

Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii

**Synteza, charakterystyka i ocena potencjału
aplikacyjnego nanostruktur rdzeń-powłoka
 Au@SiO_2 jako wielofunkcyjnych platform do
dostarczania substancji biologicznie aktywnych.**

mgr inż. Agata Kowalska

Promotor: dr hab. Beata Grobelna, prof. UG

Promotor pomocniczy: dr Elżbieta Adamska

Praca doktorska wykonana

w Katedrze Chemii Analitycznej

Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego

Gdańsk, 2026

Podziękowania

*Pragnę serdecznie podziękować mojej **Promotor Pani dr hab. Beacie Grobelnej, prof. UG** za nieocenione wsparcie, ogrom życzliwości, cierpliwość oraz merytoryczne prowadzenie na każdym etapie powstawania niniejszej rozprawy doktorskiej. Dziękuję za poświęcony czas, inspirujące rozmowy, cenne wskazówki i nieustanną wiarę w powodzenie tej drogi naukowej.*

*Szczególne słowa wdzięczności kieruję również do mojej **Promotor Pomocniczej dr Elżbiety Adamskiej** za wsparcie, cenne uwagi, uważność oraz pomoc okazywaną na różnych etapach przygotowywania rozprawy.*

*Ponadto chciałabym podziękować wszystkim osobom, które pomogły mi w pracach eksperymentalnych oraz **Calej Katedrze Chemii Analitycznej**, za wspianą atmosferę w pracy.*

*Na koniec pragnę podziękować **moim Najbliższym i Rodzinie**, którym składam wyrazy najgłębszej wdzięczności za zrozumienie, obecność, dobre słowo i wsparcie.*

*Z całego serca dziękuję **moim Rodzicom** za miłość, troskę, nieustanną obecność i wsparcie, które towarzyszyły mi przez całe życie. To dzięki przekazany wartościom oraz niegasnącej wierze we mnie mogłam podjąć i kontynuować tę wymagającą drogę. Dziękuję za każde słowo otuchy, cierpliwość i siłę, które pomagały mi iść naprzód nawet wtedy, gdy wydawało się to szczególnie trudne.*

*Szczególne podziękowania kieruję do **mojego Męża**. Dziękuję Ci za bezgraniczne wsparcie, cierpliwość, wyrozumiałość, którymi obdarzałeś mnie każdego dnia tej wymagającej drogi. Za wiarę we mnie, zwłaszcza wtedy, gdy sama chwilami ją traciłam.*

FORMA PRACY

Niniejsza rozprawa doktorska jest przygotowana w postaci tematycznego zbioru trzech publikacji naukowych P1-P3.

Artykuły wchodzące w cykl rozprawy doktorskiej

[P1] **A. Kowalska**, E. Adamska, A. Wcisło, M. Sroczyński, M. Datta, J. Rak, P. Skowron, B. Grobelna, „Synthesis and characterization of Au@SiO₂ core-shell nanostructures for improved antibiotic delivery systems”, *Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine*, 73 (102921), **2026**, 1-9, IF₂₀₂₄=4,6, MNiSW=140 pkt

[P2] **A. Kowalska**, E. Adamska, K. Zima, P. Nowicka, A. Wcisło, M. Makowski, B. Grobelna, “Nanostructures based on gold and silica as a delivery platform for enhanced L-DOPA therapy in neurodegenerative disease”, *Dalton Transactions*, 54 (47), **2025**, 17597-17610, IF₂₀₂₄=3,3, MNiSW=140 pkt

[P3] **A. Kowalska**, E. Adamska, A. Wcisło, K. Deja, A. Kalinowska, B. Grobelna, “Colloidal stability and controlled release of Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ core-shell nanostructures from biopolymer-based hydrogels, *Scientific Reports*, 16 (989), **2026**, 1-17, IF₂₀₂₄=3,91 MNiSW=140 pkt

Rozprawa doktorska została sfinansowana przez Uniwersytet Gdański w toku realizacji grantów UGrants-start-5 w ramach Inicjatywy Doskonałości Uczelnia Badawcza (IDUB).



SPIS TREŚCI

Streszczenie rozprawy doktorskiej	9
Abstract of doctoral dissertation	11
I. WSTĘP	13
1. Wprowadzenie	13
2. Nanostruktury o architekturze rdzeń-powłoka	14
3. Nanocząstki złota (Au NPs)	15
3.1. Metody syntezy	15
3.2. Właściwości fizykochemiczne i funkcjonalne	18
3.3. Zastosowanie Au NPs w nanomedycynie	20
3.4. Wyzwania i ograniczenia	22
4. Powłoki krzemionkowe (SiO ₂) jako funkcjonalne komponenty nanostruktur	23
4.1. Właściwości fizykochemiczne krzemionki	23
4.2. Funkcjonalizacja powierzchni	25
5. Nanostruktury rdzeń-powłoka Au@SiO ₂ jako platformy nośnikowe leków	27
5.1. Enkapsulacja substancji biologicznie czynnych do nośnika	27
5.2. Kontrolowane uwalnianie leków	28
5.3. Zalety i potencjał systemu nośnikowego	29
6. Inkorporacja nanostruktur w matryce hydrożelowe jako funkcjonalne platformy biomateriałowe	30
6.1. Hydrożele jako matryce dla materiałów kompozytowych	30
6.2. Strategie włączenia nanostruktur do hydrożeli	31
6.3. Potencjał aplikacyjny układu Au@SiO ₂ -hydrożel	32
II. CEL PRACY	34
III. METODYKA	36
IV. BADANIA WŁASNE	47
V. PODSUMOWANIE	58
VI. PERSPEKTYWY BADAWCZE	60
VII. LITERATURA	62
VIII. DOROBIEK NAUKOWY	70

Wykaz symboli i skrótów

AMOX – amoksycylina (ang. *amoxicillin*)

Au NPs – nanocząstki złota (ang. *gold nanoparticles*)

Au@SiO₂ – nanocząstki złota pokryte warstwą krzemionki (ang. *silica-coated gold nanoparticles*)

CV – woltamperometria cykliczna (ang. *Cyclic Voltammetry*)

DLS – dynamiczne rozpraszanie światła (ang. *Dynamic Light Scattering*)

DMSO – dimetylosulfotlenek (ang. *dimethyl sulfoxide*)

DNA – kwas deoksyrybonukleinowy (ang. *deoxyribonucleic acid*)

DoE – metoda planowania eksperymentu (ang. *Design of Experiments*)

DPPH – test aktywności przeciwutleniającej na bazie 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl (ang. *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging assay*)

DPV – różnicowa woltamperometria impulsowa (ang. *Differential Pulse Voltammetry*)

DTG – różniczkowa termogravimetria (ang. *Derivative Thermogravimetry*)

ELS – elektroforetyczne rozpraszanie światła (ang. *Electrophoretic Light Scattering*)

FT-IR – spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (ang. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*)

GC – elektroda z węgla szklistego (ang. *glassy carbon electrode*)

GSH – glutation zredukowany (ang. *glutathione*)

GSSG – glutation utleniony (ang. *glutathione disulfide*)

HaCaT – linia komórkowa ludzkich keratynocytów (ang. *human keratinocyte cell line*)

HDF – linia komórkowa ludzkich fibroblastów (ang. *human fibroblast cell line*)

HA – kwas hialuronowy (ang. *hyaluronic acid*)

HEC – hydroksyetyloceluloza (ang. *hydroxyethylcellulose*)

IL-1 β – interleukina 1 beta (ang. *interleukin-1 beta*)

IL-6 – interleukina 6 (ang. *interleukin-6*)

IL-10 – interleukina 10 (ang. *interleukin-10*)

JTK – jednostki tworzące kolonie (ang. *colony-forming units*)

L-DOPA – lewodopa (L-3,4-dihydroksyfenyloalanina) (ang. *levodopa*, *L-3,4-dihydroxyphenylalanine*)

LOD – granica wykrywalności (ang. *limit of detection*)

LPS – lipopolisacharyd (ang. *lipopolysaccharide*)

LSPR – zlokalizowany powierzchniowy rezonans plazmonowy (ang. *Localized Surface Plasmon Resonance*)

MBC – minimalne stężenie bakteriobójcze (ang. *Minimum Bactericidal Concentration*)

MIC – minimalne stężenie hamujące (ang. *Minimum Inhibitory Concentration*)

MTT – bromek 3-(4,5-dimetylotiazol-2-ylo)-2,5-difenylotetrazoliowy (ang. *3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide*)

MUP – mupirocyna (ang. *mupirocin*)

NIR – bliska podczerwień (ang. *Near-Infrared Radiation*)

OD₆₀₀ – gęstość optyczna przy 600 nm (ang. *optical density at 600 nm*)

PBS – bufor fosforanowy (ang. *phosphate-buffered saline*)

PBMCs – jednojądrzaste komórki krwi obwodowej (ang. *peripheral blood mononuclear cells*)

PEG – glikol polietylenowy (ang. *polyethylene glycol*)

PVP – poliwinylpirolidon (ang. *polyvinylpyrrolidone*)

RSA – zdolność neutralizacji wolnych rodników (ang. *Radical Scavenging Activity*)

RSM – metoda powierzchni odpowiedzi (ang. *Response Surface Method*)

SEM – skaningowa mikroskopia elektronowa (ang. *Scanning Electron Microscopy*)

SERS – spektroskopia Ramana ze wzmocnieniem powierzchniowym (ang. *Surface-enhanced Raman Spectroscopy*)

SH-SY5Y – linia komórkowa ludzkich komórek neuroblastoma (ang. *human neuroblastoma cell line*)

SiO₂ – ditlenek krzemu (ang. *silicon dioxide*)

SOD – dysmutaza ponadtlenkowa (ang. *superoxide dismutase*)

TEM – transmisyjna mikroskopia elektronowa (ang. *Transmission Electron Microscopy*)

TEOS – tetraetoksylan (ang. *tetraethyl orthosilicate*)

TEWL – przeznaskórkowa utrata wody (ang. *Transepidermal Water Loss*)

TGA/TG – analiza termograwimetryczna (ang. *Thermogravimetric Analysis*)

TNF-α – czynnik martwicy nowotworów alfa (ang. *tumor necrosis factor-alpha*)

UV-Vis – spektroskopia w zakresie nadfioletu i światła widzialnego UV-Vis (ang. *Ultraviolet-Visible spectroscopy*)

WCA – kąt zwilżania wodą (ang. *Water Contact Angle*)

ZI – strefa zahamowania wzrostu (ang. *Zone of Inhibition*)

6-OHDA – 6-hydroksydopamina (ang. *6-hydroxydopamine*)

Streszczenie rozprawy doktorskiej

Współczesna farmakoterapia, pomimo dostępności licznych substancji czynnych o potwierdzonej skuteczności klinicznej, nadal napotyka ograniczenia związane z biodostępnością, selektywnością działania oraz toksycznością ogólnoustrojową leków dostępnych na rynku. W odpowiedzi na te wyzwania intensywnie rozwijane są nanometryczne systemy dostarczania leków, umożliwiające poprawę stabilności substancji aktywnych, kontrolę ich uwalniania oraz zwiększenie skuteczności terapeutycznej przy jednoczesnym ograniczeniu działań niepożądanych. Szczególne zainteresowanie wzbudzają nanostruktury typu rdzeń-powłoka (ang. *core-shell*), stanowiące obiecujące platformy do zastosowań biomedycznych.

Celem niniejszej pracy doktorskiej było zaprojektowanie, synteza oraz kompleksowa charakterystyka nanostruktur typu rdzeń-powłoka opartych na układzie Au@SiO_2 jako potencjalnych systemów nośnikowych substancji biologicznie aktywnych. Opracowano metodę syntezy stabilnych nanostruktur o jednorodnej morfologii i korzystnych właściwościach fizykochemicznych, które następnie poddano szczegółowej charakterystyce obejmującej ocenę morfologii, stabilności koloidalnej oraz właściwości powierzchniowych i strukturalnych. Istotnym elementem pracy była ocena właściwości funkcjonalnych nanostruktur rdzeń-powłoka złożonych z metalicznego rdzenia i krzemionkowej powłoki Au@SiO_2 . Badania wykazały brak przenikania przez modelową barierę skórną oraz wysoką biogodność wobec ludzkich komórek skóry (HaCaT i HDF). Dodatkowo nanostruktury wykazywały właściwości antyoksydacyjne i nie oddziaływały z DNA, wskazując na korzystny profil bezpieczeństwa biologicznego.

W części eksperymentalnej rozprawy doktorskiej zbadano również możliwość wykorzystania nanostruktur Au@SiO_2 jako uniwersalnej platformy nośnikowej dla substancji biologicznie czynnych o zróżnicowanych właściwościach fizykochemicznych. W tym celu przeprowadzono immobilizację substancji aktywnych, w tym mupirocyny, amoksycyliny oraz lewodopy, analizując efektywność immobilizacji i profile uwalniania. Szczególnie korzystne wyniki uzyskano dla hydrofobowej mupirocyny, dla której zaobserwowano zachowanie aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Wykazano także możliwość funkcjonalizacji nanostruktur lewodopą, co wskazuje na potencjalną uniwersalność opracowanego układu jako platformy do immobilizacji i dostarczania różnych substancji leczniczych.

Końcowy etap badań obejmował inkorporację nanostruktur Au@SiO₂ do hydrożelowych matryc opartych na kwasie hialuronowym i hydroksyetylocelulozie. Otrzymane układy hybrydowe umożliwiały skuteczne uwalnianie nanostruktur oraz korzystnie wpływały na parametry czynnościowe skóry w tym jej nawilżenie oraz ograniczenie transepidermalnej utraty wody, przy czym najbardziej obiecujące rezultaty uzyskano dla układów opartych na kwasie hialuronowym.

Uzyskane wyniki potwierdzają, że nanostruktury Au@SiO₂ stanowią stabilną, biogodną i funkcjonalną platformę o wysokim potencjale aplikacyjnym w projektowaniu zaawansowanych systemów dostarczania substancji aktywnych do celów terapeutycznych, dermatologicznych i kosmetycznych.

Abstract of doctoral dissertation

Despite the availability of numerous clinically approved active compounds, modern pharmacotherapy still faces significant limitations related to the bioavailability, selectivity, and systemic toxicity of currently available drugs. In response to these challenges, nanoscale drug delivery systems are being intensively developed to improve the stability of active substances, control their release, and enhance therapeutic efficacy while minimizing adverse effects. Particular attention has been devoted to core-shell nanostructures, which represent promising platforms for biomedical applications due to the synergistic combination of the properties of their individual components.

The aim of this doctoral dissertation was to design, synthesize, and comprehensively characterize core-shell nanostructures based on the Au@SiO₂ system as potential carriers for biologically active compounds. A synthesis strategy enabling the preparation of stable nanostructures with uniform morphology and favorable physicochemical properties was developed. The obtained materials were subsequently subjected to detailed characterization, including the evaluation of morphology, colloidal stability, surface properties, and structural parameters. An important part of this work involved the assessment of the functional properties of Au@SiO₂ nanostructures. The studies demonstrated no penetration through a model skin barrier and confirmed high biocompatibility toward human skin cells (HaCaT and HDF). Furthermore, the nanostructures exhibited antioxidant properties and showed no interaction with DNA, indicating a favorable biological safety profile.

The experimental studies also investigated the potential application of Au@SiO₂ nanostructures as a universal carrier platform for biologically active compounds with diverse physicochemical properties. Mupirocin, amoxicillin, and levodopa were loaded onto the nanostructures, and their immobilization efficiency and release profiles were evaluated. Particularly promising results were obtained for hydrophobic mupirocin, for which preserved antimicrobial activity was observed. The possibility of functionalizing the nanostructures with levodopa was also demonstrated, which confirmed the universality of the developed system as a platform for immobilization and delivery of various medicinal substances.

The final stage of the study involved the incorporation of Au@SiO₂ nanostructures into hydrogel matrices based on hyaluronic acid and hydroxyethyl cellulose. The obtained hybrid systems enabled effective release of nanostructures and positively influenced skin hydration

parameters while reducing transepidermal water loss, with the most promising results observed for hyaluronic acid-based formulations.

The obtained results confirm that Au@SiO₂ nanostructures constitute a stable, biocompatible, and functional platform with high application potential for the development of advanced delivery systems for biologically active compounds with therapeutic, dermatological, and cosmetic applications.

I. WSTĘP

1. Wprowadzenie

Współczesna farmakologia dysponuje licznymi substancjami czynnymi o potwierdzonej skuteczności klinicznej, jednak ich efektywność terapeutyczna często bywa ograniczana przez problemy związane z biodostępnością, selektywnością działania oraz toksycznością ogólnoustrojową. Wiele związków aktywnych charakteryzuje się ograniczoną rozpuszczalnością w wodzie oraz niską stabilnością w środowisku biologicznym, co przekłada się na obniżoną biodostępność i konieczność stosowania wyższych dawek terapeutycznych. Dodatkowo, wiele z nich charakteryzuje się niekorzystną biodystrybucją w organizmie, co prowadzi do uszkodzenia zdrowych tkanek oraz występowania licznych działań niepożądanych.

Ograniczenia te wskazują na potrzebę opracowania nowoczesnych systemów dostarczania substancji aktywnych, które mogłyby zwiększyć ich stabilność w organizmie, poprawić dystrybucję oraz umożliwić kontrolowane uwalnianie w miejscach docelowych. Takie strategie pozwoliłyby na zmniejszenie toksyczności ogólnoustrojowej, ograniczenie efektów ubocznych oraz zwiększenie skuteczności leczniczej, co stanowi jedno z głównych wyzwań współczesnych metod terapeutycznych.

W tym kontekście nanotechnologia oferuje obiecujące narzędzia, umożliwiające kontrolowane dostarczanie leków i optymalizację ich działania w miejscach docelowych. Nanostruktury, dzięki swojej niewielkiej wielkości, dużej powierzchni właściwej oraz możliwości funkcjonalizacji, umożliwiają projektowanie systemów dostarczania leków o poprawionej biodostępności, większej selektywności działania oraz kontrolowanym uwalnianiu substancji aktywnych. Takie podejście może stanowić podstawę do opracowania nowych, bezpieczniejszych i bardziej efektywnych terapii, szczególnie w kontekście leczenia nowotworów oraz innych chorób wymagających precyzyjnego ukierunkowania działania farmakologicznego.

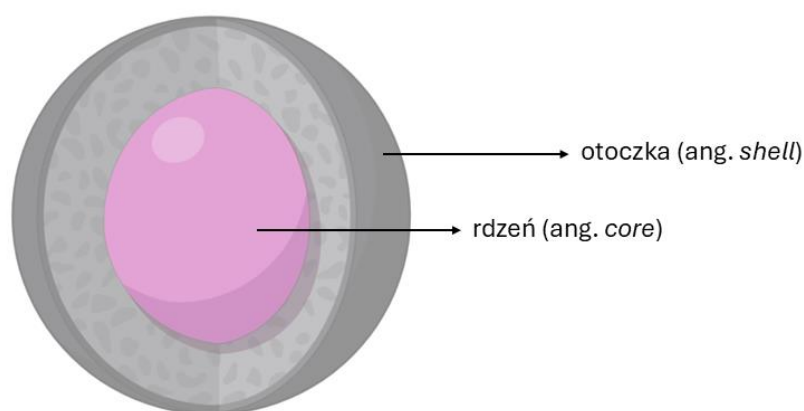
Wprowadzenie nanometrycznych systemów nośnikowych otwiera szerokie perspektywy w medycynie, umożliwiając połączenie diagnostyki, terapii oraz transportu leków w jednym układzie. Stosowanie takich zaawansowanych rozwiązań może przyczynić się do znaczącego zwiększenia skuteczności leczenia przy jednoczesnym ograniczeniu ryzyka

wystąpienia działań niepożądanych, co stanowi jeden z głównych celów współczesnej nanomedycyny.

2. Nanostruktury o architekturze rdzeń-powłoka

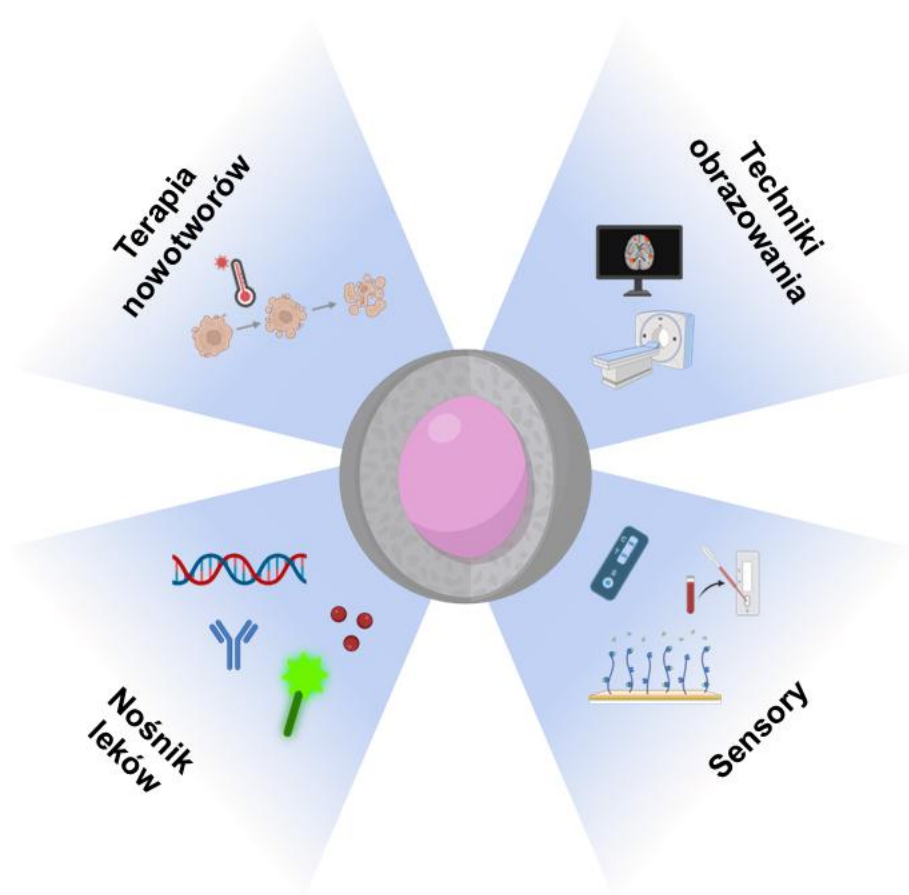
Nanotechnologia jest interdyscyplinarną dziedziną nauki zajmującą się projektowaniem, syntezą oraz zastosowaniem struktur o wymiarach w zakresie 1-100 nm. Łączy elementy chemii, fizyki, biologii oraz inżynierii materiałowej, umożliwiając badanie i modyfikowanie właściwości nanomateriałów. W skali nanometrycznej materiały często wykazują odmienne właściwości fizykochemiczne w porównaniu z ich makroskopowymi odpowiednikami, co otwiera nowe możliwości projektowania funkcjonalnych materiałów o ściśle określonych parametrach. Dzięki swoim unikalnym właściwościom, nanomateriały znajdują zastosowanie w wielu dziedzinach, m.in. w elektronice, energetyce, materiałoznawstwie oraz medycynie [1,2].

Jedną z istotnych grup nanomateriałów są nanostruktury o architekturze rdzeń-powłoka (ang. *core-shell nanostructures*) (Rysunek 1). Struktury te składają się z funkcjonalnego rdzenia, najczęściej metalicznego otoczonego zewnętrzną powłoką ochronną nieorganiczną (np. krzemionka) lub organiczną (np. kwas hialuronowy). Tego typu architektura umożliwia integrację właściwości obu komponentów w obrębie jednej nanostruktury, nadając jej charakter wielofunkcyjny. Rdzeń może odpowiadać za określone właściwości fizyczne lub chemiczne, natomiast powłoka zapewnia stabilność układu, chroni rdzeń przed oddziaływaniem środowiska zewnętrznego oraz umożliwia dalszą modyfikację i funkcjonalizację powierzchni [3].



Rysunek 1. Struktura rdzeń-powłoka.

Ze względu na swoją modułarną budowę nanostruktury rdzeń-powłoka znajdują szerokie zastosowanie w różnych obszarach badań medycznych, w szczególności w nanomedycynie (Rysunek 2). Mogą pełnić funkcję systemów nośnikowych substancji biologicznie czynnych, umożliwiając kontrolowane oraz ukierunkowane dostarczanie leków. Zastosowanie tego typu systemów może prowadzić do zwiększenia biodostępności substancji terapeutycznych oraz ograniczenia ich toksyczności względem zdrowych tkanek. Ponadto nanostruktury rdzeń-powłoka znajdują zastosowanie w diagnostyce biomedycznej, obrazowaniu oraz w systemach teranostycznych, łączących funkcje diagnostyczne i terapeutyczne w obrębie jednego nanoukładu [4,5].



Rysunek 2. Zastosowanie nanostruktur rdzeń-powłoka w medycynie.

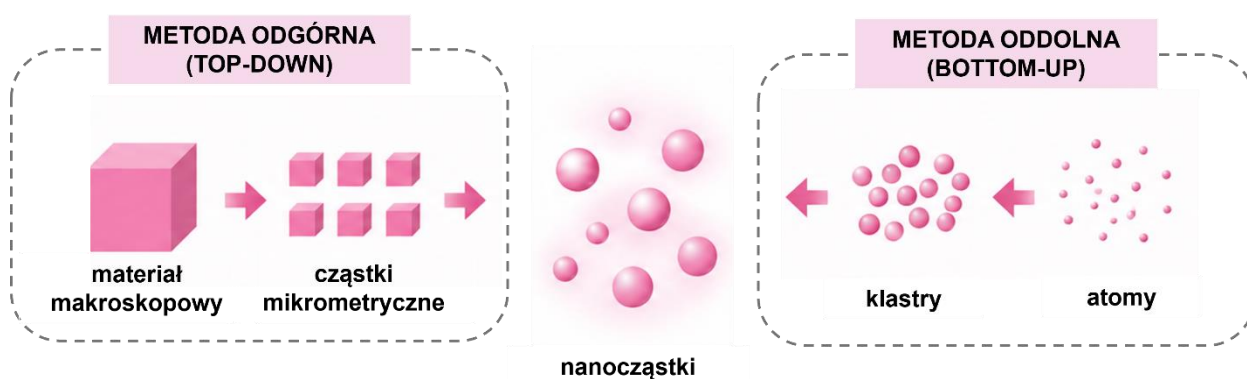
3. Nanocząstki złota (Au NPs)

3.1. Metody syntezy

Istnieją dwa główne podejścia do syntezy nanocząstek złota (Rysunek 3). Pierwsze z nich określane jest jako strategia odgórna (ang. *top-down*), która opiera się na metodach

fizycznych polegających na zmniejszeniu wymiarów materiału w skali makroskopowej. Przykładowymi technikami wykorzystywanymi w tym podejściu są: ablacja laserowa, działanie mikrofalami, rozpylanie, mielenie. Podejście to umożliwia otrzymywanie materiałów bez użycia odczynników chemicznych, jednak często wiąże się z ograniczoną kontrolą nad rozmiarem i kształtem oraz większą polidispersyjnością uzyskiwanych nanocząstek [6].

Drugie podejście, określane jako strategia oddolna (ang. *bottom-up*), bazuje na budowaniu nanomateriału od podstaw najczęściej z wykorzystaniem odpowiednich prekursorów. W tym podejściu najczęściej stosuje się metody chemiczne oraz biologiczne. Umożliwiają one lepszą kontrolę nad morfologią, rozmiarem i właściwościami powierzchniowymi nanocząstek, co ma kluczowe znaczenie w zastosowaniach biomedycznych i katalitycznych. Z tego względu strategia ta jest obecnie znacznie częściej stosowana w badaniach naukowych oraz zastosowaniach aplikacyjnych [7].



Rysunek 3. Metody otrzymywania nanocząstek.

Metody chemiczne

Najpopularniejszą metodą otrzymywania nanocząstek złota jest metoda chemiczna oparta na reakcji redukcji, obejmująca dwa etapy. Pierwszy z nich polega na redukcji prekursora złota z użyciem środka redukującego. Kolejnym etapem jest stabilizacja otrzymanych nanocząstek stabilizatorem, co przeciwdziała aglomeracji i zapewnia trwałość całego układu. Jedną z najpowszechniej stosowanych metod chemicznej syntezy nanozłota jest metoda Turkevicha. Opiera się ona na redukcji kwasu tetrachlorozłotowego (HAuCl_4) cytrynianem sodu ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), który pełni dodatkowo rolę stabilizatora. W tej metodzie wodny roztwór kwasu tetrachlorozłotowego doprowadza się do wrzenia, a następnie, przy

ciągłym mieszaniu, dodaje się roztwór cytrynianu sodu. Po krótkim czasie roztwór przyjmuje charakterystyczną rubinową barwę, co świadczy o powstawaniu nanocząstek złota o średnicy około 20 nm. Modyfikacja metody Turkevicha, zaproponowana przez Frensa, umożliwia kontrolę wielkości nanocząstek poprzez zmianę stosunku reagentów. Z kolei metoda Brust-Schiffrina pozwala na otrzymywanie nanozłota w układzie dwufazowym. W tej metodzie bromek tetraoktyloamoniowy ($C_{32}H_{68}BrN$) umożliwia przeniesienie jonów $AuCl_4^-$ z fazy wodnej do fazy organicznej, natomiast jako środek redukujący stosowany jest borowodorek sodu. Produktem tej reakcji są stosunkowo małe nanocząstki złota o rozmiarach w zakresie 1,5-5 nm.

Opisane powyżej metody prowadzą głównie do otrzymywania kulistych nanostruktur złota. Ich rozwinięciem jest metoda wzrostu zarodków (ang. *seed-mediated growth*), która umożliwia uzyskanie nanostruktur o zróżnicowanej morfologii, takich jak nanopręty, nanosześciany czy nanogwiazdy. Technika ta wymaga wcześniejszej syntezy zarodków złota poprzez redukcję silnym czynnikiem redukującym, takim jak borowodorek sodu. Następnie przygotowuje się roztwór wzrostowy zawierający prekursor, słabszy czynnik redukujący oraz stabilizator, do którego wprowadza się roztwór zarodkowy. Kontrola kształtu i rozmiaru nanostruktur możliwa jest poprzez odpowiedni dobór stężeń reagentów oraz warunków reakcji [6].

Metody biologiczne

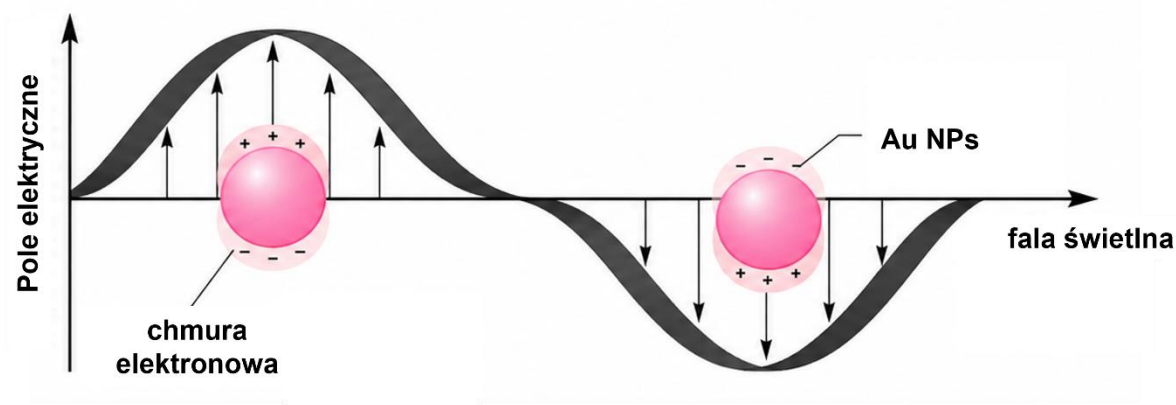
W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania chemią zgodną z zasadami zrównoważonego rozwoju, której celem jest ograniczenie niebezpiecznych dla środowiska reagentów oraz ich zastępowanie bardziej ekologicznymi i przyjaznymi środowisku alternatywami. Jednym z kierunków wpisujących się w to podejście jest synteza nanocząstek złota z wykorzystaniem organizmów żywych, takich jak rośliny, wirusy, bakterie, grzyby czy drożdże jako reduktorów. Do głównych zalet takich metod należą: zmniejszone zużycie rozpuszczalników organicznych, wykorzystanie biodegradowalnych i niskotoksycznych reagentów, ograniczenie ilości odpadów oraz możliwość prowadzenia syntezy w temperaturze i ciśnieniu otoczenia [8]. Mechanizm biosyntezy opiera się na tych samych etapach co w przypadku metod chemicznych [9]. Synteza nanocząstek złota z wykorzystaniem bakterii nie jest podejściem na skalę produkcyjną ze względu na czasochłonność procesu. Wyniki badań wskazują, że nanozłoto uzyskane tą metodą charakteryzuje się silną aktywnością przeciwgrzybiczą [10]. Z kolei synteza z udziałem drożdży polega na redukcji jonów złota do

metalicznego złota przy udziale białek i enzymów zawartych w drożdżach. Wyniki testów wskazują, że otrzymane w ten sposób nanocząstki złota cechują się wysoką stabilnością oraz hydrofilowym charakterem powierzchni [11]. Zielona synteza w wykorzystaniu roślin polega na pozyskiwaniu ekstraktu z różnych części roślin, takich jak liście, owoce, kwiaty, nasiona i korzenie. Otrzymany ekstrakt jest filtrowany w celu oczyszczenia i mieszany z roztworem prekursora złota. Metabolity znajdujące się w ekstraktach roślinnych pełnią rolę reduktora i stabilizatora [12].

3.2. Właściwości fizykochemiczne i funkcjonalne

Nanocząstki złota to materiały o unikalnych właściwościach fizykochemicznych, wynikających przede wszystkim z ich niewielkich rozmiarów i dużego stosunku powierzchni do objętości. Charakteryzują się wysoką stabilnością chemiczną oraz możliwością precyzyjnej kontroli ich kształtu i wielkości.

Jedną z najbardziej charakterystycznych cech Au NPs są ich właściwości optyczne, związane ze zjawiskiem zlokalizowanego rezonansu plazmonów powierzchniowych (ang. *Localized Surface Plasmon Resonance*, LSPR) (Rysunek 4). Zjawisko to polega na oscylacji swobodnych elektronów na powierzchni nanocząstki pod wpływem padającego promieniowania. W efekcie Au NPs wykazują silną absorpcję w zakresie widzialnym. W przypadku nanocząstek kulistych o średnicy około 20 nm maksimum pasma absorpcji występuje zwykle przy długości fali około 500-550 nm. Położenie maksimum absorpcji związanej z rezonansem LSPR oraz szerokość pasma absorpcyjnego zależą od wielu czynników takich jak rozmiar, kształt, stopień agregacji nanocząstek oraz właściwości otaczającego środowiska. W przypadku nanocząstek o wydłużonym kształcie zakres absorpcji może przesunąć się w kierunku bliskiej podczerwieni (ang. *Near-Infrared Radiation*, NIR), co jest wynikiem rozdzielenia oscylacji plazmonowych wzdłuż krótkiej i długiej osi cząstki [13].



Rysunek 4. Schemat zlokalizowanego rezonansu plazmonów powierzchniowych w Au NPs.

Wśród funkcjonalnych właściwości nanostruktur złota wyróżnia się ich aktywność antyoksydacyjną oraz przeciwzapalną, które są ściśle związane z ich wysoką powierzchnią właściwą. Aktywność antyoksydacyjna ma charakter katalityczny i zachodzi na powierzchni nanocząstek, gdzie zachodzą procesy adsorpcji oraz transferu elektronów. Wyróżnia się dwa główne mechanizmy działania: mechanizm zapobiegawczy oraz mechanizm zrywania łańcucha reakcji rodnikowych. W ramach mechanizmu zapobiegawczego nanocząstki złota wykazują aktywność naśladującą enzymy antyoksydacyjne, w tym katalazę oraz dysmutazę ponadtlenkową (SOD). Aktywność katalazopodobna polega na rozkładzie nadtlenu wodoru do wody i tlenu, przy czym proces ten jest szczególnie efektywny w środowisku obojętnym i zasadowym. Z kolei aktywność typu SOD obejmuje wychwytywanie rodników ponadtlenkowych i ich konwersję do mniej reaktywnych form, takich jak nadtlenek wodoru i tlen. Drugim istotnym mechanizmem jest zrywanie łańcucha reakcji rodnikowych, polegające na zdolności nanocząstek do jednoczesnego transferu elektronu i protonu do rodników alkiloperoksylowych, co prowadzi do ich stabilizacji i przerwania propagacji reakcji utleniania. Efektywność tego procesu zależy od dostępności donorów elektronów oraz obecności środowiska protycznego [14].

Działanie przeciwzapalne wykazywane przez nanocząstki złota jest powiązane z ich właściwościami antyoksydacyjnymi oraz zdolnością do modulowania procesów zachodzących w środowisku reakcji zapalnej. Podobnie jak w przypadku aktywności antyoksydacyjnej, kluczową rolę odgrywają procesy powierzchniowe, takie jak adsorpcja reaktywnych form tlenu oraz ich katalityczna konwersja do mniej reaktywnych produktów. Ograniczenie stężenia reaktywnych form tlenu prowadzi do zmniejszenia intensywności procesów oksydacyjnych,

które stanowią jeden z głównych czynników inicjujących i podtrzymujących reakcje zapalne. Redukcja poziomu reaktywnych form tlenu wpływa pośrednio na osłabienie aktywacji mediatorów zapalnych, w tym zmniejszenie wydzielania cytokin prozapalnych. Dodatkowo nanocząstki złota mogą oddziaływać z cząsteczkami sygnałowymi poprzez ich adsorpcję na powierzchni, co prowadzi do ograniczenia ich biodostępności i aktywności biologicznej [15,16].

Aktywność antyoksydacyjna i przeciwzapalna nanocząstek złota jest ściśle uzależniona od ich właściwości fizykochemicznych, takich jak rozmiar, kształt, stan agregacji oraz charakter powierzchni. Szczególnie istotny jest kształt i rozmiar cząstek, ponieważ mniejsze nanocząstki wykazują wyższą aktywność katalityczną ze względu na większą powierzchnię właściwą i większą liczbę miejsc aktywnych dostępnych do interakcji z reaktywnymi formami tlenu.

3.3. Zastosowanie Au NPs w nanomedycynie

Dzięki powyższym cechom i właściwościom Au NPs znajdują szerokie zastosowanie w licznych obszarach nauki i technologii, obejmujących zarówno nanomedycynę, diagnostykę, katalizę oraz rozwój zaawansowanych biosensorów. Szczególne znaczenie przypisuje się ich właściwościom optycznym oraz możliwości łatwej funkcjonalizacji powierzchni, co pozwala na precyzyjne dostosowanie ich właściwości do konkretnych zastosowań. W niniejszej pracy skoncentrowano się na wykorzystaniu nanocząstek złota w obszarze nanomedycyny, ze szczególnym uwzględnieniem ich roli w diagnostyce, terapii przeciwnowotworowej oraz systemach dostarczania substancji terapeutycznych.

Au NPs odgrywają istotną rolę w diagnostyce oraz obrazowaniu medycznym dzięki swoim unikalnym właściwościom optycznym. Ich zdolność do intensywnego pochłaniania i rozpraszania światła umożliwia wykorzystanie ich w testach kolorymetrycznych, w których zmiana stopnia agregacji prowadzi do łatwo obserwowalnej zmiany barwy. Zjawisko to znalazło zastosowanie w szybkich testach diagnostycznych [17–19]. Ponadto Au NPs znacząco wzmacniają sygnał w technikach spektroskopowych, takich jak spektroskopia Ramana ze wzmocnieniem powierzchniowym (ang. *Surface-Enhanced Raman Spectroscopy*, SERS), umożliwiając detekcję bardzo niskich stężeń biomarkerów [20,21]. W kontekście obrazowania diagnostycznego nanocząstki złota wykorzystywane są jako środki kontrastowe, szczególnie w tomografii komputerowej, gdzie dzięki wysokiej liczbie atomowej złota skutecznie pochłaniają promieniowanie rentgenowskie, zwiększając kontrast oraz poprawiając jakość

uzyskiwanych obrazów [22]. Dodatkowo, poprzez odpowiednią modyfikację powierzchni, możliwe jest uzyskanie układów celowanych, które selektywnie gromadzą się w określonych tkankach, co zwiększa precyzję diagnostyki.

W terapii przeciwnowotworowej nanocząstki złota wykazują duży potencjał, szczególnie w metodach opartych na oddziaływaniu z promieniowaniem elektromagnetycznym. W terapii fototermicznej Au NPs absorbują promieniowanie, najczęściej w zakresie bliskiej podczerwieni i przekształcają je w energię ciepłą, prowadząc do lokalnego przegrzania i zniszczenia komórek nowotworowych [23]. Dzięki możliwości wcześniejszego ukierunkowania nanocząstek do miejsca zmienionego chorobowo, efekt ten ma charakter selektywny i minimalizuje uszkodzenia zdrowych tkanek [24,25]. Równie istotne jest ich zastosowanie w terapii fotodynamicznej, gdzie mogą pełnić rolę nośników fotosensybilizatorów lub wzmacniać generację reaktywnych form tlenu, odpowiedzialnych za indukcję śmierci komórkowej [26]. Dodatkowo Au NPs mogą zwiększać skuteczność klasycznych metod leczenia, takich jak radioterapia czy chemioterapia, działając synergistycznie i umożliwiając redukcję dawek terapeutycznych.

