยมีการเคลือบด้วยพอลิเมอร์หรือซิลิการแบบออสซิลูชัน เป็นต้น (He et al., 2011; Ren et al., 2012; Shalviri et al., 2012)

#### 3.3 การตรวจวินิจฉัยระดับนาโน (nano-diagnostics)

การพัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยโรคแบบใหม่ โดยการทำงานร่วมกันของอนุภาคนาโนกับสารชีวโมเลกุลที่จำเพาะเจาะจง เช่น แอนติบอดีและ

แอฟทาเมอร์ ทำให้สามารถที่จะสร้างไบโอเซนเซอร์ที่มีความไวสูงที่ใช้ในการตรวจวัดไบโอมาร์คเกอร์ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำมาก ๆ ได้ ซึ่งจะนำไปสู่การตรวจโรคในระยะเริ่มแรกได้อย่างถูกต้องแม่นยำ (Garcia et al., 2011; Swierczewska et al., 2012; Zhang and Zhou, 2012)

### 3.4 การตรวจวินิจฉัยพร้อมกับการรักษา (theranostic)

อนุภาคนาโนที่สามารถที่จะออกแบบให้มีความหน้าที่ที่หลากหลาย กล่าวคือ สามารถที่จะตรวจวิเคราะห์ไบโอมาร์คเกอร์ได้และในขณะเดียวกันก็สามารถที่จะขนส่งยาเพื่อการรักษาโรคในอนุภาคเดียวได้ เทคโนโลยีดังกล่าวนี้เรียกว่า theranostic ในการเตรียมสาร theranostic นั้นจำเป็นต้องใช้ความรู้หลายแขนงเข้าด้วยกันเช่น เคมีของการคอนจูเกต เคมีสังเคราะห์ ชีววิทยา ฟิสิกส์ ฯลฯ การพัฒนาเทคโนโลยีดังกล่าวนี้จะทำให้นำไปสู่ personalized medicine ได้ในอนาคตอันใกล้ (Chen et al., 2011; Singh, 2011; Prabhu and Patravale, 2012)

### 4. บทสรุป

การประยุกต์ใช้อุภาคนาโนในทางการแพทย์ถือว่าเป็นความหวังใหม่อีกทางหนึ่งในการวินิจฉัย และรักษาโรค ปัจจุบันผลิตภัณฑ์นาโนบางชนิดสามารถใช้ในทางคลินิกได้แล้ว การพัฒนาอนุภาคนาโนเพื่อใช้ในทางคลินิกมีสิ่งสำคัญที่ต้องพิจารณาหลายประการ เช่น ความเป็นพิษของอนุภาคนาโนความเสถียรของอนุภาคนาโน สมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ ความจำเพาะเจาะจงกับโรคต่าง ๆ สมบัติที่กล่าวไปแล้วข้างต้นสามารถควบคุมได้โดยการปรับเปลี่ยนสมบัติทางพื้นผิวและการทำให้อนุภาคนาโนมีฟังก์ชันโดยเทคนิคต่าง ๆ เทคนิคแต่ละชนิดมีข้อดีข้อเสียต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการประยุกต์ใช้งานจริง เทคนิค

ใหม่ ๆ ยังคงต้องได้รับการพัฒนาเพื่อการใช้งานจริงอย่างมีประสิทธิภาพในทางคลินิก

### 5. เอกสารอ้างอิง

- Bin, N.H., Lee, I.S., Seo, H., Il, P.Y., Lee, J.H., Kim, S.W. and Hyeon, T. (2007). Versatile PEG-derivatized phosphine oxide ligands for water - dispersible metal oxide nanocrystals. *Chem Commun.* (48): 5167-5169.
- Biver, T., Corti, A., Eltugral, N., Lorenzini, E., Masini, M., Paolicchi, A., Pucci, A., Ruggeri, G., Secco, F. and Venturini, M. (2012). Analysis of 4 - dimethyl laminopyridine (DMAP) - gold nanoparticles behaviour in solution and of their interaction with calf thymus DNA and living cells. *J Nano Part Res.* 14: 681-693.
- Brinkley, M. (1992). A brief survey of methods for preparing protein conjugates with dyes, haptens, and cross-linking reagents. *Bioconjugate Chem.* 3(1): 2-13.
- Chastellain, A., Petri, A. and Hofmann, H. (2004). Particle size investigations of a multistep synthesis of PVA coated superparamagnetic nanoparticles. *J Colloid Interf Sci.* 278(2): 353-360.
- Chen, T., Shukoor, M.I., Wang, R., Zhao, Z., Yuan, Q., Bamrungsap, S., Xiong, X. and Tan, W. (2011). Smart multifunctional nanostructure for targeted cancer chemotherapy and magnetic resonance imaging. *ACS Nano* 5(10): 7866-7873.
- Choi, K.Y., Liu, G., Lee, S. and Chen, X. (2012). Theranostic nanoplatfoms for simultaneous cancer imaging and therapy: current approaches and future perspectives. *Nanoscale.* 4(2): 330-342.

