

هدف قرار دادن سلول های سرطان پروستات به وسیله ذرات طلائی نانوی هدایت

شونده به وسیله بازدارنده PSMA

چکیده

آنتی ژن غشاء مربوط به پروستات (PSMA) نشانگر زیستی قابل توجهی برای فرایندهای تشخیصی و درمانی در سرطان پروستات است. ذرات طلائی نانو بستر جذابی از مواد نانو را برای ترکیب متنوعی از عوامل هدف گیر، تصویربرداری و سیتوتوکسیک در دستگاه واحدی برای تحقیقات زیست پزشکی فراهم می آورد. در این بررسی، ما تولید و ارزیابی اولین سامانه AuNP را نشان می دهیم که به وسیله مهارکننده پپتیدومیمتیک فوسفورامیدیت مولکولی کوچک برای تحویل هدف گرفته به سمت سلول های سرطان پروستات نمایانگر PSMA عملیاتی شده است. رویکرد کلی دربرگیرنده گُشن گیری AuNP های دارای پوشش استرپتاویدین با مهارکننده PSMA مرتبط با بیوتین برای ایجاد AuNP های هدف گیری شده به سمت PSMA است. در ارزیابی های آزمایشگاهی، این AuNP های هدف گیری شده برای تعیین اتصال وابسته به زمان و با واسطه PSMA به سلول های LNCaP مثبت PSMA استفاده شدند. AuNP های هدف گیرنده به سمت PSMA اتصالات بیشتر و گزینشی تری به سلول های LNCaP را در مقایسه با AuNP های هدف گیری نشده گواه نشان دادند، که نشانگر ممکن بودن این رویکرد است.

کلید واژه ها: نانو ذرات طلا. استرپتاویدین. بیوتین. آنتی ژن غشایی اختصاصی پروستات. سرطان پروستات

سرطان پروستات دومین سرطان شایعی است که در مردان تشخیص داده شده و دومین عامل مرگ در مردان سرطانی ایالات متحده است. از طریق روش های استاندارد می توان تومورهای پروستات را در مراحل اولیه با موفقیت درمان نمود. با این حال، سرطان پروستات متاستاتیک در مراحل پیشرفته معمولاً احتمال درمان کمتری دارد که این مسئله بر لزوم توسعه روش های جدید برای بهبود عواقب ناشی از بیماری را تأکید می کند. آنتی ژن غشاء مربوط به پروستات یک گلیکوپروتئین غشاء نوع 2 است و به خاطر نمود منحصر بفرد در سلولهای سرطانی متاستاتیک و اولیه و تمایزش برای درونی کردن لیگاندهای هدف گیرنده دارای ویژگی های مطلوبی به عنوان هدف نشانگر آزمی است. از میان ساختاری شیمیایی مورد استفاده برای هدف گیری PSMA در تحقیقات مربوط به سرطان پروستات، گروه ما مهارکننده های فوسفورامیدیت پتیدومیمیتیک PSMA را برای تحویل ردیفی از عوامل درمانی و تصویرگیرنده را برای سلولهای سرطانی در محیط آزمایشگاهی و داخل بدن توسعه داد. در میان آنها، هسته مهارکننده CTT54 به خاطر وابستگی بالا، حالت اتصال نسبتاً غیرقابل برگشت، جذب سریع، و درونی سازی در سلول های سرطانی مثبت PSMA به عنوان مولکول هدف گیرنده PSMA به طور ویژه ای موثر است.