Nanocząstki złota znajdują również szerokie zastosowanie jako nośniki substancji terapeutycznych oraz elementy zintegrowanych systemów teranostatycznych. Dzięki dużej powierzchni właściwej oraz łatwości funkcjonalizacji możliwe jest przyłączanie różnorodnych cząsteczek, takich jak leki, białka, kwasy nukleinowe czy ligandy kierujące, co umożliwia tworzenie układów o wysokiej selektywności działania [27]. Au NPs pozwalają na poprawę biodostępności leków, szczególnie hydrofobowych oraz ich ochronę przed degradacją w środowisku biologicznym [28]. Istotnym aspektem jest także możliwość projektowania systemów kontrolowanego uwalniania, reagujących na bodźce takie jak zmiany pH, temperatura czy promieniowanie świetlne [29]. W kontekście podejścia teranostycznego nanocząstki umożliwiają jednoczesne projektowanie funkcji terapeutycznych i diagnostycznych, co pozwala na równoległe prowadzenie terapii oraz monitorowanie jej przebiegu i skuteczności, a tym samym zwiększenie efektywności leczenia i jego lepsze dopasowanie do warunków chorobowych [30,31]. Z kolei możliwość integracji nanocząstek złota z materiałami biomedycznymi, takimi jak hydrogele, umożliwia tworzenie zaawansowanych i inteligentnych platform terapeutycznych, które łączą funkcje dostarczania leków oraz ich kontrolowanego, miejscowo ograniczonego i długotrwałego uwalniania, a także wydłużonego czasu działania w miejscu aplikacji i poprawy stabilności całego układu terapeutycznego [32].

3.4. Wyzwania i ograniczenia

Wśród najistotniejszych wyzwań związanych z wykorzystaniem nanocząstek złota wymienia się ich tendencję do aglomeracji oraz kwestie związane z biokompatybilnością. Oba te aspekty są ściśle powiązane z właściwościami fizykochemicznymi nanostruktur i w istotny sposób determinują ich stabilność, bezpieczeństwo oraz potencjał aplikacyjny. W szczególności brak odpowiedniej stabilizacji powierzchniowej może prowadzić zarówno do utraty właściwości funkcjonalnych, jak i do niepożądanych efektów biologicznych.

Aglomeracja stanowi istotny problem w pracy z nanocząstkami złota, ponieważ prowadzi do łączenia się pojedynczych cząstek w większe agregaty, co znacząco wpływa na ich właściwości fizykochemiczne i funkcjonalne (Rysunek 5). Zjawisko to wynika przede wszystkim z naturalnej tendencji nanocząstek do przyciągania się wskutek sił van der Waalsa oraz z niewystarczającej stabilizacji powierzchniowej [33]. Dodatkowo zmiany pH, siły jonowej roztworu, temperatury, a także obecność białek i innych makrocząsteczek mogą sprzyjać agregacji, powodując powstawanie większych aglomeratów [34]. Najbardziej widocznym skutkiem są zmiany rozmiaru i morfologii nanocząstek, co prowadzi do utraty ich pierwotnych właściwości i bezpośrednio wpływa na ich funkcjonalność. Proces ten może również prowadzić do zwiększonej toksyczności, która wynika m.in. z niekontrolowanej akumulacji większych struktur w tkankach, zaburzeń internalizacji komórkowej, indukcji stresu oksydacyjnego oraz aktywacji odpowiedzi zapalnej. W konsekwencji może dochodzić do uszkodzeń lipidów, białek oraz kwasu deoksyrybonukleinowego (DNA), a także do inicjacji procesów apoptozy lub nekrozy komórek. Należy podkreślić, że toksyczność nanocząstek złota, podobnie jak innych nanomateriałów, jest silnie zależna od ich właściwości fizykochemicznych, w szczególności rozmiaru, kształtu, ładunku powierzchniowego oraz obecności powłok stabilizujących [35].



Rysunek 5. Schemat procesu aglomeracji Au NPs indukowanej zmianami warunków środowiskowych.

W kontekście bezpieczeństwa biologicznego istotną rolę odgrywa rozmiar nanocząstek. Wykazano, że bardzo małe cząstki mogą łatwo przenikać przez bariery biologiczne i wykazywać zwiększoną reaktywność, co potencjalnie wiąże się z wyższą cytotoksycznością. Z kolei większe nanocząstki charakteryzują się ograniczoną penetracją, ale mogą ulegać akumulacji w narządach takich jak wątroba czy śledziona [36]. W wielu przypadkach za kompromis pomiędzy stabilnością, biodostępnością a bezpieczeństwem uznaje się zakres rozmiarów około 10-50 nm, w którym nanocząstki wykazują względnie korzystny profil biologiczny oraz kontrolowaną dystrybucję [37].

Istotnym parametrem jest również kształt nanocząstek. Formy sferyczne są zazwyczaj uznawane za bardziej stabilne i mniej toksyczne w porównaniu do struktur anizotropowych, takich jak nanopręty czy nanogwiazdki, które mogą wykazywać zwiększoną reaktywność powierzchniową oraz odmienne mechanizmy oddziaływania z komórkami [38].

Ograniczenie aglomeracji oraz poprawa biokompatybilności wymagają odpowiedniej stabilizacji powierzchniowej nanocząstek. W tym celu powszechnie stosuje się różnego rodzaju stabilizatory, takie jak surfaktanty, polimery (np. glikol polietylenowy - PEG, czy poliwinylpirolidon - PVP), czy dodatkowe otoczki nieorganiczne lub organiczne, które tworzą warstwę ochronną zapobiegającą agregacji. W związku z powyższymi ograniczeniami coraz większe znaczenie zyskuje stosowanie dodatkowych, trwałych powłok ochronnych, które nie tylko stabilizują nanocząstki, ale również umożliwiają ich dalszą funkcjonalizację. Szczególnie obiecującym rozwiązaniem są powłoki krzemionkowe (SiO_2), które dzięki swojej obojętności chemicznej, łatwości modyfikacji powierzchni oraz zdolności do tworzenia jednorodnych struktur stanowią efektywną barierę zapobiegającą agregacji oraz poprawiającą stabilność i biokompatybilność nanocząstek złota. Zastosowanie tego typu otoczek prowadzi do powstania nanostruktur typu rdzeń-powłoka (Au@SiO_2), które łączą korzystne właściwości optyczne złota z funkcjonalnością i stabilnością warstwy krzemionkowej [39].

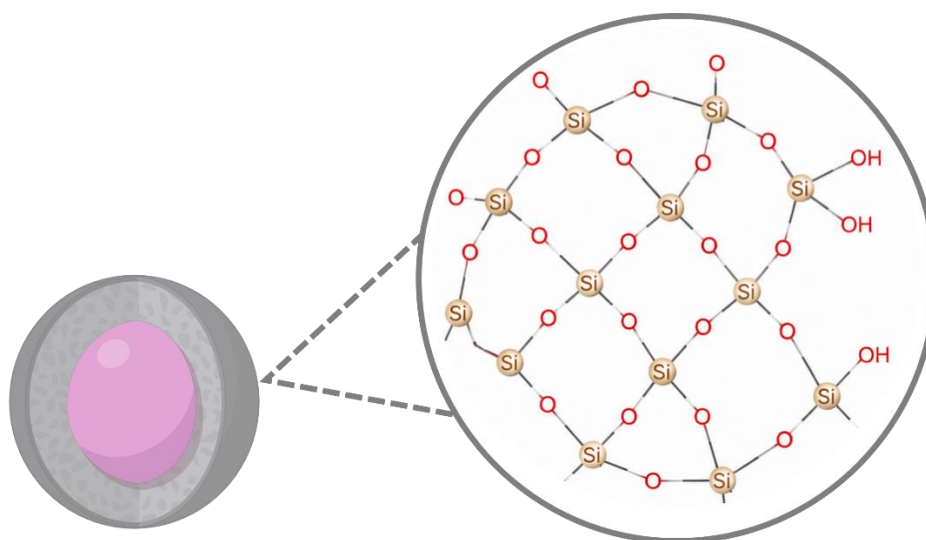
4. Powłoki krzemionkowe (SiO_2) jako funkcjonalne komponenty nanostruktur

4.1. Właściwości fizykochemiczne krzemionki

Krzemionka (SiO_2) stanowi jeden z najczęściej wykorzystywanych materiałów w nanotechnologii oraz inżynierii biomedycznej, co wynika z jej unikalnych właściwości fizykochemicznych. W szczególności amorficzna forma krzemionki, otrzymywana najczęściej metodą zol-żel, znajduje szerokie zastosowanie jako materiał powłokowy w nanostrukturach

typu rdzeń-powłoka. Wynika to przede wszystkim z wysokiej stabilności chemicznej i termodynamicznej, łatwości modyfikacji powierzchni oraz możliwości precyzyjnego kontrolowania struktury i morfologii [40].

Strukturalnie powłoka krzemionkowa zbudowana jest z trójwymiarowej sieci wiązań siloksanowych (Si-O-Si), tworzących przestrzenną i silnie skondensowaną matrycę, w której atomy krzemu są tetraedrycznie połączone poprzez mostkowe atomy tlenu (Rysunek 6). Wiązania siloksanowe są bardzo trwałe chemicznie i odpowiadają za wysoką stabilność powstałej warstwy krzemionkowej. Na powierzchni krzemionki obecne są także grupy silanolowe ($-\text{Si-OH}$), w których atom krzemu związany jest z jedną grupą hydroksylową. Ich obecność nadaje powierzchni reaktywność i umożliwia dalszą funkcjonalizację materiału, w tym sprzęganie z innymi molekułami [41].



Rysunek 6. Schemat struktury powłoki krzemionkowej utworzonej na Au NPs.

Jedną z istotnych cech krzemionki jest jej charakter powierzchniowy, wynikający z obecności grup silanolowych. Nadają one materiałowi właściwości hydrofilowe oraz zdolność do oddziaływań z cząsteczkami o charakterze polarnym [42]. Ponadto powierzchnia krzemionki wykazuje zazwyczaj ładunek ujemny. Cecha ta ma duże znaczenie dla stabilności układów koloidalnych oraz oddziaływań z cząsteczkami biologicznymi, wpływając na procesy adsorpcji i transportu substancji. Krzemionka może występować w formie materiałów o różnym stopniu porowatości. Szczególne znaczenie w zastosowaniach nanotechnologicznych mają materiały mezoporowate. Struktury takie odznaczają się bardzo dużą powierzchnią właściwą, sięgającą nawet kilkuset metrów kwadratowych na gram materiału. Wysoka

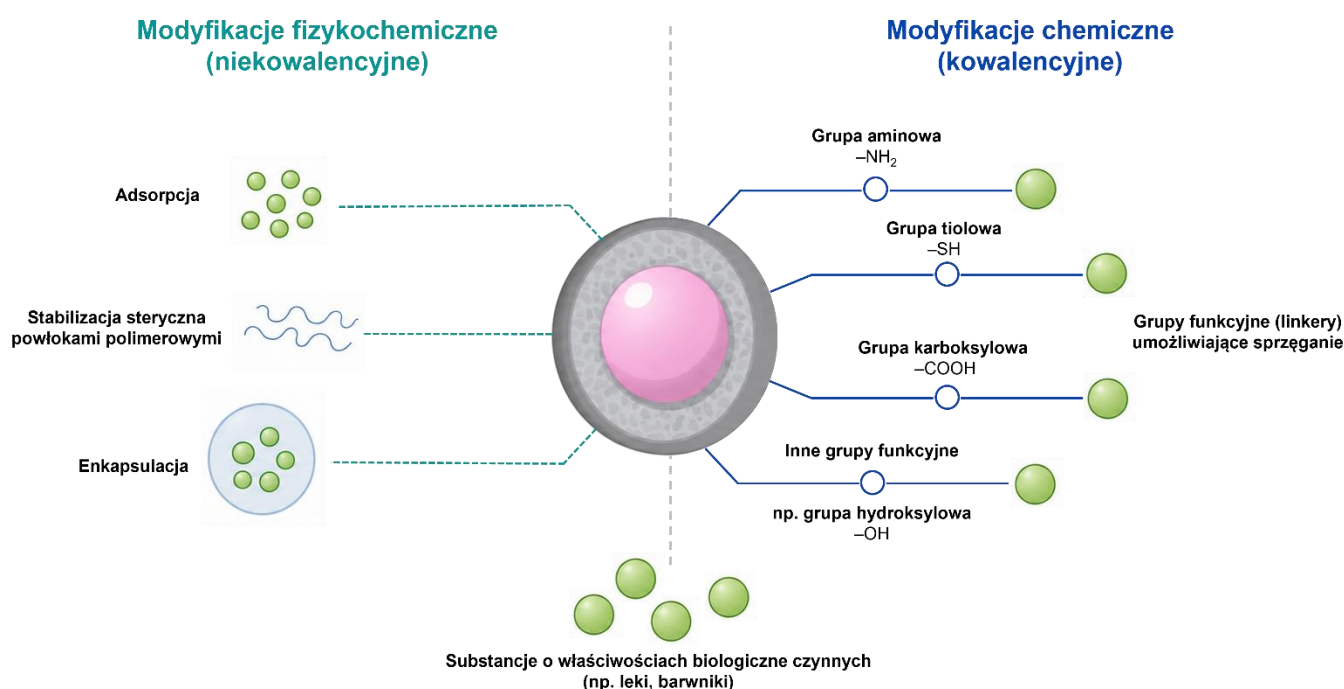
porowatość umożliwia adsorpcję i enkapsulację różnych substancji, w tym cząsteczek leków, co czyni krzemionkę atrakcyjnym materiałem w systemach dostarczania substancji aktywnych. Dodatkowo, możliwość kontrolowania rozmiaru i objętości porów na etapie syntezy pozwala na projektowanie materiałów o ściśle określonych właściwościach transportowych [43]. Kolejną istotną cechą krzemionki jest jej wysoka stabilność chemiczna i termiczna. Materiał ten jest odporny na działanie wielu czynników chemicznych, w tym utleniaczy oraz zachowuje swoje właściwości w szerokim zakresie temperatur [44]. Krzemionka jest również nierozpuszczalna w wodzie i większości rozpuszczalników organicznych, co sprzyja jej wykorzystaniu w środowiskach wodnych oraz biologicznych. W warunkach silnie zasadowych może jednak ulegać powolnej degradacji, co w niektórych zastosowaniach biomedycznych jest zjawiskiem pożądanym, umożliwiającym stopniowe uwalnianie przyłączonych substancji [45]. Ponadto charakteryzuje się wysoką przezroczystością optyczną w zakresie promieniowania ultrafioletowego i widzialnego. Niski współczynnik absorpcji sprawia, że materiał ten nie zakłóca właściwości optycznych wykazywanych przez rdzeń obecny w nanostrukturach [46]. Dzięki temu możliwe jest zachowanie charakterystycznych efektów, takich jak rezonans plazmonowy, przy jednoczesnym zapewnieniu ochronnej funkcji powłoki. Istotnym aspektem krzemionki w kontekście zastosowań biomedycznych jest jej biokompatybilność. Jej postać amorficzna uznawana jest za materiał o niskiej toksyczności, co umożliwia jej stosowanie w systemach dostarczania leków, biosensorach oraz materiałach opatrunkowych [42]. Właściwości te, w połączeniu z możliwością kontrolowania wielkości cząstek, porowatości oraz dostosowywania charakteru chemicznego powierzchni, czynią krzemionkę materiałem wysoce uniwersalnym i podatnym na modyfikację.

4.2. Funkcjonalizacja powierzchni

Powłoki krzemionkowe w nanostrukturach rdzeń-powłoka charakteryzują się dużym potencjałem w zakresie modyfikacji powierzchni, co stanowi jeden z kluczowych aspektów ich zastosowań w nanomedycynie. Obecność grup silanolowych (-Si-OH) na powierzchni powłoki umożliwia wprowadzanie różnorodnych funkcjonalności, które mogą modyfikować zarówno właściwości fizykochemiczne, jak i biologiczne nanocząstek [47].

Funkcjonalizacja powierzchni polega w ogólnym ujęciu na zmianie chemicznego lub fizycznego charakteru warstwy krzemionkowej w taki sposób, aby umożliwić selektywne oddziaływanie z otoczeniem, poprawić stabilność układów koloidalnych lub umożliwić przyłączenie wybranych cząstek, w tym substancji terapeutycznych.

Istnieje wiele strategii funkcjonalizacji, które można podzielić na dwie główne grupy: modyfikacje fizykochemiczne oraz reakcje chemiczne (Rysunek 7). W pierwszym przypadku modyfikacja powierzchni powłoki zachodzi w sposób niekowalencyjny, na przykład poprzez adsorpcję [48]. Takie podejście pozwala na stabilizację nanomateriału w roztworze oraz umożliwia załadowanie substancji aktywnych, zachowując ich pełną aktywność biologiczną. Natomiast w przypadku modyfikacji chemicznych powłoka SiO₂ może być funkcjonalizowana poprzez przyłączenie różnych grup funkcyjnych, które stanowią miejsce immobilizacji kolejnych ligandów [49,50].



Rysunek 7. Strategie funkcjonalizacji powłoki krzemionkowej substancjami o właściwościach biologicznie czynnych.

Funkcjonalizacja powierzchni nie ogranicza się jedynie do zwiększenia kompatybilności biologicznej czy stabilności koloidalnej. Może również służyć do kontrolowanego dostarczania i uwalniania leków, wpływając na kinetykę uwalniania cząsteczek oraz ich selektywne oddziaływanie z wybranymi komórkami. Powłoki krzemionkowe umożliwiają zarówno tworzenie układów, w których lek jest przyłączany do powierzchni za pośrednictwem oddziaływań niekowalencyjnych, jak i systemów, w których substancje aktywne zostają inkorporowane wewnątrz porów materiału [51,52]. Taka wszechstronność sprawia, że krzemionka stanowi uniwersalną platformę do projektowania nanośników o kontrolowanych właściwościach farmakokinetycznych i biologicznych.

Warto podkreślić, że funkcjonalizacja powierzchni powłok SiO_2 pozwala na adaptację nanostruktur do określonych zastosowań, tym samym poszerzając zakres funkcjonalności. Pozwala to na zachowanie ich unikalnych właściwości, takich jak właściwości optyczne nanocząstek złota, przy jednoczesnym nadaniu nowych funkcjonalności powłoce [53,54]. Dzięki temu możliwe jest projektowanie układów wielofunkcyjnych, łączących diagnostykę, terapię oraz transport substancji aktywnych, co jest szczególnie istotne w kontekście nowoczesnej, spersonalizowanej farmakoterapii.

5. Nanostruktury rdzeń-powłoka Au@SiO_2 jako platformy nośnikowe leków

Biorąc po uwagę właściwości nanocząstek złota, krzemionki jako powłoki funkcjonalnej opisane w rozdziale 3 i 4 oraz rosnącego potencjału aplikacyjnego nanostruktur rdzeń-powłoka, szczególnego znaczenia nabiera ich zastosowanie jako zaawansowanych platform do dostarczania substancji terapeutycznych. Nanostruktury Au@SiO_2 wyróżniają się możliwością integracji wielu funkcji w obrębie jednego materiału, co umożliwia jednocześnie załadowanie leku, jego ochronę przed degradacją oraz kontrolowane uwalnianie [55].

Kluczowym aspektem wykorzystania tych nanosystemów jest ich zdolność do efektywnej enkapsulacji cząsteczek aktywnych oraz modulowania ich dystrybucji w środowisku biologicznym. Dzięki odpowiednio zaprojektowanej strukturze otoczki możliwe jest ograniczenie przedwczesnego uwalniania leku oraz zwiększenie jego biodostępności w miejscu docelowym [56,57]. W tym kontekście nanostruktury Au@SiO_2 stanowią istotny element strategii poprawy skuteczności terapeutycznej przy jednoczesnym ograniczeniu efektów ubocznych.

5.1. Enkapsulacja substancji biologicznie czynnych do nośnika

Proces enkapsulacji substancji aktywnych w nanostrukturach Au@SiO_2 jest silnie zależny zarówno od właściwości nośnika, jak i charakteru cząsteczki terapeutycznej. W praktyce konieczne jest odpowiednie zaprojektowanie oraz modyfikacja właściwości powierzchni nanonośnika w zależności od cech fizykochemicznych enkapsulowanej substancji, co pozwala zwiększyć wydajność enkapsulacji oraz ograniczyć straty podczas przechowywania i transportu. Szczególnie istotną rolę w tym procesie odgrywa powłoka krzemionkowa, która dzięki swojej porowatej strukturze umożliwia skuteczne zamykanie leków oraz innych substancji biologicznie czynnych [58,59].

Enkapsulacja może zachodzić zarówno poprzez oddziaływania niekowalencyjne, jak i wiązania kowalencyjne, które różnią się mechanizmem immobilizacji oraz stabilnością załadowanej substancji. W przypadku oddziaływań niekowalencyjnych dominującą rolę odgrywają siły elektrostatyczne, oddziaływania hydrofobowe oraz wiązania wodorowe, które umożliwiają odwracalne wiązanie cząsteczek w obrębie porowatej struktury krzemionki. Tego typu podejście jest szczególnie korzystne w systemach wymagających łatwego uwalniania substancji aktywnej. Z kolei immobilizacja kowalencyjna polega na trwałym przyłączeniu cząsteczek do powierzchni SiO_2 poprzez odpowiednio dobrane grupy funkcyjne, co prowadzi do zwiększenia stabilności układu, jednak może ograniczać szybkość uwalniania [60].

W przypadku leków hydrofobowych szczególnie istotne jest wytworzenie środowiska sprzyjającego ich stabilizacji, co może być osiągnięte poprzez odpowiednią modyfikację powierzchni lub wprowadzenie dodatkowych komponentów organicznych. Z kolei dla cząsteczek o charakterze hydrofilowym kluczową rolę odgrywają oddziaływania elektrostatyczne, które mogą być wykorzystywane zarówno do immobilizacji, jak i późniejszej kontroli uwalniania.

5.2. Kontrolowane uwalnianie leków

Kinetyka i mechanizm uwalniania leku z nanostruktur Au@SiO_2 są wynikiem współdziałania kilku procesów, wśród których dominującą rolę odgrywa dyfuzja przez strukturę powłoki. Dodatkowo istotne znaczenie mają procesy desorpcji z powierzchni oraz w przypadku układów kowalencyjnych, rozpad wiązań chemicznych pod wpływem czynników środowiskowych. Właściwości te mogą być precyzyjnie modulowane poprzez kontrolę porowatości, funkcjonalizacji powierzchni oraz grubości warstwy krzemionkowej [61].

Istotnym aspektem projektowania systemów Au@SiO_2 jest również dostosowanie profilu uwalniania do drogi podania oraz miejsca działania. W przypadku aplikacji miejscowych pożądane jest stopniowe i długotrwałe uwalnianie substancji aktywnej, zapewniające utrzymanie jej odpowiedniego stężenia w obrębie miejsca aplikacji. Z kolei w systemach podania ogólnoustrojowego kluczowe jest ograniczenie przedwczesnego uwalniania oraz zapewnienie stabilności nośnika w krążeniu [62].

Dodatkowo możliwe jest projektowanie układów reagujących na bodźce środowiskowe, takie jak zmiany pH, temperatury czy obecność reaktywnych form tlenu, które

mogą inicjować uwalnianie substancji aktywnej w określonych warunkach. Takie podejście umożliwia zwiększenie selektywności działania oraz ograniczenie efektów ubocznych [63,64].

W rezultacie kontrolowane uwalnianie substancji aktywnej z nanostruktur Au@SiO₂ stanowi efekt synergii pomiędzy właściwościami materiału nośnikowego, a warunkami środowiskowymi, co pozwala na projektowanie systemów o precyzyjnie dostosowanym profilu działania.

5.3. Zalety i potencjał systemu nośnikowego

Nanostruktury rdzeń-powłoka Au@SiO₂ oferują szereg korzyści w porównaniu do innych platform nośnikowych. Po pierwsze, wysoka stabilność chemiczna i mechaniczna powłoki SiO₂ chroni zarówno rdzeń, jak i transportowaną substancję przed degradacją w środowisku biologicznym. Po drugie, porowatość i duża powierzchnia właściwa powłoki umożliwiają enkapsulację różnorodnych substancji leczniczych, co czyni system uniwersalnym i łatwo adaptowalnym do różnych zastosowań terapeutycznych.

Synergia rdzenia i powłoki dodatkowo zwiększa efektywność systemu. Właściwości antyoksydacyjne i przeciwzapalne rdzenia mogą wspierać działanie leku, podczas gdy powłoka umożliwia jego kontrolowane uwalnianie. Jednocześnie funkcjonalizacja powierzchni pozwala na ukierunkowane dostarczanie do określonych typów komórek. Taki zintegrowany system może być wykorzystywany w różnych strategiach terapeutycznych.

Dodatkowo, nanostruktury Au@SiO₂ można łatwo integrować z innymi matrycami, takimi jak hydrożele, co pozwala na tworzenie systemów wielofunkcyjnych [65]. Hydrożele mogą zwiększać stabilność nanostruktur, regulować kinetykę uwalniania leków i umożliwiać ich aplikację w formie żelowej, co jest szczególnie istotne w kontekście terapii miejscowych [66,67]. W rezultacie nanostruktury rdzeń-powłoka stanowią uniwersalną platformę, która łączy właściwości fizykochemiczne, biologiczne i funkcjonalność nośnika w jednym systemie, oferując szerokie możliwości w projektowaniu nowoczesnych terapii.

Podsumowując, Au@SiO₂ tworzy synergiczny, wszechstronny system nośnikowy, w którym rdzeń złota wspomaga efekty biologiczne, powłoka krzemionkowa stabilizuje i umożliwia kontrolowane uwalnianie leków, a funkcjonalizacja powierzchni pozwala na ich celowane dostarczanie. Dzięki połączeniu tych właściwości system ten jest nie tylko efektywny

i bezpieczny, ale także uniwersalny w zastosowaniach terapeutycznych i diagnostycznych, co czyni go jednym z najbardziej obiecujących kierunków w nanomedycynie.

6. Inkorporacja nanostruktur w matryce hydrożelowe jako funkcjonalne platformy biomateriałowe

Integracja nanostruktur z matrycami hydrożelowymi stanowi istotny kierunek rozwoju nowoczesnych materiałów kompozytowych o szerokim potencjale zastosowań biomedycznych i funkcjonalnych. Połączenie nanometrycznych komponentów, takich jak nanostruktury rdzeń-powłoka z trójwymiarową siecią polimerową hydrożeli umożliwia uzyskanie układów hybrydowych, w których właściwości obu faz wzajemnie się uzupełniają. W rezultacie możliwe jest projektowanie materiałów o kontrolowanej strukturze, wysokiej stabilności oraz zaawansowanej funkcjonalności wynikającej zarówno z obecności nanomateriału, jak i właściwości matrycy polimerowej.

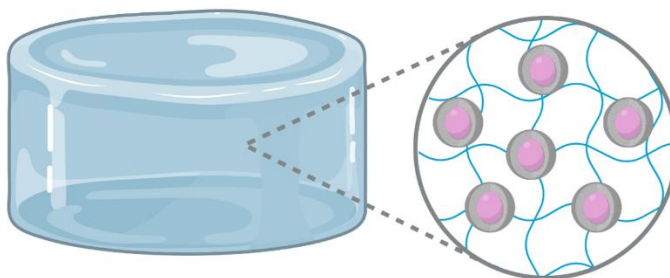
6.1. Hydrożele jako matryce dla materiałów kompozytowych

Hydrożele stanowią przykład układów koloidalnych, w których występują trójwymiarowe sieci polimerowe zdolne do absorpcji i zatrzymywania dużych ilości wody lub roztworów wodnych, przy jednoczesnym zachowaniu integralności strukturalnej. Ich budowa opiera się na hydrofilowych łańcuchach polimerowych połączonych wiązaniami fizycznymi (np. oddziaływania wodorowe, oddziaływania van der Waalsa, sieciowanie fizyczne) lub chemicznymi (kowalencyjne mostki sieciujące). W rezultacie hydrożele charakteryzują się wysoką elastycznością, miękkością oraz zdolnością do pęcznienia, co pozwala na znaczne zmiany ich objętości w zależności od warunków środowiskowych [68].

Istotną cechą hydrożeli jest ich wysoka zawartość wody, często przekraczająca 70-90% masy, co sprawia, że ich właściwości mechaniczne i transportowe mogą być zbliżone do właściwości tkanek biologicznych. Dzięki temu materiały te wykazują wysoką biokompatybilność oraz niską toksyczność, co czyni je szczególnie atrakcyjnymi w zastosowaniach biomedycznych oraz bioinżynieryjnych [69,70].

W kontekście materiałów kompozytowych hydrożele pełnią przede wszystkim funkcję matryc strukturalnych, w których możliwe jest osadzanie różnego rodzaju komponentów funkcjonalnych, w tym nanostruktur nieorganicznych. Ich trójwymiarowa sieć umożliwia fizyczne uwięzienie cząstek w przestrzeni porowatej oraz ich stabilizację w całej objętości

materiału (Rysunek 8). Jednocześnie hydrożele ograniczają mobilność nanomateriałów, zmniejszając ryzyko ich agregacji oraz sedimentacji, co jest kluczowe dla zachowania jednorodności właściwości kompozytu [71].



Rysunek 8. Schemat osadzenia nanostruktur w porowatej sieci hydrożelowej.

6.2. Strategie włączenia nanostruktur do hydrożeli

Inkorporacja nanostruktur do matrycy hydrożelowych może być realizowana z wykorzystaniem kilku podejść technologicznych, które determinują końcową organizację przestrzenną oraz właściwości materiału kompozytowego. Wprowadzenie nanomateriałów do hydrożeli ma na celu nie tylko ich immobilizację, ale również modyfikację właściwości fizykochemicznych matrycy, takich jak wytrzymałość, stabilność czy funkcjonalność.

Jednym z najczęściej stosowanych podejść jest fizyczna inkorporacja uprzednio zsyntezowanych nanomateriałów do roztworu prekursorów hydrożelu przed procesem sieciowania. Metoda ta umożliwia równomierne rozmieszczenie nanostruktur w objętości materiału oraz ich integrację z powstającą siecią polimerową poprzez oddziaływania niekowalencyjne. Alternatywnie mogą one być także wprowadzone do już uformowanej matrycy żelowej poprzez adsorpcję fizyczną. Możliwe jest również zastosowanie podejścia *in situ*, polegającego na dodaniu prekursorów nanomateriałów do roztworu w trakcie procesu żelowania, a następnie ich redukcji w tym środowisku. Sprzyja to efektywnemu uwięzieniu nanostruktur w rozwijającej się sieci hydrożelu oraz poprawia jednorodność ich dystrybucji. W bardziej zaawansowanych układach nanomateriały mogą dodatkowo pełnić rolę węzłów

sieciujących, uczestnicząc bezpośrednio w tworzeniu trójwymiarowej struktury hydrożelu, co prowadzi do zwiększenia jego wytrzymałości mechanicznej oraz stabilności.

Drugim podejściem stosowanym w inkorporacji nanostruktur do matryc hydrożelowych jest ich integracja kowalencyjna, prowadząca do uzyskania trwałych i stabilnych układów kompozytowych. W odróżnieniu od metod opartych na oddziaływaniach fizycznych, strategia ta polega na chemicznym związaniu nanostruktur z siecią polimerową hydrożelu, co znacząco ogranicza ich migrację oraz możliwość wypłukiwania z matrycy. Inkorporację kowalencyjną można realizować dwiema głównymi drogami: poprzez wprowadzenie reaktywnych grup funkcyjnych, takich jak $-NH_2$, $-COOH$ lub $-SH$, na powierzchnię nanostruktur, umożliwiającą im udział w procesie sieciowania podczas formowania hydrożelu, bądź poprzez zastosowanie funkcjonalizowanych polimerów zawierających grupy zdolne do reakcji z nanomateriałami już po utworzeniu sieci. Kluczową zaletą tej strategii jest wysoka stabilność uzyskanego materiału, wynikająca z trwałego zakotwiczenia nanostruktur w sieci hydrożelowej, co pozwala na zachowanie ich jednorodnej dystrybucji oraz kontrolę nad strukturą kompozytu. Dodatkowo, obecność wiązań kowalencyjnych umożliwia projektowanie bardziej złożonych, hierarchicznych układów materiałowych, w których właściwości poszczególnych komponentów mogą być niezależnie dopasowywane. Należy jednak podkreślić, że podejście to wymaga precyzyjnej kontroli warunków reakcji oraz odpowiedniego doboru układu, szczególnie w przypadku materiałów wrażliwych [72,73].

6.3. Potencjał aplikacyjny układu Au@SiO₂-hydrożel

Kompozytowe układy oparte na nanostrukturach Au@SiO₂ oraz matrycach hydrożelowych stanowią przykład zaawansowanych materiałów hybrydowych, w których łączy się stabilność nanostruktur typu rdzeń-powłoka z elastycznością i wysoką zawartością wody charakterystycznej dla hydrożeli. Takie połączenie umożliwia uzyskanie materiałów o kontrolowanej strukturze oraz właściwościach wynikających z synergii poszczególnych komponentów układu.

Nanostruktury Au@SiO₂ pełnią w tego typu układach rolę funkcjonalnych elementów nanometrycznych, które mogą wpływać na właściwości mechaniczne i strukturalne hydrożelu. Rdzeń złoty zapewnia stabilność oraz unikalne właściwości fizykochemiczne, natomiast powłoka krzemionkowa umożliwia chemiczną stabilizację oraz modyfikację powierzchni, co

ułatwia integrację z matrycą polimerową. Hydrożel natomiast stanowi środowisko przestrzenne, które zapewnia równomierne rozmieszczenie nanostruktur oraz ogranicza możliwość potencjalnej agregacji.

W efekcie uzyskuje się materiały kompozytowe o potencjale zastosowań w obszarze biomateriałów, w tym w systemach powierzchniowo aktywnych, materiałach opatrunkowych oraz platformach inżynierii tkankowej. Szczególnie istotna jest możliwość precyzyjnego kształtowania mikrostruktury kompozytu poprzez dobór parametrów syntezy oraz warunków inkorporacji nanostruktur. W ostatnich latach coraz większą uwagę zwraca się na tego typu układy jako elementy podwójnych systemów funkcjonalnych, w których nanostruktury oraz matryca hydrożelowa pełnią komplementarne role [74]. W takim podejściu komponent nanomateriałowy odpowiada za funkcjonalność, podczas gdy hydrożel pełni rolę makroskopowej platformy zapewniającej stabilizację, retencję oraz kontrolowane środowisko działania. Układy Au@SiO₂-hydrożel wpisują się tym samym w koncepcję nanokompozytowych hydrożeli, określanych często jako hydrożele nowej generacji w których klasyczne właściwości materiałów miękkich są rozszerzane poprzez wprowadzenie komponentów nanometrycznych. Takie podejście umożliwia uzyskanie materiałów o zwiększonej wytrzymałości mechanicznej, lepszej stabilności oraz dodatkowych funkcjonalnościach wynikających z obecności nanostruktur [75].

Szczególnie obiecującym kierunkiem zastosowań tych materiałów są zaawansowane systemy dostarczania substancji aktywnych, w tym materiały opatrunkowe, gdzie połączenie właściwości hydrożelu i nanonośnika umożliwia jednoczesną kontrolę środowiska wilgotnego oraz modulację uwalniania. W tym kontekście kompozyty Au@SiO₂-hydrożel mogą być traktowane jako platformy pośrednie pomiędzy klasycznymi hydrożelami, a zaawansowanymi systemami nanonośnikowymi, otwierając drogę do projektowania wielofunkcyjnych materiałów biomedycznych [76].

II. CEL PRACY

Głównym celem niniejszej pracy doktorskiej było zaprojektowanie, optymalizacja syntezy oraz funkcjonalizacja powierzchni nanostruktur typu $Au@SiO_2$, a następnie ich kompleksowa charakterystyka fizykochemiczna, prowadząca do otrzymania nowoczesnej platformy nośnikowej. Wybór nanostruktur $Au@SiO_2$ wynikał z możliwości połączenia korzystnych właściwości nanocząstek złota, takich jak aktywność przeciwzapalna, antyoksydacyjna i właściwości optyczne, ze zwiększoną stabilnością koloidalną, biokompatybilnością oraz możliwością funkcjonalizacji powierzchni zapewnianą przez powłokę krzemionkową. Celem szczegółowym pracy była ocena możliwości wykorzystania otrzymanych nanostruktur jako uniwersalnej platformy do immobilizacji, załadunku i kontrolowanego uwalniania substancji biologicznie aktywnych o zróżnicowanych właściwościach fizykochemicznych. Badano również potencjał zwiększenia skuteczności terapii wynikającej z synergii układu nośnik-lek, ograniczeniu toksyczności wobec zdrowych komórek oraz możliwości kontrolowanego uwalniania substancji aktywnych. Istotnym etapem realizacji tego celu była inkorporacja otrzymanych nanostruktur do matrycy hydrożelowych prowadząca do uzyskania funkcjonalnych kompozytów oraz określenie ich potencjału aplikacyjnego w kontrolowanym dostarczaniu leków na podstawie analizy załadunku i profili uwalniania wybranych substancji aktywnych, takich jak mupirocyna, amoksycylina oraz lewodopa.

W ramach realizacji niniejszej pracy doktorskiej, w celu osiągnięcia zamierzonego celu, sformułowano następujące zadania badawcze:

- opracowanie metod syntezy nanocząstek Au i SiO_2 oraz nanostruktur typu $Au@SiO_2$,
- optymalizacja procesu otrzymywania nanostruktur typu $Au@SiO_2$ z wykorzystaniem procesu zol-żel jako potencjalnych nanonośników,
- przeprowadzenie szczegółowej charakterystyki fizykochemicznej otrzymanych nanostruktur,
- modyfikacja powierzchni nanostruktur typu rdzeń-powłoka poprzez wprowadzenie odpowiednich grup funkcyjnych,
- funkcjonalizacja powierzchni nanostruktur w celu immobilizacji wybranych substancji biologicznie aktywnych, takich jak mupirocyna (MUP), amoksycylina (AMOX) i lewodopa (L-DOPA),

- ocena właściwości otrzymanych oraz zmodyfikowanych nanostruktur pod kątem ich potencjalnych zastosowań jako nośników dla substancji aktywnych,
- inkorporacja nanostruktur Au@SiO₂ do matryc hydrożelowych oraz ocena ich dystrybucji, stabilności i właściwości w układach kompozytowych.

III. METODYKA

W trakcie realizacji prezentowanej rozprawy doktorskiej przeprowadzono badania eksperymentalne wykorzystując szereg technik badawczych, które zostały przedstawione w Tabeli 1.

Tabela 1. Techniki badawcze użyte w dysertacji.

Metody charakteryzujące otrzymane nanomateriały pod względem fizykochemicznym	Metody spektroskopowe Spektroskopia w zakresie nadfioletu i światła widzialnego (UV-Vis) (ang. <i>Ultraviolet-Visible spectroscopy</i>) Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR) (ang. <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>) Metody mikroskopowe Skaningowa Mikroskopia Elektronowa (SEM) (ang. <i>Scanning Electron Microscopy</i>) Transmisyjna Mikroskopia Elektronowa (TEM) (ang. <i>Transmission Electron Microscopy</i>) Metody termiczne Analiza termogravimetryczna (TGA) (ang. <i>Thermogravimetric Analysis</i>) Metody optyczne Dynamiczne Rozpraszanie Światła (DLS) (ang. <i>Dynamic Light Scattering</i>) Elektroforetyczne Rozpraszanie Światła (ELS) (ang. <i>Electrophoretic Light Scattering</i>) Ocena powierzchni Pomiar kąta zwilżania (WCA) (ang. <i>Water Contact Angle</i>)
Metody oceny właściwości funkcjonalnych otrzymanych nanomateriałów	Metody spektroskopowe Test aktywności przeciwutleniającej metoda DPPH Ocena przenikalności przezskórnej oraz analiza

	aktywności katalitycznych (Spektroskopia w zakresie nadfioletu i światła widzialnego (UV-Vis)) Metody biologiczne Ocena cytotoksyczności metodą MTT Badania immunologiczne Ocena oddziaływania z DNA Analiza oddziaływań biomolekularnych metodą switchSENS Badania aparaturowe kosmetyków Badanie poziomu nawilżenia skóry oraz transepidermalnej utraty wody (TEWL) (ang. <i>Transepidermal Water Loss</i>)
Metody oceny aktywności biologicznych otrzymanych nanomateriałów	Metody biologiczne Ocena cytotoksyczności metodą błękitu trypanu (Trypan Blue) Analiza homeostazy oksydoredukcyjnej (GSH, GSSG, SOD) Ocena Minimalnego stężenia hamującego (MIC) (ang. <i>Minimal Inhibitory Concentration</i>) Ocena minimalnego stężenia bakteriobójczego (MBC) (ang. <i>Minimum Bactericidal Concentration</i>) Test strefy zahamowania wzrostu (ZI) (ang. <i>Zone of Inhibition</i>) Test migracji komórek (ang. <i>Scrach test</i>) Metody spektroskopowe Badania uwalnianie leku z koniugatu, bądź nanostruktur z matrycy hydrożelowej (Spektroskopia w zakresie nadfioletu i światła widzialnego (UV-Vis)) Metody elektrochemiczne Badania stopnia załadowania leku w koniugacie (Metody elektrochemiczne: woltamperometria cykliczna (CV) (ang. <i>Cyclic Voltammetry</i>))

	i różnicowa woltamperometria impulsowa (DPV) (ang. <i>Differential Pulse Voltammetry</i>)
--	---

Spektroskopia w zakresie nadfioletu i światła widzialnego UV-Vis - widma absorpcyjne zarejestrowano z wykorzystaniem spektrofotometru UV-Vis firmy Shimadzu, model UV-1900i (Kyoto, Japonia). Pomiary wykonano w temperaturze 298 K, używając kuwet kwarcowych. Widma rejestrowano w zakresie długości fal 200-800 nm.