- Daniel, M.C. and Astruc, D. (2004). Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. *Chem Rev.* 104(1): 293-346.
- Deng, Y.H., Yang, W.L., Wang, C.C. and Fu, S.K.. (2003). A novel approach for preparation of thermoresponsive polymer magnetic microspheres with core-shell structure. *Adv Mater.* 15(20): 1729-1732.
- Derbyshire, N., White, S.J., Bunka, D.H., Song, L., Stead, S., Tarbin, J. Sharman, M., Zhou, D. and Stockley, P.G. (2012). Toggled RNA aptamers against aminoglycosides allowing facile detection of antibiotics using gold nanoparticle assays. *Anal Chem.* 84(15): 6595-6602.
- Domitille, G., Melanie, P., Didier, C., Genevieve, M., Khalid, L., Antogni, A., Thierry, G. and Jean-Pierre, B. (2008). Organic functionalization of luminescent oxide nanoparticles toward their application as biological probes. *Langmuir* 24(19): 11018-11026.
- Gao, J., Chen, K., Luong, R., Bouley, D.M., Mao, H., Qiao, T., Gambhir, S.S. and Cheng, Z. (2012). A novel clinically translatable fluorescent nanoparticle for targeted molecular imaging of tumors in living subjects. *Nano Lett.* 12(1): 281-286.
- Gao, X.H., Cui, Y.Y., Levenson, R.M., Chung, L.W.K. and Nie, S.M. (2004). *In vivo* cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nat Biotechnol.* 22: 969-976.
- Garcia, J.S., Zhang, Y., Taylor, H.N., Cespedes, O.C., Webb, M.C.E. and Zhou, D.J. (2011). Multilayer enzyme-coupled magnetic nanoparticles as efficient, reusable biocatalysts and biosensors. *Nanoscale* 3(9): 3721-3730.
- Gelbrich, T., Feyen, M. and Schmidt, A.M. (2006). Screening by symmetry of long-range hydrodynamic interactions of polymers confined in sheets. *Macromolecules* 39(11): 3469-3472.
- Gittins, D.I. and Caruso, F. (2001). Spontaneous phase transfer of nanoparticulate metals from organic to aqueous media, *Angew Chem Int Ed.* 40(16): 3001-3004.
- Graf, C., Dembski, S., Hofmann, A. and Ruhl, E. (2006). A General method for the controlled embedding of nanoparticles in silica colloids. *Langmuir* 22(13): 5604-5610.
- He, Q., Gao, Y., Zhang, L., Zhang, Z., Gao, F., Ji, X., Li, Y. and Shi, J. (2011). A pH-responsive mesoporous silica nanoparticles-based multi-drug delivery system for overcoming multi-drug resistance. *Biomaterials* 32(30): 7711-7720.
- Housni, A., Cai, H.J., Liu, S.Y., Pun, S.H. and Narain, R. (2007). Facile preparation of glyconanoparticles and their bioconjugation to streptavidin. *Langmuir* 23(9): 5056-5061.
- Kim, S.W., Kim, S., Tracy, J.B., Jasanoff, A. and Bawendi, M.G. (2005). Phosphine Oxide Polymer for Water-Soluble Nano-particles. *J Am Chem Soc.* 127(13): 4556-4557.
- Kong, Y., Chen, J., Gao, F., Brydson, R., Johnson, B., Heath, G., Zhang, Y., Wu, L. and Zhou D.J. (2013). Near-infrared fluorescent ribonuclease-A-encapsulated gold nanoclusters: preparation, characterization, cancer cell targeting and imaging. *Nanoscale* 5(3): 1009-1017.
- Lee, D.E., Koo, H., Sun, I.C., Ryu, J.H., Kim, K. and Kwon, I.C. (2012). Multifunctional