ذرات نانو به خاطر ویژگی های فارماکوکینتیک، قابلیت انجام چندین فرایند، و توانایی بارگیری زیاد نمایانگر فناوری نوظهوری در فرایندهای پزشکی هستند. به خاطر این ویژگی ها، ذرات نانو بستری های جذابی برای توسعه عوامل چندمدلی هستند. ذرات نانو طلائی (AuNP) به خصوص حاوی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی متمایز و قابل کنترلی هستند که نسبت به سایر بسترهای ذرات نانو امتیازات بیشتری دارند. هسته طلائی سازگار با محیط زیستی بوده و به طور مستقیم در کاربردهای تصویربرداری و درمانی استفاده شده است. علاوه بر این، می توان سطح طلائی را به وسیله دهندگان نرم تغییر داد که توسط مولکول های گزارش دهنده، درمانی، هدف گیرنده یا مولکول های تثبیت بیولوژیکی کنترل شده اند تا ابزارهای چندکاره ای را برای استفاده های آزمایشگاهی و درون بدن ایجاد نماید. ترکیب بسترهای نانوذرات با لیگاندهای نمایانگرهای زیستی سطح سلولهای تومور ساختار امیدوارکننده ای برای تحقق تحویل گزینشی و جذب در سلول های هدف می باشد. با توجه به هدف گیری PSMA، چندین نوع نانوذرات با انواع مختلف عوامل هدف گیری تجهیز شده اند که نشان دهنده کاربری این نشانگرهای زیستی برای کاربردهای

سلول های سرطانی آزمایشگاهی می باشد. با وجودی که تحویل هدف گیری شده به سمت AuNP PSMA ها پیش از این با استفاده از آپتامرها و آنتی بادی های ضد PSMA انجام شده است، به کارگیری AuNP ها با مهارکننده های مولکولی کوچک پیش از این گزارش نشده است. به کارگیری مولکول های کوچک ممکن است مزایای زیادی نسبت به بسترهای بزرگ تر در ایجاد AuNP های هدف، شامل هزینه های پایین ایمنی و مقیاس بالا، داشته باشد. در مقایسه با آنتی بادی ها، مولکول های کوچک می توانند با سطوح نانوذرات در جهات قابل کنترل جفت شوند که برای هدف زیست شیمیایی وابستگی را مورد مصالحه قرار نمی دهند. علاوه بر این، آنتی بادی های مرتبط با آنتی ژن های سطحی مانعی را برای اتصال آنتی بادی ها در آنتی ژن های سطحی پیرامون ایجاد می کنند و ممکن است تا حدی تأثیر بسترهای نانوذرات هدف گیری شده به سمت آنتی بادی چندمنظوره را محدود می کنند. هدف اصلی این تحقیق، بررسی امکان استفاده از مهارکننده PSMA پپتیدومیمتیک فوسفورامیدیت مولکولی کوچک برای واسطه تحویل AuNP ها به سلولهای سرطانی می باشد. اولین نسل بستر AuNP هدف گیری شده به سمت PSMA که برای این کار توسعه یافته اند، از اتصال سطحی بیوتین-استرپتاویدین استفاده کرد تا نانوذرات را فعال سازد. ما اخیراً از مهارکننده PSMA بیوتینی (CTT54) برای ارتقا تحویل با واسطه PSMA برای سایر ترکیبات ماکرومولکولی با سلولهای PSMA+ LNCaP استفاده کرده ایم. برای تعمیم این شیوه کار قبلی در سیستم نانوذرات، AuNP های دارای پوشش استرپتاویدین با CTT54 بیوتینی در مطالعه فعلی مجهز شدند.

تلفیق بستر AuNP هدف گیری شده به سمت PSMA با ایجاد مهارکننده PSMA بیوتینی با AuNP های 5 نانومتری دارای پوشش استرپتاویدین محقق شد. به دنبال تصفیه گریز از مرکز برای از بین بردن بیوتین-PEG-CTT54 مازاد، نانوذرات هدف گیری شده به سمت PSMA دوباره معلق شده و به وسیله میکروسکوپ الکترونی مشخص می شوند (TEM). تجزیه و تحلیل TEM ذرات پراکنده را پیش و پس از ترکیب نشان داد که ثابت می کند ذرات پایدار باقی مانده و در زمان آماده سازی جمع نمی شوند.