Technikę spektroskopii w zakresie UV-Vis zastosowano do:

- charakterystyki optycznej otrzymanych nanostruktur oraz układów typu nanonośnik-lek. Analiza widm absorpcyjnych umożliwiła potwierdzenie obecności nanocząstek złota w otrzymanych nanostrukturach.
- oceny aktywności antyoksydacyjnej badanych nanoukładów z wykorzystaniem testu DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylhydrazylu), na podstawie pomiaru spadku absorbancji przy długości fali około 517 nm. Uzyskane wyniki pozwoliły na określenie zdolności zmiatania wolnych rodników poprzez otrzymane nośniki.
- oceny aktywności katalitycznej otrzymanych nanostruktur na podstawie monitorowania zmian absorbancji oranżu metylowego przy długości fali około 465 nm. Uzyskane wyniki pozwoliły na określenie właściwości katalitycznych badanych układów.
- analizy ilościowej w badaniach przenikalności przezskórnej. Na podstawie pomiarów absorbancji próbek pobieranych z komory akceptorowej w funkcji czasu wyznaczano profile przenikania nanostruktur przez membranę.
- oceny skuteczności przyłączenia leku do nanostruktur, obecność leku w próbkach koniugatów nośnik-lek potwierdzono na podstawie obecności charakterystycznych pasm absorpcyjnych.
- monitorowania procesu uwalniania leku z nanonośnika bądź samego nośnika z matrycy hydrożelowej w funkcji czasu, na podstawie zmian absorbancji umożliwiających wyznaczenie profili uwalniania.

Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR) - widma wykonano z użyciem spektrometru FT-IR Bruker IFS66 (Ettlingen, Niemcy) metodą pastylek KBr lub substratów CaF₂. Widmo FT-IR zarejestrowano w zakresie od 4000 do 400 cm⁻¹.

Technikę spektroskopii FT-IR zastosowano do:

- charakterystyki chemicznej otrzymanych nanostruktur, w tym nanocząstek Au, SiO₂ oraz układów typu Au@SiO₂, a także do analizy porównawczej zmian zachodzących na kolejnych etapach syntezy i modyfikacji powierzchni. Analiza widm umożliwiła identyfikację charakterystycznych pasm drgań grup funkcyjnych oraz ocenę zmian w strukturze chemicznej badanych układów.
- potwierdzenia obecności leku w strukturze nanonośnika. Wnioskowanie oparto na analizie charakterystycznych pasm leku, ich przesunięć, zmian intensywności lub pojawienia się nowych sygnałów w widmach układów nanonośnik-lek.

Skaningowa Mikroskopia Elektronowa (SEM) - mikrokartografie wykonano z użyciem mikroskopu Prisma E Thermofisher Scientific (Waltham, MA, USA).

Technikę SEM zastosowano do:

- analizy morfologii i topografii powierzchni otrzymanych nanostruktur, w szczególności nanokompozytów Au@SiO₂.
- oceny struktury matrycy hydrożelowych przed i po modyfikacji nanostrukturami Au@SiO₂. Analiza obrazów SEM umożliwiła porównanie zmian w strukturze powierzchni oraz ocenę jednorodności dystrybucji nanonośników w matrycy polimerowej.

Transmisyjna Mikroskopia Elektronowa (TEM) - mikrokartografie wykonano przy użyciu mikroskopu Tecnai G2 Spirit BioTWIN FEI (Eindhoven, Holandia) przy napięciu 120 kV. Próbkę rozproszono w wodzie i poddano działaniu ultradźwięków, po czym nałożono na siatkę.

Technikę TEM wykorzystano do:

- analizy morfologii i struktury wewnętrznej nanocząstek złota (Au NPs) oraz krzemionki (SiO₂), a także do szczegółowej charakterystyki nanostruktur typu Au@SiO₂. Mikroskopia TEM umożliwiła ocenę wielkości, kształtu oraz jednorodności otrzymanych nanocząstek i ich powłoki krzemionkowej.

Analiza Termograwimetryczna (TGA) - pomiar przeprowadzono z użyciem derywatografu Jupiter STA 449 F3 sprzężonego z kwadropolowym spektrometrem mas QMS 403 C (NETZSCH, Niemcy). Pomiar wykonywano w atmosferze gazu obojętnego (azotu), w zakresie temperatur od 50 do 1000°C, z szybkością nagrzewania 10°C/min.

Technikę TGA zastosowano do:

- oceny stabilności termicznej nanostruktur SiO_2 , Au@SiO_2 , a także do porównawczej analizy zmian masy w funkcji temperatury.
- oceny stabilności termicznej matryc hydrożelowych przed i po ich modyfikacji nanostrukturami, co pozwoliło określić wpływ nanostruktur na właściwości termiczne materiału.

Dynamiczne Rozpraszanie Światła (DLS) - pomiar wielkości cząstek wykonano metodą DLS, zakres pomiaru wynosił od 0,3 nm do 10 μm (średnica cząstek). Pomiar wykonano z użyciem urządzenia Litesizer 500 firmy ANTON-PAAR.

Technikę DLS zastosowano do:

- określenia rozkładu wielkości cząstek nanostruktur Au NPs oraz Au@SiO_2 , a także do oceny wpływu powłoki krzemionkowej na ich rozmiar hydrodynamiczny.
- analizy zmian wielkości cząstek po funkcjonalizacji nanonośników lekiem, co pozwoliło na ocenę skuteczności koniugacji oraz stabilności układów koloidalnych.

Elektroforetyczne Rozpraszanie Światła (ELS) - potencjał zeta mierzono metodą ELS w zakresie pomiarowym $> \pm 1000$ mV. Pomiar wykonano z użyciem urządzenia Litesizer 500 firmy ANTON-PAAR.

Analizy przeprowadzono w celu:

- oceny stabilności koloidalnej nanostruktur Au NPs oraz Au@SiO_2 , a także porównania wpływu powłoki krzemionkowej na ładunek powierzchniowy układów.
- oceny zmian właściwości elektrokinetycznych oraz stabilności zawiesin po koniugacji nanonośnika z lekiem.

Pomiar kąta zwilżania (WCA) - pomiary wykonano z użyciem goniometru DSA100 firmy Krüss (Hamburg, Niemcy). Zawiesinę nanocząstek i nanostruktur zdyspergowanych w etanolu naniesiono na szkiełko mikroskopowe i pozostawiono do odparowania w temperaturze pokojowej. Tak utworzoną powierzchnię nanocząstek poddano dalszym badaniom. Na powierzchnię zbudowaną z badanych nanocząstek naniesiono za pomocą strzykawki kroplę wody o objętości 2 μl . Kąt zwilżania po obu stronach kropli zmierzono kamerą CCD, a po cyfrowej analizie obrazu wyznaczono średni kąt zwilżania metodą Younga-Laplace'a. Każdy pomiar powtórzono 20 razy.

Metodę zastosowano do

- porównawczej analizy hydrofobowości powierzchni Au NPs, SiO₂ NPs oraz Au@SiO₂, a także do oceny zmian właściwości powierzchniowych otrzymanych koniugatów Au@SiO₂.

Analiza oddziaływań biomolekularnych metodą switchSENS - badania oddziaływań nanostruktur z DNA przeprowadzono z wykorzystaniem technologii SwitchSense (Dynamic Biosensors GmbH, Niemcy). System pomiarowy opierał się na chipie heliX z fluorescencyjnie znakowanym dwuniciowym DNA immobilizowanym na powierzchni sensora. Eksperymenty wykonano w trybie statycznym zgodnie z protokołem producenta. Funkcjonalizację powierzchni przeprowadzono przy użyciu adaptera DNA o stężeniu 1×10^{-7} M przez 200 s. Analizy kinetyczne wykonano dla nanocząstek Au NPs oraz Au@SiO₂ w różnych zakresach stężeń, w buforze PE40 (pH 7,4). Pomiary prowadzono w temperaturze 25 °C, przy czasie asocjacji i dysocjacji 120 s oraz przepływie $200 \mu\text{L} \cdot \text{s}^{-1}$.

Metodę zastosowano do

- oceny interakcji nanostruktur z DNA oraz porównania zdolności wiązania Au NPs i Au@SiO₂.

Test MTT - Komórki keratynocytów (HaCaT) i fibroblastów (HDF) wysiano w gęstości 4×10^3 komórek na dołek na płytkach 96-dołkowych i inkubowano w temperaturze 37°C w atmosferze 5% CO₂. Komórki traktowano badanymi związkami w zakresie stężeń 0,1-100 mg/ml lub wodą jako kontrolą i inkubowano przez 48 godzin. Następnie dodano roztwór soli MTT (bromek 3-(4,5-dimetylotiazol-2-yl)-2,5-difenylo-tetrazoliowy) w stężeniu 4 mg/ml (25 μl na dołek). Po 3 godzinach inkubacji powstały formazan rozpuszczono w dimetylosulfotlenku (DMSO). Absorbancję przy długości fali 570 nm mierzono z użyciem czytnika mikropłytek EnSpire (Perkin Elmer) z referencyjną długością fali 660 nm. Żywotność komórek kontrolnych uznano za 100%. Eksperyment powtórzono niezależnie trzykrotnie w trzech powtórzeniach. Analizę statystyczną wyników przeprowadzono za pomocą oprogramowania GraphPad Prism 7.

Test MTT wykorzystano do:

- oceny cytotoksyczności otrzymanych nanomateriałów wobec komórek skóry pochodzących z linii HaCaT i HDF.

Badania immunologiczne - Potencjał immunomodulacyjny otrzymanych nanosystemów oceniano z wykorzystaniem jednojądrzastych komórek krwi obwodowej (PBMCs, ang. *peripheral blood mononuclear cells*). Komórki poddano na działanie Au@SiO₂. Odpowiedź cytokinową oceniano z zastosowaniem różnych schematów preinkubacji, dostosowanych do badanych markerów stanu zapalnego. W celu oznaczenia cytokin prozapalnych takich jak interleukina 1 beta (IL-1 β), interleukina 6 (IL-6) oraz czynnik martwicy nowotworów alfa (TNF- α), komórki preinkubowano z badanymi związkami przez 2 h, a następnie stymulowano lipopolisacharydem (LPS) przez 6 h. Odpowiedź przeciwzapalną oceniano poprzez preinkubację PBMCs przez 4 h, po której przeprowadzano 20-godzinną stymulację LPS w celu oznaczenia poziomu interleukiny 10 (IL-10). Po zakończeniu inkubacji zbierano supernatanty hodowli komórkowych i oznaczano stężenia cytokin przy użyciu zestawów Human DuoSet® ELISA Development Systems (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA), zgodnie z instrukcją producenta. Eksperymenty przeprowadzono z wykorzystaniem materiału biologicznego pochodzącego od czterech niezależnych zdrowych dawców.

Badania immunologiczne zastosowano do:

- oceny potencjału immunomodulacyjnego otrzymanych nanostruktur na podstawie analizy wydzielania cytokin prozapalnych (IL-1 β , IL-6, TNF- α) oraz przeciwzapalnej (IL-10).

Testy aparaturowe kosmetyków (poziom nawilżenia skóry, TEWL) - Do badań wykorzystano skórę wieprzową pochodzącą z tylnych kończyn zwierzęcia. Najpierw pocięto ją na kawałki o wymiarach 25×25 mm, odtłuszczono i usunięto sierść. Następnie wszystkie kawałki skóry świńskiej przechowywano w zamrażarce w temperaturze -25 °C. Na powierzchnię skóry aplikowano hydrożel przed oraz po modyfikacji nanostrukturami, a następnie przeprowadzano pomiary właściwości czynnościowych bariery skórnej. Nawilżenie warstwy rogowej oceniano za pomocą korneometru Corneometer® CM 825, natomiast poziom TEWL mierzono przy użyciu Tewameter® TM Hex z zastosowaniem adaptera wielokanałowego MPA 6.

Metodę zastosowano do:

- oceny wpływu modyfikacji nanostrukturami na właściwości czynnościowe barierowe skóry i nawilżające hydrożeli.

Test Trypan Blue - Komórki SH-SY5Y wysiano w gęstości 2×10^4 komórek/cm² na płytkach 24-dółkowych i inkubowano przez 24 h w 37 °C, 5% CO₂ w podłożu DMEM/F12 zawierającym 10% FBS oraz 1% penicyliny–streptomycyny. Następnie komórki traktowano przez 24 h badanymi związkami w zakresie stężeń 1-40 µM oraz 1-40 mM. Roztwory robocze przygotowywano bezpośrednio przed użyciem w pożywce standardowej lub z dodatkiem 0,05% (w/v) kwasu askorbinowego i chroniono przed światłem w celu ograniczenia autooksydacji leku. Po inkubacji komórki zbierano, barwiono 0,4% błękitem trypanu, a następnie liczono żywe komórki przy użyciu automatycznego licznika LUNA™ II. Żywotność komórek wyrażano względem grupy kontrolnej. Eksperyment wykonano w trzech niezależnych powtórzeniach, każde w trzech replikatach technicznych. Analizę statystyczną przeprowadzono w programie GraphPad Prism (v9.5.0) z zastosowaniem dwuczynnikowej analizy wariancji ($\alpha = 0,05$).

Test wykorzystano do:

- oceny cytotoksyczności otrzymanych nanomateriałów i koniugatów nanostruktura-lek wobec ludzkich komórek neuroblastoma (SH-SY5Y).

Oznaczenie homeostazy redoks (GSH, GSSG, SOD) - Komórki SH-SY5Y wysiewano na płytkach 6-dółkowych i inkubowano w standardowych warunkach hodowli (37°C, 5% CO₂). Następnie komórki inkubowano badanymi związkami w odpowiednich stężeniach. Po inkubacji komórki poddawano działaniu 6-hydroksydopaminie (6-OHDA) lub inkubowano w warunkach kontrolnych. Po zakończeniu ekspozycji komórki lizowano, a poziomy zredukowanego glutationu (GSH), utlenionego glutationu (GSSG), stosunek GSH/GSSG oraz aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) oznaczano z wykorzystaniem odpowiednich zestawów komercyjnych zgodnie z protokołem producenta. Zawartość białka w lizatach oznaczano za pomocą komercyjnie dostępnego zestawu i wykorzystano do normalizacji wyników.

Metodę zastosowano do:

- oceny wpływu otrzymanych nanomateriałów i koniugatów nanostruktura-lek na homeostazę redoks komórek SH-SY5Y, w tym poziom stresu oksydacyjnego oraz aktywność enzymów antyoksydacyjnych.

Minimalne stężenie hamujące (MIC) - oznaczano metodą seryjnych rozcieńczeń w celu określenia najniższego stężenia badanego materiału hamującego wzrost bakterii.

Przygotowywano serię rozcieńczeń nanomateriałów ze stężenia wyjściowego 500 µg/mL, do których dodawano inokulum bakteryjne *Escherichia coli* do końcowej gęstości 5×10^5 JTK/mL. Próby inkubowano w 37 °C przez 16,5 h przy wytrząsaniu. Kontrole obejmowały próbę dodatnią (pożywka z bakteriami) oraz ujemną (pożywka bez bakterii). Wzrost bakterii oceniano na podstawie pomiaru absorbancji przy 600 nm (OD₆₀₀).

Metodę zastosowano do:

- określenia oraz porównania aktywności przeciwdrobnoustrojowej koniugatów nanostruktura-lek w stosunku do wolnego leku.

Test strefy zahamowania wzrostu (ZI) - wykonano metodą dyfuzyjną na podłożu agarowym. Na płytce Petriego z agarem nanoszono zawiesinę bakterii, a po zestaleniu podłoża aplikowano badane próbki w różnych stężeniach (10, 20 i 30 µg) oraz bufor fosforanowy (PBS) jako kontrolę. Po inkubacji w 37 °C oceniano średnicę stref zahamowania wzrostu mikroorganizmów wokół aplikowanych próbek.

Metodę zastosowano do:

- jakościowej oceny aktywności przeciwdrobnoustrojowej oraz porównania aktywności przeciwdrobnoustrojowej koniugatów nanostruktura-lek w stosunku do wolnego leku.

Test migracji komórek (Scratch test) – Zdolność migracji komórek oceniano metodą scratch test z wykorzystaniem ludzkich fibroblastów skóry właściwej (HDF). Komórki wysiewano na płytki 6-dółkowe w gęstości 2×10^4 komórek/dółek i hodowano przez około 48 h. Po usunięciu pożywki hodowlanej wykonywano standaryzowane pionowe zarysowanie w centralnej części każdego dołka przy użyciu sterylnej końcówki do pipety o objętości 200 µL. Oderwane komórki i pozostałości komórkowe usuwano poprzez dwukrotne płukanie buforem PBS. Następnie komórki inkubowano w kompletnej pożywce wzrostowej zawierającej Au@SiO₂, Au@SiO₂/MUP albo wolną MUP w stężeniach odpowiadających ilości załadowanego leku. Migrację fibroblastów do obszaru pozbawionego komórek monitorowano po 0, 24, 48 i 72 h od wykonania zarysowania przy użyciu odwróconego mikroskopu Olympus IX51 przy powiększeniu 40-krotnym. Ilościową analizę zamykania obszaru zarysowania przeprowadzono z wykorzystaniem oprogramowania ImageJ na podstawie pomiaru pozostałej powierzchni rany.

Test migracji komórek zastosowano do:

- oceny wpływu otrzymanych nanostruktur oraz układów typu nanonośnik-lek na migrację fibroblastów oraz ich potencjału wspomagającego proces gojenia ran.

Ocena aktywności przeciwbakteryjnej (MIC i MBC) – Aktywność przeciwbakteryjną Au@SiO₂, Au@SiO₂/MUP oraz wolnej MUP oceniano poprzez wyznaczenie minimalnego stężenia hamującego wzrost bakterii oraz minimalnego stężenia bakteriobójczego, zgodnie z wytycznymi Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), protokół M07-A9. Wartości MIC oznaczano metodą dwukrotnych seryjnych rozcieńczeń w bulionie Muellera–Hintona (MH) dostosowanym do zawartości kationów, wykorzystując 96-dołkowe płytki. Inokulum bakteryjne przygotowywano z kolonii hodowanych przez 18-20 h i standaryzowano do gęstości odpowiadającej 0,5 skali McFarlanda w 3 mL pożywki MH. Po 24 h inkubacji w temperaturze 37°C zawiesiny bakteryjne z poszczególnych wariantów eksperymentalnych wysiewano na podłoże agarowe Muellera–Hintona w celu oznaczenia wartości MBC. Wszystkie oznaczenia wykonywano w duplikatach w co najmniej trzech niezależnych eksperymentach. Końcowe wartości MIC i MBC przedstawiano jako medianę wszystkich uzyskanych wyników.

Ocenę aktywności przeciwbakteryjnej zastosowano do:

- oceny skuteczności przeciwbakteryjnej otrzymanych nanostruktur oraz układów typu nanonośnik-lek.

Metody elektrochemiczne: woltamperometria cykliczna (CV) i różnicowa woltamperometria impulsowa (DPV) - pomiary przeprowadzono przy użyciu potencjostatu Autolab PGSTAT302N (Metrohm, Holandia) sterowanego oprogramowaniem Nova 2.1. Zastosowano standardowy układ trzelektrodowy, składający się z elektrody dyskowej z węgla szklatego (ang. *glassy carbon*, GC) o średnicy 3 mm jako elektrody roboczej, drutu platynowego jako elektrody pomocniczej (przeciwelektrodowej) oraz elektrody Ag/AgCl (w 3 M KCl) jako elektrody odniesienia. Wszystkie wartości potencjału podano względem elektrody Ag/AgCl. Przed każdym eksperymentem powierzchnia elektrody z węgla szklatego była dokładnie polerowana zawiesinami tlenku glinu (0,3 i 0,05 μm), następnie płukana wodą dejonizowaną i poddawana działaniu ultradźwięków. Pomiary wykonywano w temperaturze pokojowej 22±2. Przed każdym pomiarem komora elektrochemiczna była odtleniana argonem o wysokiej czystości. Eksperymenty przeprowadzono w świeżo przygotowanych roztworach L-DOPA w 0,1 M KCl, Pomiary CV wykonywano w zakresie od -0,2 do 1,2 V (w stosunku do Ag/AgCl) z szybkością skanowania 100 mV s⁻¹. W przypadku DPV zakres potencjału był

identyczny jak dla CV (w stosunku do Ag/AgCl), z następującymi parametrami: potencjał skokowy 4 mV, amplituda impulsu 25 mV, czas modulacji 0,05 s i czas interwału 0,5 s. Wszystkie pomiary przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

Metody zastosowano do:

- oszacowania stopnia załadowania leku do nanonośnika poprzez porównanie sygnałów elektrochemicznych uzyskanych z roztworu wolnego leku, konigatów nanostrukturalak i pozostałego supernatantu po oczyszczaniu konigatów.

IV. BADANIA WŁASNE

Badania własne zrealizowane w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej koncentrowały się na opracowaniu wielofunkcyjnej platformy nanotechnologicznej opartej na nanostrukturach typu rdzeń-powłoka Au@SiO_2 , przeznaczonej do zastosowań biomedycznych, w szczególności w obszarze systemów dostarczania substancji biologicznie czynnych oraz projektowania nowoczesnych układów terapeutycznych o przedłużonym działaniu. Koncepcja badawcza obejmowała cztery komplementarne etapy przedstawione poniżej, których wyniki wykazano w trzech publikacjach naukowych stanowiących podstawę niniejszej rozprawy doktorskiej. Każda z publikacji obejmowała odmienny, lecz wzajemnie uzupełniający się aspekt prowadzonych badań, tworząc spójną ścieżkę rozwoju opracowanego systemu nanonośnikowego.

Etap I - synteza i charakterystyka fizykochemiczna nanostruktur Au@SiO_2 - przedstawiony w publikacjach **P1, P2 i P3**.

Etap II - ocena właściwości funkcjonalnych nanonośników - przedstawiony w publikacjach **P1, P2 i P3**.

Etap III - koniugacja nanonośników z substancjami biologicznie czynnymi - przedstawiony w **P1 i P2**.

Etap IV - inkorporacja nanostruktur do matrycy hydrożelowej - przedstawiony w **P3**.

Synteza i charakterystyka fizykochemiczna nanostruktur Au@SiO_2

Pierwszy etap badań własnych obejmował opracowanie metody syntezy nanostruktur typu rdzeń-powłoka Au@SiO_2 oraz ich kompleksową charakterystykę fizykochemiczną. Etap ten stanowił podstawę wszystkich dalszych badań eksperymentalnych, ponieważ właściwości strukturalne i powierzchniowe otrzymanych materiałów determinowały ich późniejszą funkcjonalność biologiczną oraz możliwości aplikacyjne.

Strategia syntezy została zaplanowana etapowo i obejmowała kolejno, otrzymanie metalicznego rdzenia nanocząstek złota (Au NPs), syntezę nanocząstek krzemionki (SiO_2 NPs) jako materiału referencyjnego oraz końcowe wytworzenie nanostruktur typu rdzeń-powłoka Au@SiO_2 . Synteza nanocząstek złota została przedstawiona we wszystkich pracach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej (**P1, P2 oraz P3**), co wynikało z ich roli jako

podstawowego komponentu budulcowego projektowanego układu. Syntezę nanocząstek krzemionki jako układu referencyjnego opisano w publikacji **P1**. Natomiast synteza finalnych nanostruktur Au@SiO₂, stanowiących główny przedmiot badań niniejszej rozprawy, została szczegółowo przedstawiona we wszystkich trzech publikacjach (**P1, P2 i P3**).

Proces syntezy rozpoczęto od otrzymania stabilnych nanocząstek złota stanowiących nieorganiczny rdzeń projektowanych nanostruktur. W tym celu zastosowano klasyczną metodę redukcji chemicznej soli złota w środowisku wodnym. Parametry reakcji zoptymalizowano tak, aby uzyskać koloidy charakteryzujące się wysoką jednorodnością oraz wąskim rozkładem wielkości cząstek. Kontrola tego etapu miała kluczowe znaczenie, ponieważ rozmiar i morfologia rdzenia determinują właściwości fizykochemiczne otrzymanych nanostruktur wpływając między innymi na ich stabilność koloidalną, zdolność do immobilizacji lub załadunku substancji aktywnych oraz zachowanie w środowisku biologicznym.

Kolejnym etapem było osadzanie powłoki krzemionkowej na powierzchni nanocząstek złota metodą zol-żel z wykorzystaniem tetraetoksylanu (TEOS) jako prekursora krzemionki. Proces prowadzono w kontrolowanych warunkach środowiska alkoholowo-wodnego, w obecności katalizatora zasadowego, który wpływa na kinetykę reakcji hydrolizy i kondensacji prekursorów alkoksylanowych. Kluczowym elementem było uzyskanie jednorodnej warstwy SiO₂. Powstała krzemionkowa powłoka pełniła wielofunkcyjną rolę, stabilizowała układ koloidalny nanocząstek złota, ograniczała agregację oraz tworzyła reaktywną powierzchnię umożliwiającą dalszą funkcjonalizację.

W celu potwierdzenia skuteczności syntezy przeprowadzono kompleksową charakterystykę fizykochemiczną z wykorzystaniem komplementarnych technik analitycznych. Podstawową techniką obrazowania była transmisyjna mikroskopia elektronowa (TEM), która umożliwiła bezpośrednią obserwację morfologii otrzymanych struktur oraz potwierdzenie architektury typu rdzeń-powłoka. Analiza obrazów TEM wykazała obecność dobrze zdefiniowanego rdzenia złota otoczonego jednorodną warstwą krzemionki. Średnica rdzenia Au wynosiła około 20 nm, natomiast grubość powłoki SiO₂ mieściła się w zakresie 30-40 nm, co jednoznacznie potwierdziło skuteczność procesu powlekania. Wyniki te przedstawiono we wszystkich trzech publikacjach (**P1-P3**).

Dynamiczne rozpraszanie światła (DLS) zastosowano do określenia średnicy hydrodynamicznej nanostruktur oraz oceny ich dyspersyjności w środowisku ciekłym.

Zaobserwowano wzrost średnicy hydrodynamicznej po osadzeniu warstwy krzemionkowej z około 30 nm dla niemodyfikowanych Au NPs (**P1**, **P3**) do 100-140 nm dla układów typu Au@SiO₂ (**P1-P3**), co stanowiło dodatkowe potwierdzenie skutecznej modyfikacji powierzchniowej. Stabilność elektrokinetyczną układów oceniono poprzez pomiary potencjału zeta metodą elektroforetycznego rozpraszania światła (ELS). Dla nanostruktur Au@SiO₂ uzyskano wartości potencjału zeta wynoszące od -30 do -35 mV, wskazujące na wysoką stabilność koloidalną oraz ograniczoną tendencję do agregacji badanych układów. Wyniki te opisano we wszystkich publikacjach (**P1-P3**).

W celu identyfikacji grup funkcyjnych obecnych na powierzchni materiału wykorzystano spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR). W uzyskanych widmach (**P1**) zaobserwowano charakterystyczne pasma odpowiadające asymetrycznym drganiom rozciągającym wiązań Si-O-Si ($\sim 1100\text{ cm}^{-1}$), a także szerokie pasmo przypisywane grupom hydroksylowym ($3200\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$), potwierdzające obecność sieci krzemionkowej zdolnej do dalszej funkcjonalizacji chemicznej.

Utworzenie nanostruktur typu Au@SiO₂ zostało dodatkowo potwierdzone z wykorzystaniem analizy spektroskopii UV-Vis. Dla niepowlekanych nanocząstek złota maksimum pasma plazmonowego obserwowano przy długości fali około 520 nm (**P1**, **P3**). Po osadzeniu warstwy krzemionki sygnał plazmonowy pozostawał w zbliżonym zakresie długości fal (**P1- P3**), co potwierdziło obecność metalicznego rdzenia Au oraz wskazywało, że proces powlekania krzemionką nie wpłynął istotnie na jego właściwości optyczne. Obecność charakterystycznego pasma plazmonowego stanowiła tym samym dodatkowe potwierdzenie skutecznego otrzymania nanostruktur typu rdzeń-powłoka Au@SiO₂.

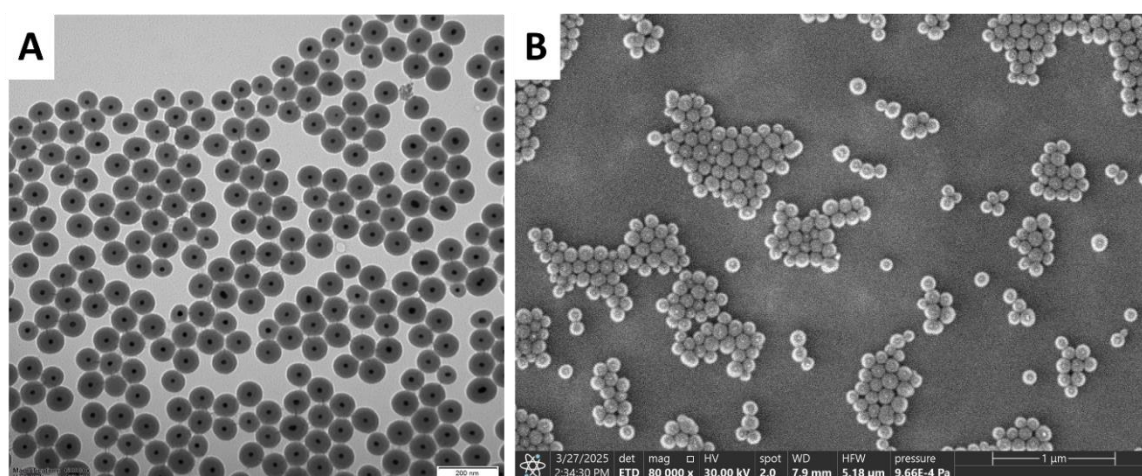
Uzupełniające badania przeprowadzono z wykorzystaniem analizy termogravimetrycznej (TGA) oraz pochodnej (DTG), które umożliwiły ocenę stabilności termicznej otrzymanych materiałów (**P1**). Dla nanocząstek SiO₂ zaobserwowano utratę masy związaną z desorpcją zaadsorbowanej wody (10,52% w zakresie 50-200 °C). Ponadto dla próbki SiO₂ oraz Au@SiO₂ widoczna była utrata masy wynosząca 15,24% w zakresie 100-500°C, która związana jest z redukcją powierzchniowych grup hydroksylowych na powierzchni krzemionki. Dodatkowo dla SiO₂ odnotowano niewielką utratę masy (2,08%) w zakresie 450-700°C, przypisaną rozkładowi resztkowych grup organicznych pochodzących z TEOS. Uzyskane wyniki potwierdziły wysoką stabilność termiczną oraz obecność charakterystycznych grup powierzchniowych badanych nanostruktur.

Istotnym elementem charakterystyki powierzchniowej był pomiar kąta zwilżania, umożliwiający ocenę hydrofilowości powierzchni otrzymanych materiałów. Dla Au NPs uzyskano wartość kąta zwilżania wynoszącą około 44° (**P1**, **P3**), wskazującą na umiarkowanie hydrofilowy charakter powierzchni. W przypadku nanocząstek krzemionki (SiO_2 NPs) zaobserwowano całkowite rozpyływanie się kropli wody na powierzchni materiału, co uniemożliwiło wyznaczenie kąta zwilżania i potwierdziło ich silnie hydrofilowy charakter (**P1**). Natomiast dla nanostruktur Au@SiO_2 wartość kąta zwilżania wynosząca około 11° (**P1-P3**) potwierdziła dominujący wpływ warstwy krzemionkowej oraz obecność powierzchniowych grup silanolowych odpowiedzialnych za wysoką hydrofilowość materiału.

Materiały nieopublikowane

W wyniku przeprowadzonych prac eksperymentalnych wykonano także analizę morfologii otrzymanych nanostruktur za użyciem mikroskopu SEM. Na otrzymanych mikrofotografiach widoczne są sferyczne cząstki o stosunkowo jednorodnym rozmiarze. Powierzchnia nanomateriału wskazuje na charakterystyczną, regularną morfologię zgodną z uzyskaniem układów o architekturze rdzeń-powłoka.

Kompleksowa analiza uzyskanych wyników potwierdziła, że opracowana procedura syntezy umożliwia powtarzalne otrzymywanie nanostruktur Au@SiO_2 o dobrze zdefiniowanej architekturze rdzeń-powłoka, wysokiej stabilności koloidalnej oraz korzystnych właściwościach powierzchniowych, co potwierdzają przedstawione zdjęcia mikroskopowe na Rysunku 9. Otrzymane materiały stanowiły odpowiednią platformę wyjściową do dalszych etapów badań oraz projektowania zaawansowanych układów nanonośnikowych.



Rysunek 9. Mikrofotografie A) TEM i B) SEM otrzymanych nanostruktur Au@SiO_2 .

Ocena właściwości funkcjonalnych otrzymanych nanomateriałów

Drugim etapem badań była ocena właściwości funkcjonalnych otrzymanych nanostruktur Au@SiO₂, mająca na celu określenie ich potencjału aplikacyjnego jako platformy nośnikowej do zastosowań biomedycznych. W szczególności analizowano zdolność oddziaływania z barierami biologicznymi, cytotoksyczność, właściwości antyoksydacyjne, interakcję z materiałem genetycznym, aktywność katalityczną oraz badania immunologiczne.

Jednym z kluczowych aspektów funkcjonalnych była ocena przenikalności przezskórnej nanostruktur Au@SiO₂, przeprowadzona z wykorzystaniem komory Franza (**P1**). Analiza spektrofotometryczna roztworu pobranego z komory akceptorowej po zakończeniu eksperymentu, przeprowadzona po 5 dniach inkubacji nie wykazała obecności charakterystycznego pasma plazmonowego nanostruktur, co potwierdziło brak przenikania Au@SiO₂ przez badaną błonę biologiczną w ilościach oznaczalnych. Jest to szczególnie korzystne z punktu widzenia projektowania układów do miejscowego dostarczania substancji aktywnych, np. w zastosowaniach dermatologicznych lub opatrunkowych. Dodatkowo wyznaczona granica wykrywalności (LOD) dla Au@SiO₂ wyniosła $4,74 \times 10^{-8}$ M, potwierdzając wysoką czułość zastosowanej metody analitycznej.

Istotnym elementem oceny bezpieczeństwa biologicznego była również analiza cytotoksyczności nanostruktur Au@SiO₂ wobec komórek skóry (**P1**). Badania przeprowadzono z wykorzystaniem ludzkich linii komórkowych keratynocytów (HaCaT) oraz fibroblastów skórnych (HDF). Uzyskane wyniki wykazały brak efektu cytotoksycznego zarówno dla Au NPs, SiO₂ NPs, jak i nanostruktur rdzeń-powłoka Au@SiO₂ w całym analizowanym zakresie stężeń. Co istotne, zastosowanie powłoki krzemionkowej dodatkowo poprawiło profil bezpieczeństwa badanego materiału, a nanostruktury Au@SiO₂ wykazywały najwyższą biogodność spośród analizowanych układów, przejawiającą się najwyższą żywotnością komórek również przy najwyższych testowanych stężeniach.

Kolejnym elementem oceny funkcjonalnej była również analiza właściwości antyoksydacyjnych nanostruktur Au@SiO₂, przeprowadzona metodą DPPH (**P2**, **P3**). Uzyskane wyniki wykazały wyraźny, zależny od czasu wzrost zdolności wychwytywania wolnych rodników. W publikacji **P2** aktywność antyoksydacyjna wzrosła z około 24% po 1 godzinie do 77,99% po 168 godzinach, wskazując na wysoką zdolność neutralizacji wolnych rodników przez badane nanostruktury. Wyniki uzyskane w pracy **P3** potwierdziły ten trend,

wartość zdolności neutralizacji wolnych rodników (RSA) dla Au@SiO₂ wzrosła z około 4% po 1 godzinie do około 40% po 168 godzinach. Pomimo różnic ilościowych pomiędzy uzyskanymi wartościami, które mogą wynikać z niewielkiej zmienności eksperymentalnej, która może być związana z przygotowaniem dyspersji nanostruktur oraz różnicami w efektywnym stężeniu materiału po procesach oczyszczania, w obu przypadkach zaobserwowano ten sam kierunek zmian, potwierdzający zależny od czasu wzrost aktywności antyoksydacyjnej. Uzyskane dane wskazują, że nanostruktury Au@SiO₂ wykazują znaczący potencjał antyoksydacyjny, który może wspierać ochronę komórek przed stresem oksydacyjnym, co ma szczególne znaczenie w zastosowaniach dermatologicznych i neuroprotekcyjnych.

Analizowanym aspektem było również oddziaływanie nanostruktur z DNA, ocenione z wykorzystaniem techniki switchSense (**P2**). Badania przeprowadzone dla Au NPs wykazały zdolność tworzenia stabilnych adduktów z dwuniciowym DNA, jednak po osadzeniu warstwy krzemionkowej efekt ten nie był obserwowany. W przypadku nanostruktur Au@SiO₂ nie odnotowano istotnych zmian intensywności fluorescencji podczas procesu asocjacji i dysocjacji, co wskazuje na brak bezpośredniego oddziaływania z DNA. Wynik ten ma istotne znaczenie z punktu widzenia bezpieczeństwa biologicznego, ponieważ sugeruje ograniczone ryzyko niepożądanych interakcji z materiałem genetycznym komórek.

Uzupełniając oceniono właściwości katalityczne otrzymanych nanostruktur na modelu degradacji oranżu metylowego (**P3**). W badanych warunkach eksperymentalnych nanostruktury Au@SiO₂ nie wykazały aktywności katalitycznej wobec wybranego barwnika, co potwierdzono brakiem zmian w widmach absorpcyjnych oraz brakiem obserwowalnej zmiany barwy roztworu. Wynik ten wskazuje, że zastosowanie krzemionkowej powłoki skutecznie izoluje metaliczny rdzeń, ograniczając jego bezpośredni udział w reakcjach powierzchniowych. Chociaż brak aktywności katalitycznej wyklucza wykorzystanie tych struktur jako klasycznych nanokatalizatorów, jednocześnie może stanowić zaletę w zastosowaniach biomedycznych, gdzie pożądana jest wysoka stabilność chemiczna i ograniczenie niekontrolowanych reakcji ubocznych.

Przeprowadzona ocena właściwości funkcjonalnych potwierdziła, że nanostruktury Au@SiO₂ stanowią stabilną i bezpieczną platformę nośnikową o korzystnych właściwościach biologicznych, predysponowaną do dalszego wykorzystania w układach kontrolowanego dostarczania substancji aktywnych.

Materiały nieopublikowane

Ocena właściwości funkcjonalnych otrzymanych nanostruktur Au@SiO₂ obejmowała również analizę ich wpływu na odpowiedź immunologiczną komórek jednojądrzastych krwi obwodowej (PBMCs), której rezultaty zostaną opublikowane w najbliższym czasie. Wykazano, że inkubacja komórek z nanonośnikiem nie indukuje silnej odpowiedzi prozapalnej, co potwierdzono na podstawie poziomów kluczowych cytokin, takich jak IL-1 β , IL-6 oraz TNF- α . Jednocześnie zaobserwowano brak wyraźnej aktywacji reakcji zapalnej w porównaniu do kontroli stymulowanej LPS, co wskazuje na immunokompatybilny charakter otrzymanych nanostruktur. Dodatkowo analizowano poziom IL-10 jako cytokiny przeciwzapalnej, którego zmiany nie wskazywały na niepożądaną deregulację odpowiedzi immunologicznej. Uzyskane wyniki potwierdzają, że opracowane nanostruktury Au@SiO₂ charakteryzują się korzystnym profilem immunologicznym, istotnym z punktu widzenia ich potencjalnych zastosowań biomedycznych.

Koniugacja otrzymanego nośnika Au@SiO₂ z substancjami o właściwościach biologicznie czynnych oraz ich charakterystyka

W celu potwierdzenia uniwersalności opracowanej platformy Au@SiO₂ jako potencjalnego nanosystemu dostarczania substancji aktywnych przeprowadzono badania koniugacji z modelowymi związkami o zróżnicowanych właściwościach fizykochemicznych: hydrofilową amoksycyliną, hydrofobową mupirociną oraz biologicznie aktywną L-DOPA. Dobór tych związków pozwolił na ocenę przydatności opracowanego nanosystemu zarówno do dostarczania substancji o działaniu przeciwbakteryjnym, jak i związków stosowanych w terapii chorób neurodegeneracyjnych, reprezentujących odmienne klasy terapeutyczne i właściwości fizykochemiczne.

W pierwszym etapie oceniono możliwość immobilizacji antybiotyków na powierzchni nanostruktur Au@SiO₂ (**P1**), traktując ten etap jako modelowe potwierdzenie zdolności platformy do wiązania związków terapeutycznych. Analiza spektroskopowa FT-IR dla układów Au@SiO₂/AMOX oraz Au@SiO₂/MUP potwierdziła zmiany charakterystycznych pasm drgań obu leków po koniugacji z nanonośnikiem, wskazując na skuteczne oddziaływanie niekowalencyjne pomiędzy cząsteczkami leku, a porowatą powłoką krzemionkową. Uzyskane wyniki potwierdziły możliwość skutecznego wiązania zarówno związków hydrofilowych, jak i hydrofobowych przez otrzymaną platformę. Badania profilu uwalniania wykazały wyraźnie

zróżnicowane zachowanie obu antybiotyków, zależne od ich właściwości molekularnych. W przypadku układu Au@SiO₂/AMOX obserwowano większy stopień uwalniania osiągający około 50% po 7 dniach, co wskazuje na słabsze oddziaływania z matrycą krzemionkową i łatwiejszą dyfuzję leku. Z kolei układ Au@SiO₂/MUP charakteryzował się wyraźnie wolniejszym i bardziej kontrolowanym profilem uwalniania (~11,5% po 7 dniach), co sugeruje silniejsze oddziaływania pomiędzy hydrofobową cząsteczką leku a powierzchnią nośnika. Z punktu widzenia planowanych zastosowań biomedycznych taki profil jest szczególnie korzystny, ponieważ wskazuje na potencjał do przedłużonego, lokalnego dostarczania substancji aktywnej. Badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej potwierdziły zachowanie funkcjonalności biologicznej obu antybiotyków po immobilizacji na Au@SiO₂. Szczególnie korzystne wyniki uzyskano dla układu Au@SiO₂/MUP, dla którego nie obserwowano utraty aktywności przeciwdrobnoustrojowej względem wolnego antybiotyku, przy jednoczesnym ograniczeniu powstawania kolonii satelitarnych, co sugeruje zwiększoną stabilność formulacji.