- nanoparticles for multimodal imaging and theragnosis. *Chem Soc Rev.* 41(7): 2656–2672.
- Lee, J.W., Lee, Y.J., Youn, J. K., Na, H.B., Yu ,T.K., Kim, H., Lee, S.M., Koo, Y.M., Kwak, J. H., Park, G.H., Chang, H.N., Hwang, M.S., Park, J.G., Kim, J.B. and Hyeon, T.W. (2008). Simple synthesis of functionalized superparamagnetic magnetite /silica core/shell nanoparticles and their application as magnetically separable high-performance biocatalysts. *Small* 4(1): 143-152.
- Lee, K.H., Galloway, J.F., Park, J., Dvoracek, C.M., Dallas, M., Konstantopoulos, K., Maitra, A. and Searson, P.C. (2012). Quantitative molecular profiling of biomarkers for pancreatic cancer with functionalized quantum dots. *Nanomedicine: NBM.* 8(7): 1043–1051.
- Lin, C.L., Lee, C.F. and Chiu, W.Y. (2005). Preparation and properties of poly (acrylic acid) oligomer stabilized superparamagnetic ferrofluid. *J Colloid Interf Sci.* 291(2): 411-420.
- Liong, M., Lu, J., Kovochich, M., Xia, T., Ruehm, S. G., Nel, A. E., Tamanoi, F. and Zink, J. I. (2008). Multifunctional inorganic nano-particles for imaging, targeting, and drug delivery. *ACS Nano* 2(5): 889-896.
- Lin, S.Y., Chen, N.T., Sum, S.P., Lo, L.W., and Yang, C.S. (2008). Ligand exchanged photoluminescent gold quantum dots functionalized with leading peptides for nuclear targeting and intracellular imaging. *Chem Commun.* (39): 4762-4764.
- Lu, L.T., Tung, L.D., Robinson, I., Ung, D., Tan, B., Long, J. and et al. (2008). Size and shape control for water-soluble magnetic cobalt nanoparticles using polymer ligands. *J Mater Chem.* 18(21): 2453-2458.
- Medintz, I.L., Uyeda, H.T., Goldman, E.R. and Mattoussi, H. (2005). Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing. *Nat Mater.* 4(6): 435-446.
- Mikhaylova, M., Jo, Y.S., Kim, D.K., Bobrysheva, N., Andersson, Y., Eriksson, T., Osmolowsky, M., Semenov, V. and Muhammed, M. (2004). The effect of biocompatible coating layers on magnetic properties of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Hyperfine Interact.* 156(1): 257-263.
- Park, H.S., Dodbiba, G., Cao, L.F. and Fujita, T. (2008). Synthesis of silica-coated ferromagnetic fine powder by heterocoagulation. *J. Phys Condens Mat.* 20(20): 204105.
- Ren, Y., Zhang, H., Chen, B., Cheng, J., Cai, X., Liu, R., Xia, G., Wu, W., Wang, S., Ding, J., Gao, C., Wang, J., Bao, W., Wang, L., Tian, L., Song, H. and Wang, X. (2012). Multifunctional Magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles Combined with Chemo therapy and Hyperthermia to Overcome Multidrug Resistance. *Int J Nanomedicine* 7: 2261-2269.
- Robinson, I., Alexander, C., Tung, L.D., Fernig, D.G. and Thanh, N.T.K. (2009). Fabrication of water-soluble magnetic nanoparticles by ligand-exchange with thermo-responsive polymers. *J Magn Magn Mater.* 321(10): 1421-1423.
- Prabhu, P. and Patravale, V. (2012). The upcoming field of theranostic nanomedicine: An overview. *J. Biomed. Nanotechnol.* 8(6): 859-882.
- Singh, S.P. (2011). Multifunctional magnetic quantum dots for cancer theranostics. *J Biomed Nanotechnol.* 7(1): 95-97.