در ارزیابی آزمایشگاهی PSMA اتصال به واسطه مهارکننده از طریق ایجاد AuNP-استرپتاویدین انجام شد. سلولهای تجمع یافته حاصل با تیزاب تجزیه شدند تا AuNP های حاصل از از بین رفتن بقایای سلولی ناشی از

سانتریفوژ را حل کنند. سلولهای شناور حاصل با طیف سنجی نشر نوری همراه پلاسما به صورت القایی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت تا میزان غلظت طلائی مرتبط با سلولها به عنوان درصد دوز تزریق که در ابتدا به سلولها اضافه شده ارزیابی شود. برای آزمودن تعاملات سلولی غیرخاص مرتبط با AuNP، نانوذرات AuNP-استرپتاویدین هدف گیری نشده تحت شرایط یکسان بررسی شدند. در مقایسه با نانوذرات AuNP-استرپتاویدین هدف گیری نشده پس از نهفتگی در 37 درجه سانتی گراد برای یک ساعت، نانوذرات هدف گیری شده به سمت PSMA اتصال بیشتری را به سلول های LNCaP نشان دادند. این نتایج حاکی از این مفهوم بودند که مهارکننده های مولکولی کوچک PSMA می توانند رهایی تقویت شده AuNPها به سلولهای سرطانی را میانجی گری کند. در سلولهای PC3، هم AuNP-استرپتاویدین: بیوتین-PEG-CTT54 و هم AuNP-استرپتاویدین هدف گیری نشده به طور قابل ملاحظه ای سطوح بسیار پایین تری از اتصال را در مقایسه با AuNP-استرپتاویدین: بیوتین-PEG-CTT54 به سلولهای LNCaP نشان دادند. این یافته ها نشان میدادند که رهایی تقویت شده مهارکننده- AuNPهای هدف گیری شده که در سلولهای LNCaP مشاهده شدند، ناشی از اتصال مهارکننده- PSMA میانجی بودند تا تعاملات سلولهای غیرخاص. اطلاعات تاییدکننده بیشتر در مورد اتصال خاص PSMA AuNPهای هدف گیری شده به سمت PSMA به سلولهای LNCaP با انجام یک مطالعه رقابتی فراهم شد که در آن سلولهای LNCaP پیش از اضافه شدن AuNP-استرپتاویدین: بیوتین-PEG-CTT54 به سلولها ابتدا با CTT54 آزاد اشباع شدند. همانطور که انتظار می رفت، پیش از مهار شدن توسط مهارکننده PSMA ترکیب نشده اتصال مورد هدف AuNP-استرپتاویدین: بیوتین-PEG-CTT54 به سلولهای LNCaP به میزان زیادی کاهش یافت و شبیه به موردی بود که در مورد AuNPهای هدف گیری نشده مشاهده شد.

بر اساس اتصال انتخابی مشاهده شده برای AuNP هدف گیری شده به سمت PSMA در سلولهای PSMA، رهایی متکی به زمان هم AuNP هدفگیری شده و هم هدف گیری نشده در طول 2 ساعت در سلولهای LNCaP بررسی شدند. تجزیه و تحلیل در سه نقطه زمانی افزایش قابل مشاهده ای را میزان-استرپتاویدین: بیوتین-PEG-CTT54 متصل به سلولها با بالاترین درک در دو ساعت تایید کردند. این اتصال به میانجی گری مهارکننده PSMA افزایش