Uzyskane wyniki dotyczące enkapsulacji i kontrolowanego uwalniania antybiotyków potwierdziły funkcję nośnikową opracowanej platformy Au@SiO₂ oraz stanowiły podstawę do rozszerzenia badań o kolejną substancję aktywną L-DOPA (**P2**), wybraną jako modelowy związek stosowany w terapii schorzeń neurodegeneracyjnych. Takie podejście miało na celu ocenę możliwości wykorzystania opracowanego nanosystemu nie tylko w dostarczaniu związków o działaniu przeciwbakteryjnym, ale również w bardziej zaawansowanych aplikacjach terapeutycznych. Analiza widm absorpcji potwierdziła skuteczne przyłączenie leku do powierzchni Au@SiO₂, natomiast wyniki pomiarów potencjału zeta oraz wielkości hydrodynamicznej wykazały zachowanie wysokiej stabilności koloidalnej i jednorodności układu po funkcjonalizacji. Pomimo umiarkowanej wydajności załadunku (~3%), uzyskano wyraźny efekt kontrolowanego uwalniania, osiągający ponad 84% po 168 godzinach dla Au@SiO₂/L-DOPA, przy czym zastosowanie dodatkowej warstwy poliwinylpirolidonu (PVP) na powierzchni nanostruktur Au@SiO₂ pozwoliło na dalsze wydłużenie tego procesu. Co istotne, uzyskane wyniki badań biologicznych przeprowadzonych na linii komórkowej SH-SY5Y wskazały na zachowanie biogodności układu oraz potencjalny efekt ochronny wobec stresu oksydacyjnego w modelu komórkowym, potwierdzając możliwość zastosowania platformy również w bardziej zaawansowanych systemach terapeutycznych, które mogą poprawiać profil bezpieczeństwa terapeutycznego transportowanych substancji.

Łącznie uzyskane wyniki jednoznacznie potwierdzają, że nanostruktury Au@SiO₂ stanowią funkcjonalną i uniwersalną platformę nośnikową, zdolną do wiązania oraz kontrolowanego uwalniania związków o zróżnicowanej budowie chemicznej i odmiennych właściwościach biologicznych. Uzyskane dane wskazują również na możliwość dalszej funkcjonalizacji układu z wykorzystaniem docelowych cząsteczek terapeutycznych w kolejnych etapach projektu.

Materiały nieopublikowane

Powyższe wyniki stanowiły podstawę do poszerzenia badań eksperymentalnych dotyczących koniugatu Au@SiO₂/MUP, które stanowią przedmiot przygotowywanej publikacji. Przeprowadzono test gojenia rany na komórkach fibroblastów ludzkich (HDF) podczas którego zaobserwowano korzystny wpływ układu na dynamikę migracji komórkowej. Wyniki wykazały, że otrzymany koniugat Au@SiO₂/MUP wykazywał również aktywność przeciwbakteryjną wobec bakterii Gram-dodatnich, w tym *Staphylococcus epidermidis*, przy zastosowaniu niższej dawki leku w porównaniu do wolnego antybiotyku. Uzyskane wyniki wskazują, że koniugacja mupirocyny z nanonośnikiem Au@SiO₂ może stanowić efektywną strategię poprawy właściwości terapeutycznych oraz potencjału aplikacyjnego antybiotyku.

Inkorporacja nanostruktur Au@SiO₂ do matrycy hydrożelowej

Ostatni etap badań własnych obejmował inkorporację otrzymanych nanostruktur Au@SiO₂ do matryc hydrożelowych jako modelowych układów aplikacyjnych, stanowiących potwierdzenie możliwości wykorzystania opracowanego nośnika w systemach kontrolowanego dostarczania substancji aktywnych. Etap ten miał na celu wykazanie, że otrzymane nanostruktury mogą zostać skutecznie wbudowane w polimerową matrycę bez utraty swoich właściwości fizykochemicznych, zachowując jednocześnie zdolność do kontrolowanego uwalniania. Badania te zostały szczegółowo przedstawione w publikacji **P3**. Jako matryce modelowe wybrano dwa hydrożele bazujące na hialuronianie sodu (HA) oraz hydroksyetylocelulozie (HEC), powszechnie stosowane w formulacjach biomedycznych i kosmetycznych ze względu na ich wysoką biokompatybilność, zdolność zatrzymywania wody oraz właściwości bioadhezyjne. Do obu układów wprowadzono bazowe nanostruktury Au@SiO₂, a następnie oceniono wpływ ich obecności na właściwości strukturalne, powierzchniowe oraz funkcjonalne otrzymanych kompozytów hydrożelowych.

Analiza morfologii powierzchni wykonana metodą SEM potwierdziła skuteczne wbudowanie nanostruktur do obu typów hydrożeli. W przypadku matrycy HA obecność Au@SiO₂ prowadziła do wyraźnego zagęszczenia struktury oraz zmniejszenia porowatości powierzchni, co wskazywało na dobrą dyspersję nanocząstek i ich efektywną integrację z siecią polimerową. Z kolei w hydrożelu HEC zaobserwowano bardziej heterogeniczną topografię powierzchni, z lokalnymi defektami i zmianami mikrostruktury, sugerującymi odmienny mechanizm oddziaływania pomiędzy nanostrukturami, a matrycą celulozową. Wyniki te potwierdziły, że rodzaj zastosowanego biopolimeru istotnie wpływa na organizację przestrzenną układu kompozytowego. Istotne zmiany zaobserwowano również w zakresie właściwości powierzchniowych hydrożeli. Pomiary kąta zwilżania wykazały, że wprowadzenie Au@SiO₂ do matrycy HA zwiększało hydrofilowość materiału, obniżając wartość kąta zwilżania z 64,7° do 48,4°, co może korzystnie wpływać na komfort aplikacji oraz zdolność retencji wilgoci. W przypadku hydrożelu HEC efekt był odmienny wartość kąta zwilżania wzrosła z 26,5° do 71,7°, wskazując na zmianę organizacji powierzchni oraz wzrost jej heterogeniczności. Analiza termogravimetryczna (TGA/DTG) wykazała, że inkorporacja Au@SiO₂ prowadzi do poprawy stabilności termicznej obu badanych hydrożeli. Zaobserwowano przesunięcie temperatury głównego etapu degradacji w kierunku wyższych wartości oraz zmniejszenie szybkości rozkładu materiału, co wskazuje na stabilizujący wpływ zainkorporowanych nanostruktur na sieć polimerową. Efekt ten przypisano barierowej funkcji warstwy krzemionkowej, która ogranicza transport ciepła i opóźnia proces degradacji matrycy. Dodatkowo oceniono wpływ otrzymanych kompozytów hydrożelowych na parametry czynnościowe skóry poprzez pomiar poziomu nawilżenia oraz transepidermalnej utraty wody (TEWL). Najkorzystniejsze wyniki uzyskano dla hydrożeli opartych na kwasie hialuronowym zawierających Au@SiO₂, które zapewniały długotrwały wzrost stopnia nawilżenia skóry oraz obniżenie TEWL, wskazując na poprawę funkcji bariery naskórkowej. Wyniki te sugerują korzystny efekt połączenia nanostruktur z matrycą hydrożelową oraz ich potencjał do zastosowań miejscowych.

Kluczowym elementem oceny funkcjonalności układu był profil uwalniania nanostruktur z hydrożelu. W przypadku matrycy HA zaobserwowano szybkie uwalnianie Au@SiO₂, gdzie ponad 80% nanostruktur zostało uwolnionych w ciągu pierwszych 20 minut. Natomiast hydrożele na bazie HEC wykazywały wolniejszą kinetykę uwalniania, osiągając podobny poziom uwolnienia dopiero po około 40 minutach. Wyniki te potwierdziły możliwość modulowania profilu uwalniania poprzez odpowiedni dobór matrycy polimerowej, co ma

kluczowe znaczenie przy projektowaniu systemów kontrolowanego dostarczania substancji aktywnych.

Uzyskane wyniki potwierdziły możliwość skutecznej integracji nanostruktur Au@SiO₂ z biopolimerowymi matrycami hydrożelowymi bez utraty ich funkcjonalności. Etap ten stanowił potwierdzenie zasadności przyjętej koncepcji projektowej oraz wykazał, że opracowany nośnik może stanowić uniwersalną platformę do dalszego projektowania bardziej zaawansowanych układów terapeutycznych, obejmujących w przyszłości również systemy zawierające substancje biologicznie czynne.

V. PODSUMOWANIE

Przeprowadzone badania potwierdziły, że opracowane nanostruktury o architekturze typu rdzeń-powłoka Au@SiO₂ stanowią stabilną, wszechstronną i funkcjonalną platformę nanomateriałową o wysokim potencjale aplikacyjnym zwłaszcza w obszarze biomedycyny. Zastosowana strategia syntezy umożliwiła otrzymanie nanostruktur o jednorodnej morfologii, wysokiej stabilności koloidalnej oraz korzystnych właściwościach powierzchniowych, co zostało potwierdzone kompleksową charakterystyką fizykochemiczną. Wykazano, że powłoka krzemionkowa skutecznie stabilizuje złoty rdzeń, poprawiając trwałość układu oraz umożliwiając dalszą funkcjonalizację powierzchni. Jednocześnie obecność SiO₂ ogranicza bezpośrednią ekspozycję metalicznego rdzenia na środowisko biologiczne, zwiększając bezpieczeństwo stosowania nanostruktur.

Ocena właściwości funkcjonalnych wykazała, że nanostruktury Au@SiO₂ wykazują korzystny profil biologiczny. Brak przenikania przez modelową barierę skórną wskazuje na ich przydatność w miejscowym dostarczaniu substancji aktywnych, natomiast badania *in vitro* nie wykazały negatywnego wpływu na żywotność komórek skóry (HaCaT i HDF), co potwierdza wysoką biogodność opracowanego układu. Ponadto nanostruktury wykazały wyraźne właściwości antyoksydacyjne, co zwiększa ich potencjał w zastosowaniach ochronnych i regeneracyjnych. W badanym zakresie nie zaobserwowano interakcji z DNA co wskazuje na brak oddziaływań genotoksycznych. Jednocześnie brak aktywności katalitycznej sugeruje niską reaktywność układu w analizowanych warunkach.

Istotnym elementem pracy było zbadanie możliwości wykorzystania Au@SiO₂ jako uniwersalnej platformy nośnikowej dla różnych związków biologicznie czynnych. Badania z wykorzystaniem antybiotyków wykazały skuteczne sprzęganie związków o odmiennych właściwościach fizykochemicznych oraz ich kontrolowane uwalnianie, przy czym szczególnie korzystne wyniki uzyskano dla hydrofobowej mupirocyny, dla której obserwowano zachowanie aktywności przeciwdrobnoustrojowej oraz wydłużony profil uwalniania. Wyniki te potwierdzają potencjał Au@SiO₂ jako platformy dostarczania leków. Dodatkowo wykazano możliwość funkcjonalizacji powierzchni nanostruktur Au@SiO₂ związkiem L-DOPA, co rozszerzyło potencjał aplikacyjny opracowanego nanosystemu. Otrzymany układ może stanowić podstawę do opracowania nowych strategii dostarczania L-DOPA, w tym potencjalnych formułacji dożylnych lub doustnych, dzięki możliwości ochrony związku przed utlenianiem i degradacją. Ponadto właściwości antyoksydacyjne samego nanosystemu mogą

dodatkowo wspierać stabilność oraz aktywność biologiczną transportowanego związku. Pomimo ograniczonej wydajności załadowania leku, układ umożliwiał jego kontrolowane uwalnianie oraz wykazywał korzystny wpływ na parametry stresu oksydacyjnego w modelu komórkowym, wskazując na możliwość dalszego rozwoju tego typu formulacji.

Końcowy etap badań obejmował inkorporację nanostruktur Au@SiO₂ do matryc hydrożelowych opartych na kwasie hialuronowym oraz hydroksyetylocelulozie, co pozwoliło na otrzymanie funkcjonalnych układów hybrydowych. Uzyskane hydrożele zachowały korzystne właściwości strukturalne, zapewniały skuteczne uwalnianie nanostruktur oraz wykazywały pozytywny wpływ na poziom nawilżenia skóry i ograniczenie transepidermalnej utraty wody. Szczególnie obiecujące wyniki uzyskano dla układów opartych na kwasie hialuronowym, wskazując na synergistyczne działanie matrycy hydrożelowej i nanostruktur.

Wyniki uzyskane podczas prac badawczych wskazują, że otrzymane nanostruktury Au@SiO₂ mogą stanowić uniwersalną platformę technologiczną do projektowania zaawansowanych systemów dostarczania substancji aktywnych o potencjale terapeutycznym, kosmetycznym i diagnostycznym.

VI. PERSPEKTYWY BADAWCZE

Perspektywy dalszych badań obejmują przede wszystkim rozwój i optymalizację metody syntezy otrzymanej platformy Au@SiO₂ jako nowoczesnego systemu dostarczania substancji aktywnych, szczególnie związków hydrofobowych, których skuteczne wykorzystanie oraz kontrolowane uwalnianie nadal pozostaje jednym z głównych wyzwań współczesnej farmacji. Uzyskane wyniki badań wskazują na możliwość efektywnego sprzęgania takich cząsteczek z powierzchnią nanonośnika oraz ich stabilnego, przedłużonego uwalniania, co otwiera drogę do dalszych badań nad zwiększeniem biodostępności substancji aktywnych, poprawą skuteczności terapeutycznej oraz ograniczeniem możliwych skutków ubocznych i działań niepożądanych.

Niezwykle istotnym kierunkiem przyszłych prac badawczych może być integracja opracowanych nanostruktur z matrycami hydrożelowymi. Uzyskane wyniki pokazują, że połączenie platformy Au@SiO₂ z biokompatybilnymi hydrożelami umożliwia projektowanie funkcjonalnych układów do naskórnego dostarczania substancji aktywnych, takich jak nowoczesne opatrunki hydrożelowe czy systemy transdermalne. Takie rozwiązania mogą znaleźć szczególne zastosowanie w terapii ran trudno gojących się, ran przewlekłych, oparzeń oraz zmian dermatologicznych, gdzie poza samym działaniem terapeutycznym istotne jest także utrzymanie odpowiedniego mikrośrodowiska wilgotnego sprzyjającego regeneracji tkanek.

W dalszej perspektywie opracowana platforma może stanowić uniwersalne narzędzie badawcze umożliwiające ocenę wpływu nanonośnika na skuteczność istniejących farmakoterapii poprzez zwiększenie biodostępności substancji czynnych, wydłużenie czasu ich działania, ograniczenie działań niepożądanych oraz możliwość bardziej precyzyjnego dostarczanie leków. Modułowa budowa platformy Au@SiO₂ umożliwia jej adaptację do różnych grup terapeutycznych, od antybiotyków, przez związki neuroaktywne, aż po substancje kosmetyczne i regeneracyjne. Dalsze badania mogą koncentrować się na optymalizacji właściwości fizykochemicznych nanoukładu, analizie bezpieczeństwa biologicznego, biodystrybucji, metabolizmu oraz skuteczności terapeutycznej w modelach *in vitro* i *in vivo* co czyni je wartościowym narzędziem do projektowania przyszłych spersonalizowanych terapii oraz zaawansowanych materiałów biomedycznych.

Istotnym kierunkiem dalszych badań może być również optymalizacja procesu syntezy nanostruktur Au@SiO₂ z wykorzystaniem metod statystycznych oraz narzędzi wspomaganych komputerowo. Ze względu na złożone i nieliniowe zależności pomiędzy parametrami syntezy, a właściwościami końcowego nanomateriału, klasyczne podejście oparte na metodzie prób i błędów może być niewystarczające w projektowaniu stabilnych i funkcjonalnych nanosystemów. Wykorzystanie metodologii planowania eksperymentu (ang. *Design of Experiments*, DoE), w szczególności metod powierzchni odpowiedzi (ang. *Response Surface Methodology*, RSM), może umożliwić racjonalną optymalizację parametrów procesu syntezy w celu uzyskania nanostruktur o pożądanych właściwościach fizykochemicznych, takich jak wysoka stabilność koloidalna czy kontrolowana grubość powłoki krzemionkowej. Podejście to może przyczynić się do zwiększenia powtarzalności procesu, ograniczenia kosztów i czasu eksperymentalnego oraz ułatwić skalowanie syntezy, stanowiąc istotny krok w kierunku praktycznego wdrożenia platform Au@SiO₂ do zastosowań biomedycznych.

VII. LITERATURA

1. Tarafdar, J.; Shikha, S.; Raliya, R. Nanotechnology: Interdisciplinary Science of Applications. *African Journal of Biotechnology* **2013**, *12*, 219–226, doi:10.5897/AJB12.2481.
2. Bayda, S.; Adeel, M.; Tuccinardi, T.; Cordani, M.; Rizzolio, F. The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical–Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules* **2019**, *25*, 112, doi:10.3390/molecules25010112.
3. Singh, R.; Bhateria, R. Core–Shell Nanostructures: A Simplest Two-Component System with Enhanced Properties and Multiple Applications. *Environ Geochem Health* **2021**, *43*, 2459–2482, doi:10.1007/s10653-020-00766-1.
4. Saini, R.; Saini, S.; Sharma, S. Nanotechnology: The Future Medicine. *J Cutan Aesthet Surg* **2010**, *3*, 32–33, doi:10.4103/0974-2077.63301.
5. Li, J.-F.; Zhang, Y.-J.; Ding, S.-Y.; Panneerselvam, R.; Tian, Z.-Q. Core–Shell Nanoparticle-Enhanced Raman Spectroscopy. *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 5002–5069, doi:10.1021/acs.chemrev.6b00596.
6. Dinh, T.; Dobó, Z.; Palotás, Á.B.; Kovács, H. A Review of Gold Nanoparticle Synthesis: Transitioning from Conventional Techniques to Plant-Mediated Green Nanofabrication. *Materials Today Chemistry* **2025**, *48*, 103003, doi:10.1016/j.mtchem.2025.103003.
7. Hu, X.; Zhang, Y.; Ding, T.; Liu, J.; Zhao, H. Multifunctional Gold Nanoparticles: A Novel Nanomaterial for Various Medical Applications and Biological Activities. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* **2020**, *8*, doi:10.3389/fbioe.2020.00990.
8. Lee, K.X.; Shameli, K.; Yew, Y.P.; Teow, S.-Y.; Jahangirian, H.; Rafiee-Moghaddam, R.; Webster, T.J. Recent Developments in the Facile Bio-Synthesis of Gold Nanoparticles (AuNPs) and Their Biomedical Applications. *Int J Nanomedicine* **2020**, *15*, 275–300, doi:10.2147/IJN.S233789.
9. Mikhailova, E.O. Gold Nanoparticles: Biosynthesis and Potential of Biomedical Application. *Journal of Functional Biomaterials* **2021**, *12*, doi:10.3390/jfb12040070.
10. Gholami-Shabani, M.; Shams-Ghahfarokhi, M.; Gholami-Shabani, Z.; Akbarzadeh, A.; Riazi, G.; Ajdari, S.; Amani, A.; Razzaghi-Abyaneh, M. Enzymatic Synthesis of Gold Nanoparticles Using Sulfite Reductase Purified from *Escherichia Coli*: A Green Eco-Friendly Approach. *Process Biochemistry* **2015**, *50*, 1076–1085, doi:10.1016/j.procbio.2015.04.004.

11. Hulkoti, N.I.; Taranath, T.C. Biosynthesis of Nanoparticles Using Microbes—A Review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2014**, *121*, 474–483, doi:10.1016/j.colsurfb.2014.05.027.
12. Santhosh, P.B.; Genova, J.; Chamati, H. Green Synthesis of Gold Nanoparticles: An Eco-Friendly Approach. *Chemistry* **2022**, *4*, 345–369, doi:10.3390/chemistry4020026.
13. Liang, A.; Liu, Q.; Wen, G.; Jiang, Z. The Surface-Plasmon-Resonance Effect of Nanogold/Silver and Its Analytical Applications. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2012**, *37*, 32–47, doi:10.1016/j.trac.2012.03.015.
14. Suliasih, B.A.; Budi, S.; Katas, H. Synthesis and Application of Gold Nanoparticles as Antioxidants. *Pharmacia* **2024**, *71*, 1–19, doi:10.3897/pharmacia.71.e112322.
15. Koushki, K.; Biswal, P.; Vijay, G.V.; Sadeghi, M.; Dehnavi, S.; Tra, N.T.; Samala, S.K.; Taba, M.Y.; Vasan, A.B.; Han, E.; et al. Immunomodulatory Effects of Gold Nanoparticles: Impacts on Immune Cells and Mechanisms of Action. *Nanomaterials* **2025**, *15*, doi:10.3390/nano15151201.
16. Fujita, T.; Zysman, M.; Elgrabli, D.; Murayama, T.; Haruta, M.; Lanone, S.; Ishida, T.; Boczkowski, J. Anti-Inflammatory Effect of Gold Nanoparticles Supported on Metal Oxides. *Sci Rep* **2021**, *11*, 23129, doi:10.1038/s41598-021-02419-4.
17. Yang, J.; Wang, X.; Sun, Y.; Chen, B.; Hu, F.; Guo, C.; Yang, T. Recent Advances in Colorimetric Sensors Based on Gold Nanoparticles for Pathogen Detection. *Biosensors (Basel)* **2022**, *13*, 29, doi:10.3390/bios13010029.
18. Xia, N.; Deng, D.; Wang, Y.; Fang, C.; Li, S.-J. Gold Nanoparticle-Based Colorimetric Method for the Detection of Prostate-Specific Antigen. *Int J Nanomedicine* **2018**, *13*, 2521–2530, doi:10.2147/IJN.S154046.
19. Sepahi, N.; Samsami, S.; Mansoori, Y.; Chenari, M.; Namavari, N.; Yazdanpanah, A.; Ghasemian, A.; Montaseri, Z.; Sharifzadeh, M.; Ranjbar, R.; et al. Development of a Novel Colorimetric Assay for the Rapid Diagnosis of Coronavirus Disease 2019 from Nasopharyngeal Samples. *Sci Rep* **2024**, *14*, 12125, doi:10.1038/s41598-024-53747-0.
20. Yu, Y.; Hu, J.; Shen, Q.; Xu, H.; Wang, S.; Wang, X.; Zhong, Y.; He, T.; Huang, H.; Hong, Q.; et al. A Highly Sensitive SERS Technique Based on Au NPs Monolayer Film Combined with Multivariate Statistical Algorithms for Auxiliary Screening of Postmenopausal Osteoporosis. *Biosensors* **2025**, *15*, doi:10.3390/bios15090568.
21. Zhang, H.; Yi, Y.; Zhou, C.; Ying, G.; Zhou, X.; Fu, C.; Zhu, Y.; Shen, Y. SERS Detection of microRNA Biomarkers for Cancer Diagnosis Using Gold-Coated

- Paramagnetic Nanoparticles to Capture SERS-Active Gold Nanoparticles. *RSC Advances* **2017**, *7*, 52782–52793, doi:10.1039/C7RA10918K.
22. Cole, L.E.; Ross, R.D.; Tilley, J.M.; Vargo-Gogola, T.; Roeder, R.K. Gold Nanoparticles as Contrast Agents in X-Ray Imaging and Computed Tomography. *Nanomedicine (Lond)* **2015**, *10*, 321–341, doi:10.2217/nmm.14.171.
 23. Jabeen, F.; Najam-ul-Haq, M.; Javeed, R.; Huck, C.W.; Bonn, G.K. Au-Nanomaterials as a Superior Choice for Near-Infrared Photothermal Therapy. *Molecules* **2014**, *19*, 20580–20593, doi:10.3390/molecules191220580.
 24. Zhang, J.; Luo, X.; Wu, Y.-P.; Wu, F.; Li, Y.-F.; He, R.-R.; Liu, M. Rod in Tube: A Novel Nanoplatfrom for Highly Effective Chemo-Photothermal Combination Therapy toward Breast Cancer. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2019**, *11*, 3690–3703, doi:10.1021/acsami.8b17533.
 25. Khaletskaya, K.; Reboul, J.; Meilikhov, M.; Nakahama, M.; Diring, S.; Tsujimoto, M.; Isoda, S.; Kim, F.; Kamei, K.; Fischer, R.A.; et al. Integration of Porous Coordination Polymers and Gold Nanorods into Core–Shell Mesoscopic Composites toward Light-Induced Molecular Release. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 10998–11005, doi:10.1021/ja403108x.
 26. García Calavia, P.; Bruce, G.; Pérez-García, L.; Russell, D.A. Photosensitiser-Gold Nanoparticle Conjugates for Photodynamic Therapy of Cancer. *Photochem Photobiol Sci* **2018**, *17*, 1534–1552, doi:10.1039/c8pp00271a.
 27. Gold nanoparticles: An advanced drug delivery and diagnostic tool. In *The Future of Pharmaceutical Product Development and Research*; Academic Press, 2020; pp. 609–669.
 28. Kim, C.K.; Ghosh, P.; Pagliuca, C.; Zhu, Z.-J.; Menichetti, S.; Rotello, V.M. Entrapment of Hydrophobic Drugs in Nanoparticle Monolayers with Efficient Release into Cancer Cells. *J Am Chem Soc* **2009**, *131*, 1360–1361, doi:10.1021/ja808137c.
 29. Cheng, Y.; Samia, A.C.; Li, J.; Kenney, M.E.; Resnick, A.; Burda, C. Delivery and Efficacy of a Cancer Drug as a Function of the Bond to the Gold Nanoparticle Surface. *Langmuir* **2010**, *26*, 2248–2255, doi:10.1021/la902390d.
 30. Guo, J.; Rahme, K.; He, Y.; Li, L.-L.; Holmes, J.D.; O’Driscoll, C.M. Gold Nanoparticles Enlighten the Future of Cancer Theranostics. *Int J Nanomedicine* **2017**, *12*, 6131–6152, doi:10.2147/IJN.S140772.

31. Xia, Y.; Li, W.; Cobley, C.M.; Chen, J.; Xia, X.; Zhang, Q.; Yang, M.; Cho, E.C.; Brown, P.K. Gold Nanocages: From Synthesis to Theranostic Applications. *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 914–924, doi:10.1021/ar200061q.
32. Parveen, S.; Bozal, S.B.; Poher, J.S.; Saltzman, W.M. Nanoparticle-Hydrogel Composites for Precision Medicine. *Cell Biomaterials* **2026**, 100372, doi:10.1016/j.celbio.2026.100372.
33. Rezvani, A.; Kichigin, A.; Zubiri, B.A.; Spiecker, E.; Segets, D. Insights into Stability and Selective Agglomeration in Binary Mixtures of Colloids: A Study on Gold Nanoparticles and Ultra-Small Quantum Dots. *Powders* **2025**, *4*, doi:10.3390/powders4010009.
34. Carnerero, J.M.; Sánchez-Coronilla, A.; Jimenez-Ruiz, A.; Prado-Gotor, R. Factors That Control the Gold Nanoparticles' Aggregation Induced by Adenine Molecules: New Insights through a Combined Experimental and Theoretical Study. *Journal of Molecular Liquids* **2020**, *310*, 113136, doi:10.1016/j.molliq.2020.113136.
35. Adewale, O.B.; Davids, H.; Cairncross, L.; Roux, S. Toxicological Behavior of Gold Nanoparticles on Various Models: Influence of Physicochemical Properties and Other Factors. *Int J Toxicol* **2019**, *38*, 357–384, doi:10.1177/1091581819863130.
36. Niżnik, Ł.; Noga, M.; Kobylarz, D.; Frydrych, A.; Krośniak, A.; Kapka-Skrzypczak, L.; Jurowski, K. Gold Nanoparticles (AuNPs)—Toxicity, Safety and Green Synthesis: A Critical Review. *Int J Mol Sci* **2024**, *25*, 4057, doi:10.3390/ijms25074057.
37. Xia, Q.; Huang, J.; Feng, Q.; Chen, X.; Liu, X.; Li, X.; Zhang, T.; Xiao, S.; Li, H.; Zhong, Z.; et al. Size- and Cell Type-Dependent Cellular Uptake, Cytotoxicity and in Vivo Distribution of Gold Nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine* **2019**, *14*, 6957–6970, doi:10.2147/IJN.S214008.
38. Lee, Y.J.; Ahn, E.-Y.; Park, Y. Shape-Dependent Cytotoxicity and Cellular Uptake of Gold Nanoparticles Synthesized Using Green Tea Extract. *Nanoscale Res Lett* **2019**, *14*, 129, doi:10.1186/s11671-019-2967-1.
39. Kowalska, A.; Adamska, E.; Grobelna, B. Medical Applications of Silver and Gold Nanoparticles and Core-Shell Nanostructures Based on Silver or Gold Core: Recent Progress and Innovations. *ChemMedChem* **2024**, *19*, e202300672, doi:10.1002/cmdc.202300672.
40. Divya, S.; Lims, S.C.; Manivannan, M.; Robert, R.; Jerome Das, S.; Jose, M. Impact of Amorphous SiO₂ as Shell Material on Superparamagnetic Fe₃O₄ Nanoparticles and

- Investigation of Temperature and Frequency Dependent Dielectric Properties. *Journal of Alloys and Compounds* **2022**, *919*, 165751, doi:10.1016/j.jallcom.2022.165751.
41. Chapter 3 The Surface Chemistry of Silica. In *Studies in Surface Science and Catalysis*; Elsevier, 1995; Vol. 93, pp. 59–77 ISBN 978-0-444-81928-4.
 42. Mohanan, S.; Guan, X.; Liang, M.; Karakoti, A.; Vinu, A. Stimuli-Responsive Silica Silanol Conjugates: Strategic Nanoarchitectonics in Targeted Drug Delivery. *Small* **2024**, *20*, 2301113, doi:10.1002/smll.202301113.
 43. Maleki, A.; Kettiger, H.; Schoubben, A.; Rosenholm, J.M.; Ambroggi, V.; Hamidi, M. Mesoporous Silica Materials: From Physico-Chemical Properties to Enhanced Dissolution of Poorly Water-Soluble Drugs. *Journal of Controlled Release* **2017**, *262*, 329–347, doi:10.1016/j.jconrel.2017.07.047.
 44. Gonçalves, M.C. Sol-Gel Silica Nanoparticles in Medicine: A Natural Choice. Design, Synthesis and Products. *Molecules* **2018**, *23*, 2021, doi:10.3390/molecules23082021.
 45. Martin, K.R. The Chemistry of Silica and Its Potential Health Benefits. *J Nutr Health Aging* **2007**, *11*, 94–97.
 46. Suthabanditpong, W.; Buntem, R.; Takai, C.; Fuji, M.; Shirai, T. The Quantitative Effect of Silica Nanoparticles on Optical Properties of Thin Solid Silica UV-Cured Films. *Surface and Coatings Technology* **2015**, *279*, 25–31, doi:10.1016/j.surfcoat.2015.07.068.
 47. Wieszczycka, K.; Staszak, K.; Woźniak-Budych, M.J.; Litowczenko, J.; Maciejewska, B.M.; Jurga, S. Surface Functionalization – The Way for Advanced Applications of Smart Materials. *Coordination Chemistry Reviews* **2021**, *436*, 213846, doi:10.1016/j.ccr.2021.213846.
 48. Johnson, L.; Duschl, A.; Himly, M. Nanotechnology-Based Vaccines for Allergen-Specific Immunotherapy: Potentials and Challenges of Conventional and Novel Adjuvants under Research. *Vaccines (Basel)* **2020**, *8*, 237, doi:10.3390/vaccines8020237.
 49. Almatroudi, A. Advances in Mesoporous Silica and Hybrid Nanoparticles for Drug Delivery: Synthesis, Functionalization, and Biomedical Applications. *Pharmaceutics* **2025**, *17*, 1602, doi:10.3390/pharmaceutics17121602.
 50. Gu, Z.; Biswas, A.; Zhao, M.; Tang, Y. Tailoring Nanocarriers for Intracellular Protein Delivery. *Chemical Society Reviews* **2011**, *40*, 3638–3655, doi:10.1039/C0CS00227E.
 51. Siddiqui, B.; Rehman, Asim. ur.; Haq, I.; Al-Dossary, A.A.; Elaissari, A.; Ahmed, N. Exploiting Recent Trends for the Synthesis and Surface Functionalization of Mesoporous Silica Nanoparticles towards Biomedical Applications. *International Journal of Pharmaceutics: X* **2022**, *4*, 100116, doi:10.1016/j.ijpx.2022.100116.

52. Palanikumar, L.; Kim, H.Y.; Oh, J.Y.; Thomas, A.P.; Choi, E.S.; Jeena, M.T.; Joo, S.H.; Ryu, J.-H. Noncovalent Surface Locking of Mesoporous Silica Nanoparticles for Exceptionally High Hydrophobic Drug Loading and Enhanced Colloidal Stability. *Biomacromolecules* **2015**, *16*, 2701–2714, doi:10.1021/acs.biomac.5b00589.
53. Otari, S.V.; Yadav, H.M.; Thorat, N.D.; Patil, R.M.; Lee, J.K.; Pawar, S.H. Facile One Pot Synthesis of Core Shell Ag@SiO₂ Nanoparticles for Catalytic and Antimicrobial Activity. *Materials Letters* **2016**, *167*, 179–182, doi:10.1016/j.matlet.2015.12.134.
54. Olteanu, N.L.; Lazăr, C.A.; Petcu, A.R.; Meghea, A.; Rogoza, E.A.; Mihaly, M. “One-Pot” Synthesis of Fluorescent Au@SiO₂ and SiO₂@Au Nanoparticles. *Arab J Chem* **2016**, *9*, 854–864, doi:10.1016/j.arabjc.2015.12.014.
55. Nallathamby, P.D.; Hopf, J.; Irimata, L.E.; McGinnity, T.L.; Roeder, R.K. Preparation of Fluorescent Au–SiO₂ Core–Shell Nanoparticles and Nanorods with Tunable Silica Shell Thickness and Surface Modification for Immunotargeting. *J. Mater. Chem. B* **2016**, *4*, 5418–5428, doi:10.1039/C6TB01659F.
56. Xu, B.; Ju, Y.; Cui, Y.; Song, G.; Iwase, Y.; Hosoi, A.; Morita, Y. tLyP-1–Conjugated Au–Nanorod@SiO₂ Core–Shell Nanoparticles for Tumor-Targeted Drug Delivery and Photothermal Therapy. *Langmuir* **2014**, *30*, 7789–7797, doi:10.1021/la500595b.
57. Chen, T.; Li, T.; Wang, J. Nanoscale Au@SiO₂-Drug/VEGF as an in Vivo Probe for Osteosarcoma Diagnosis and Therapy. *Oncol Lett* **2021**, *22*, 766, doi:10.3892/ol.2021.13027.
58. Tang, F.; Li, L.; Chen, D. Mesoporous Silica Nanoparticles: Synthesis, Biocompatibility and Drug Delivery. *Advanced Materials* **2012**, *24*, 1504–1534, doi:10.1002/adma.201104763.
59. Vallet-Regí, M.; Balas, F.; Arcos, D. Mesoporous Materials for Drug Delivery. *Angewandte Chemie International Edition* **2007**, *46*, 7548–7558, doi:10.1002/anie.200604488.
60. Mamaeva, V.; Sahlgren, C.; Lindén, M. Mesoporous Silica Nanoparticles in Medicine—Recent Advances. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2013**, *65*, 689–702, doi:10.1016/j.addr.2012.07.018.
61. Zhao, S.; Zhang, S.; Ma, J.; Fan, L.; Yin, C.; Lin, G.; Li, Q. Double Loaded Self-Decomposable SiO₂ Nanoparticles for Sustained Drug Release. *Nanoscale* **2015**, *7*, 16389–16398, doi:10.1039/C5NR03029C.
62. Ji, T.; Kohane, D.S. Nanoscale Systems for Local Drug Delivery. *Nano Today* **2019**, *28*, 100765, doi:10.1016/j.nantod.2019.100765.

63. Rahmatolahzadeh, R.; Hamadani, M.; Shagholani, H.; Moosavikia, S.R. Synthesis of Au/SiO₂ Nanoparticles with Highly Porous Structure as a pH-Sensitive Targeting Drug Carrier. *J Inorg Organomet Polym* **2018**, *28*, 187–194, doi:10.1007/s10904-017-0702-x.
64. Chen, T.; Li, T.; Wang, J. Nanoscale Au@SiO₂-drug/VEGF as an *in vivo* probe for osteosarcoma diagnosis and therapy. *Oncology Letters* **2021**, *22*, 1–10, doi:10.3892/ol.2021.13027.
65. Jang, E.; Kim, M.; Koh, W.-G. Ag@SiO₂-Entrapped Hydrogel Microarray: A New Platform for a Metal-Enhanced Fluorescence-Based Protein Assay. *Analyst* **2015**, *140*, 3375–3383, doi:10.1039/C5AN00251F.
66. Zhao, P.; Liu, H.; Deng, H.; Xiao, L.; Qin, C.; Du, Y.; Shi, X. A Study of Chitosan Hydrogel with Embedded Mesoporous Silica Nanoparticles Loaded by Ibuprofen as a Dual Stimuli-Responsive Drug Release System for Surface Coating of Titanium Implants. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2014**, *123*, 657–663, doi:10.1016/j.colsurfb.2014.10.013.
67. Lu, C.; Zahedi, P.; Forman, A.; Allen, C. Multi-arm PEG/Silica Hydrogel for Sustained Ocular Drug Delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2014**, *103*, 216–226, doi:10.1002/jps.23777.
68. Ho, T.-C.; Chang, C.-C.; Chan, H.-P.; Chung, T.-W.; Shu, C.-W.; Chuang, K.-P.; Duh, T.-H.; Yang, M.-H.; Tyan, Y.-C. Hydrogels: Properties and Applications in Biomedicine. *Molecules* **2022**, *27*, 2902, doi:10.3390/molecules27092902.
69. Gounden, V.; Singh, M. Hydrogels and Wound Healing: Current and Future Prospects. *Gels* **2024**, *10*, 43, doi:10.3390/gels10010043.
70. Yue, Y. Designing Ultrahigh-Water-Content, Tough, and Crack-Resistant Hydrogels by Balancing Chemical Cross-Linking and Physical Entanglement. *ACS Appl. Eng. Mater.* **2024**, *2*, 638–648, doi:10.1021/acsaenm.3c00726.
71. Zhao, F.; Yao, D.; Guo, R.; Deng, L.; Dong, A.; Zhang, J. Composites of Polymer Hydrogels and Nanoparticulate Systems for Biomedical and Pharmaceutical Applications. *Nanomaterials (Basel)* **2015**, *5*, 2054–2130, doi:10.3390/nano5042054.
72. Yoon, M.S.; Lee, J.M.; Jo, M.J.; Kang, S.J.; Yoo, M.K.; Park, S.Y.; Bong, S.; Park, C.-S.; Park, C.-W.; Kim, J.-S.; et al. Dual-Drug Delivery Systems Using Hydrogel–Nanoparticle Composites: Recent Advances and Key Applications. *Gels* **2025**, *11*, 520, doi:10.3390/gels11070520.

73. Gao, W.; Zhang, Y.; Zhang, Q.; Zhang, L. Nanoparticle-Hydrogel: A Hybrid Biomaterial System for Localized Drug Delivery. *Ann Biomed Eng* **2016**, *44*, 2049–2061, doi:10.1007/s10439-016-1583-9.
74. Haraguchi, K. Nanocomposite Gels: New Advanced Functional Soft Materials. *Macromolecular Symposia* **2007**, *256*, 120–130, doi:10.1002/masy.200751014.
75. Memic, A.; Alhadrami, H.A.; Hussain, M.A.; Aldhahri, M.; Al Nowaiser, F.; Al-Hazmi, F.; Oklu, R.; Khademhosseini, A. Hydrogels 2.0: Improved Properties with Nanomaterial Composites for Biomedical Applications. *Biomed. Mater.* **2015**, *11*, 014104, doi:10.1088/1748-6041/11/1/014104.
76. Yoon, M.S.; Lee, J.M.; Jo, M.J.; Kang, S.J.; Yoo, M.K.; Park, S.Y.; Bong, S.; Park, C.-S.; Park, C.-W.; Kim, J.-S.; et al. Dual-Drug Delivery Systems Using Hydrogel–Nanoparticle Composites: Recent Advances and Key Applications. *Gels* **2025**, *11*, doi:10.3390/gels11070520.