- Schofield, C.L., Haines, A.H., Field, R.A. and Russell, D.A. (2006). Gold glyconano-particles for mimics and measurement of metal ion mediated carbohydrate - carbohydrate interactions. *Langmuir* 22(3): 6707-6711.
- Senarath-Yapa, M.D., Phimpivong, S., Coym J.W., Wirth, M.J., Aspinwall, C.A. and Saavedra, S.S. (2007). Preparation and characterization of poly(lipid) coated, fluorophore doped silica nanoparticles for cellular imaging. *Langmuir* 23(25): 12624-12633.
- Shalviri, A., Raval, G., Prasad, P., Chan, C., Liu, Q., Heerklotz, H., Rauth, A.M. and Wu, X.Y. (2012). pH-dependent doxorubicin release from terpolymer of starch, polymethacrylic acid and polysorbate 80 nanoparticles for overcoming multi-drug resistance in human breast cancer cells. *Eur J Pharm Biopharm.* 82(3): 587-597.
- Shyh-Dar, L. and Leaf H. (2008). Pharma-cokinetics and biodistribution of nanoparticles. *Mol Pharmaceut* 5(4): 496-504.
- Smith, A.M. and Nie, S. (2008). Minimizing the hydrodynamic size of quantum dots with multifunctional multidentate polymer ligands. *J Am Chem Soc.* 130(34): 11278-11279.
- Stellacci, F., Bauer, C.A., Meyer-Friedrichsen, T., Wenseleers, W., Marde, S.R. and Perry, J.W. (2003). Ultrabright supramolecular beacons based on the self-assembly of two-photon chromophores on metal nanoparticles. *J Am Chem Soc.* 125(2): 328-329.
- Sun, S.H., Murray, C.B., Weller, D., Folks, L. and Moser, A. (2000). Monodisperse FePt nanoparticles and ferromagnetic FePt nanocrystal superlattices. *Science* 287(5460): 1989-1992.
- Sun, X.L., Stabler, C.L., Cazalis, C.S. and Chaikof, E.L. (2006). Carbohydrate and protein immobilization onto solid surfaces by sequential Diels-Alder and azide-alkyne cycloadditions. *Bioconjugate Chem.* 17(1): 52-57.
- Swierczewska, M., Liu, G., Lee, S. and Chen, X. (2012). High-sensitivity nanosensors for biomarker detection. *Chem Soc Rev.* 41(7): 2641-2655.
- Thermo Scientific NeutrAvidin Protein and Conjugates. Available at : <http://www.piercenet.com/browse.cfm?fileID=01030702>, Accessed November 7, 2012.
- Uyeda, H.T., Medintz, I.L., Jaiswa, U.K., Simon, S.M. and Mattoussi, H. (2005). Synthesis of compact multidentate ligands to prepare stable hydrophilic quantum dot fluorophores. *J Am Chem Soc.* 127(11): 3870-3878.
- Wang, M.F., Dykstra, T.E., Lou, X.D., Salvador, M.R., Scholes, G.D. and Winnik, M.A. (2006). Colloidal CdSe nanocrystals passivated by a dye-labeled multidentate polymer: quantitative analysis using size exclusion chromatography. *Angew Chem Int Edit.* 45(14): 2221-2224.
- Wang, Z.X., Tan, B.E., Hussain, I., Schaeffer, N., Wyatt, M.F., Brust, M. and et al. (2007). Design of poly-meric stabilizers for size-controlled synthesis of monodisperse gold nanoparticles in water. *Langmuir* 23(2): 885-895.
- White, M.A., Johnson, J.A., Koberstein, J.T. and Turro, N.J. (2006). Toward the syntheses of universal ligands for metal oxide surfaces: controlling surface functionality through click chemistry. *J Am Chem Soc.* 128(35): 11356-11357.
- Xu, C.J., Xu, K.M., Gu, H.W., Zhong, X.F., Guo, Z.H., Zheng, R.K., Zhang, X.X. and Bing, X. (2004).

- Nitrilotriacetic acid-modified magnetic nanoparticles as a general agent to bind histidine-tagged proteins. *J Am Chem Soc.* 126(11): 3392-3393.
- Yu, W.W., Chang, E., Falkner, J.C., Zhang, J.Y., Al-Somali, A.M., Sayes, C.M. Johns, J., Drezek, R. and Colvin, V.L. (2007). Forming biocompatible and nonaggregated nanocrystals in water using amphiphilic polymers. *J Am Chem Soc.* 129(10): 2871-2879.
- Yuan, J.J., Armes, S.P., Takabayashi, Y., Prassides, K., Leite, C.A.P. and Galembeck, F. (2006). Synthesis of biocompatible poly [2 - (methacryloyloxy) ethyl phosphor ylcholine] - coated magnetite nanoparticles. *Langmuir* 22(26): 10989-10993.
- Zhang, Y. and Zhou, D.J. (2012). Magnetic particle based ultrasensitive biosensors for diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn.* 12(6): 565-571.
- Zhiyong, P., Jong, B.L., Stephen, W.M. and Paula, T.H. (2011). Controlling in Vivo stability and biodistribution in electrostatically assembled nanoparticles for systemic delivery. *Nano Lett.* 11(5): 2096-2103.
- Zhelev, Z., Ohba, H. and Bakalova, R. (2006). Single quantum dot-Micelles coated with silica shell as potentially non-cytotoxic fluorescent cell tracers. *J Am Chem Soc.* 128(19): 6324-6325.
- Zhou, D.J., Yang, L., Elizabeth, A.H.H., Abell, C. and Klenerman, D.V. (2011). A chelating dendritic ligand capped quantum dot: preparation, surface passivation, bioconjugation and specific DNA detection. *Nanoscale* 3(1): 201-211.