یافته به سلولهای LNCaP مطابق با گرایشی است که پیش از این با سایر ترکیبات CTT54 مشاهده شده بود. در مقابل، درصد AuNP-استرپتاویدین هدف گیری نشده متصل به سلولها در طول 2 ساعت به تدریج کاهش یافت. آزمایش دیگری نشان داد که بیوتین باقی مانده در سلولهای LNCaP مسئول سطوح پیوند سلولی مشاهده شده برای AuNP های هدف گیری نشده بود. نانوذرات AuNP-استرپتاویدین که با بیوتین مازاد ایجاد شده بودند، سطوح مشابهی از اتصال به سلولهای LNCaP را به عنوان نانوذرات AuNP-استرپتاویدین ابتدایی نشان دادند. این مشاهدات نشان می دهد که AuNP های هدف گیری نشده ممکن است تعاملات ضعیف و غیرخاصی را با سلولهای نشان دهند که ممکن است گذرا بوده و در طول زمان کاهش یابند. در مجموع، نتایج ما استفاده از مهارکننده های PSMA مولکولی کوچک را برای تحویل موثر AuNP ها به سلولهای سرطانی PSMA را تایید می کند.

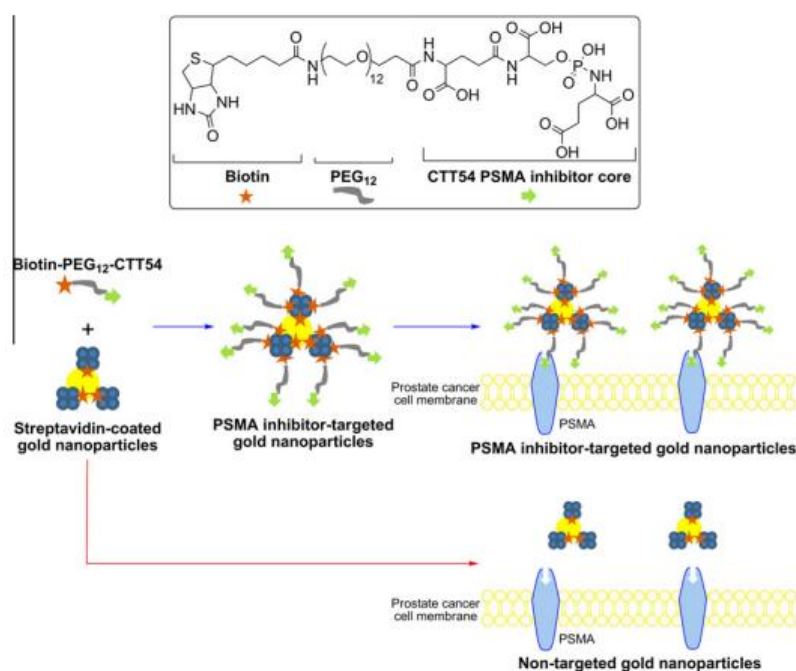


Figure 1. General scheme showing the structure of the biotin-PEG₁₂-CTT54 inhibitor, AuNP functionalization strategy, and PSMA-mediated binding of targeted AuNPs to prostate cancer cells.