VIII. DOROBIEK NAUKOWY

Artykuły wchodzące w cykl rozprawy doktorskiej

A.Kowalska, E.Adamska, A.Wcisło, M.Sroczyński, M.Datta, J.Rak, P.Skowron, B.Grobelna, „Synthesis and characterization of Au@SiO₂ core-shell nanostructures for improved antibiotic delivery systems”, Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine, 73 (102921), **2026**, 1-9, IF₂₀₂₄=4,6, MNiSW=140 pkt

A.Kowalska, E.Adamska, K.Zima, P.Nowicka, A.Wcisło, M.Makowski, B.Grobelna, „Nanostructures based on gold and silica as a delivery platform for enhanced L-DOPA therapy in neurodegenerative disease”, Dalton Transactions, 54 (47), **2025**, 17597-17610, IF₂₀₂₄=3,3, MNiSW=140 pkt

A.Kowalska, E.Adamska, A.Wcisło, K.Deja, A.Kalinowska, B.Grobelna, „Colloidal stability and controlled release of Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ core-shell nanostructures from biopolymer-based hydrogels”, Scientific Reports, 16 (989), **2026**, 1-17, IF₂₀₂₄=3,91 MNiSW=140 pkt

Artykuły niewchodzące w cykl rozprawy doktorskiej

E.Adamska, **A.Kowalska**, K.Zima, B.Grobelna, „Surface-engineered Au@TiO₂ and Au@TiO₂/SiO₂ core-shell nanostructures with tunable photoinduced interfacial reactivity”, Surface and Interfaces, 95, **2026**, 1-11, IF₂₀₂₄=6,3, MNiSW=70 pkt

A.Kowalska, A.Smulka, E.Adamska, D.Zarzeczńska, T.Ossowski, B.Grobelna, „Gold nanoparticles and chitosan as innovative compounds in medicine and cosmetology: a review of current applications”, Current Medicinal Chemistry, 33 (5), **2026**, 879-905, IF₂₀₂₄=3,5, MNiSW=100 pkt

A.Wcisło, S.Leszczynska, **A.Kowalska**, B.Grobelna, „Hybrid Alkoxysilane-Gold Nanostructure Coatings on FTO Electrodes for Tailored Electrochemical Interfaces”, ChemNanoMat, 12 (3), **2026**, 1-13, IF₂₀₂₄=2,6, MNiSW=100 pkt

E.Adamska, **A.Kowalska**, A.Wcisło, K.Zima, B.Grobelna, „Studying the effect of reducing agents on the properties of gold nanoparticles and their integration into hyaluronic acid hydrogels”, Molecules, 29 (24), **2024**, 1-19, IF₂₀₂₄=4,6, MNiSW=140 pkt

A.Kowalska, E.Adamska, B.Grobelna, „Medical applications of silver and gold nanoparticles and core-shell nanostructures based on silver or gold core: recent progress and innovations”, Chemmedchem, 19 (12), **2024**, 1-17, IF₂₀₂₄=3,4, MNiSW=100 pkt

A.Kowalska, E.Adamska A.Synak, B.Grobelna, „The optimization of the one-pot synthesis of Au@SiO₂ core-shell nanostructures: modification with dansyl group and their fluorescent properties”, Materials, 17 (10), **2024**, 1-14, IF₂₀₂₄=3,2, MNiSW=140 pkt

M.Bartoszewska, E.Adamska, **A.Kowalska**, B.Grobelna, „Novelty cosmetic filters based on nanomaterials composed of titanium dioxide nanoparticles”, Molecules, 28 (2), **2023**, 1-14, IF₂₀₂₄=4,6, MNiSW=140 pkt

Rozdziały w monografiach

A.Kowalska, E.Adamska, P.Oller, A.Wcisło, B.Grobelna, „Optymalizacja metody otrzymywania nanostruktur typu rdzeń-otoczka złożonych z nanocząstek srebra i krzemionki”, Na pograniczu chemii, biologii i fizyki - rozwój nauk / Szłyk Edward, Ścigała Aleksandra (red.), Na pograniczu chemii, biologii i fizyki - rozwój nauk, vol. 6, **2025**, Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, ISBN 978-83-231-6129-5, 53-70, MNiSW=20 pkt

E.Adamska, A.Wcisło, **A.Kowalska**, B.Grobelna, „Nanostruktury core-shell na bazie złota i krzemionki – synteza, charakterystyka oraz ocena właściwości powierzchni”, Na pograniczu chemii, biologii i fizyki - rozwój nauk / Szłyk Edward [i in.] (red.), vol. 3, **2022**, Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, ISBN 978-83-231-4836-4, 9-26, MNiSW=20 pkt

Prace w recenzowanych materiałach konferencyjnych

Elżbieta Adamska, Agata Kowalska, Beata Grobelna, „Optimization of the Synthesis of Au@SiO₂ Core-Shell Nanostructures, and Their Modification” Proceedings of the World Congress on New Technologies, 2022.

Zgłoszenia patentowe

Zgłoszenie patentowe na wynalazek „Koniugat Au@SiO₂/antybiotyk, sposób jego otrzymywania oraz jego zastosowanie”, zgłoszenie numer: P.452353, 2025

Zgłoszenie patentowe na wynalazek „Koniugat nanonośnika Au@SiO₂ z lekiem L-DOPA, sposób jego wytwarzania oraz jego zastosowanie”, zgłoszenie numer: P.453529, 2025

Zgłoszenie patentowe na wynalazek „Koniugat nanonośnika Ag@SiO₂ z kwasem usninowym (UA), sposób jego otrzymywania oraz jego zastosowanie”, zgłoszenie numer: P.455757, 2026

Referaty

A.Kowalska, E.Adamska, B.Grobelna, „Nanostruktury Au@SiO₂ jako innowacyjne systemy dostarczania substancji terapeutycznych”, VII Interdyscyplinarna Konferencja Nano(&)BioMateriały - od teorii do aplikacji, Toruń, Polska, 2025.

A.Kowalska, E.Adamska, M.Datta, A.Synak, J.Rak, B.Grobelna, „Nanostruktury Au@SiO₂ jako nanonośniki - od syntezy poprzez charakterystykę nanomateriału do potencjalnych zastosowań medycznych”, XX Ogólnopolskie Seminarium Doktorantów i Studentów „Na pograniczu Chemii, Biologii i Farmacji”, Jarnołtówek, Polska 2024.

A.Kowalska, E.Adamska, B.Grobelna, „Modyfikacja powierzchni nanostruktur typu core-shell opartych na bazie nanocząstek złota i krzemionki”, V Pomorskie Studenckie Sympozjum Chemiczne, Gdańsk, Polska, 2023.

A.Kowalska, E.Adamska, B.Grobelna, „Nanocząstki TiO₂ oraz nanokompozyt TiO₂/SiO₂ jako nowoczesne filtry fizyczne”, III Ogólnopolska Studencka Konferencja Naukowa "Bliżej Chemii", Kraków, Polska, 2023.

A.Kowalska, E.Adamska, B.Grobelna, „Synthesis and characterization of core-shell nanomaterials based on gold nanoparticles”, 2nd French-Polish Chemistry Congress, Montpellier, Francja, 2023.

A.Kowalska, E.Adamska, B.Grobelna, „Wpływ rozpuszczalnika w procesie powlekania krzemionkową otoczką złotych nanostrukturalnych rdzeni”, XIX Ogólnopolskie Seminarium Doktorantów i Studentów "Na pograniczu chemii i biologii", Trzebieiszowice, Polska, 2023.

A.Kowalska, E.Adamska, B.Grobelna, „Nanostruktury Au@SiO₂ - synteza i charakterystyka”, IV Konferencja Naukowa "Chemia - Biznes - Środowisko", Gdańsk, Polska, 2022.

A.Kowalska, E.Adamska, B.Grobelna, „Od nanocząstek po nanostruktury w zastosowaniach plazmonicznych i kosmetycznych”, Zjazd Wiosenny Sekcji Młodych Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Bąkowo, Polska, 2025.

A.Kowalska, E.Adamska, B.Grobelna, „Wykorzystanie nanostruktur typu rdzeń-powłoka w zastosowaniach medycznych i plazmonicznych”, 67. Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego „Zbudujmy mosty do nowych odkryć”, Wrocław, Polska, 2025.

E.Adamska, **A.Kowalska**, B.Grobelna, „Od syntezy do właściwości filtrów promieniochronnych opartych o kompozyty i nanostruktury rdzeń-powłoka na bazie metali szlachetnych”, VII Interdyscyplinarna Konferencja Nano(&)BioMateriały - od teorii do aplikacji, Toruń, Polska, 2025.

B.Grobelna, E.Adamska, **A.Kowalska**, A.Wcisło, A.Synak, P.Bojarski, „Projektowanie nowych platform plazmonicznych w oparciu o układy typu rdzeń-powłoka”, 66. Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Poznań, Polska, 2024.

A.Wcisło, A.Domaros, D.Zarzeczńska, **A.Kowalska**, B.Grobelna, „Elektrody TCO jako kluczowe elementy w układach rozpoznawania molekularnego”, 66. Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Poznań, Polska, 2024.

E.Adamska, **A.Kowalska**, A.Synak, P.Bojarski, B.Grobelna, „Multifunkcjonalne nanostruktury rdzeń-otoczka: synteza, charakterystyka i zastosowanie”, IX Łódzkie Sympozjum Doktorantów Chemii, Łódź, Polska, 2022.

E.Adamska, **A.Kowalska**, B.Grobelna, „Optimization of the synthesis of Au@SiO₂ core-shell nanostructures, and their modification”, 8th World Congress on New Technologies, Praga, Czechy, 2022.

E.Adamska, **A.Kowalska**, B.Grobelna, „Optimization of the synthesis of Au@SiO₂ core-shell nanostructures, and their modification”, 13th International Conference on Nanotechnology: Fundamentals and Applications, Praga, Czechy, 2022.

B.Grobelna, E.Adamska, **A.Kowalska**, A.Synak, P.Bojarski, A.Wcisło, „Otrzymywanie, modyfikacja powierzchni oraz zastosowanie w projektowaniu platform plazmonicznych funkcjonalnych materiałów typu core-shell”, 64. Zjazd Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Lublin, Polska, 2022.

Postery

A.Kowalska, E.Adamska, K.Zima, A.Pyrczak-Felczykowska, B.Grobelna, „Nanostruktury Au@SiO₂ jako funkcjonalne nanobiomateriały: nośniki leków i komponenty matryc hydrożelowych do potencjalnych zastosowań w medycynie i kosmetyce”, VII Sympozjum "Biomateriały w medycynie i kosmetologii", Toruń, Polska, 2026.

A.Kowalska, E.Adamska, B.Grobelna, „Charakterystyka i ocena właściwości nanomateriałów z wykorzystaniem spektroskopii UV-Vis”, XII Polska Konferencja Chemii Analitycznej, Gdańsk, Polska, 2025.

A.Kowalska, E.Adamska, B.Grobelna, „Core-shell nanostructures as innovative nanocarriers in drug delivery systems”, XVIII Kopernikańskie Seminarium Doktoranckie, Toruń, Polska, 2025.

A.Kowalska, E.Adamska, M.Sroczyński, A.Wcisło, P.Oller, B.Grobelna, „Charakterystyka oraz optymalizacja metody otrzymywania nanostruktur Ag@SiO₂”, VI Konferencja Naukowa Chemia-Biznes-Środowisko, Gdańsk, Polska, 2024.

A.Kowalska, E.Adamska, B.Grobelna, „Nanostructures based on gold and silica - optimization of the preparation method and characterization for possible applications in medicine and cosmetology”, XVII Kopernikańskie Seminarium Doktoranckie, Toruń, Polska, 2024.

A.Kowalska, E.Adamska, P.Bojarski, B.Grobelna, A.Synak, „New core-shell nanocomposites - synthesis, characterization, and fluorescence properties”, 8th International Workshop on Advanced Spectroscopy and Optical Materials, Gdańsk, Polska, 2024.

A.Kowalska, E.Adamska, B.Grobelna, „Modification of the surface of core-shell nanostructures with amino, and thiol groups and determination of the number of deposition”, Baltic Chemistry Conference, Gdańsk, Polska, 2023.

A.Kowalska, E.Adamska, B.Grobelna, „Multifunkcjonalne nanostruktury typu core-shell na bazie nanocząstek złota i krzemionki”, X Łódzkie Sympozjum Doktorantów Chemii, Łódź, Polska, 2023.

A.Kowalska, K.Deja, A.Kalinowska, E.Adamska, B.Grobelna, „Synteza i wstępna charakterystyka nanostruktur typu rdzeń-otoczka”, V Konferencja Naukowa Chemia-Biznes-Środowisko, Gdańsk, Polska, 2023.

A.Kowalska, E.Adamska, B.Grobelna, „Au@SiO₂ - nanostruktury typu core-shell”, II Ogólnopolska Studencka Konferencja Naukowa "Bliżej Chemii", Kraków, Polska, 2022.

A.Kowalska, E.Adamska, B.Grobelna, „Gold nanoparticles bound to silica - synthesis and characterization of the obtained nanocomposite”, 3rd European Symposium on Chemical Bonding, Amsterdam, Holandia, 2022.

A.Kowalska, E.Adamska, B.Grobelna, „Mikroplastik w kosmetykach - realne zagrożenie środowiska”, III Pomorskie Studenckie Sympozjum Chemiczne, Gdańsk, Polska, 2021.

A.Kowalska, E.Adamska, B.Grobelna, „Nanocząstki złota - charakterystyka, właściwości i zastosowanie w kosmetyce”, III Konferencja Naukowa "Chemia - Biznes - Środowisko", Gdańsk, Polska, 2021.

A.Wejman-Leszkiwicz, **A.Kowalska**, E.Adamska, B.Grobelna, „Hybrydowe systemy nanonośnikowe w matrycach hydrożelowych jako potencjalne nowoczesne rozwiązania w terapii łuszczycy”, VIII Konferencja Naukowa Chemia – Biznes – Środowisko, Gdańsk, Polska, 2026.

E.Wargala, **A.Kowalska**, E.Adamska, B.Grobelna, „Znaczenie znamion kukurydzy (*Stigma maydis*) w medycznych i kosmetologicznych aspektach terapii stopy cukrzycowej”, VIII Konferencja Naukowa Chemia – Biznes – Środowisko, Gdańsk, Polska, 2026.

M.Starczewska, W.Sobiecka, E.Adamska, **A.Kowalska**, B.Grobelna, „Otrzymywanie i właściwości nanostruktur opartych na ditlenku tytanu jako nośników związków aktywnych w zakresie promieniowania UV”, VIII Konferencja Naukowa Chemia – Biznes – Środowisko, Gdańsk, Polska, 2026.

W.Sobiecka, M.Starczewska, E.Adamska, **A.Kowalska**, B.Grobelna, „Wielofunkcyjne układy nanostrukturalne jako strategia stabilizacji filtrów UVA i ograniczenia stresu oksydacyjnego”, VIII Konferencja Naukowa Chemia – Biznes – Środowisko, Gdańsk, Polska, 2026.

E.Adamska, **A.Kowalska**, K.Zima, B.Grobelna, „Multifunkcjonalne nanomateriały hybrydowe Au@TiO₂ w produktach kosmetycznych o działaniu fotoprotekcyjnym”, VII Sympozjum "Biomateriały w medycynie i kosmetologii", Toruń, Polska, 2026.

E.Wargala, **A.Kowalska**, E.Adamska, B.Grobelna, „Curcuma longa L. jako bioaktywny składnik kosmetyczny: właściwości antyoksydacyjne, przeciwzapalne i regenerujące skórę z potencjalnym zastosowaniem w pielęgnacji stopy cukrzycowej”, VII Sympozjum "Biomateriały w medycynie i kosmetologii", Toruń, Polska, 2026.

E.Wargala, **A.Kowalska**, E.Adamska, B.Grobelna, „Punica granatum L., jako potencjalny składnik kosmetyczny do pielęgnacji stopy cukrzycowej”, II Ogólnopolska Konferencja Naukowa "Kosmotrend. Naturalne surowce kosmetyczne", Gliwice, Polska, 2026.

E.Adamska, **A.Kowalska**, B.Grobelna, „Od struktury do funkcji: katalityczne możliwości nanocząstek rdzeń–powłoka”, XII Polska Konferencja Chemii Analitycznej, Gdańsk, Polska, 2025.

M.Ciborowska, E.Adamska, **A.Kowalska**, B.Grobelna, „Optymalizacja procesu syntezy i fizykochemiczna charakterystyka hydrożeli na bazie hialuronianu sodu”, VII Konferencja Naukowa Chemia - Biznes – Środowisko, Gdańsk, Polska, 2025.

N.Szewczyk, E.Adamska, **A.Kowalska**, B.Grobelna, „Złoto i srebro kontra zanieczyszczenia: bimetaliczne nanocząstki Au-Ag jako katalizatory rozkładu barwników organicznych”, VII Konferencja Naukowa Chemia - Biznes – Środowisko, Gdańsk, Polska, 2025.

W.Rapior, K.Bieniek, **A.Kowalska**, B.Grobelna, E.Adamska, „Synteza nanocząstek złota metodami redukcji chemicznej i zielonej chemii oraz ich zastosowanie w maskach hydrożelowych”, VI Konferencja Naukowa Chemia-Biznes-Środowisko, Gdańsk, Polska, 2024.

E.Adamska, A.Wcisło, **A.Kowalska**, B.Grobelna, „Określanie właściwości powierzchni złożonych z nanocząstek plazmowych”, XIV Kopernikańskie Seminarium Doktoranckie, Toruń, Polska, 2021.

Uczestnictwo w projektach

Program małych grantów – UGrants – start 5 realizowany w ramach Inicjatywy Doskonałości Uczelnia Badawcza (IDUB) w Uniwersytecie Gdańskim, nr 533-BG20-GS12-25 – kierownik projektu

Projekt w ramach Badań Naukowych Służących Rozwojowi Młodych Naukowców oraz Uczestników Studiów Doktoranckich nr 539-T050-B237-26 – kierownik projektu

Projekt w ramach Badań Naukowych Służących Rozwojowi Młodych Naukowców oraz Uczestników Studiów Doktoranckich nr 539-T050-B130-24 – kierownik projektu

Projekt w ramach Badań Naukowych Służących Rozwojowi Młodych Naukowców oraz Uczestników Studiów Doktoranckich nr 539-T050-B996-23 – kierownik projektu

Działalność pozanaukowa

Udział w organizacji (przeprowadzenie warsztatów “Świat kosmetyków”) Dnia Otwartego Wydziału Chemii UG, 2026

Udział w organizacji Pomorska Noc Naukowców (przeprowadzenie warsztatów pt. “Czy wskaźniki mają pH?”), 2025

Członek komitetu organizacyjnego konferencji XII Polska Konferencja Chemii Analitycznej (PoKoChA 2025)

Udział w organizacji (przeprowadzenie warsztatów pt. “Świat kosmetyków”) Dnia Otwartego Wydziału Chemii UG, 2025

Udział w przygotowaniu stanowisk laboratoryjnych do olimpiady chemicznej (edycja 70), 2024

Członek komitetu organizacyjnego konferencji The 8th International Workshop on Advanced Spectroscopy and Optical Materials, IWASOM 2024

Udział w organizacji (przeprowadzenie warsztatów pt. “Czy wskaźniki mają pH?”) Dnia Otwartego Wydziału Chemii UG, 2024

Udział w przygotowaniu stanowisk laboratoryjnych do olimpiady chemicznej (edycja 69), 2023

Inne osiągnięcia

Laureatka (II miejsce) konkursu Young Fahrenheit 2025/2026

Zespołowa nagroda Rektora czwartego stopnia za cykl publikacji dotyczących otrzymywania i analizy nanostruktur zdolnych do selektywnych oddziaływań międzycząsteczkowych, 2025

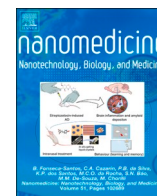
Finalistka konkursu Young Fahrenheit 2024/2025

II miejsce za najlepszy referat wygłoszony na VII Interdyscyplinarna Konferencja Nano(&)BioMateriały - od teorii do aplikacji, 2025

II miejsce za najlepszy plakat naukowy zaprezentowany w trakcie XVIII Kopernikańskiego Seminarium Doktoranckiego, 2025

Nagroda Santander dla studentów i doktorantów Uniwersytetu Gdańskiego, 2023

Artykuły



Synthesis and characterization of Au@SiO₂ core-shell nanostructures for improved antibiotic delivery systems

Agata Kowalska, Elżbieta Adamska, Anna Wcisło, Michał Sroczynski, Magdalena Datta, Janusz Rak, Piotr Skowron, Beata Grobelna*

Faculty of Chemistry, University of Gdansk, Wita Stwosza 63, 80-308, Gdansk, Poland

ARTICLE INFO

Keywords:

Drug delivery system
Nanocarriers
Core-shell nanostructures
Antibiotics
Gold nanoparticles

ABSTRACT

Gold nanoparticles (Au NPs) are widely used in medicine, however, their tendency to agglomerate can increase toxicity, which is a significant limitation. To counteract this, they are covered with a neutral coating, e.g. silica, which, among other things, allows their use as drug delivery systems. In this publication, Au@SiO₂ nanostructures were synthesized and functionalized with antibiotics - amoxicillin (AMOX) or mupirocin (MUP). The nanocarriers were characterized by spectroscopic, microscopic, wettability, cytotoxicity and percutaneous permeability tests. In addition, microbiological tests were performed, and the drug release rate of the nanostructure-antibiotic conjugates was investigated. Preliminary results showed that Au@SiO₂ can deliver even hydrophobic drugs and provide a prolonged release of the active substance. The nanocarriers showed low cytotoxicity and did not penetrate the skin. Moreover, conjugation with antibiotics indicates the potential of these nanomaterials as innovative components of hydrogel dressings for difficult-to-heal wounds.

Introduction

Undoubtedly, antibiotics have played an important role in the protection and saving of human health and life from infections caused by pathogens.^{1,2} The improper use of antibiotics and, above all, their excessive abuse have led to the development of resistance by microorganisms to the drugs used in treatments, causing increasingly less effective treatment.^{3,4} Antibiotic resistance is one of the biggest health problems in the world, due to which about 700 thousand deaths are recorded worldwide each year.⁵ It is predicted that by 2050, infectious diseases and the decreasing effectiveness of antibiotic therapy may be one of the leading causes of mortality in the world and cause 10 million deaths.⁶

Nanotechnology is one tool currently being studied to solve the problem of drug resistance in microorganisms. Nanometric structures are currently one of the most promising strategies to overcome this problem, and their application as nanosystems for drug delivery constitutes a significant part of research on nanomedicine.⁷ Among the carriers, metallic nanoparticles, including nanogold (Au NPs), arouse great interest, and they are a suitable platform for developing new

efficient drug delivery systems.^{8–11} A significant advantage is the possibility of modifying and tuning the surface of nanoparticles, which makes it possible to attach even hydrophobic drugs.¹² There are also various approaches to drug loading through covalent attachment and non-covalent interactions, depending on the intended application. Furthermore, Au NPs have been reported to exhibit antioxidant and anti-inflammatory effects, which may be beneficial in biomedical applications.^{13,14} The use of Au NPs as a delivery nanosystem, makes it possible to obtain a multifunctional system characterized by the combined properties of Au NPs and the attached drug molecule. One disadvantage of nanoparticles is their potential toxicity, which is influenced by, among others thing, the size and shape of the obtained nanostructures or stabilizers that are used during the synthesis of nanomaterials. The above factors can cause the formation of agglomerates, which pose a high risk of cytotoxicity.^{15,16} To counteract toxicity, nanostructures are surrounded by a protective shell that provides stability. This combination is called *core-shell* nanostructures, with an even wider range of possibilities, including drug delivery systems.¹⁷ Nanostructures based on Au@SiO₂ have already been explored as drug delivery platforms, demonstrating their potential as nanocarriers for therapeutic

* Corresponding author.

E-mail addresses: agata.kowalska@ug.edu.pl (A. Kowalska), elzbieta.adamska@ug.edu.pl (E. Adamska), anna.wcislo@ug.edu.pl (A. Wcisło), michal.sroczynski@phdstud.ug.edu.pl (M. Sroczynski), magdalena.datta@phdstud.ug.edu.pl (M. Datta), janusz.rak@ug.edu.pl (J. Rak), piotr.skowron@ug.edu.pl (P. Skowron), beata.grobelna@ug.edu.pl (B. Grobelna).

<https://doi.org/10.1016/j.nano.2026.102921>

Received in revised form 23 February 2026;

Available online 26 February 2026

1549-9634/© 2026 Elsevier Inc. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

molecules.¹⁸ However, most reported studies focus primarily on material synthesis and basic physicochemical characterization.

In our research, we designed novel *core-shell* nanostructures conjugated with two antibiotics, amoxicillin (AMOX) or mupirocin (MUP). Au NPs serve as a base enabling controlled growth of the silica shell and the formation of a well-defined core-shell architecture. Combining the properties of a nanostructure core by enveloping them with a silica coating minimizes possible cytotoxicity, instability and ensures biocompatibility and functionalization through antibiotic immobilization, creating a multifunctional nanomaterial that can be used, among other things, as an innovative component of hydrogel dressings for difficult-to-heal wounds. The system design is based on the synergistic interplay between the structural Au NP core, functional SiO₂ shell, and

the biologically active drug. The conjugates will have a bactericidal effect due to the presence of the antibiotic and antioxidant properties demonstrated by gold nanoparticles.^{16–19} In addition, the pores in the silica shell allow for the packing of drug molecules and their slower release over time.¹⁹

In addition, we synthesized and characterized the nanocarrier itself (Au@SiO₂) using spectroscopic (FT-IR, UV-Vis), microscopic (TEM) methods, and thermogravimetric analysis. The stability, surface tension, and surface properties of the nanomaterial were also determined. The studies also included toxicity assessment of skin cell lines and permeability through skin coatings. In addition, a procedure for conjugating the carrier with a selected antibiotic was developed, the degree of drug release over time was examined, and microbiological tests were

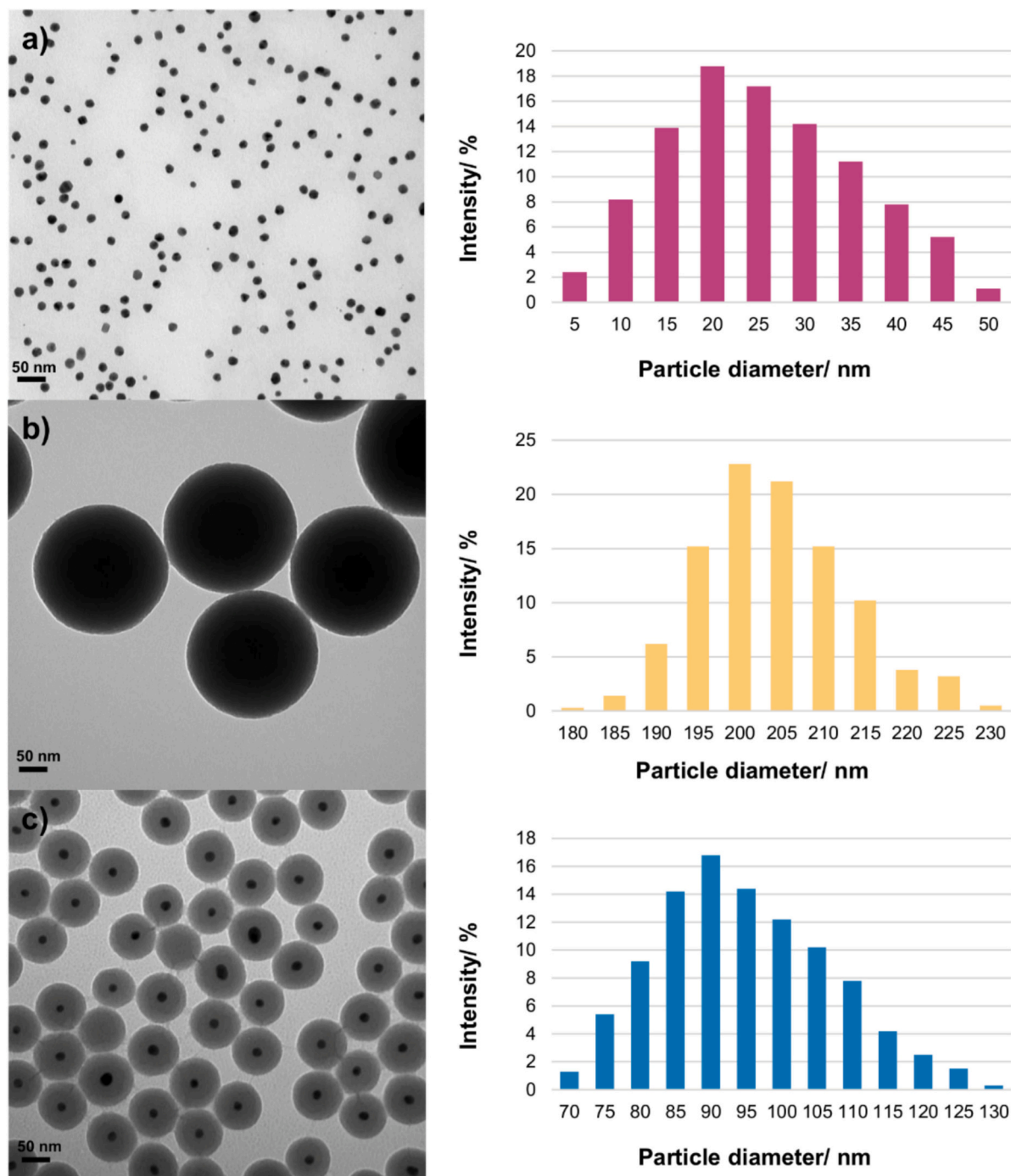


Fig. 1. TEM images and diagrams of the particle diameter for a) Au NPs, b) SiO₂ NPs, and c) Au@SiO₂.

performed. Preliminary studies have shown that the prepared conjugates are effective even in the case of hydrophobic drugs. In addition, compared to a solution of the antibiotic alone, they achieve a similar therapeutic effect at a much lower dose of the drug released from the carrier.

Methods

The procedures for the synthesis and characterization of nanostructures and their conjugates with antibiotics are presented in the supplementary materials (section S1).

Results and discussion

Characterization of obtained Au@SiO₂ core-shell nanostructures

Transmission electron microscopy (TEM)

This imaging method is extremely useful for determining and characterizing samples in terms of morphology. We can determine the size, shape, and distribution.²⁰ Fig. 1 shows TEM micrographs and size histograms taken of the obtained samples. Fig. 1a shows a photo of the Au NPs that were obtained. Based on the scale, it can be concluded that the highest intensity of NPs is in the size range of about 20 nm, moreover, they have a spherical shape, and they are quite homogeneous. The obtained SiO₂ NPs are shown in Fig. 1b, and it can be observed that they have a spherical shape, and their diameter size is most often about 200 nm. In turn, Fig. 1c shows the synthesized Au@SiO₂ nanostructures, which are exceptionally homogeneous in terms of morphology, and their total size is about 90 nm, which is also visible in the histogram. Additionally, the figure distinctly highlights the significant contrast between the core and the shell. The black color indicates the presence of gold nanoparticles as cores, and the gray shell is the silica layer. The cores are approximately 20 nm in size, while the silica shell thickness determined from TEM images is typically 35 nm.

Spectroscopy UV–Vis

Spectroscopic methods, including UV–Vis spectroscopy, can be used to identify and confirm the composition of the nanomaterial, including determining the presence of, e.g., nanoparticles in a given preparation. According to the literature data, gold nanoparticles have maximum absorption in the range of 500–600 nm.²¹ Fig. 2 shows the absorbance spectra taken for the samples that were obtained. For Au@SiO₂ core-shell nanostructures (Fig. 2b) and Au NPs (Fig. 2a), peaks related to the absorption maximum at a wavelength of 520 nm are observed. This result confirms the nanogold in both samples and indicates that the average size of the obtained nanoparticles is about 20 nm.²² In turn, the visible

spectrum taken for SiO₂ NPs (Fig. 2a) in this range does not show any characteristic peaks, which was also confirmed in other works.²³

Dynamic Light Scattering - particle size analysis (DLS)

Analysis of particle size distribution can be a complementary method to determine the size of a nanomaterial by analyzing TEM images. The size diagrams of the nanomaterials are presented in Fig. S1. The maximum size distribution of Au NPs is around 30 nm, while for Au@SiO₂ it is approximately 100–120 nm due to presence of the silica shell. The polydispersity index (PDI) for Au NPs was determined to be 0.283, and for Au@SiO₂ was 0.253 indicating moderately narrow hydrodynamic size distributions and acceptable colloidal uniformity. The values read from the analyzed TEM photos are slightly smaller. The reason for the larger differences obtained in the diagram may be the measurement of two nanoparticles that are located close to each other and the fact that the measurements are influenced by surface layers and solvent interactions.

Electrophoretic Light Scattering - zeta potential (ELS)

Based on the measured zeta potential, it can be determined whether the colloidal solution can be considered stable or unstable. Values < −30 or > 30 mV are regarded as the limit range of values defining the stability of dispersion.²⁴ The measured zeta potential for Au NPs is presented in Fig. S2a and is −42 mV. The negative value may be due to using negatively charged citrate ions from the reducing agent used. The result for the Au@SiO₂ sample is shown in Fig. S2b. The obtained potential value is −35 mV, and the negative value is due to negatively charged places on the surface of the silica shell. The obtained results confirm that stable nanomaterials were successfully obtained, which is an extremely important issue when planning the use of nanostructures in the medical and pharmaceutical industries.

Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR)

Transmittance spectra were also recorded for the obtained nanomaterial samples (Fig. S3). Fig. S3a presents the transmittance spectrum taken for Au NPs. It shows broad absorption bands in the range above 3000 cm^{−1}. This signal comes from stretching vibrations of the −OH group; also, from this group, a signal is visible at 1590 cm^{−1}.²⁵ The presence of hydroxyl groups may be due to adsorbed water on the surface of the nanoparticles. The IR band seen at 1400 cm^{−1} is attributed to the bending signals coming from C–O–H, which is most likely due to the sodium citrate used to obtain the nanoparticles.^{26,27} The visible spectrum obtained for Au@SiO₂ nanostructures, in addition to the signals mentioned above, also shows signals at 2850 and 2920 cm^{−1} from stretching vibrations of methylene groups (−CH₂), which are attributed to vibrations of ethanol molecules that were used in the synthesis

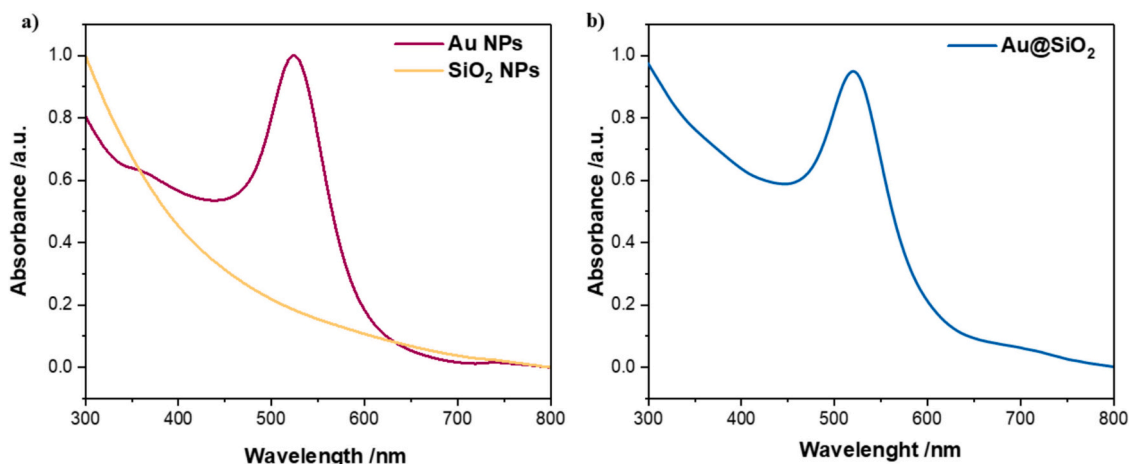


Fig. 2. Absorption spectra for a) Au NPs, SiO₂ NPs, and b) Au@SiO₂.

process and were adsorbed on the sample surface. Absorption bands of –OH groups may also appear due to the presence of ethanol. Bands from the silica shell were also recorded, visible at 1200 cm^{-1} and 1100 cm^{-1} signals corresponding to stretching vibrations of siloxane groups.^{28,29} Fig. S3b shows the spectrum recorded for SiO₂ NPs. The strong bands at 470, 800, and 1100 cm^{-1} from stretching vibrations of symmetric and asymmetric siloxane groups are visible, while the band visible at 950 cm^{-1} corresponds to stretching vibrations from silanol groups occurring in the silica lattice.³⁰ In contrast, all bands present on the spectrum above 1300 cm^{-1} come from vibrations of ethanol molecules.

Thermogravimetric analysis (TG)

As part of the characterization, thermogravimetric analysis (TGA) and derivative thermogravimetric (DTG) analysis were performed for samples of SiO₂ NPs and Au@SiO₂ (Fig. S4). For SiO₂ NPs, the weight loss of 10.52% between 50 and $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ results from the desorption of water adsorbed on the surface of the nanoparticles.³¹ The weight loss for SiO₂ NPs and Au@SiO₂ core-shell nanostructures between 100 and $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ is 15.24%; related to the reduction of –OH groups on the silica surface. In contrast, for SiO₂ NPs, the weight loss of 2.08% in the $450\text{--}700\text{ }^{\circ}\text{C}$ range was associated with the decomposition of the residual organic group ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{--}$) from TEOS.^{32,33}

Water contact angle measurement (wettability measurements)

To assess the nature of the surface of nanomaterials, a series of contact angle measurements were performed; assessing such properties is extremely important in planning subsequent possible uses and applications of the nanomaterial. Measurements were made for thin layers of the obtained nanostructures applied to a glass plate and for a reference test on clean glass. The results presented in Fig. S5 and Table 1 show that a hydrophilic surface characterizes all nanomaterials. Pure Au NPs have a contact angle of 44.2° , while SiO₂ NPs are so hydrophilic that the angle is immeasurable. Additionally, covering Au NPs with a silica coating causes a significant reduction in the wetting angle to 11.1° . It should be noted that although silica constitutes the outermost surface of both SiO₂ nanoparticles and Au@SiO₂ core-shell nanostructures, their wetting behavior is not identical. This suggests that differences in the structural condensation of the silica layer and the accessibility of surface silanol groups, rather than particle size alone, contribute to the observed variation in water contact angle.

The relatively high surface tension value (Table 1) for the Au NPs sample might indicate that Au NPs do not significantly disrupt the cohesive forces between water molecules (SFT 74.32 ± 0.75). This could be due to the particles being relatively non-reactive or having a surface coating that minimally interacts with water. On the other hand, the high surface tension for SiO₂ NPs, despite the hydrophilic nature, might be attributed to the forming of a strong solid-liquid interface due to the extensive hydrogen bonding between the silanol groups on the silica surface and water molecules. This could lead to a more ordered water structure at the interface, increasing surface tension. The lower surface tension value for Au@SiO₂ compared to SiO₂ NPs could be attributed to the presence of the gold core, which might introduce some hydrophobic character or alter the surface silanol groups' accessibility to water molecules, leading to a slight decrease in surface tension.

The differences in water contact angles and surface tension of suspensions among Au NPs, SiO₂ NPs, and Au@SiO₂ core-shell nanoparticles

highlight the importance of surface chemistry and composition in determining the wetting properties and interactions with water. The hydrophilic nature of silica plays a dominant role in the behavior of SiO₂ NPs and Au@SiO₂ nanoparticles, while the surface properties of Au NPs suggest a more balanced or modifiable surface chemistry. These findings underscore the potential for tailoring the surface properties of nanomaterials to achieve desired wetting characteristics and interactions with aqueous environments, which is crucial for applications in sensors, catalysis, drug delivery, and more.

Transdermal permeability test

For the obtained Au@SiO₂ sample, tests were conducted to assess the transdermal permeability through biological membranes, as shown in Fig. 3a. The permeability test was evaluated after a week using UV-Vis spectroscopy. For this purpose, a solution was taken from the Franz chamber (gray line), and a reference solution (blue line) was prepared containing the total volume of nanostructures applied to the membrane. The reference solution shows an absorption maximum at a wavelength characteristic of Au@SiO₂ core-shell nanostructures. In contrast, the solution taken from the diffusion chamber does not show an absorption band, meaning there are no Au@SiO₂ nanostructures in the solution. Therefore, it can be concluded that the nanostructures completely stop on the skin and do not penetrate it. Moreover, in order to determine the limit of detection (LOD) of Au@SiO₂ nanostructures (Fig. 3b), a series of dilutions were made and examined spectrophotometrically; the lowest detectable concentration was $4.74 \times 10^{-8}\text{ M}$.

Cytotoxicity on skin cell lines

Fig. 4 shows viability plots of skin cells derived from (a) keratinocytes (HaCaT) and (b) fibroblast cell lines (HDF) treated with Au NPs, SiO₂ NPs, and Au@SiO₂, respectively. Analysis of the results obtained allows us to conclude that none of the nanomaterials mentioned above poses a risk of cytotoxicity to the given skin cell lines. Moreover, using a silica shell around the Au NPs makes such a hybrid nanomaterial the safest, even at the highest concentrations used in the study. The results obtained confirm that the use of Au@SiO₂ as a carrier for drugs applied to the skin is safe.

Au@SiO₂ nanostructures as an antibiotic delivery system

Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR)

Fig. 5a shows the FT-IR spectra obtained for AMOX and Au@SiO₂/AMOX. The spectrum of AMOX shows two broad and strong signals at 1680 and 1580 cm^{-1} , which can be assigned to hydroxyl groups. The visible broad band above 3000 cm^{-1} is present due to the presence of –OH and –NH experienced by COOH and NH₂ groups. The FT-IR spectra of MUP and Au@SiO₂/MUP are shown in Fig. 5b. The spectrum of MUP shows a characteristic band at 1700 cm^{-1} corresponding to the C=O stretching. The bands at 2850 and 2920 cm^{-1} are attributed to C–H deformation. Many bands are visible in the range around 1100 cm^{-1} , corresponding to the stretching vibrations from C–O–C. In both cases of Au@SiO₂/AMOX and Au@SiO₂/MUP, characteristic peaks for the silica shell appear. The peaks corresponding to antibiotics were shifted, less visible, or completely disappeared in the FT-IR spectra. This may indicate the formation of non-covalent bonds between the nanostructures and antibiotics, which suggests the effective loading of drug molecules in the silica pores of the nanostructures.

Drug release

Figs. 6 and 7 show the results of the drug release study from obtained nanostructures. In the case of the Au@SiO₂/AMOX carrier (Fig. 6), an increase in drug release over time can be observed; after a week, the concentration of released AMOX was the highest and amounted to 0.5087 mg/mL , i.e., 50% of the dose was released from the carrier. On

Table 1
Water contact angle and surface tension values for measured nanomaterials.