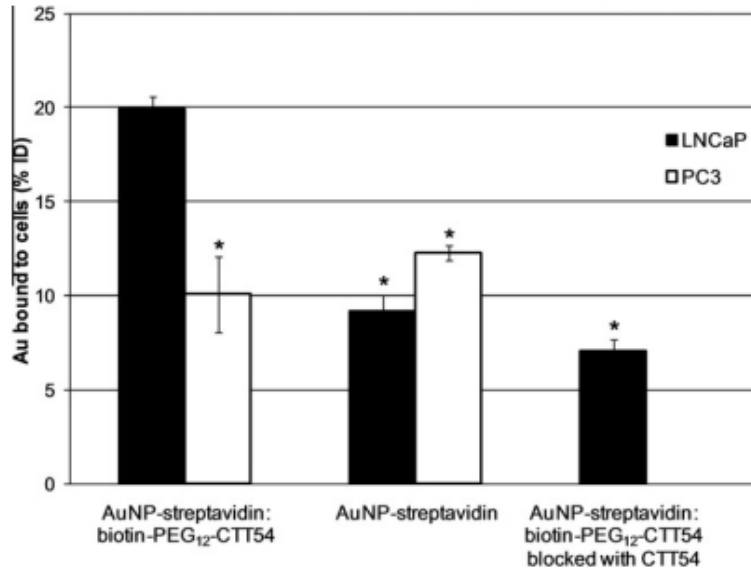


Figure 2. Quantification of AuNP bound to LNCaP and PC3 cells in vitro. Cells were incubated at 37 °C for 1 h with 4.0 nM targeted AuNP-streptavidin:biotin-PEG₁₂-CTT54, 6.6 nM non-targeted AuNP-streptavidin, or 4.0 nM AuNP-streptavidin:biotin-PEG₁₂-CTT54 blocked with CTT54. The total amount of AuNP bound to the cells was quantified by ICP-OES and expressed as the percentage of the injected dose (% ID). Values are the averages of one to two individual experiments (two to three replicate samples per experiment) with the standard deviations represented by error bars. *Indicates a significant difference ($P < 0.05$) compared to AuNP-streptavidin:biotin-PEG₁₂-CTT54 in LNCaP cells.

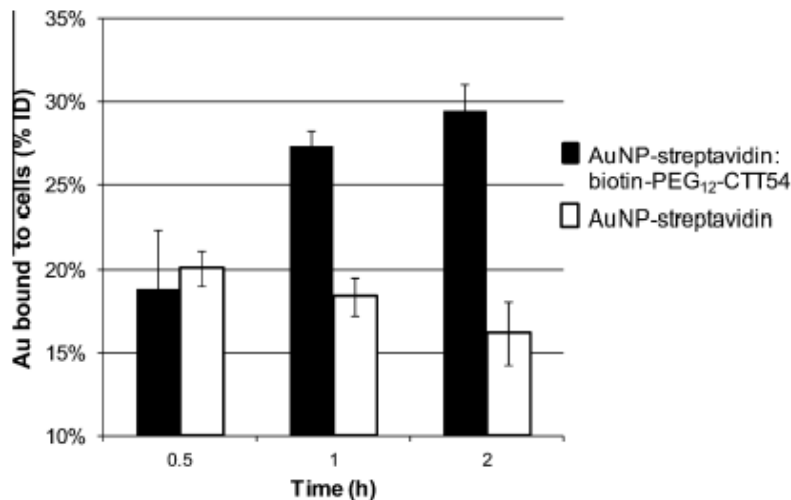


Figure 3. Time-dependent binding of AuNPs to LNCaP cells in vitro. Cells were incubated at 37 °C for 0.5–2 h with 4.7 nM targeted AuNP-streptavidin:biotin-PEG₁₂-CTT54 or 7.0 nM non-targeted AuNP-streptavidin. The total amount of AuNP bound to the cells was quantified by ICP-OES and expressed as the % ID (percentage of the injected dose). Values are the averages of 3–4 replicates with standard deviations represented by error bars. The difference in binding for the targeted and non-targeted AuNPs was significant at 1 h and 2 h ($P < 0.05$).

در حال حاضر، تنها گزارشات تحویل AuNP ها به سلولهای LNCaP با واسطه PSMA آپتامرها یا ترکیباتی از آپتامرها و آنتی بادی هایی مانند لیگاندهای هدف را به کار گرفته است. نسبت تقریبی مهارکننده AuNP-PSMA مورد هدف به AuNP های هدف قرار نگرفته متصل به سلولهای LNCaP که در این بررسی مشاهده شد، مطابق با نسبت تقریبی است که پیش از این بین آپتامر AuNP-PSMA های مورد هدف و AuNP های هدف قرار نگرفته مشاهده شد، و این در زمانی بود که مقدار کلی طلای تحویل داده شده به سلولها محاسبه شد. با این حال، PSMA متکی بر مهارکننده AuNP ها در این تحقیق از طریق مولکولهای کوچک، حدود یک صدم مجموع مولکولهای آنتی بادی محقق شد. این مولکولهای کوچک با ویژگی های پیوندی منحصر بفرد خود مزایای قابل ملاحظه ای را در چهارچوب اقتصاد اتمی و پتانسیل افزایش به نسبت ثابت فراهم می کنند و در نتیجه شکل منحصر بفردی را برای هدف گرفتن AuNP ها به سرطان پروستات PSMA+ نشان می دهند.