Sample	WCA [°]	SFT [mN/m]
Au NPs	44.20 ± 0.34	69.49 ± 0.81
SiO ₂ NPs	–	71.32 ± 0.17
Au@SiO ₂	11.01 ± 2.23	61.90 ± 0.88

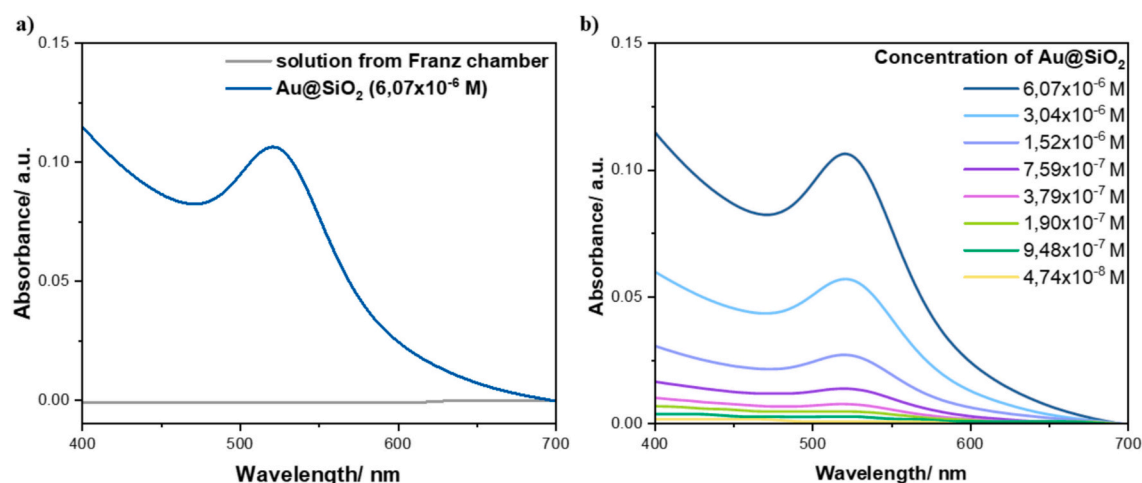


Fig. 3. Absorption spectra of a) the obtained Au@SiO₂ and the solution taken from the Franz cell and b) the lowest concentration of Au@SiO₂ that can be measured (detected).

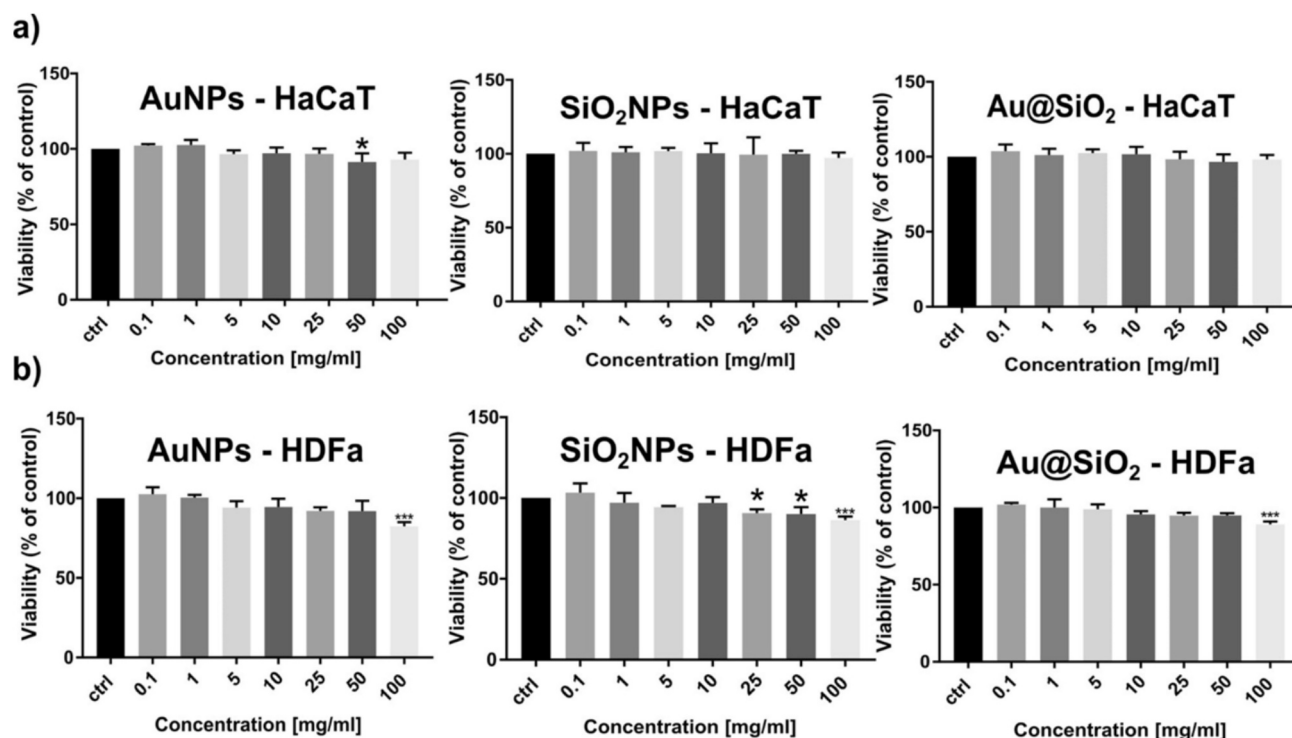


Fig. 4. The viability of A375 for (a) HaCaT, (b) and HDFa cells after 48 h treatment with tested compounds. Results are shown as the mean $\pm$ standard deviation (SD) of three independent experiments performed in triplicate. Statistically significant differences between treated cultures compared with control (culture treated with vehicle) at the level: * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$; *** $p < 0.0001$.

the other hand, the tests performed for Au@SiO₂/MUP (Fig. 7) also confirm that the longer the time, the higher the dose of antibiotic is released. Still, these are lower values than for Au@SiO₂/AMOX because, after a week, 11.5% of the amount of loaded drug in the nanocarrier was released. This difference reflects the distinct physicochemical properties of the antibiotics, particularly their hydrophilicity and molecular interactions with the silica shell.

These release profiles provide a basis for discussing the functional performance of the Au@SiO₂ nanocarriers in relation to drug-carrier interactions. The primary objective of this study was to establish a proof-of-concept platform for Au@SiO₂ nanocarriers and to identify their affinity and compatibility with antibiotics of different physicochemical properties. Rather than optimizing quantitative encapsulation

parameters, the loading strategy was designed to qualitatively assess how the proposed nanocarriers interact with hydrophilic and hydrophobic drugs and how these interactions translate into drug retention and release behavior under biologically relevant conditions. In this context, the performance of the proposed Au@SiO₂ nanocarriers can be discussed relative to reported silica-based delivery systems. Gold-mesoporous silica nanocarriers have been shown to achieve high loading efficiencies for amoxicillin, primarily due to their developed mesoporosity. However, these systems typically exhibit limited cumulative release under physiological conditions, often not exceeding ~10–15% over several days.¹⁸

In contrast, the Au@SiO₂ nanocarriers developed in the present work demonstrate a substantially higher cumulative release of amoxicillin,

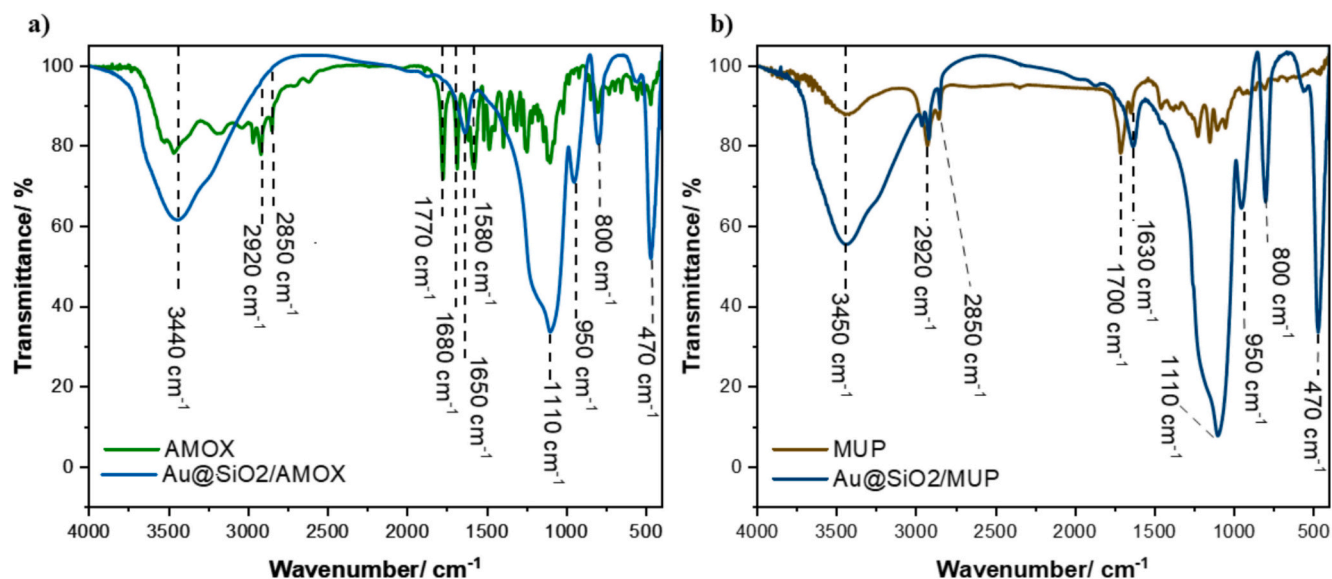


Fig. 5. FT-IR spectra of a) AMOX and synthesized Au@SiO₂/AMOX and b) MUP and synthesized Au@SiO₂/MUP.

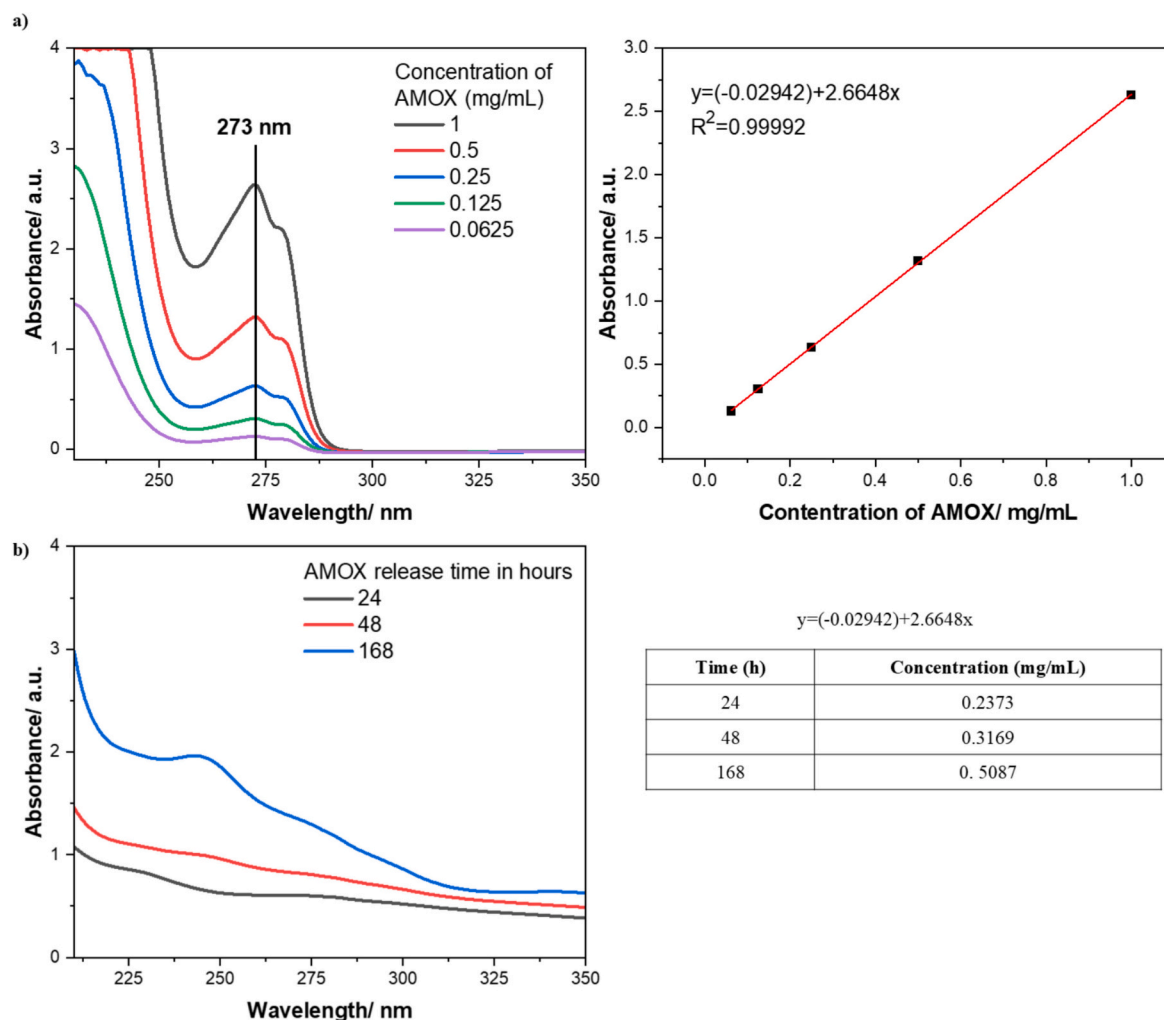


Fig. 6. a) Standard curve for AMOX and b) tested degree of this antibiotic release from the Au@SiO₂ nanostructure.

reaching approximately 50% after 7 days, despite the absence of mesoporosity. This observation suggests that efficient therapeutic delivery

can be achieved through controlled drug retention and release, rather than high encapsulation efficiency alone.

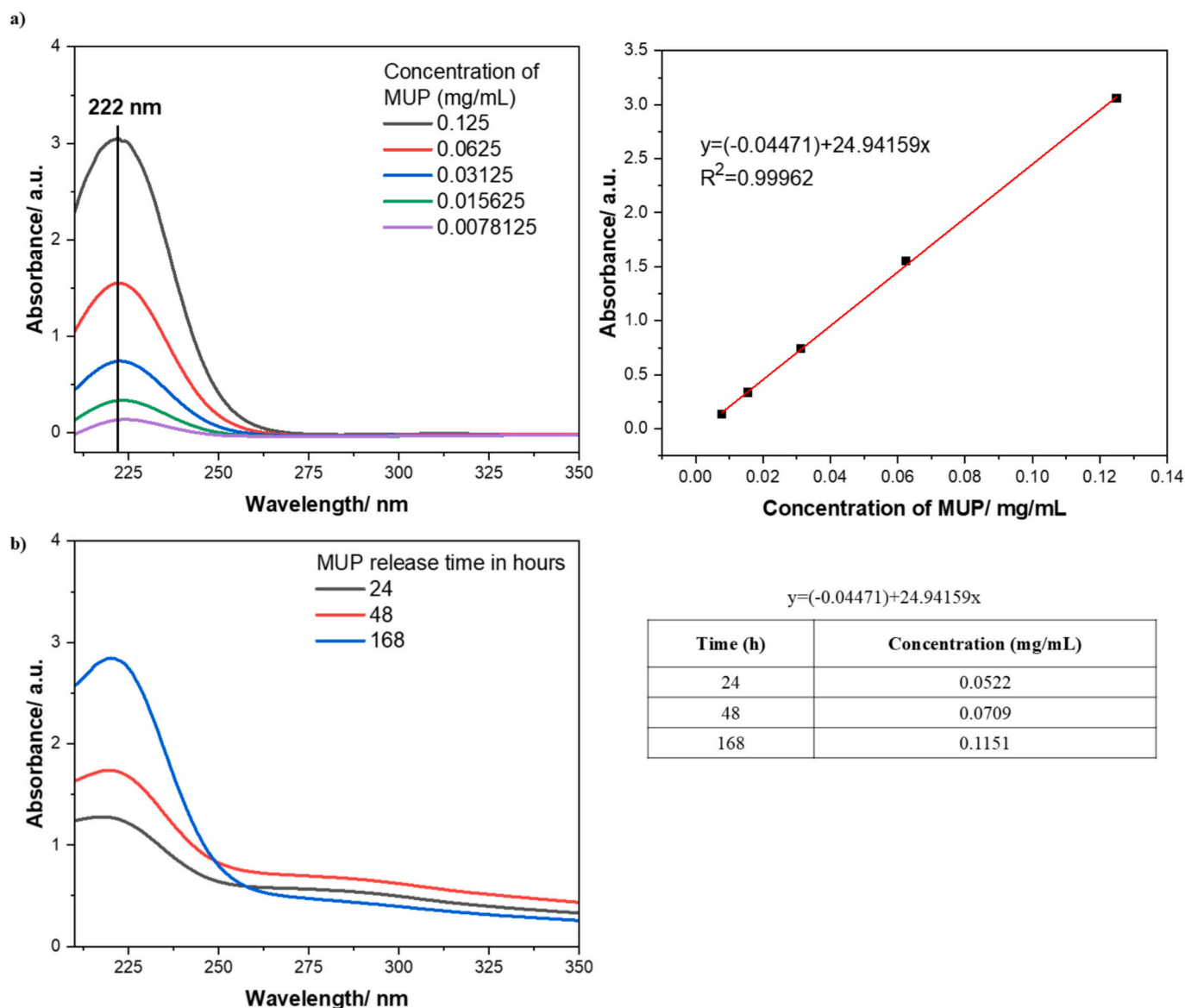


Fig. 7. a) Standard curve for MUP and b) tested degree of this antibiotic release from the Au@SiO₂ nanostructure.

The delivery of mupirocin, a highly hydrophobic antibiotic, represents an additional challenge in nanocarrier design. Previous studies employing silica-based carriers for mupirocin delivery report successful drug incorporation but are frequently associated with rapid or burst-type release profiles, limiting prolonged antimicrobial action. For example, silica microspheres loaded with mupirocin exhibited initial burst release followed by limited sustained delivery in wound healing scaffolds.³⁴

In comparison, the sustained release of mupirocin observed for the Au@SiO₂ system (~11.5% after 7 days) highlights the ability of the silica shell to effectively retain hydrophobic molecules and enable prolonged release, which is particularly advantageous for topical nanomedicine applications.

Zone of inhibition test for antimicrobial activity

All tested formulations cause zones of inhibited growth. This proves that the *E. coli* strain is sensitive to the active substances used in the test. The main difference between plates is in the diameter of the inhibition zones.

These zones are similar in MUP and Au@SiO₂/MUP. It can be seen

that in AMOX and Au@SiO₂/AMOX, the difference between antibiotic and *core-shell*/antibiotic is about 10 mm between successively used masses of preparations. Due to the smaller zones of growth inhibition on plates with Au@SiO₂/AMOX compared to AMOX, it can be suspected that nanostructures reduce the diffusion of the antibiotic deep into the medium or reduce its thermal stability. All diameters of the Zone of Inhibition are in Table 2.

Additionally, all the plates began to appear and grow around the edge of the zones satellite colonies, as shown in Fig. 8. The causes of this can be the declining concentration of active substances and their thermal degradation. In comparison to both AMOX and Au@SiO₂/AMOX, comparable differences in the number of satellite colonies could not be observed. However, there is an evident difference between MUP and Au@SiO₂/MUP. Fewer satellite colonies are observed on the Au@SiO₂/MUP plate than on the MUP analysis plate (the satellite colonies are smaller), which may indicate a greater thermal resistance to the degradation of Au@SiO₂/MUP particles.

Minimum inhibitory concentration

As shown in Table 3, the MIC is 15.63 µg/mL for AMOX, and for

Table 2

Antimicrobial activity of antibiotics (MUP and AMOX) with or without nanostructures against *E. coli* K38 KPD 92-BA.

The active substance in sample	Quantity [μg]	Diameter of the Zone of Inhibition [mm]				Standard deviation (±SD)
		Measurement		Average		
AMOX	10	17	18	17	17.3	0.6
	20	21	21	22	21.3	0.6
	30	25	26	26	25.7	0.6
Au@SiO ₂ /AMOX	10	6	7	6	6.3	0.6
	20	11	10	10	10.3	0.6
	30	16	15	13	14.7	1.5
MUP	10	23	22	23	22.7	0.6
	20	28	27	27	27.3	0.6
	30	31	30	30	30.3	0.6
Au@SiO ₂ /MUP	10	24	25	24	24.3	0.6
	20	28	27	28	27.7	0.6
	30	33	28	31	30.7	2.5

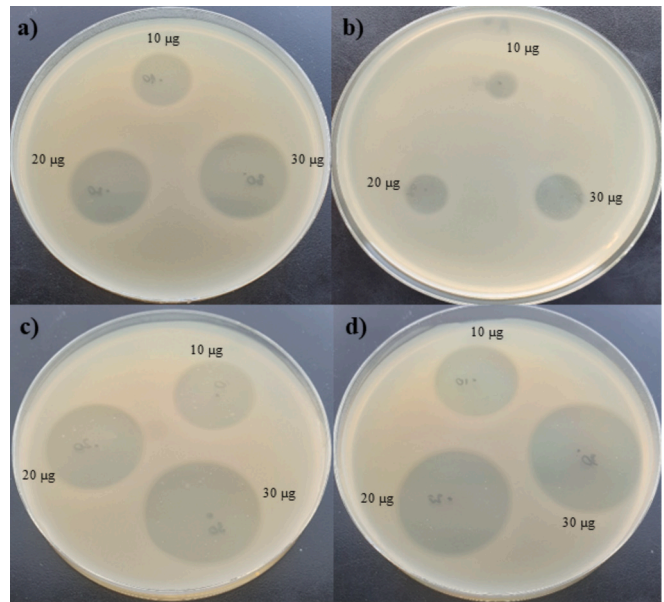


Fig. 8. Exemplary photographs of Zone of Inhibition test results of antibiotics (MUP and AMOX) with or without Au@SiO₂ used against *E. coli* K38 KPD 92-BA. Tested compounds were applied on each plate in the amounts of 10, 20 and 30 μg at equal distances from each other and incubated overnight at 37 °C. a) AMOX, b) Au@SiO₂/AMOX, c) MUP and d) Au@SiO₂/MUP.

Au@SiO₂/AMOX is 62.5 μg/mL. The same MIC is for MUP and Au@SiO₂/MUP, which is 31.25 μg/mL. Moreover, there are correlations between MIC and ZI; both of them are dependent on each other. If the bacterial strain is sensitive to the active substance, the value of MIC is low, while the diameter of ZI is large.

Conclusions

In conclusion, new nanotechnology-based drug delivery nanostructures based on Au@SiO₂ core-shell nanostructures for hydrophilic and hydrophobic antibiotics have been successfully fabricated. The fabricated Au@SiO₂ core-shell nanosystems show colloidal stability, homogeneity in shape and size, a hydrophilic surface, and safety when used in skin cells. AMOX and MUP antibiotics were incorporated into Au@SiO₂ core-shell nanostructures to improve their effectiveness at lower, safer concentrations. The results show that in both cases, Au@SiO₂/AMOX and Au@SiO₂/MUP conjugates were characterized by microbiological activity. The most significant difference in antibiotic activity combined with Au@SiO₂ or without them was for nanosystems

Table 3

Minimum inhibitory concentration (MIC) of antibiotics (mupirocin and amoxicillin) with or without NPs against *E. coli* K38 KPD 92-BA. On gray or “+” bacterial culture, still grew; on white or “–” was stopped. The positive control (K+) contains bacterial inoculum and LB media, and the negative control (K-) contains only LB media. The MIC has the lowest antibiotic concentration and inhibits bacterial growth.

		MUP	Au@SiO ₂ /MUP	AMOX	Au@SiO ₂ /AMOX
1	Antibiotic	250.00	250.00	250.00	250.00
2	concentrations [μg/	125.00	125.00	125.00	125.00
3	mL]	62.50	62.50	62.50	62.50
4		31.25	31.25	31.25	31.25
5		15.63	15.63	15.63	15.63
6		7.81	7.81	7.81	7.81
7		3.91	3.91	3.91	3.91
8		1.95	1.95	1.95	1.95
9		0.98	0.98	0.98	0.98
10		0.49	0.49	0.49	0.49
K+		+	+	+	+
K-		–	–	–	–
MIC μg/mL		31.25	31.25	15.63	62.5

with AMOX. It seems that the presence of core-shell nanostructures interfered with the effect of the antibiotic (high value of NPs-AMOX MIC and the smallest diameter in ZI, compared to others). The activity of Au@SiO₂/MUP or without core-shell nanostructures was the same (same MIC value and similar ZI diameters). The only difference between activities was that more satellite colonies appeared on plates with MUP than NPs-MUP on the ZI test.

The most important information from our studies is that lower doses of drugs released over time cause a therapeutic effect, which is especially visible in the case of Au@SiO₂/AMOX nanosystem. However, in the case of the Au@SiO₂/MUP nanosystem, the impact is comparable to the antibiotic itself.

The above studies show that the nanocarriers obtained are excellent delivery systems for hydrophobic drugs. The development of the field of nanotechnology also creates a predisposition to extend research work with more advanced techniques and a more thorough analysis of nanostructures as carriers of medicinal substances, including antibiotics, to search for increasingly effective therapeutic therapies.

CRedit authorship contribution statement

Agata Kowalska: Writing – review & editing, Writing – original draft, Visualization, Methodology, Investigation, Funding acquisition, Data curation, Conceptualization. Elżbieta Adamska: Writing – review & editing, Writing – original draft, Visualization, Supervision, Funding acquisition, Conceptualization. Anna Weisło: Writing – original draft, Methodology. Michał Sroczynski: Writing – original draft, Methodology. Magdalena Datta: Writing – original draft, Methodology. Janusz Rak: Writing – review & editing, Supervision. Piotr Skowron: Writing – review & editing, Supervision. Beata Grobelna: Writing – review & editing, Writing – original draft, Supervision, Investigation, Conceptualization.

Funding

This research was supported by the University of Gdansk under the UGrants-START 5 Small Grants Program 2025 no. 533-BG20-GS13-25 (A.K.).

Declaration of competing interest

The authors declare no competing interests.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.nano.2026.102921>.

References

- Uddin TM, Chakraborty AJ, Khushro A, Zidan BRM, Mitra S, Emran TB, et al. Antibiotic resistance in microbes: history, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *J Infect Public Health*. 2021;14:1750–1766. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.020>.
- Aminov RI. The role of antibiotics and antibiotic resistance in nature. *Environ Microbiol*. 2009;11:2970–2988. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.01972.x>.
- Ayukekbong JA, Ntemgwana M, Atabe AN. The threat of antimicrobial resistance in developing countries: causes and control strategies. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2017;6:47. <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0208-x>.
- Larsson DGJ, Flach C-F. Antibiotic resistance in the environment. *Nat Rev Microbiol*. 2022;20:257–269. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00649-x>.
- Samreen, Ahmad I, Malak HA, Abulreesh HH. Environmental antimicrobial resistance and its drivers: a potential threat to public health. *J Glob Antimicrob Resist*. 2021;27:101–111. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.08.001>.
- Ding D, Wang B, Zhang X, Zhang J, Zhang H, Liu X, et al. The spread of antibiotic resistance to humans and potential protection strategies. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2023;254, 114734. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114734>.
- Park K. Nanotechnology: what it can do for drug delivery. *J Control Release*. 2007;120:1–3. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2007.05.003>.
- Pelgrift RY, Friedman AJ. Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance. *Adv Drug Deliv Rev*. 2013;65:1803–1815. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.07.011>.
- Duncan B, Kim C, Rotello VM. Gold nanoparticle platforms as drug and biomacromolecule delivery systems. *J Control Release*. 2010;148:122–127. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.06.004>.
- Huang H, Liu R, Yang J, Dai J, Fan S, Pi J, et al. Gold nanoparticles: construction for drug delivery and application in cancer immunotherapy. *Pharmaceutics*. 2023;15, 1868. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15071868>.
- Ghosh P, Han G, De M, Kim C, Rotello V. Gold nanoparticles in delivery applications. *Adv Drug Deliv Rev*. 2008;60:1307–1315. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2008.03.016>.
- Li W, Cao Z, Liu R, Liu L, Li H, Li X, et al. AuNPs as an important inorganic nanoparticle applied in drug carrier systems. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2019;47:4222–4233. <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1687501>.
- Tran THM, Wang R, Kim H, Kim Y-J. The anti-inflammation and skin-moisturizing effects of *Boehmeria tricuspidata*-mediated biosynthesized gold nanoparticles in human keratinocytes. *Front Pharmacol*. 2023;14. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1258057>.
- Mekky AE, Saied E, Al-Habibi MM, Shouaib ZA, Hasaballah AI, Rashed ME, et al. Eco-friendly biosynthesis of gold nanoparticles from *Amphimedon compressa* with antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory, anti-biofilm, and insecticidal properties against diseases vectors. *Sci Rep*. 2025;15, 27845. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-11838-6>.
- Schaeublin NM, Braydich-Stolle LK, Schrand AM, Miller JM, Hutchison J, Schlager JJ, et al. Surface charge of gold nanoparticles mediates mechanism of toxicity. *Nanoscale*. 2011;3:410–420. <https://doi.org/10.1039/C0NR00478B>.
- d'Amora M, Raffa V, De Angelis F, Tantussi F. Toxicological profile of plasmonic nanoparticles in zebrafish model. *IJMS*. 2021;22:6372. <https://doi.org/10.3390/ijms22126372>.
- Kowalska A, Adamska E, Grobelna B. Medical applications of silver and gold nanoparticles and core-shell nanostructures based on silver or gold core: recent progress and innovations. *ChemMedChem*. 2024;19, e202300672. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202300672>.
- Marcelo GA, Duarte MP, Oliveira E. Gold@mesoporous silica nanocarriers for the effective delivery of antibiotics and by-passing of β -lactam resistance. *SN Appl Sci*. 2020;2:1354. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-3023-6>.
- Zhang W, Liu H, Qiu X, Zuo F, Wang B. Mesoporous silica nanoparticles as a drug delivery mechanism. *Open Life Sci*. 2024;19, 20220867. <https://doi.org/10.1515/biol-2022-0867>.
- Padhi S, Behera A. Biosynthesis of silver nanoparticles: synthesis, mechanism, and characterization. In: *Agri-waste and Microbes for Production of Sustainable Nanomaterials*. Elsevier; 2022:397–440. ISBN 978-0-12-823575-1.
- Rahme K, Holmes JD. Gold nanoparticles: synthesis, characterization, and bioconjugation. In: *Dekker Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*. 3rd ed. Taylor & Francis; 2015:1–11. ISBN 978-1-4398-9134-6.
- Ibnaouf KH, Alsadig A, Idriss H, Ibrahim MA, Cabrera H. Gold nanoparticles modulate excimer and exciplex dynamics of PDDCP-conjugated polymers. *Polymers*. 2024;16, 2420. <https://doi.org/10.3390/polym16172420>.
- Netzahual-Lopantzi Á, Sánchez-Ramírez JF, Jiménez-Pérez JL, Cornejo-Monroy D, López-Gamboa G, Correa-Pacheco ZN. Study of the thermal diffusivity of nanofluids containing SiO₂ decorated with Au nanoparticles by thermal lens spectroscopy. *Appl Phys A*. 2019;125:588. <https://doi.org/10.1007/s00339-019-2891-3>.
- Sharma S, Shukla P, Misra A, Mishra PR. Interfacial and colloidal properties of emulsified systems. In: *Colloid and Interface Science in Pharmaceutical Research and Development*. Elsevier; 2014:149–172. ISBN 978-0-444-62614-1.
- Tirkey A, Babu PJ. Synthesis and characterization of citrate-capped gold nanoparticles and their application in selective detection of creatinine (a kidney biomarker). *Sensors Int*. 2024;5, 100252. <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2023.100252>.
- Dickson J, Weaver B, Vivekanand P, Basu S. Anti-neoplastic effects of gold nanoparticles synthesized using green sources on cervical and melanoma cancer cell lines. *BioNanoSci*. 2023;13:194–202. <https://doi.org/10.1007/s12668-022-01056-z>.
- Bahmanyar Z, Mohammadi F, Gholami A, Khoshneviszadeh M. Effect of different physical factors on the synthesis of spherical gold nanoparticles towards cost-effective biomedical applications. *IET Nanobiotechnol*. 2023;17:1–12. <https://doi.org/10.1049/nbt2.12100>.
- Liu D, Wang J, Zhang Y, Liu J, Li H, Zhou L, et al. Preparation of core-shell structured Au@SiO₂ nanocomposite catalyst with Au core size below 2 nm without high-temperature calcination procedure. *J Mater Sci*. 2018;53:8086–8097. <https://doi.org/10.1007/s10853-018-2085-y>.
- Montano-Priede JL, Coelho JP, Guerrero-Martínez A, Peña-Rodríguez O, Pal U. Fabrication of monodispersed Au@SiO₂ nanoparticles with highly stable silica layers by ultrasound-assisted Stober method. *J Phys Chem C*. 2017;121:9543–9551. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b00933>.
- Kowalska A, Adamska E, Synak A, Grobelna B. The optimization of the one-pot synthesis of Au@SiO₂ core-shell nanostructures: modification with Dansyl group and their fluorescent properties. *Materials*. 2024;17, 2213. <https://doi.org/10.3390/ma17102213>.
- Blinov AV, Blinova AA, Kravtsov AA, Gvozdenko AA, Kobina AV, Momot EV. *Synthesis of Multicomponent Systems Based on Silicon Dioxide and Noble Metal Nanoparticles*. India: Erode; 2019:040011.
- Lin B, Zhou S. Light-responsive nanoparticles with wettability changing from hydrophobicity to hydrophilicity and their application towards highly hydrophilic fluorocarbon coatings. *Appl Surf Sci*. 2015;359:380–387. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2015.10.111>.
- Ganapathy M, Senthilkumar N, Vimalan M, Jeysekar R, Potheher IV. Studies on optical and electrical properties of green synthesized TiO₂@Ag core-shell nanocomposite material. *Mater Res Express*. 2018;5, 045020. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/aab91b>.
- Perumal S, Ramadass SK, Madhan B. Sol-gel processed mupirocin silica microspheres loaded collagen scaffold: A synergistic bio-composite for wound healing. *Eur. J. Pharm. Sci*. 2014;52:26–33. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.10.006>.

Synthesis and Characterization of Au@SiO₂ Core-Shell Nanostructures for Improved Antibiotic Delivery Systems

Agata Kowalska, Elżbieta Adamska, Anna Weisło, Michał Sroczynski, Magdalena Datta, Janusz Rak, Piotr Skowron, Beata Grobelna*

Faculty of Chemistry, University of Gdansk, Wita Stwosza 63. 80-308 Gdansk, Poland;

agata.kowalska@ug.edu.pl, elzbieta.adamska@ug.edu.pl, anna.wcislo@ug.edu.pl,
michal.sroczynski@phdstud.ug.edu.pl, magdalena.datta@phdstud.ug.edu.pl,
janusz.rak@ug.edu.pl, piotr.skowron@ug.edu.pl, beata.grobelna@ug.edu.pl

S1. Materials and methods

All reagents and solvents were of analytical grade and used without purification. Tetrachloroauric acid (HAuCl₄), trisodium citrate dihydrate (C₆H₅Na₃O₇·2H₂O, NaCit), ammonia water (25%, NH₄OH), ethanol (C₂H₅OH, EtOH), tetraethyl orthosilicate (SiC₈H₂₀O₄, TEOS), mupirocin (C₂₆H₄₄O₉, MUP), amoxicillin (C₁₆H₁₉N₃O₅S, AMOX), purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA-IL). The MTT assay was conducted to evaluate the cytotoxic effects of the investigated compounds on melanoma cells (A375 line, ATCC), human keratinocyte cells (HaCaT line, CLS), and human fibroblasts (HDF line, CLS). All three cell lines were cultured in high glucose DMEM medium (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) supplemented with 10% fetal bovine serum (ThermoFisher Scientific) and antibiotics (penicillin and streptomycin at a concentration of 100 U·mL⁻¹, ThermoFisher Scientific). Lysogeny Agar (LA) containing 1.5% of agar, was prepared from Lysogeny Broth (LB): peptic digest of soybean, 10 g, yeast extract, 5g and NaCl, 10 g (BTL sp. z o. o.; Łódź, Poland). Semi-liquid LA medium (containing 0.6% of agar), PBS Buffer was prepared from as: 137 mM NaCl; 2.7 mM KCl (POCH S.A., Gliwice, Poland); 10 mM Na₂HPO₄ (Sigma-Aldrich); 1.8 mM KH₂PO₄ (Sigma-Aldrich). The bacteria *Escherichia coli* K38 KPD 92-BA (*E. coli*), corresponding to ATCC 35049, was from KPD collection (Faculty of Biology, University of Gdansk., Poland). Amoxicil-containing preparations correspond to Amoxiciline (AMOX). AMOX was noncovalently bonded to nanoparticles (Au@SiO₂/AMOX). Mupirocin-containing preparations correspond to Mupirocin (MUP). MUP was noncovalently bonded to nanoparticles (Au@SiO₂/MUP). All samples were prepared using deionized water produced in the Hydrolab system (Hydrolab Sp. Z.o.o. Straszyn, Poland).

Synthesis of Au NPs

Au NPs were synthesized using the chemical reduction method. 100 mL of a 0.25 mM HAuCl₄ precursor solution was prepared and heated to 100°C. Then, 0.7 mL of a 5% NaCit solution was prepared, which was added to the previous precursor solution and stirred for 30 minutes at reflux temperature, when the ruby color appears.

Synthesis of SiO₂ NPs

The mixture was prepared by mixing the following reagents: TEOS, EtOH, H₂O, and NH₄OH in appropriate proportions 1:16:2:1.5. The prepared solution was stirred for 8 hours on a magnetic stirrer at 500 rpm and 50 °C. Then, the precipitate was centrifuged, washed twice with water and ethanol, and left to dry. Depending on the further use, SiO₂ NPs were used in the form of a powder or a dispersion solution in water.

Synthesis of Au@SiO₂

To synthesize Au@SiO₂ *core-shell* nanostructures, previously prepared Au NPs colloid and EtOH were mixed in a ratio of 1:5.5. Then, TEOS, the concentration of which in the reaction solution was 2.79×10^{-3} M, and NH₄OH were added to adjust the pH of the reaction solution to 11. The solution was stirred for 24 h using a magnetic stirrer (500 rpm) at 50°C. The Au@SiO₂ nanostructures were then centrifuged and redispersed in water.

Preparation of Au@SiO₂/AMOX and Au@SiO₂/MUP

To obtain nanocarriers of selected antibiotics AMOX or MUP, 3 mL of Au@SiO₂ nanostructures were taken, and then mixed with the antibiotic in such an amount to obtain 10 mL of the stock solution with a concentration of 1 mg/mL. The reactions were carried out for 48 h under continuous mixing on a magnetic stirrer (500 rpm). Then, a purification step was performed to remove excess unattached drug particles by centrifuging the solution for 20 min at 500 rpm and then dispersing it in water.

Characterization

The morphology of the obtained nanostructures was assessed using a Transmission Electron Microscope (TEM) measurement, which was performed using a Tecnai G2 Spirit BioTWIN FEI microscope (Eindhoven, The Netherlands), operated at 120 kV. The samples were dispersed in water and sonicated. Absorption spectra were made using a UV-Vis spectrophotometer, Perkin Elmer, model Lambda 650 (Shelton, CT, USA). Measurements were made at a temperature of 298 K, using spectrophotometric cuvettes in an aqueous solution. The UV-Vis spectrum was made at 300-800 nm. The zeta potential was measured by Electrophoretic Light Scattering (ELS), with a measurement range of $> \pm 1000$ mV. In contrast, the particle size measurement was measured by Dynamic Light Scattering (DLS); the measurement range was 0.3 nm to 10 μ m (particle diameter). Both measurements were performed using the Litesizer 500, ANTON-PAAR. Fourier-transform infrared (FT-IR) spectra were taken with a Bruker IFS66 FT-IR spectrometer (Ettlingen, Germany), using the KBr pellet or CaF₂ substrates method. FT-IR spectrum was recorded between 4000 and 400 cm⁻¹. Thermogravimetric analysis of nanostructures was carried out using a Jupiter STA 449 F3 derivatograph coupled to a QMS 403 C quadrupole mass spectrometer (NETZSCH, Germany). Measurements were carried out in an inert gas (nitrogen) atmosphere, in the temperature range from 50 to 1000°C, with a heating rate of 10°C/min. Water angle measurements were made with a Kruss DSA100 goniometer (Hamburg, Germany). A suspension of nanoparticles dispersed in ethanol was applied to a glass plate and allowed to evaporate at room temperature. The nanoparticle surface that was thus formed was subjected to further testing. A drop of water of 2 μ L was applied with a syringe to the surface made of the tested nanoparticles. The contact angle on both sides of the drop was measured using a CCD camera. After digital image analysis, the average contact angle was determined using the Young-Laplace method. Each measurement was repeated 20 times. The pendant drop method was implemented to quantify the surface tension of the nanomaterial suspensions under investigation. A capillary tube (steel needle) suspends a droplet of the liquid being tested. The drop shape's suited contour is the source of the surface tension. Each measurement was repeated 30 times.

Permeability through skin membranes

In the transdermal permeability study, porcine skin was used as a membrane. Full-thickness skin was prepared, fat was removed, and hair was shaved. All pieces of porcine skin were then stored in a freezer at -25 °C. This storage method does not damage the skin, and no difference in permeability was observed between fresh and frozen skin pieces [21]. A vertical Franz-type cell was used to characterize penetration. The Franz-type diffusion cell used in this study was made of borosilicate glass with a 2 cm diameter hole in the center, the same size as the hole in the vertical receptor cell, which is placed on top of the membrane. The membrane was placed on

top of the vertical receptor cell and tightly clamped. The exposed skin area was 3.1 cm², and the average thickness of the membranes was 1.7 mm. The receptor cell was filled with buffer (pH 7.4), and a small Teflon-coated magnetic stirrer was used for stirring at 500 rpm. The flow rate was 5 mL/min during the study at a constant temperature of 32 ± 0.5°C. After equilibration for 30 min., the Au@SiO₂ sample was dripped onto the membrane. A defined volume (250 µL) was dripped for 5 days at the same time every day. Then, the cell solution was examined for the presence of nanostructures by UV-Vis spectroscopy.

Cytotoxicity test

Cells were seeded at a density of 4000 cells per well in 96-well plates and then incubated at 37°C in a 5% CO₂ atmosphere. The cells were treated with varying concentrations of compounds ranging from 0.1 to 100 mg/mL or with water (H₂O) as a control and further incubated for 48 hours. Subsequently, MTT salt solution (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, VWR) was added at a concentration of 4 mg/mL (25 µL per well). After 3 hours of incubation, the resulting formazan product was dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO). Absorbance at 570 nm was measured using an EnSpire microplate reader (Perkin Elmer) with a reference wavelength of 660 nm. The viability of control cells was considered 100%. The experiment was independently repeated three times in triplicate. Statistical analysis of the results was performed using GraphPad Prism 7 software.

Drug release study

To calculate the amount of released drug (antibiotic) from nanocarriers, a series of dilutions of the initial solutions of antibiotics alone were made, in which the concentration in both cases was 1 mg/mL and measured spectrophotometrically. Based on the obtained spectra, standard curves were also made, showing the dependence of absorbance on the concentration of the substance, which helped to determine the concentration of released antibiotics. The drug release rate was studied using the membrane dialysis technique. For this purpose, 3 mL of Au@SiO₂/AMOX or Au@SiO₂/MUP were placed in a dialysis bag (100-500 Da) and transferred to a closed sterile container with a capacity of 50 mL. The container was filled with PBS buffer and kept at room temperature with constant stirring. Then, a small amount of the buffer with the released drug was taken, and spectrophotometric measurements were performed after 24, 48, and 168 h, respectively.

Zone of Inhibition Test for Antimicrobial Activity

The Zone of Inhibition Test (ZI), also known as The Kirby-Bauer Test, is a qualitative method used to measure antibiotic resistance to test the ability of a given compound to inhibit microbial growth. For this purpose, Petri dishes with LA were prepared. For that prepared plate, semi-liquid agar was poured on top of the solidified media with the addition of 200 µL of test bacterial culture (CFU/mL = 5.35x10⁸). Following solidification of semi-liquid LA medium (± 15 minutes), the plate was divided into three areas and then, in the middle of them, an overlay of 10, 20, and 30 µg NPs with or without antibiotics and PBS as a control was made. All Petri dishes were incubated at 37°C. The test was conducted in three independent repeats.

Minimum Inhibitory Concentration

A Minimum Inhibitory Concentration (MIC) test was conducted to determine the lowest concentration that inhibits bacterial growth. Serial dilutions were prepared from a nanoparticle stock at a concentration of 500 µg/mL. Into all tubes from serial dilution, 2 mL E. coli inoculum

was added to a final concentration of 5×10^5 CFU/mL. For positive controls, there were tubes with LB medium and bacterial culture, while for negative control, only LB medium was here positive controls there were used tubes with LB medium and bacterial culture, while for negative control only LB medium was applied. The test reactions were cultured at 37°C for 16.5 h with 220 rpm agitation. Subsequently, the bacteria concentration was determined by measuring the optical density at 600 nm (OD_{600}). The test was conducted in two independent repeats.

Statistical analysis

Experiments were replicated a minimum of two times (ZI three times) independently, with consistent results. All the quantitative results are presented as mean values, and the standard deviation was used in ZI. No data was excluded from the analyses. This allowed us to conclude that the results are not accidental and are statistically significant.

Results

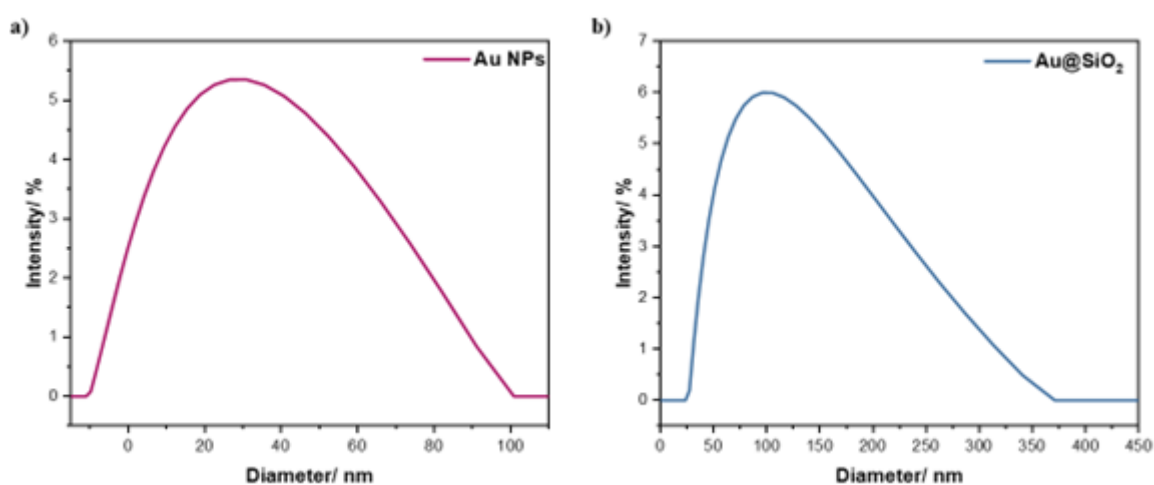


Figure S1. Size distribution graph for a) Au NPs and b) Au@SiO₂

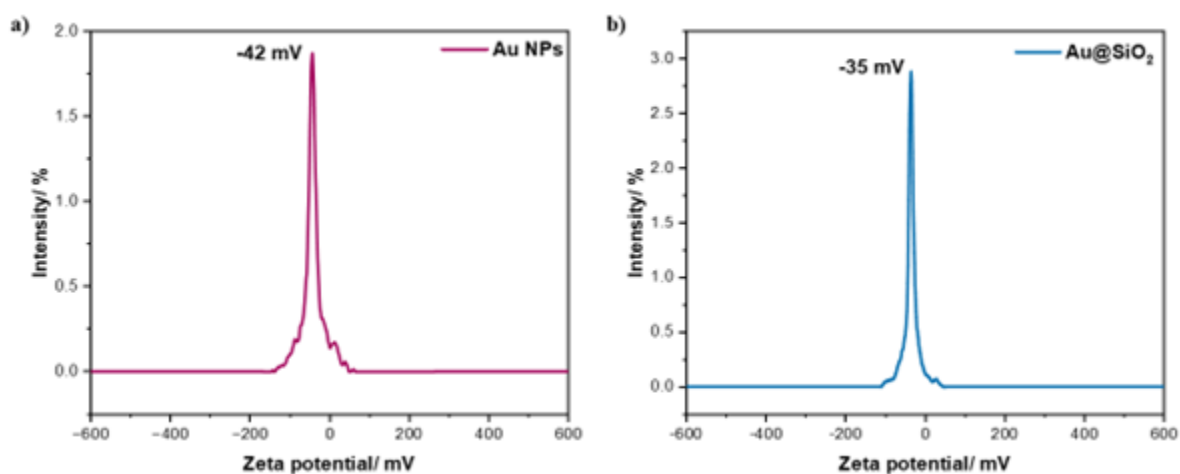


Figure S2. Zeta potential diagram for a) Au NPs and b) Au@SiO₂

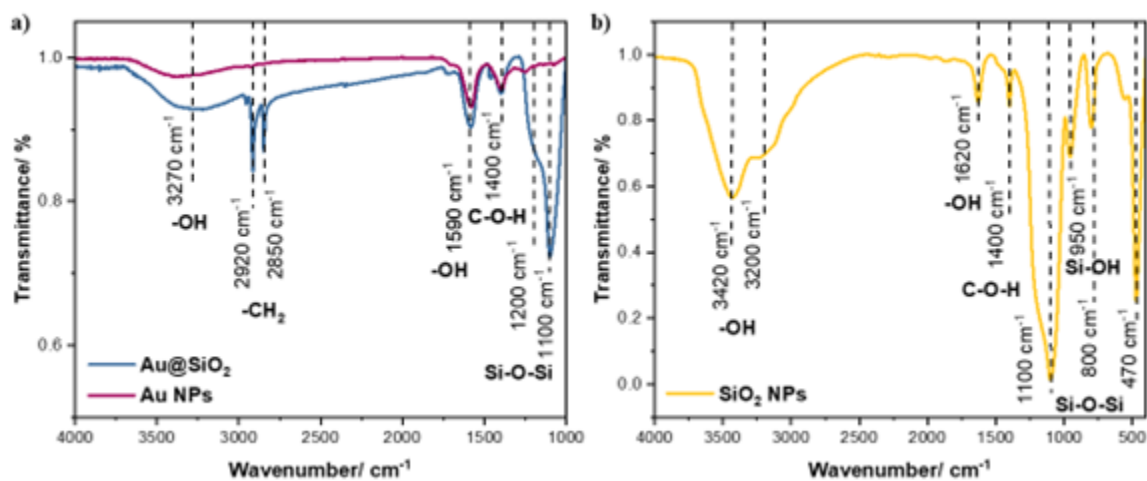


Figure S3. FT-IR spectra for a) Au NPs, Au@SiO₂ and b) SiO₂ NPs

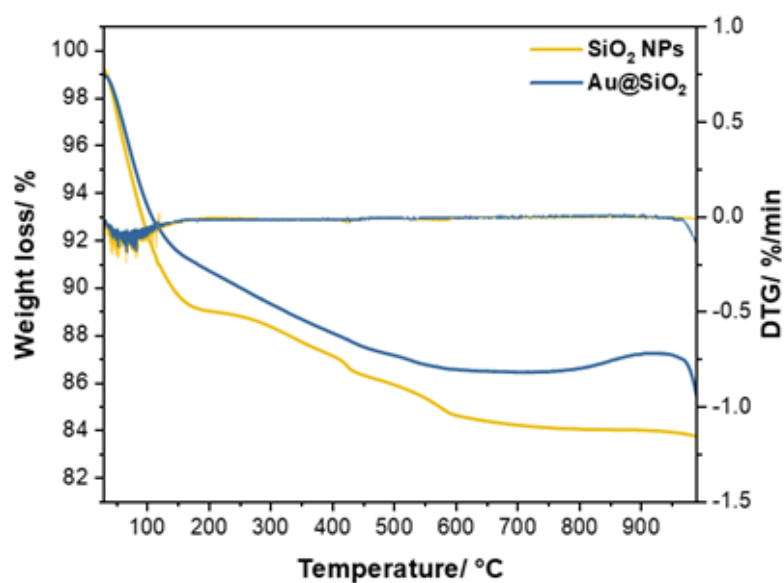


Figure S4. TG and DTG curves for SiO₂ NPs and Au@SiO₂

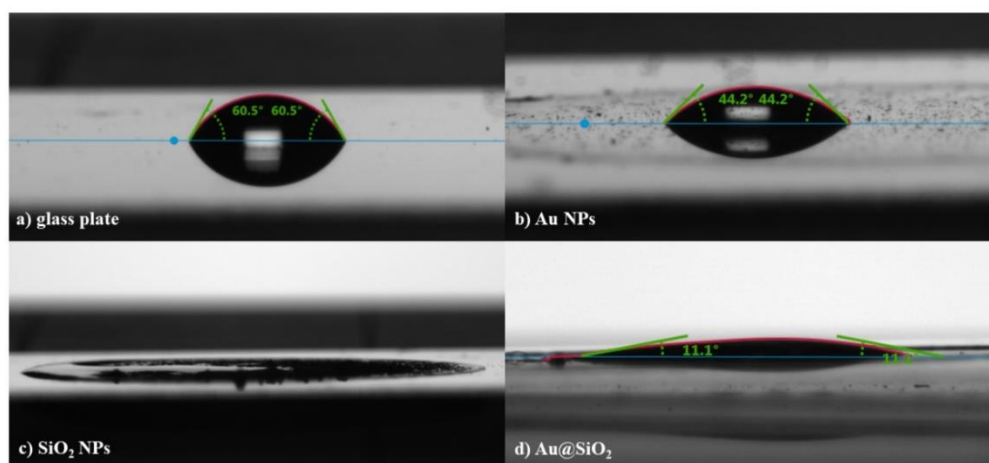


Figure S5. The results of water contact angle measurements for a) control-glass plate, b) Au NPs, c) SiO₂ NPs, and d) Au@SiO₂



Cite this: *Dalton Trans.*, 2025, **54**, 17597

Nanostructures based on gold and silica as a delivery platform for enhanced L-DOPA therapy in neurodegenerative disease

Agata Kowalska,^a Elżbieta Adamska,^a Katarzyna Zima,^b Paulina Nowicka,^a Anna Wcisło,^a Mariusz Makowski^a and Beata Grobelna^a

Neurodegenerative diseases, particularly Parkinson's disease (PD), remain a major clinical challenge due to the limited efficacy and side effects of current therapies. L-DOPA, the gold-standard drug for PD, suffers from low stability, poor bioavailability, and neurotoxicity upon prolonged use. To address these limitations, we report the design, synthesis, and evaluation of a silica-coated gold core-shell nanosystem (Au@SiO₂) as a nanocarrier for the controlled delivery of L-DOPA. The nanostructures were synthesized via a bottom-up approach, stabilized with polyvinylpyrrolidone (PVP), and thoroughly characterized using TEM, UV-Vis, DLS, ELS, contact angle measurements, and electrochemical techniques. Despite modest L-DOPA loading efficiency (~3%), the system demonstrated controlled and sustained drug release, with a marked difference between PVP-modified and unmodified systems. The nanocarrier exhibited high colloidal stability, hydrophilicity, and redox-protective effects over time, mitigating oxidative stress induced by L-DOPA, as well as minimal interaction with DNA. *In vitro* studies on SH-SY5Y cells confirmed good biocompatibility and a potential protective effect against oxidative stress, as evidenced by GSH : GSSG ratios and SOD activity. This multifunctional nanosystem offers a promising platform for brain-targeted drug delivery, combining biocompatibility, sustained release, and antioxidant-like activity reflected in the modulation of cellular redox balance (GSH/GSSG, SOD) – key advantages for next-generation neurotherapies.

Received 9th September 2025,
Accepted 5th November 2025

DOI: 10.1039/d5dt02168e

rsc.li/dalton

1. Introduction

Neurodegenerative disorders represent some of the most devastating and complex conditions of the central nervous system, with Parkinson's disease (PD) ranking as the second most prevalent after Alzheimer's disease.¹ PD is characterized by the progressive degeneration of dopaminergic neurons, leading to a marked decrease in dopamine levels.² The resulting dopamine deficiency impairs normal motor functions, causing characteristic clinical symptoms such as bradykinesia, resting tremors, muscle rigidity, and postural instability.^{3,4} As the disease progresses, nonmotor symptoms such as cognitive decline, mood disorders, and autonomic dysfunction can also appear, further affecting the patient's quality of life.

To date, there are no effective therapies to address the underlying cause, and current treatment strategies primarily focus on symptom control and relief. The mainstay of pharmacological therapy is L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA), a precursor of dopamine that can cross the blood-brain barrier (BBB) *via* the large neutral amino acid transporter.^{5,6} Once in the brain, L-DOPA is decarboxylated to dopamine, partially restoring dopaminergic signaling.⁷ However, despite its clinical efficacy, L-DOPA therapy has several limitations. These include rapid peripheral metabolism, short half-life, and fluctuating bioavailability, all of which necessitate increased dosages, which in turn lead to motor complications such as dyskinesias and “on-off” phenomena over time.^{8,9} Furthermore, L-DOPA is susceptible to oxidative degradation, raising concerns about neurotoxicity with long-term administration.^{10–12}

One potential solution to the above limitations may be the widespread development of nanomaterials. This is due, in part, to the high compatibility, stability, and large surface area of nanomaterials, which can be easily functionalized for specific applications. Due to their biocompatibility, non-toxicity, and surface conjugation properties, nanomaterials are effective nanocarriers.^{13–15} Additionally, nanoscale delivery

^aFaculty of Chemistry, University of Gdansk, Wita Stwosza 63, 80-308 Gdansk, Poland. E-mail: agata.kowalska@ug.edu.pl, beata.grobelna@ug.edu.pl, elzbieta.adamska@ug.edu.pl, paulina.nowicka@ug.edu.pl, anna.wcislo@ug.edu.pl, mariusz.makowski@ug.edu.pl

^bDepartment of Physiology, Faculty of Medicine, Medical University of Gdansk, Debinki 1, 80-210 Gdansk, Poland. E-mail: katarzyna.zima@gumed.edu.pl

systems can also provide more controlled release profiles.^{16,17} Among them, core-shell nanostructures, especially those consisting of gold nanoparticles covered with a silica layer (Au@SiO₂), offer a promising platform due to their chemical inertness, biocompatibility, easily modifiable surface, and the possibility of conjugation with biologically active substances.^{18,19} Although smaller nanoparticles are usually considered to cross the blood-brain barrier more easily, more and more studies indicate that slightly larger nanostructures can also effectively reach the brain, especially when their surface is properly designed.^{20–24} The appropriate charge and stability of nanoparticles reduce their rapid removal from the bloodstream, promoting transport across the barrier. Additionally, in neurodegenerative diseases, where this barrier may be more permeable, such nanocarriers have a better chance of reaching the central nervous system.

In this manuscript, we present the method of preparation and comprehensive characterization of a modern Au@SiO₂ nanocarrier for the controlled delivery of L-DOPA in the treatment of neurodegenerative diseases. Nanocarrier systems were synthesized using the bottom-up method, resulting in core-shell nanostructures that were further stabilized with PVP and subsequently analyzed for their physicochemical properties. Morphology and structure were confirmed using transmission electron microscopy (TEM) and UV-Vis spectroscopy. In contrast, electrophoretic light scattering (ELS) and dynamic light scattering (DLS) techniques were used to determine colloidal stability and particle diameter. Additionally, the measurement of the wetting angle allows defining the nature of the nanostructure surface. The antioxidant properties were studied using spectrophotometry with the DPPH radical, demonstrating the nanocarrier's ability to neutralize free radicals. Interactions of nanoparticles with deoxyribonucleic acid (DNA) were assessed using a fluorescent switch-sense assay, which enabled the determination of their potential impact on the genetic material. L-DOPA was loaded into the system, and the encapsulation efficiency and release profile were confirmed using both spectrophotometric and electrochemical methods. The obtained nanosystems were subjected to *in vitro* studies on the human neuronal line SH-SY5Y. Cell viability was assessed using the trypan blue exclusion method. Additionally, the levels of glutathione in the reduced (GSH) and oxidized (GSSG) forms were determined, and the GSH:GSSG ratio was calculated as an indicator of oxidative stress. Additionally, the activity of superoxide dismutase (SOD), one of the main antioxidant enzymes, was analyzed.

The results demonstrate that the Au@SiO₂ nanosystem serves as a stable and efficient platform for L-DOPA delivery, exhibiting favorable physicochemical properties, good biocompatibility, and potential protective effects against oxidative stress in neuronal cells. These results represent one of the first steps in studying such nanostructures for the treatment of neurodegenerative diseases. The promising results provide a solid foundation for further research and development to enhance therapeutic efficacy and minimize side effects, potentially leading to innovative advancements in Parkinson's disease therapy.

2. Materials and methods

2.1. Materials used for the synthesis of Au@SiO₂/L-DOPA conjugates

All the chemicals used here were of analytical grade and did not require further purification. Tetrachloroauric acid (HAuCl₄), trisodium citrate dihydrate (C₆H₅Na₃O₇·2H₂O, NaCit), ammonia water (25%, NH₄OH), ethanol (C₂H₅OH, EtOH), tetraethyl orthosilicate (SiC₈H₂₀O₄, TEOS), polyvinylpyrrolidone (CH₂CH(C₆H₉NO)_n, PVP), 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine (C₉H₁₁NO₄, L-DOPA, 197.19 Da) were obtained from Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA-IL). All samples were prepared using deionized water produced by the Hydrolab system (Hydrolab Sp. Z.o.o., Straszyn, Poland).

2.2. L-DOPA loading of synthesized Au@SiO₂ nanostructures

To synthesize Au@SiO₂ core-shell nanostructures, in the first step, Au NPs were prepared by preparing a 25 mM HAuCl₄ precursor solution and adding 5% sodium citrate solution as a reducing agent, and the reactions were carried out under reflux until a red color appeared. Then, the colloidal Au NPs solution was mixed with EtOH at a ratio of 1:5. Next, TEOS, with a concentration of 2.79×10^{-3} M in the reaction solution, and NH₄OH were added to adjust the pH of the reaction solution to 11. The solution was stirred for 24 h with a magnetic stirrer (500 rpm) at 50 °C. Then, the Au@SiO₂ nanostructures were centrifuged and redispersed in water. To further stabilize the system, PVP was added to the solution to a concentration of 0.7% w/v and then re-purified by centrifugation and dispersion in water. To load the obtained nanostructures with L-DOPA, a 1 mg mL⁻¹ drug solution was used and mixed with Au@SiO₂ colloidal solution. The conjugation reaction was performed at 4 °C for 24 hours. The conjugate was then purified by centrifugation and resuspended in water.

2.3. Characterization of the obtained nanocarrier Au@SiO₂ and its conjugate with L-DOPA

The morphology of the obtained nanostructures was assessed using a Transmission Electron Microscope (TEM) measurement, which was performed using a Tecnai G2 Spirit BioTWIN FEI microscope (Eindhoven, The Netherlands), operated at 120 kV. Absorption spectra were made using a UV-Vis spectrophotometer, PerkinElmer, model Lambda 650 (Shelton, CT, USA). Measurements were made at a temperature of 298 K, using quartz spectrophotometric cuvettes with a 1 cm optical path length in an aqueous solution. The UV-Vis spectrum was recorded between 200 and 800 nm. The zeta potential was measured using Electrophoretic Light Scattering (ELS), with a measurement range of greater than ±1000 mV. The hydrodynamic size and polydispersity index (PDI) of nanomaterials were determined using the Dynamic Light Scattering (DLS) technique, which enables the assessment of particle size and homogeneity in colloidal suspensions. Measurements were performed using the Litesizer 500 from Anton-PAAR (Graz, Austria). Water angle measurements were made with a Kruss DSA100 goniometer (Hamburg, Germany). A suspension of

nanoparticles dispersed in ethanol was applied to a glass plate and allowed to evaporate at room temperature. The nanoparticle surface that was thus formed was subjected to further testing. A drop of water of 2 μL was applied with a syringe to the surface made of the tested nanoparticles. The contact angle on both sides of the drop was measured using a CCD camera. After digital image analysis, the average contact angle was determined using the Young-Laplace method. Each measurement was repeated 20 times.

2.4. Antioxidant properties of Au@SiO₂ (DPPH test)

The DPPH assay was used to evaluate the antioxidant activity, following the previously used approach.²⁵ Therefore, 4.3 mg of DPPH compound was dissolved in 3.3 mL of methanol solution, which was covered with aluminum foil to protect from light. For the control, 150 μL of the prepared DPPH solution was taken, dissolved in 3 mL of methanol, and the absorbance was measured at 517 nm. To measure the antioxidant properties of the Au@SiO₂ sample, 0.1 mL of the nanostructure colloidal solution was taken. Then, 150 μL of DPPH solution was added and diluted with methanol to 3 mL. The absorbance was measured after 15 minutes at the same wavelength, using methanol as the blank solution. Measurements were retaken after 1 h, and at 1, 2, 6, and 7 days, respectively. Measurements were performed in triplicate.

DPPH scavenging activity was calculated using the formula:

$$\% \text{ antioxidant potential} = 100 (A_0 - A_s) / A_0$$

A_0 —control absorbance. A_s —sample absorbance.

2.5. Study of the interactions of nanostructures with DNA

The study of the interactions between nanostructures and DNA was conducted using the SwitchSense technique. The solutions of Au@SiO₂ were prepared and measured at four concentrations: 6.638×10^{-5} , 1.3275×10^{-4} , 2.655×10^{-4} , and 5.31×10^{-4} M. The solutions of Au NPs were prepared and measured for the three concentrations: 6.25×10^{-4} , 1.25×10^{-3} , and 2.50×10^{-3} M. All samples were prepared using the PE40 buffer (pH 7.4; 10 mM Na₂HPO₄/NaH₂PO₄, 40 mM NaCl, 0.05% Tween20, 50 μM EDTA, 50 μM EGTA). All necessary solutions and consumables for switchSense measurements were purchased from Dynamic Biosensors GmbH.

The measurement system consists of a standard available chip (heliX adapter chip with two spots) containing two measuring points for real-time references.²⁶ The surface of the chip after the functionalization process includes a fragment of fluorescently labeled DNA, the sequence of which has been described earlier.²⁷ The experiments were conducted in a static mode using the software and method for weak binder kinetics provided by Dynamic Biosensor, the manufacturer. Functionalization was the initial step in all experiments, with an adapter concentration of 1×10^{-7} M and a processing time of 200 s. Subsequently, kinetics analysis was performed for four concentration variants for Au@SiO₂ and three for Au NPs, including a blank and the remaining concentrations.

Association and dissociation times were set at 120 s, with a 200 $\mu\text{L s}^{-1}$ flow rate. Measurements were recorded at 25 °C for all solutions.

2.6. Degree of drug loading into the nanocarrier

All electrochemical measurements, including Cyclic Voltammetry (CV) and Differential Pulse Voltammetry (DPV), were conducted using a Autolab PGSTAT302N potentiostat (Metrohm, Netherlands) controlled by Nova 2.1 software. A standard three-electrode setup was employed, consisting of a glassy carbon (GC) disk electrode (3 mm diameter) as the working electrode, a platinum wire as the counter electrode, and an Ag/AgCl electrode (in 3 M KCl) as the reference electrode. All potentials are reported relative to the Ag/AgCl electrode.

Before each experiment, the GC electrode surface was thoroughly polished with alumina slurries (0.3 and 0.05 μm), rinsed with deionized water, and sonicated. Measurements were performed at room temperature. The electrochemical cell was purged with high-purity argon before each measurement. Experiments were conducted in 0.1 M KCl, L-DOPA solutions were freshly prepared in the respective electrolytes.

CV measurements were performed from -0.2 to 1.2 V (vs. Ag/AgCl) at a scan rate of 100 mV s^{-1} . For DPV, the potential range was identical to that of CV (vs. Ag/AgCl), with the following parameters: step potential 4 mV, pulse amplitude 25 mV, modulation time 0.05 s, and interval time 0.5 s. All measurements were carried out in triplicate.

The percentage of L-DOPA loaded onto the nanostructures was estimated by comparing electrochemical signals obtained from a 1 mg mL^{-1} pure L-DOPA solution, the L-DOPA-loaded nanostructure suspension, and the supernatant after loading.

2.7. Release of L-DOPA from a nanocarrier

To determine the release profile of L-DOPA from the nanocarrier, an *in vitro* assay was performed in phosphate buffer (PBS, pH 7.4). The nanocarrier containing encapsulated L-DOPA was placed in dialysis systems (Spectra/Por® Float-A-Lyzer®, 100–500 Da) and immersed in 15 mL of PBS solution in a vessel. Drug release from the nanocarrier was performed in the dark to prevent drug degradation. The mixture was mixed on a magnetic stirrer. At specific time intervals (24, 48, 72 and 168 h), 3 mL of the release medium was collected and analyzed spectrophotometrically at a wavelength of $\lambda = 280 \text{ nm}$, corresponding to the maximum absorption of L-DOPA. After each measurement, the volume of the medium was replenished to maintain the appropriate measurement conditions. Measurements were performed in triplicate. The concentration of L-DOPA in each sample was calculated based on a calibration curve. The final release profile was calculated based on the standard curve of the drug itself and expressed as a percentage of the total amount of L-DOPA released during incubation relative to the initial amount loaded into the nanocarrier in the medium.

2.8. Cytotoxicity on the SH-SY5Y cell line

The effect of L-DOPA, L-DOPA conjugated with the Au@SiO₂ nanocarrier, and Au@SiO₂ core-shell (drug-free carrier) on SH-SY5Y viability was assessed by the Trypan Blue exclusion assay. SH-SY5Y cells (Cytion GmbH, Eppelheim, Germany) were seeded in 24-well plates (Sarstedt, Nümbrecht, Germany) at 2×10^4 cells per cm² and cultured for 24 h at 37 °C, 5% CO₂ in DMEM/F12 (Capricorn Scientific GmbH, Ebsdorfergrund, Germany) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS; Capricorn Scientific GmbH, Ebsdorfergrund, Germany) and 1% penicillin-streptomycin (Capricorn Scientific GmbH, Ebsdorfergrund, Germany). Following this initial incubation, cells were treated for 24 h with the indicated formulations at 1–40 μM (free L-DOPA and Au@SiO₂/L-DOPA) or 1–40 mM (Au@SiO₂ core-shell). Working solutions were freshly prepared immediately before dosing in either standard medium or medium supplemented with 0.05% (w/v) ascorbic acid, and handled under low light to limit L-DOPA autoxidation. After treatment, cells were harvested and stained with 0.4% Trypan Blue (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), and viable cells were counted using the LUNA™ II automated cell counter (Logos Biosystems, Anyang, South Korea). Cell viability (%) was expressed relative to the untreated control group (CTRL; cells maintained in medium only or in medium with 0.05% ascorbic acid). Results are presented as mean ± SD from 3 independent experiments, each performed in technical triplicate. Statistical analysis was performed in GraphPad Prism (v9.5.0) using two-way ANOVA with $\alpha = 0.05$.

2.9. Quantification of GSH, GSSG and SOD in SH-SY5Y

To assess cellular redox homeostasis and antioxidant capacity under basal conditions and in the presence of 6-hydroxydopamine (6-OHDA), levels of reduced glutathione (GSH), oxidized glutathione (GSSG), the GSH/GSSG ratio, and superoxide dismutase (SOD) activity were quantified as follows. SH-SY5Y cells were seeded in 6-well plates (Sarstedt, Nümbrecht, Germany) at 2×10^4 cells per cm² and cultured overnight at 37 °C, 5% CO₂ in DMEM/F12 (Capricorn Scientific GmbH, Ebsdorfergrund, Germany) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS; Capricorn Scientific GmbH, Ebsdorfergrund, Germany) and 1% penicillin-streptomycin (Capricorn Scientific GmbH, Ebsdorfergrund, Germany). Cells were pre-incubated for 2 h with L-DOPA, Au@SiO₂/L-DOPA, or Au@SiO₂/PVP/L-DOPA at 2 or 20 μM (L-DOPA-equivalent), or with drug-free Au@SiO₂ core-shell at 2 or 20 mM. Thereafter, cells were either maintained in medium alone for a 6 h total or exposed to 50 μM 6-OHDA (Chemat, Gdansk, Poland) for the final 4 h. 6-OHDA was prepared fresh, protected from light, and diluted in medium containing 0.01% (w/v) ascorbic acid (AA, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, US). All solutions/suspensions were handled under low light.

After treatment, wells were placed on ice, cells were washed twice with ice-cold PBS (Capricorn Scientific GmbH, Ebsdorfergrund, Germany) and lysed according to the manufacturer's protocol using the Glutathione GSH/GSSG Assay Kit

(MAK440, Sigma-Aldrich, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, US) and SOD Assay Kit (MAK528; Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, US). Protein content of matched lysates was determined with the Pierce BCA Protein Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) and used for normalization. Results are reported as GSH and GSSG in nmol mg⁻¹ protein, GSH/GSSG ratio (unitless), and SOD activity in U mg⁻¹ protein. Each condition was repeated in 3 independent experiments. Statistical analysis was performed in GraphPad Prism (v9.5.0). Normality was assessed with the Shapiro-Wilk test. When assumptions were met, data were analyzed by two-way ANOVA; when normality was violated, nonparametric tests were used (Kruskal-Wallis within each condition with Dunn's *post hoc*). The significance level was $\alpha = 0.05$.

3. Results and discussion

3.1. Characterization of Au@SiO₂ nanocarriers

The design of new classes of nanocarriers for medicine challenges scientists working not only in the field of materials science but also in nanotechnology. To prepare homogenous Au@SiO₂ nanocarriers, the bottom-up method was used. The synthesis of nanomaterials occurs in two steps. The most crucial element of the synthesis performed by us was the proper selection of conditions for individual steps and their careful control. Therefore, it was possible to obtain materials with a small size distribution and the desired coverage of the core nanoparticles with a coating layer. TEM analysis was undertaken to verify the obtained nanocarriers. The TEM microscopic image (Fig. 1A) shows a distribution of nanostructures with spherical shape and uniform size, indicating their monodispersity. The bright shell around the darker core suggests the presence of a silica layer surrounding the gold core. The nanostructures are well-dispersed and do not form clusters, indicating their high stability and homogeneity. The size is approximately 100 nm, as determined from the histogram, where the core diameter is about 20 nm and the shell diameter ranges from 30 to 40 nm.

The zeta potential distribution graph (Fig. 1B) for Au@SiO₂ is about -35 mV, which indicates good colloidal stability of the Au@SiO₂ nanosystem. Measurements were indeed performed after several days. Zeta potential values exceeding ±30 mV are generally considered to indicate a stable colloidal dispersion because the electrostatic repulsive forces between particles are sufficient to prevent aggregation.^{28,29} The negative potential is mainly due to the presence of silanol groups on the surface of the silica shell.³⁰ Such surface charging promotes electrostatic repulsion of particles, preventing their aggregation and ensuring the durability of the colloidal system. In the context of colloidal and nanocarrier systems, contact angle parameter is particularly relevant because it relates to nanoparticle-solvent and nanoparticle-biological interface interactions, influencing dispersion stability, surface modification efficiency, and ultimately the biocompatibility of the nanocarriers intended for drug delivery. The contact angle analysis (Fig. 1C) shows a significant difference between the

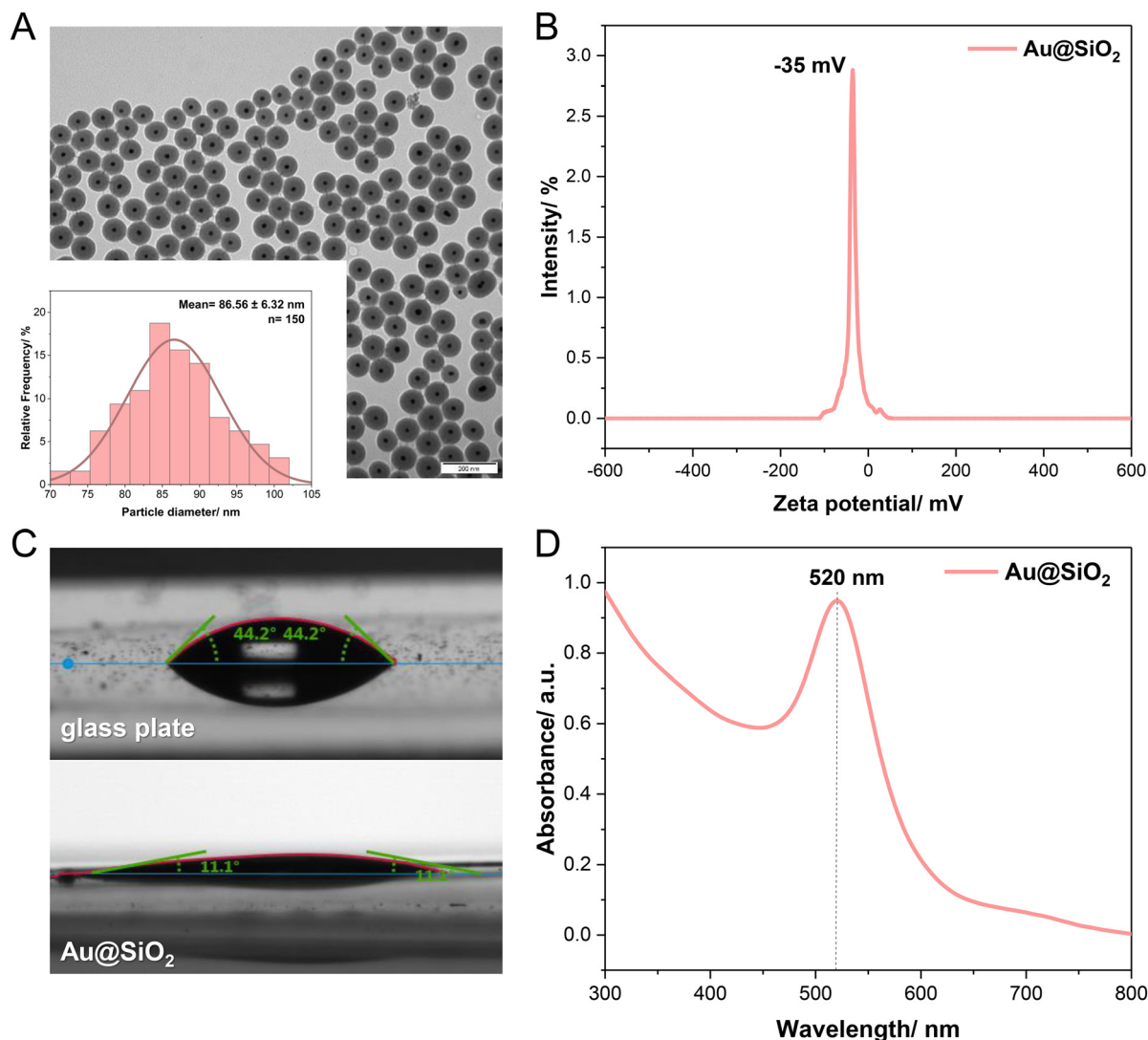


Fig. 1 Physicochemical characterization of Au@SiO₂ nanostructure sample: (A) TEM image and corresponding particle size distribution histogram, (B) zeta potential graph, (C) contact angle measurement, and (D) absorption spectrum.

control sample (44°) and the Au@SiO₂ sample (11°). Based on the contact angle measurement, it is visible that the Au@SiO₂ surface (Fig. 1C) exhibits a distinctly hydrophilic character. The contact angle decreased from 60.5° for the unmodified glass surface (control sample) to 11.1° after its coating with nanostructures.³¹ The absorbance spectrum for Au@SiO₂ (Fig. 1D) exhibits a characteristic plasmon band centered at approximately 520 nm, attributed to the surface resonance of gold nanoparticles. The presence of this band confirms the presence of Au NPs in the system. The performed analyses confirm the successful synthesis of stable, hydrophilic and well-dispersed Au@SiO₂ nanostructures, which makes them promising candidates for use as drug nanocarriers.

A summary of the parameters obtained using the DLS method is presented in Table 1. The hydrodynamic diameter of the Au@SiO₂ nanostructures was 128.6 nm, confirming the successful formation of a silica coating on the surface of the gold cores. The polydispersity index (PDI) was determined to

Table 1 Physicochemical parameters of Au@SiO₂ determined by the DLS technique

Parameter	Value
Hydrodynamic diameter	128.59 nm
Polydispersity index	25.3%

be 25.3%, indicating moderate uniformity in particle size and confirming the formation of a stable colloidal suspension. The hydrodynamic diameter of the resulting nanostructures determined by DLS measurements is larger than that specified by TEM microscopy. This difference results from the fact that DLS measures particles in a dispersed state, taking into account not only the surrounding hydration layer but also the presence of any agglomerates that may form in solution. TEM, on the other hand, provides information on the actual dimensions of individual dry particles in the solid state.

3.2. Antioxidant potential

In the conducted study, the antioxidant potential of Au@SiO₂ nanostructures was assessed over time using the DPPH radical test. The presented bar graph and table (Fig. 2) illustrate the changes in antioxidant activity at individual time points. After the first hour, a moderate free radical scavenging capacity (about 24%) was observed, which increased systematically with incubation time. After 6 and 7 days, the antioxidant activity reached 75.41% and 77.99%, respectively, indicating a lasting and growing protective effect. The obtained results suggest that Au@SiO₂ shows measurable radical-scavenging capacity (DPPH test) that may contribute to its observed protective effect against L-DOPA-induced oxidative stress in cells. This capability could undoubtedly support therapeutic strategies in the treatment of diseases associated with oxidative stress, such as neurodegenerative diseases.

3.3. Study of the interactions of nanostructures with DNA

Kinetic analysis using the switchSense technique began with AuNPs, where extensive changes are observed. The curve illustrating the association and dissociation of AuNPs to a double-stranded DNA fragment is shown in Fig. 3. Negative fluorescence changes indicate a decrease in the fluorescence intensity of the signaling unit during the measurements. After a buffer flow time of approximately 20 s, the curve associated with the association process with the DNA molecule slowly decreases. The intensity increases with the concentration of the tested analyte. At 25 °C, with a concentration of 2.5×10^{-3} M, the fluorescence intensity drops to almost -8%. Subsequently, buffer flow did not dissociate the formed AuNPs–DNA adduct, even though the process was conducted for 120 s. This suggests that although the binding process may be slow, the resulting system is relatively stable under buffer flow conditions. Unfortunately, it was not possible to determine any kinetic parameters (k_a , k_d , K_A or K_D) using this technique.

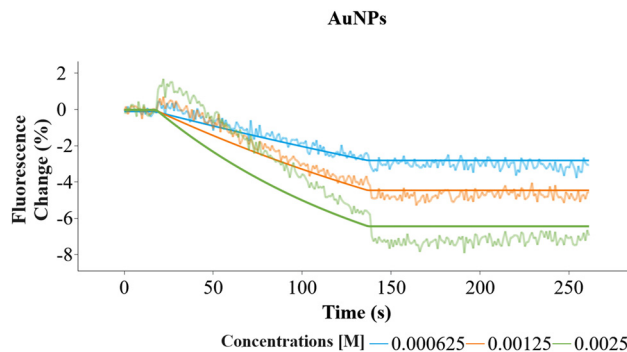


Fig. 3 Results showing changes in fluorescence intensity over time during the analysis of interactions between Au NPs and the DNA helix, performed in the static mode (weak binders) at 25 °C.