به طور خلاصه، نتایج برای اولین بار نشان می دهند که AuNP ها می توانند عملیاتی شوند تا به طور انتخابی PSMA نشانگرزیستی تومورهای سرطانی را از طریق گسترش مهارکننده های پپتیدومیمتیک فوسفورامیدیت مولکولی کوچک هدف گیرد. نتایج آزمایشگاهی تحویل قابل توجه و ویژه AuNP های هدف گیری شده به سمت PSMA بر روی AuNP های هدف گیری نشده به سلولهای PSMA+LNCaP را نشان می دهد.

References and notes

1. Jemal, A.; Bray, F.; Center, M. M.; Ferlay, J.; Ward, E.; Forman, D. *CA Cancer J. Clin.* 2011, 61, 69.
2. Siegel, R.; Ward, E.; Brawley, O.; Jemal, A. *CA Cancer J. Clin.* 2011, 61, 212.
3. Israeli, R. S.; Powell, C. T.; Fair, W. R.; Heston, W. D. W. *Cancer Res.* 1993, 53, 227.
4. Carter, R. E.; Feldman, A. R.; Coyle, J. T. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1996, 93, 749.
5. Pinto, J. T.; Suffoletto, B. P.; Berzin, T. M.; Qiao, C. H.; Lin, S.; Tong, W. P.; May, F.; Mukherjee, B.; Heston, W. D. *Clin. Cancer Res.* 1996, 2, 1445.
6. Bacich, D. J.; Pinto, J. T.; Tong, W. P.; Heston, W. D. *Mamm. Genome* 2001, 12, 117.
7. Liu, H.; Rajasekaran, A. K.; Moy, P.; Xia, Y.; Kim, S.; Navarro, V.; Rahmati, R.; Bander, N. H. *Cancer Res.* 1998, 58, 4055.
8. Liu, T.; Wu, L. Y.; Kazak, M.; Berkman, C. E. *Prostate* 2008, 68, 955.
9. Liu, J.; Kopeckova, P.; Buhler, P.; Wolf, P.; Pan, H.; Bauer, H.; Elsasser-Beile, U.; Kopecek, J. *Mol. Pharm.* 2009, 6, 959.
10. Ding, P.; Helquist, P.; Miller, M. J. *Org. Biomol. Chem.* 2007, 5, 826.
11. Aggarwal, S.; Singh, P.; Topaloglu, O.; Isaacs, J. T.; Denmeade, S. R. *Cancer Res.* 2006, 66, 9171.
12. Zhou, J.; Neale, J. H.; Pomper, M. G.; Kozikowski, A. P. *Nat. Rev. Drug Disc.* 2005, 4, 1015.
13. Tsukamoto, T.; Wozniak, K. M.; Slusher, B. S. *Drug Discovery Today* 2007, 12, 767.
14. Liu, T.; Toriyabe, Y.; Kazak, M.; Berkman, C. E. *Biochemistry* 2008, 47, 12658.
15. Wu, L. Y.; Anderson, M. O.; Toriyabe, Y.; Maung, J.; Campbell, T. Y.; Tajon, C.; Kazak, M.; Moser, J.; Berkman, C. E. *Bioorg. Med. Chem.* 2007, 15, 7434.
16. Lapi, S. E.; Wahnische, H.; Pham, D.; Wu, L. Y.; Nedrow-Byers, J. R.; Liu, T.; Vejdani, K.; VanBrocklin, H. F.; Berkman, C. E.; Jones, E. F. *J. Nucl. Med.* 2009, 50, 2042.
17. Liu, T.; Wu, L. Y.; Hopkins, M. R.; Choi, J. K.; Berkman, C. E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010, 20, 7124.
18. Liu, T.; Nedrow-Byers, J. R.; Hopkins, M. R.; Berkman, C. E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011, 21, 7013.
19. Nedrow-Byers, J. R.; Jabbes, M.; Jewett, C.; Ganguly, T.; He, H.; Liu, T.; Benny, P.; Bryan, J. N.; Berkman, C. E. *Prostate* 2012, 72, 904.
20. Nedrow-Byers, J. R.; Moore, A. L.; Ganguly, T.; Hopkins, M. R.; Fulton, M. D.; Benny, P. D.; Berkman, C. E. *Prostate*, <http://dx.doi.org/10.1002/pros.22575>.
21. Liu, T.; Wu, L. Y.; Choi, J. K.; Berkman, C. E. *Prostate* 2009, 69, 585.
22. Liu, T.; Wu, L. Y.; Choi, J. K.; Berkman, C. E. *Int. J. Oncol.* 2010, 36, 777.
23. Liu, T.; Wu, L. Y.; Berkman, C. E. *Cancer Lett.* 2010, 296, 106.
24. Liu, T.; Nedrow-Byers, J. R.; Hopkins, M. R.; Wu, L. Y.; Lee, J.; Reilly, P. T. A.; Berkman, C. E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012, 22, 3931.
25. Kelkar, S. S.; Reineke, T. M. *Bioconjugate Chem.* 1879, 2011, 22.
26. Xie, J.; Lee, S.; Chen, X. *Adv. Drug Delivery Rev.* 2010, 62, 1064.
27. Javier, D. J.; Nitin, N.; Levy, M.; Ellington, A.; Richards-Kortum, R. *Bioconjugate Chem.* 2008, 19, 1309.
28. Kim, D.; Park, S.; Lee, J. H.; Jeong, Y. Y.; Jon, S. J. *Am. Chem. Soc.* 2007, 129, 7661.
29. Zhang, X.; Xing, J. Z.; Chen, J.; Ko, L.; Amanie, J.; Gulavita, S.; Pervez, N.; Yee, D.; Moore, R.; Roa, W. *Clin. Invest. Med.* 2008, 31, E160.
30. Lal, S.; Clare, S. E.; Halas, N. J. *Acc. Chem. Res.* 1842, 2008, 41.
31. Lu, W.; Singh, A. K.; Khan, S. A.; Senapati, D.; Yu, H.; Ray, P. C. *J. Am. Chem. Soc.* 2010, 132, 18103.
32. Lukianova-Hleb, E. Y.; Oginsky, A. O.; Samaniego, A. P.; Shenefelt, D. L.; Wagner, D. S.; Hafner, J. H.; Farach-Carson, M. C.; Lapotko, D. O. *Theranostics* 2011, 1, 3.
33. Li, X.; Guo, J.; Asong, J.; Wolfert, M. A.; Boons, G.-J. *J. Am. Chem. Soc.* 2011, 133, 11147.
34. Paciotti, G. F.; Kingston, D. G. I.; Tamarkin, L. *Drug Dev. Res.* 2006, 67, 47.
35. Qian, X.; Peng, X.-H.; Ansari, D. O.; Yin-Goen, Q.; Chen, G. Z.; Shin, D. M.; Yang, L.; Young, A. N.; Wang, M. D.; Nie, S. *Nat. Biotechnol.* 2008, 26, 83.

36. Park, J.-A.; Kim, H.-K.; Kim, J.-H.; Jeong, S.-W.; Jung, J.-C.; Lee, G.-H.; Lee, J.; Chang, Y.; Kim, T.-J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010, 20, 2287.
37. Gao, X.; Cui, Y.; Levenson, R. M.; Chung, L. W. K.; Nie, S. *Nat. Biotechnol.* 2004, 22, 969.
38. Chandran, S. S.; Banerjee, S. R.; Mease, R. C.; Pomper, M. G.; Denmeade, S. R. *Cancer Biol. Ther.* 2008, 7, 974.
39. Kim, D.; Jeong, Y. Y.; Jon, S. *ACS Nano* 2010, 4, 3689.
40. Sanna, V.; Pintus, G.; Roggio, A. M.; Punzoni, S.; Posadino, A. M.; Arca, A.; Marceddu, S.; Bandiera, P.; Uzzau, S.; Sechi, M. J. *Med. Chem.* 2011, 54, 1321.
41. Dhar, S.; Kolishetti, N.; Lippard, S. J.; Farokhzad, O. C. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1850, 2011, 108.
42. Kamaly, N.; Xiao, Z.; Valencia, P. M.; Radovic-Moreno, A. F.; Farokhzad, O. C. *Chem. Soc. Rev.* 2012, 41, 2971.
43. Yang, H.-W.; Hua, M.-Y.; Liu, H.-L.; Tsai, R.-Y.; Chuang, C.-K.; Chu, P.-C.; Wu, P.-Y.; Chang, Y.-H.; Chuang, H.-C.; Yu, K.-J.; Pang, S.-T. *ACS Nano* 2012, 6, 1795.
44. Chen, Z.; Penet, M.-F.; Nimmagadda, S.; Li, C.; Banerjee, S. R.; Winnard, P. T.; Artemov, D.; Glunde, K.; Pomper, M. G.; Bhujwalla, Z. M. *ACS Nano* 2012, 6, 7752.
45. Zajac, A.; Song, D.; Qian, W.; Zhukov, T. *Colloids Surf. B* 2007, 58, 309.
46. Stoldt, H. S.; Aftab, F.; Chinol, M.; Paganelli, G.; Luca, F.; Testori, A.; Geraghty, J. G. *Eur. J. Cancer* 1997, 33, 186.
47. Juweid, M.; Neumann, R.; Paik, C.; Perez-Bacete, M. J.; Sato, J.; van Osdol, W.; Weinstein, J. N. *Cancer Res.* 1992, 52, 5144.
48. Chalet, L.; Wolf, F. J. *Arch. Biochem. Biophys.* 1964, 106, 1.
49. Hendrickson, W. A.; Pahler, A.; Smith, J. L.; Satow, Y.; Merritt, E. A.; Phizackerley, R. P. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1989, 86, 2190.
50. Lesch, H. P.; Kaikkonen, M. U.; Pikkarainen, J. T.; Yla-Herttuala, S. *Expert Opin. Drug Delivery* 2010, 7, 551.
51. Artemov, D.; Mori, N.; Okollie, B.; Bhujwalla, Z. M. *Magn. Reson. Med.* 2003, 49, 403.
52. Lagerholm, B. C.; Wang, M.; Ernst, L. A.; Ly, D. H.; Liu, H.; Bruchez, M. P.; Waggoner, A. S. *Nano Lett.* 2004, 4, 2019.
53. Prow, T.; Smith, J. N.; Grebe, R.; Salazar, J. H.; Wang, N.; Kotov, N.; Lutty, G.; Leary, J. *Mol. Vis.* 2006, 12, 606.
54. Suci, P. A.; Kang, S.; Young, M.; Douglas, T. J. *Am. Chem. Soc.* 2009, 131, 9164.
55. Kim, E.-M.; Oh, J.-S.; Ahn, I.-S.; Park, K.-I.; Jang, J.-H. *Biomaterials* 2011, 32, 8654.
56. Lai, G.; Wu, J.; Ju, H.; Yan, F. *Adv. Funct. Mater.* 2011, 21, 2938.
57. Chen, L. Q.; Xiao, S. J.; Hu, P. P.; Peng, L.; Ma, J.; Luo, L. F.; Li, Y. F.; Huang, C. Z. *Anal. Chem.* 2012, 84, 3099.
58. Wu, L. Y.; Liu, T.; Hopkins, M. R.; Davis, W. C.; Berkman, C. E. *Prostate* 2012, 72, 1532.