When examining Au@SiO₂ nanostructures at 25 °C using the same technique. The resulting graph (Fig. 4) shows slight changes in fluorescence intensity throughout the measurement. No significant changes are observed after initiation of

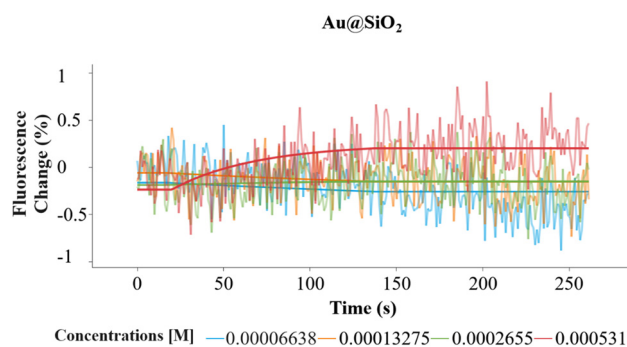


Fig. 4 Results showing changes in fluorescence intensity over time during the analysis of interactions between Au@SiO₂ and the DNA helix performed in static mode (weak binders) at 25 °C.

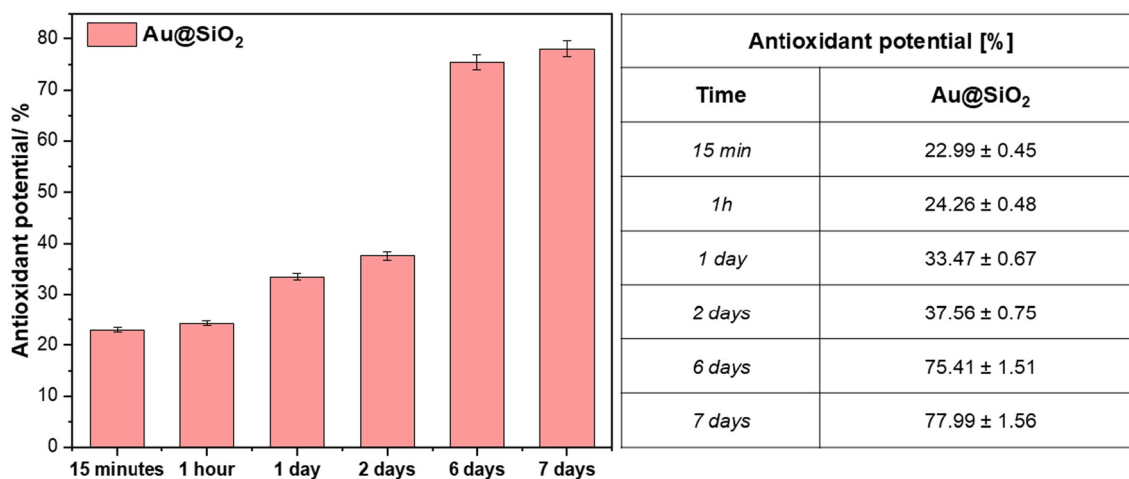


Fig. 2 Evaluation of antioxidant potential of Au@SiO₂ nanostructures over time (DPPH radical method). Data are presented as mean ± standard deviation.

either the association or dissociation process. Too small changes made determining any kinetic parameters (k_a , k_d , K_A , or K_D) impossible. Based on the information obtained, it can be inferred that the formation of an Au@SiO₂-DNA adduct does not occur or that the method used may not be suitable for studying this interaction.

3.4. Characterization of Au@SiO₂/L-DOPA conjugate

Analysis of absorption spectra (Fig. 5A) revealed significant differences in the absorption profile between the tested samples. Nanocarriers containing L-DOPA, both with and without the presence of PVP, exhibited a visible peak at 280 nm, which can be attributed to the presence of L-DOPA in the structure. The visible broadening of the band in this range indicates effective attachment of the drug to the nanocarrier surface. Zeta potential measurement (Fig. 5B) enabled the assessment of the electrostatic stability of the obtained systems. For Au@SiO₂/L-DOPA the zeta potential value was -39.9 mV, while for Au@SiO₂/PVP/L-DOPA, it was -32.6 mV. Both values indicate good colloidal stability of the tested suspensions. Surface property analysis was performed based on contact angle measurements (Fig. 5C). For the Au@SiO₂/L-DOPA sample, the contact angle was 36.6°, and for the Au@SiO₂/PVP/L-DOPA it was 25.2°. The lower contact angle in

the presence of PVP indicates a higher surface hydrophilicity, which may be due to the presence of polar ether groups in the PVP chains. The higher angle for Au@SiO₂/L-DOPA suggests that the surface is moderately hydrophilic, covered solely with a layer of L-DOPA. Particle size analysis (Fig. 5D) provided information on the size distribution and homogeneity of the studied systems after L-DOPA modification. For the Au@SiO₂/L-DOPA sample, an average hydrodynamic size of 155.28 nm was obtained with a low polydispersity index (PDI = 3.9%), indicating a homogeneous particle population. In the case of nanocarriers additionally stabilized with PVP, the particle size increased to 169.06 nm, and the PDI reached 10.6%, suggesting slightly greater heterogeneity resulting from the presence of the additional stabilizer. The increased particle size compared to the carrier alone confirms the effective functionalization of L-DOPA with the nanomaterial surface. The results confirm the effective conjugation of the drug to the surface of the nanocarrier.

3.5. Degree of drug loading into the nanocarrier

The cyclic voltammograms in Fig. 6A and B exemplify the redox characteristics of L-DOPA and its interaction with the synthesized nanoparticles. The black trace in both panels serves as a reference and represents the CV of a 1 mg mL⁻¹

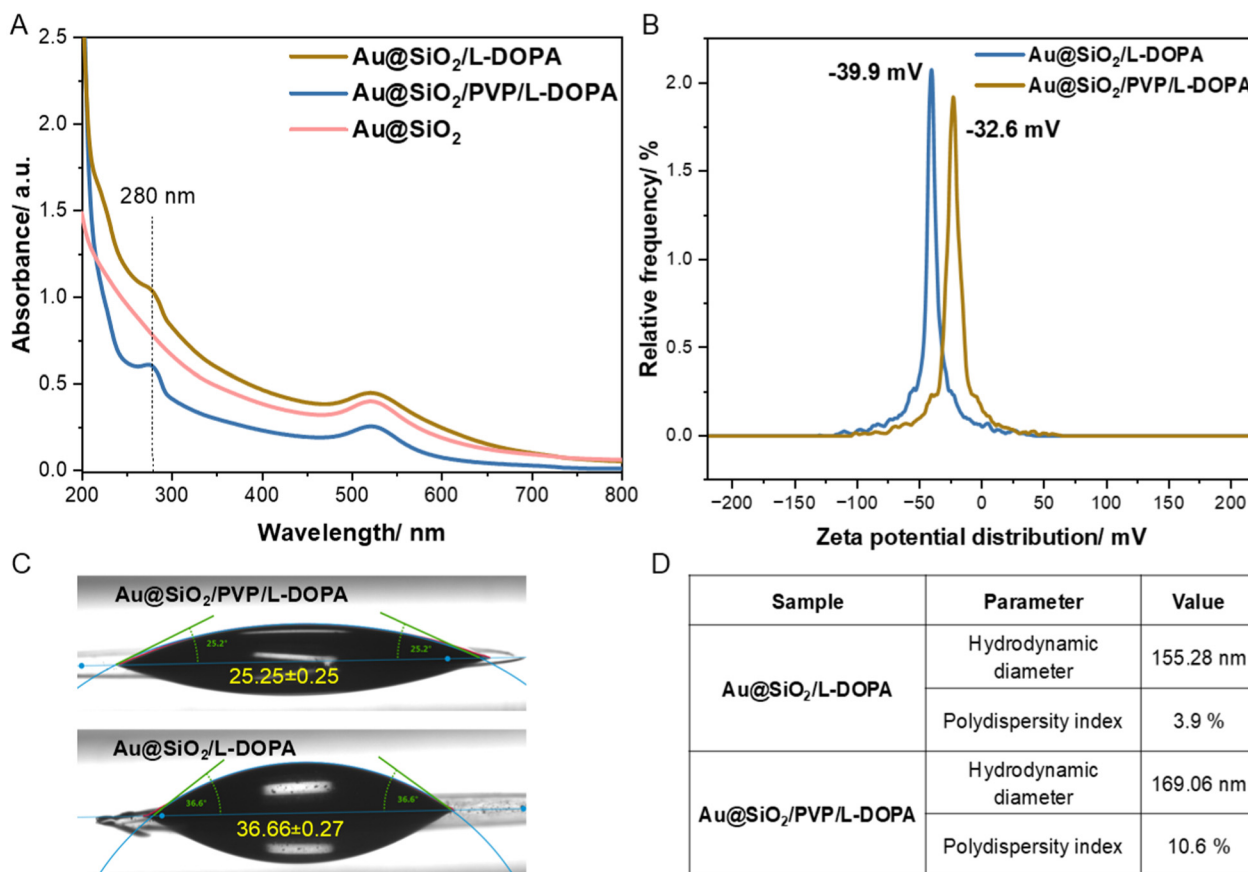


Fig. 5 Physicochemical characterization of Au@SiO₂, Au@SiO₂/L-DOPA and Au@SiO₂/PVP/L-DOPA (A) UV-Vis spectra in the range of 200–800 nm, (B) zeta potential values, (C) surface contact angle measurement images and (D) particle size distribution.

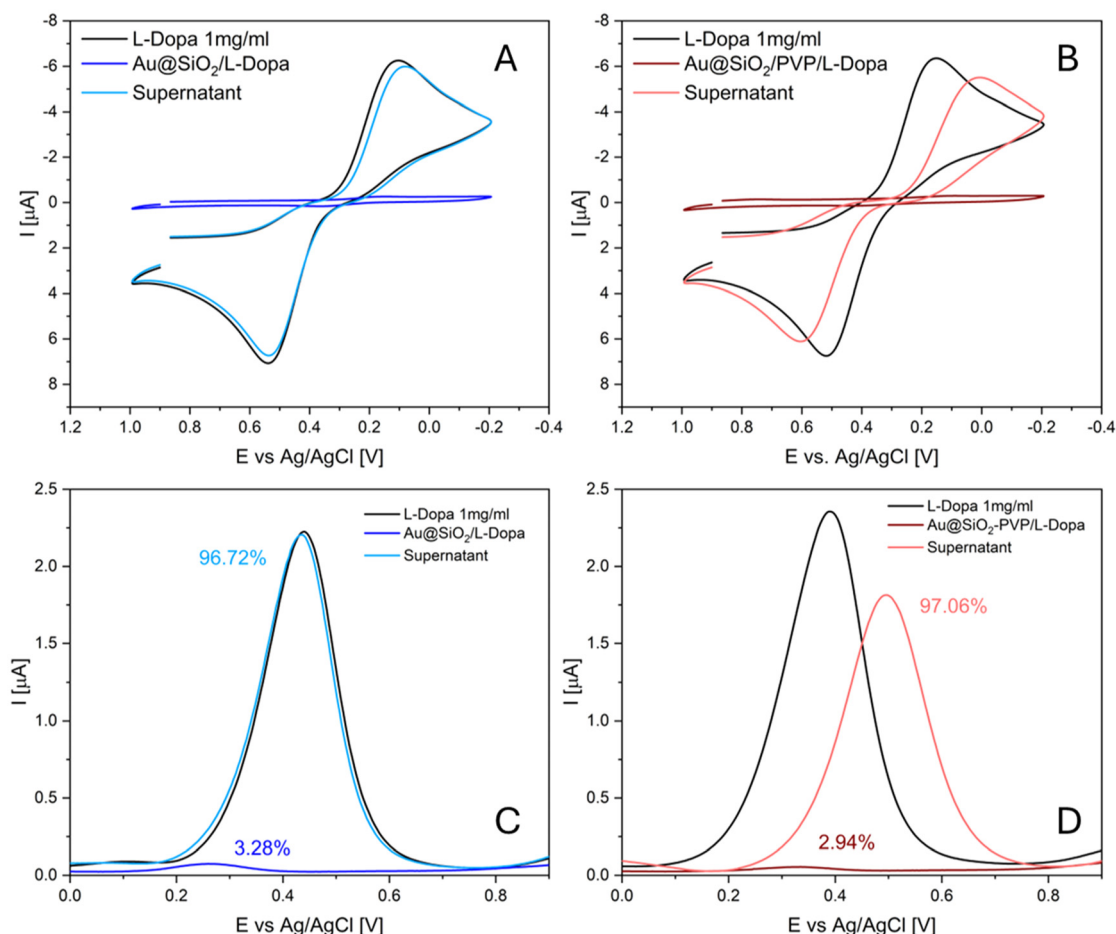


Fig. 6 Electrochemical characterization of L-DOPA loading. Cyclic Voltammetry (CV) (A and B) and Differential Pulse Voltammetry (DPV) (C and D) for: 1 mg mL⁻¹ L-DOPA (black), L-DOPA-loaded nanostructure suspension (blue/red), and supernatant (light blue/light red). Panels A & C: $\text{Au@SiO}_2/\text{L-DOPA}$. Panels B & D: $\text{Au@SiO}_2/\text{PVP/L-DOPA}$. DPV panels (C and D) show loading efficiency.

L-DOPA solution that has been purified. This solution exhibits a well-defined quasi-reversible redox couple, characterized by an anodic peak (oxidation of L-DOPA to dopaquinone) at approximately 0.2–0.3 V and a cathodic peak (reduction of dopaquinone back to L-DOPA) at approximately 0.0–0.1 V (vs. Ag/AgCl).

The CVs for the $\text{Au@SiO}_2/\text{L-DOPA}$ system are illustrated in Fig. 6A. The electrochemical signals for L-DOPA in the light blue trace, which corresponds to the supernatant following the loading procedure, are remarkably high, nearly identical to those of the pure L-DOPA solution. This robust signal suggests that the Au@SiO_2 nanostructures were not effectively associated with the majority of L-DOPA, which remained in the solution phase. In contrast, the blue trace, which represents the $\text{Au@SiO}_2/\text{L-DOPA}$ suspension, exhibits a substantial reduction in anodic and cathodic peaks. This indicates that a detectable, though limited, quantity of L-DOPA was associated with the nanostructures.

Similarly, the CVs for the $\text{Au@SiO}_2/\text{PVP/L-DOPA}$ system are illustrated in Fig. 6B. The pure L-DOPA solution is closely mirrored by the light red trace of the supernatant, which also exhibits a high L-DOPA signal. This observation following the

Au@SiO_2 system, suggest that L-DOPA did not effectively load onto the $\text{Au@SiO}_2/\text{PVP}$ composite nanostructures either. The L-DOPA signals in the $\text{Au@SiO}_2/\text{PVP/L-DOPA}$ suspension are extremely low, as evidenced by the red line. The qualitative evidence of ineffective L-DOPA loading onto the tested nanoparticles is provided by the consistently elevated L-DOPA signals in the supernatants across both nanoparticle systems, as observed by CV.

DPV measurements were conducted to quantitatively evaluate the L-DOPA dosage, as illustrated in Fig. 6C and D. DPV is an ideal choice for precise quantification due to its improved resolution and enhanced sensitivity. The DPV spectra typically exhibit a prominent anodic peak for L-DOPA at a voltage of 0.3 to 0.4 V. The loading efficacy was subsequently determined by reading the percentage of L-DOPA that remained in the supernatant from the displayed percentages adjacent to the supernatant peak.

The DPV curves for the $\text{Au@SiO}_2/\text{L-DOPA}$ system are illustrated in Fig. 6C. The black trace depicts the maximal current of the 1 mg mL⁻¹ pure L-DOPA solution. The supernatant, represented by the light blue trace, exhibits a high L-DOPA signal, with a value of 96.72%. This value suggests that 96.72% of the

initial L-DOPA was retained in the supernatant following the loading procedure. As a result, the calculated loading efficacy for L-DOPA onto Au@SiO₂ nanostructures is approximately 3.28%. The observed loading level is consistent with the dark blue trace of the Au@SiO₂/L-DOPA suspension, which displays a minimal L-DOPA peak.

Similarly, Fig. 6D displays the DPV results for the Au@SiO₂/PVP/L-DOPA system. A high L-DOPA peak, denoted as 97.06%, is once again visible in the light crimson trace of the supernatant. This implies that the supernatant contained 97.06% of the initial L-DOPA, resulting in a loading efficiency of approximately 2.94% for the Au@SiO₂/PVP nanostructures. The dark red trace of the Au@SiO₂/PVP/L-DOPA suspension also exhibits an exceptionally low L-DOPA signal.

The Au@SiO₂/PVP nanoparticles (loading efficiency ~2.94%) demonstrated a marginally reduced L-DOPA loading capacity than the Au@SiO₂ nanostructures (loading efficiency ~3.29%) when comparing the two systems. This minor discrepancy suggests that the PVP layer's presence does not substantially improve L-DOPA loading under the current experimental conditions, and it may even slightly impede it, presumably as a result of altered surface properties or steric effects. Although the loading percentages are moderate, they suggest that a quantifiable quantity of L-DOPA can be associated with these nanoparticles.

The L-DOPA loading efficiency in both cases was relatively low (~3%), which can be attributed to the limited porosity of the silica shell and the weak physical adsorption of the hydrophilic drug molecules on the Au@SiO₂ surface.

3.6. Release of L-DOPA from a nanocarrier

The obtained cumulative release profiles (Fig. 7) showed distinct differences in release kinetics depending on the presence of the

PVP layer. For the Au@SiO₂/L-DOPA system, gradual but effective L-DOPA release was observed: after 24 hours, 6% of the drug was released, after 48 hours, it was 13.86%, after 72 hours, it was 25.60%, and after 168 hours, it was over 84%. The results suggest that the porous silica coating promotes controlled but relatively rapid release of the active substance. In the case of the Au@SiO₂/PVP/L-DOPA carrier, the release was significantly slower. After 24, 48, and 72 hours, 2.08%, 7.57%, and 9.93% of L-DOPA were released, respectively, with the final release occurring after 168 hours at 37.42%. The presence of the PVP layer likely constitutes an additional diffusion barrier, limiting the medium's access to the loaded carrier core. As a control, the release of free L-DOPA (without any carrier) was also evaluated. The drug was completely released at the first measurement point, and no further increase in absorbance was observed at subsequent time points, confirming that the slower release in nanocarrier systems. The obtained data indicate that surface modification of nanocarriers significantly affects their drug release properties. While the system without a PVP layer is characterized by faster and more complete release, its PVP counterpart allows for a longer, more controlled release, which may be beneficial in applications requiring prolonged therapeutic action. The release profiles suggest that the dominant mechanism of L-DOPA release from both nanocarrier systems is controlled diffusion. In the case of the Au@SiO₂/L-DOPA sample, drug molecules are likely released *via* Fickian diffusion from the porous silica shell. The presence of the PVP layer in the Au@SiO₂/PVP/L-DOPA system introduces an additional diffusion barrier, slowing drug transport and providing a more sustained release profile. These observations are consistent with diffusion-based kinetic models, such as the Higuchi equation, which describe drug release governed primarily by concentration gradients.

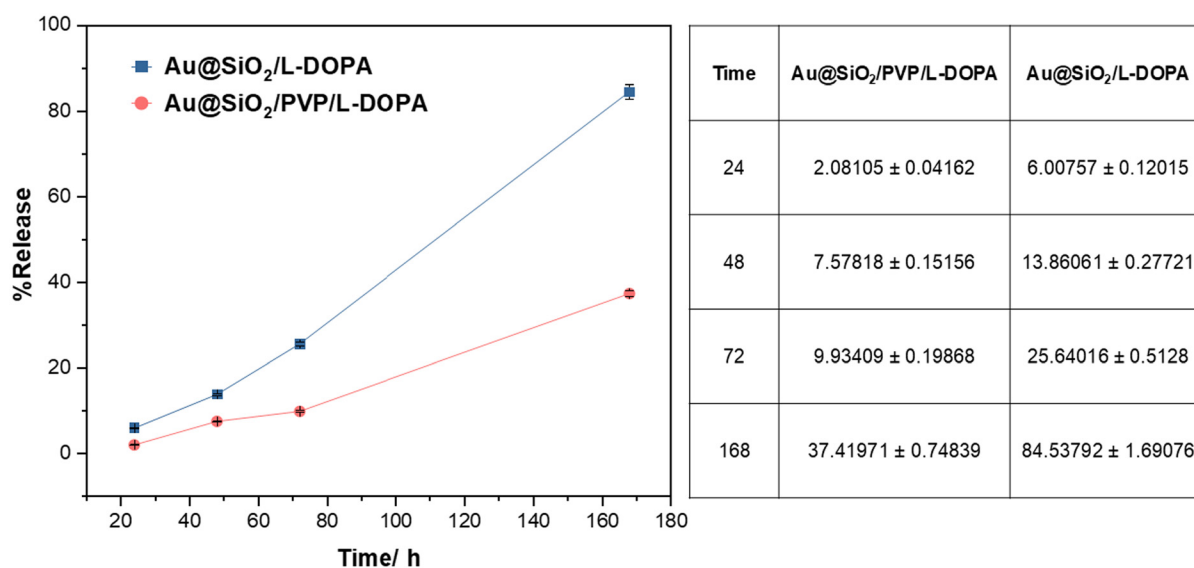


Fig. 7 Cumulative release profile of L-DOPA from Au@SiO₂/L-DOPA and Au@SiO₂/PVP/L-DOPA nanocarriers *in vitro* for 168 hours. Mean result and standard deviation.

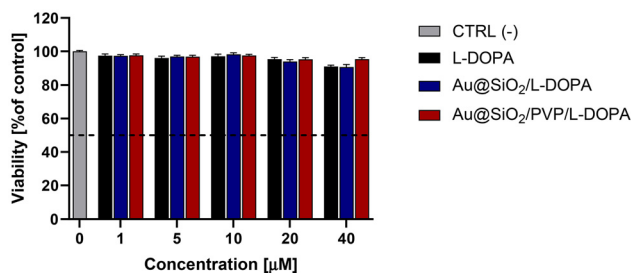


Fig. 8 Effect of free L-DOPA and Au@SiO₂-based nanocarriers on SH-SY5Y cell viability after 24 h. Cells were exposed to increasing L-DOPA-equivalent concentrations (1–40 μM) delivered as free L-DOPA, Au@SiO₂/L-DOPA, or Au@SiO₂/PVP/L-DOPA. Viability was determined by the trypan blue exclusion assay and normalized to the untreated control (CTRL (-); medium only). Bars represent mean ± SD (*n* = 3). The dashed horizontal line at 50% denotes the IC₅₀ threshold.

3.7. *In vitro* biological effects of gold-silica nanocarriers in SH-SY5Y cells

Cell viability was evaluated in SH-SY5Y neuroblastoma cells after exposure to free L-DOPA and gold-silica nanostructures (Au@SiO₂ and Au@SiO₂/PVP) loaded with L-DOPA using the trypan blue exclusion assay (Fig. 8). The concentration range (1–40 μM) was chosen to cover the doses applied in enzymatic assays (2 and 20 μM, Fig. 9) and to ensure their non-cytotoxicity in SH-SY5Y cells. Across all tested doses, cell viability remained above 90% compared with untreated controls, demonstrating the absence of significant cytotoxic effects under the applied conditions.

Additional control experiments were performed to verify that the observed effects were attributable specifically to the tested nanostructures with L-DOPA. Addition of 0.01% ascorbic acid as an antioxidant (Fig. S1) did not markedly alter cell viability, which remained largely comparable to the corresponding conditions without ascorbic acid across most concen-

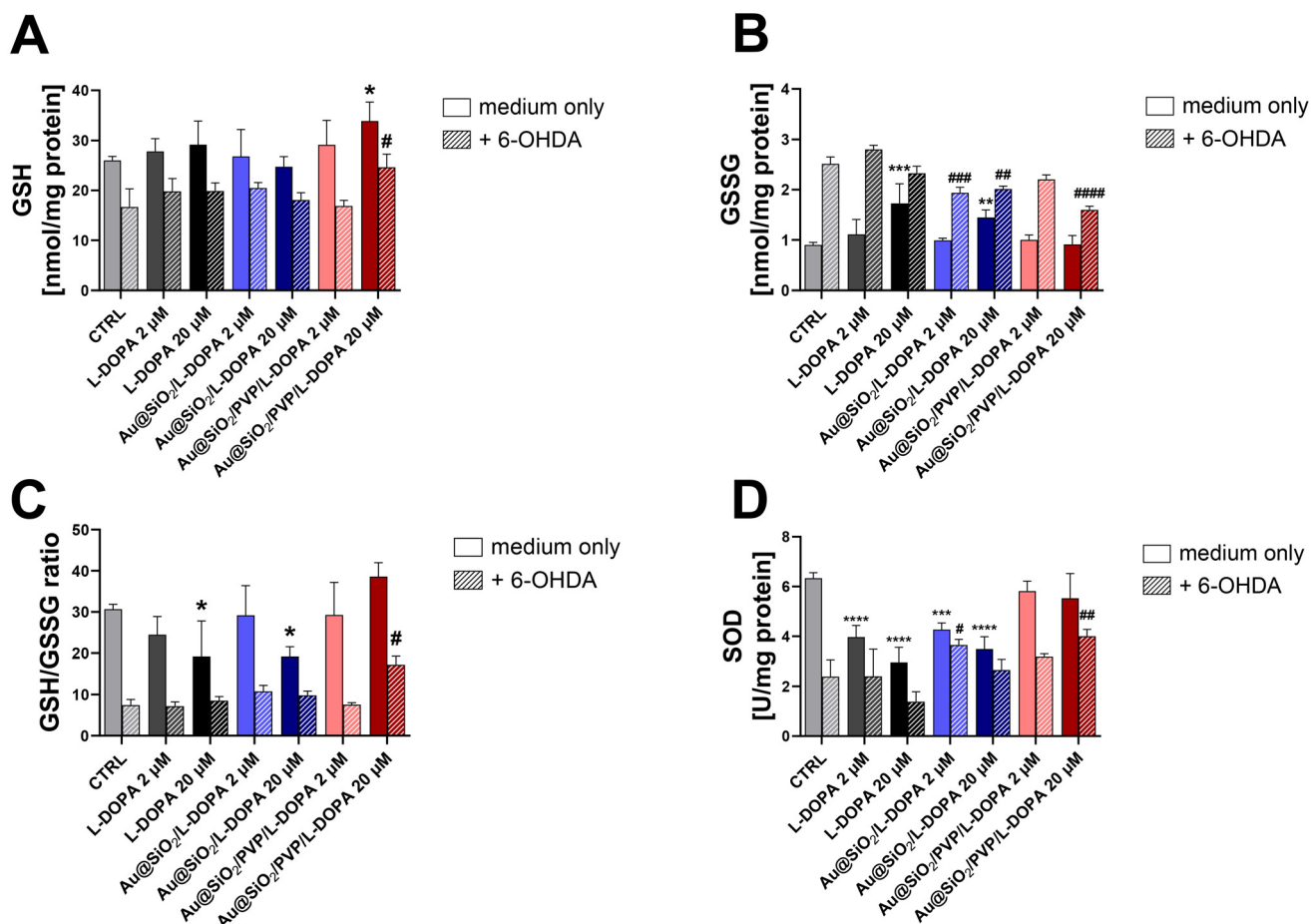


Fig. 9 Effects of free L-DOPA and Au@SiO₂-based L-DOPA nanoformulations on SH-SY5Y cells in the absence or presence of 6-hydroxydopamine (6-OHDA). Cells were pre-incubated for 2 h with free L-DOPA, Au@SiO₂/L-DOPA, or Au@SiO₂/PVP/L-DOPA at 2 or 20 μM L-DOPA-equivalent, then either maintained in medium only to a 6 h total or exposed to 50 μM 6-OHDA for the final 4 h. Open bars: medium only; hatched bars: +6-OHDA; CTRL: untreated cells. Panels: (A) reduced glutathione (GSH), (B) oxidized glutathione (GSSG), (C) GSH/GSSG ratio, (D) superoxide dismutase (SOD) activity. Data are mean ± SD (*n* = 3). Asterisks (*) indicate significant differences versus control; hash marks (#) indicate significant differences versus 6-OHDA. **p* < 0.05, ***p* < 0.01, ****p* < 0.001, *****p* < 0.0001.

trations. At 40 μM , viability slightly decreased for free L-DOPA ($81.0 \pm 1.2\%$) and Au@SiO₂/L-DOPA ($82.0 \pm 1.1\%$), whereas Au@SiO₂/PVP/L-DOPA maintained values above 90%. Treatment with unloaded Au@SiO₂ core-shell nanostructures (Fig. S2) did not affect SH-SY5Y viability, confirming that the nanocarrier itself was non-cytotoxic.

To determine the effects of L-DOPA and its nanoformulations (Au@SiO₂/L-DOPA and Au@SiO₂/PVP/L-DOPA) on cellular redox homeostasis, SH-SY5Y cells were pre-incubated for 2 h with 2 or 20 μM of the respective formulations, followed by either continued incubation in medium alone (6 h total) or subsequent exposure to 50 μM 6-OHDA for 4 h to induce oxidative stress.

Reduced glutathione (GSH; Fig. 9A) was largely unaffected by most treatments; however, a significant increase was observed after 20 μM Au@SiO₂/PVP/L-DOPA under basal conditions ($p = 0.0202$) and after 6-OHDA exposure ($p = 0.0190$). Oxidized glutathione (GSSG; Fig. 9B) increased in the absence of 6-OHDA after 20 μM free L-DOPA ($p < 0.0001$) and 20 μM Au@SiO₂/L-DOPA ($p = 0.0018$), whereas in 6-OHDA-treated cells GSSG was lower than control after Au@SiO₂/L-DOPA at 2 μM ($p = 0.0010$) and 20 μM ($p = 0.0043$), as well as after 20 μM Au@SiO₂/PVP/L-DOPA ($p < 0.0001$). Consequently, the GSH/GSSG ratio (Fig. 9C) was reduced by 20 μM free L-DOPA ($p = 0.0101$) and 20 μM Au@SiO₂/L-DOPA ($p = 0.0100$) under basal conditions, but increased by 20 μM Au@SiO₂/PVP/L-DOPA after 6-OHDA treatment ($p = 0.0334$).

Superoxide dismutase (SOD) activity (Fig. 9D) was decreased under basal conditions by free L-DOPA (2 and 20 μM ; both $p < 0.0001$) and by Au@SiO₂/L-DOPA (2 μM , $p = 0.0004$; 20 μM , $p < 0.0001$), with no significant change after Au@SiO₂/PVP/L-DOPA. Following 6-OHDA exposure, SOD activity was increased in cells treated with 2 μM Au@SiO₂/L-DOPA ($p = 0.0403$) and 20 μM Au@SiO₂/PVP/L-DOPA ($p = 0.0060$). By contrast, drug-free Au@SiO₂ core-shell nanostructures did not significantly alter GSH, GSSG, the GSH/GSSG ratio, or SOD activity under either condition (Fig. S3).

L-DOPA has been shown to disrupt cellular redox equilibrium in dopaminergic systems. Studies have demonstrated that L-DOPA exposure leads to increased GSSG accumulation and reduced GSH/GSSG ratio.^{32,33} L-DOPA also suppresses SOD activity,³⁴ consistent with its pro-oxidant effects. These changes are associated with the inhibition of thiol-disulfide oxidoreductase enzymes, particularly glutaredoxin and thioredoxin systems.³⁵ L-DOPA's pro-oxidant effects are attributed to its autooxidation and metabolism, generating reactive oxygen species and quinones.^{36,37} However, L-DOPA can also induce a protective response by upregulating GSH levels in certain cell types, particularly those containing glia.³⁸ This complex interplay between pro-oxidant and antioxidant effects highlights the need for careful consideration in Parkinson's disease treatment.³⁹

In line with these earlier observations, our results demonstrate that free L-DOPA indeed exerts a pro-oxidant effect in SH-SY5Y cells, as evidenced by GSSG accumulation, a reduced GSH/GSSG ratio, and decreased SOD activity under basal con-

ditions. These findings reinforce the view that unmodified L-DOPA compromises antioxidant defenses through glutathione oxidation and suppression of enzymatic scavenging systems. By contrast, nanoformulated L-DOPA displayed a more favorable profile. In particular, Au@SiO₂/PVP/L-DOPA not only elevated intracellular GSH levels both at baseline and following 6-OHDA insult, but also improved the GSH/GSSG ratio under oxidative stress, suggesting a restoration of redox equilibrium. Furthermore, both Au@SiO₂/L-DOPA and Au@SiO₂/PVP/L-DOPA enhanced SOD activity in 6-OHDA-treated cells, counteracting the enzyme suppression seen with free L-DOPA. Collectively, these results suggest that nanoformulation mitigates the redox liabilities of L-DOPA and may enhance its therapeutic safety by balancing its dual pro- and antioxidant effects in neuronal cells. This redox-modulating effect is further supported by the restoration of SOD activity and GSH/GSSG balance, indicating an indirect antioxidant-like mechanism rather than intrinsic antioxidant activity of the carrier itself.

3.8. Comparison with literature carrier systems

Various carriers have been described in the literature to demonstrate efficacy in delivering L-DOPA, aiming to improve its bioavailability and ability to cross the blood-brain barrier (BBB). These include mesoporous silica (MSN), polymeric nanocapsules (e.g., PCL-PVA), and L-DOPA-functionalized gold nanoparticles (L-DOPA-AuNF). For example, a functionalized AuNF-L-DOPA nanomaterial enabled specific drug penetration across the BBB *via* the LAT-1 transporter without inducing inflammatory reactions in brain macrophages, indicating their potential as selective, biocompatible carriers.⁴⁰ Another study utilized MSNs and the concept of structure-directing drug-forming agents (DSDAs) with intrinsic therapeutic activity. The approach involved chemically transforming L-DOPA to construct anionic surfactants, which were capable of forming micelles as templates for the formation of a porous silica scaffold. The materials developed in this way exhibited diverse morphology. They enabled pH-dependent, delayed release of L-DOPA under intestinal conditions (pH 7.4), which limited premature drug degradation in the gastric environment.⁴¹ Particularly promising results were also achieved with polymer systems in which L-DOPA was encapsulated in a nanocomposite based on poly(ϵ -caprolactone) (PCL) stabilized with polyvinyl alcohol (PVA). LD-PCL-PVA nanocomposites exhibit good chemical stability, prolonged drug release, and increased bioavailability in mouse plasma, while simultaneously demonstrating cytotoxicity towards SH-SY5Y neuronal cells. Notably, the use of this type of nanocarrier in an *in vivo* model showed a significant improvement in motor symptoms in a rotenone-induced mouse model of Parkinson's disease. Additionally, the nanocomposite increased dopamine and glutathione levels.⁴² Although many of these systems enable effective drug release, most lack additional biological activity that could support the treatment of neurodegenerative diseases. The Au@SiO₂ nanocarriers developed here uniquely combine tunable release kinetics (with or without a PVP barrier) and intrinsic antioxidant properties, offering a multifunctional

Table 2 Comparison of selected nanocarrier systems developed for L-DOPA delivery. The overview highlights carrier type, release profile, therapeutic outcome, and main limitations. The Au@SiO₂ system presented in this work provides a unique combination of tunable release kinetics and intrinsic antioxidant activity, offering dual therapeutic functionality in the context of Parkinson's disease

Carrier system	Key mechanism/feature	Release profile	<i>In vivo</i> /functional outcome	Limitations	Drug release
AuNF-L-DOPA	LAT-1 mediated BBB transport	Moderate, transporter-dependent	BBB penetration, no inflammation	Limited release control, no added activity	N/A
MSN-DSDA	pH-Responsive porous silica	Delayed release at pH 7.4	Protection from gastric degradation	Complex synthesis, limited bioactivity	25% after 48 h
PCL-PVA nanocomposite	Polymeric sustained release system	Prolonged release, ↑ bioavailability	Motor improvement in PD mouse model; ↑ dopamine, ↑ GSH	Biodegradation, scale-up challenges	94.71% after 120 h
Au@SiO ₂ (this work)	Porous silica ± PVP diffusion layer	Fast (>80%/168 h) or prolonged (~37%/168 h)	Controlled kinetics; intrinsic antioxidant activity	Yet to be validated <i>in vivo</i>	37.42% after 168 h for Au@SiO ₂ /PVP and 84% after 168 h for Au@SiO ₂

Abbreviations: AuNF – gold nanoflowers, LAT-1 – L-type amino acid transporter 1, MSN – mesoporous silica nanoparticles, DSDA – drug-structure-directing agents, PCL – poly-ε-caprolactone, PVA – poly(vinyl alcohol).

approach that addresses both drug delivery and disease-related oxidative stress in Parkinson's therapy. A comparative summary of the above-described carriers for L-DOPA is presented in Table 2.

4. Conclusion and future perspectives

The developed silica-coated gold core-shell nanosystem (Au@SiO₂) represents a promising platform for the controlled delivery of L-DOPA in the context of Parkinson's disease therapy. The nanocarrier demonstrated high colloidal stability, hydrophilicity, and a redox-protective effect that may mitigate oxidative stress associated with L-DOPA treatment. Despite the low but measurable drug loading efficiency (~3%), which represents a limitation of the current nanoformulation, primarily due to the limited amount of drug delivered per dose, the system enabled sustained and controlled release of L-DOPA, with improved performance in PVP-modified formulations. Importantly, *in vitro* studies on SH-SY5Y cells confirmed excellent biocompatibility and a potential protective effect against oxidative stress, suggesting that the nanosystem could mitigate L-DOPA-associated neurotoxicity.

As next steps, we plan to further optimize the loading efficiency and evaluate the *in vivo* performance of these nanosystems. In particular, the loading efficiency could be improved by increasing the carrier's surface area through the use of mesoporous silica, which would provide more adsorption sites for L-DOPA molecules. Furthermore, surface functionalization with amino or carboxyl groups, along with optimization of loading parameters (pH, solvent composition, and concentration ratios) may enhance drug-matrix interactions and improve encapsulation efficiency. Another important for future aspect is the evaluation of the ability of Au@SiO₂ and Au@SiO₂/PVP nanosystems to cross the blood-brain barrier (BBB). *In vitro* BBB models will be employed to

access permeability, and surface modification strategies such as functionalization with target ligands, may be used enhance selective transport into the brain.

Overall, this multifunctional nanosystem combines sustained drug delivery, biocompatibility, and redox-protective (antioxidant-like) effects that counteract L-DOPA-induced oxidative stress, demonstrating controlled release and reduced oxidative stress compared with free L-DOPA, while acknowledging the current limitations in drug loading.

Author contributions

A. Kowalska – was responsible for conceptualization, methodology, investigation including synthesis of nanostructures, their conjugation, and characterization of nanostructures and conjugates, data curation, formal analysis, visualization, writing – original draft and funding acquisition; E. Adamska – writing, review and editing, visualization, supervision and funds acquisition; K. Zima – writing and visualization the original draft in part, studies of biological effects in SH-SY5Y cells; P. Nowicka – writing the original draft in part, studies of interactions with DNA (switchSense technique); A. Wcisło – writing the original draft in part, studies of degree of drug loading (electrochemical techniques); M. Makowski – supervision and funds acquisition for studies of interactions with DNA (switchSense technique), correction of the original draft. B. Grobelna – writing, review and editing, supervision and correction of the original draft. All authors have edited, reviewed, corrected, and accepted the final version of the article.

Conflicts of interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Data availability

We confirm that the majority of the data supporting the conclusions of our study are available in the article.

Supplementary information (SI) is available. See DOI: <https://doi.org/10.1039/d5dt02168e>.

Acknowledgements

This research was supported by the University of Gdansk under the UGrants-START 5 Small Grants Program 2025 no. 533-BG20-GS13-25 (A. K.) and BMN no. 539-T050-B198-25 (E. A.).

References

- 1 G. M. Halliday and H. McCann, The progression of pathology in Parkinson's disease, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2010, **1184**, 188–195, DOI: [10.1111/j.1749-6632.2009.05118.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05118.x).
- 2 S. Ramesh and A. S. P. M. Arachchige, Depletion of dopamine in Parkinson's disease and relevant therapeutic options: A review of the literature, *AIMS Neurosci.*, 2023, **10**, 200–231, DOI: [10.3934/Neuroscience.2023017](https://doi.org/10.3934/Neuroscience.2023017).
- 3 S. Ramesh and A. S. P. M. Arachchige, Depletion of dopamine in Parkinson's disease and relevant therapeutic options: A review of the literature, *AIMS Neurosci.*, 2023, **10**, 200–231, DOI: [10.3934/neuroscience.2023017](https://doi.org/10.3934/neuroscience.2023017).
- 4 D. A. Grimes and D. E. Bulman, Parkinson's genetics—creating exciting new insights, *Parkinsonism Relat. Disord.*, 2002, **8**, 459–464, DOI: [10.1016/S1353-8020\(02\)00030-5](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(02)00030-5).
- 5 I. Zahoor, A. Shafi and E. Haq, Pharmacological Treatment of Parkinson's Disease, in *Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects*, ed. T. B. Stoker and J. C. Greenland, Codon Publications, Brisbane (AU), 2018, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536726/> (accessed July 24, 2025).
- 6 M. Beckers, B. R. Bloem and M. M. Verbeek, Mechanisms of peripheral levodopa resistance in Parkinson's disease, *npj Parkinson's Dis.*, 2022, **8**, 56, DOI: [10.1038/s41531-022-00321-y](https://doi.org/10.1038/s41531-022-00321-y).
- 7 B. J. Stansley and B. K. Yamamoto, L-dopa-induced dopamine synthesis and oxidative stress in serotonergic cells, *Neuropharmacology*, 2013, **67**, 243–251, DOI: [10.1016/j.neuropharm.2012.11.010](https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.11.010).
- 8 A. Demailly, C. Moreau and D. Devos, Effectiveness of Continuous Dopaminergic Therapies in Parkinson's Disease: A Review of L-DOPA Pharmacokinetics/Pharmacodynamics, *J. Parkinson's Dis.*, 2024, **14**, 925–939, DOI: [10.3233/JPD-230372](https://doi.org/10.3233/JPD-230372).
- 9 F. Stocchi, L. Vacca, P. Grassini, S. Pawsey, H. Whale, S. Marconi and M. Torti, L-Dopa, Pharmacokinetic Profile with Effervescent Melevodopa/Carbidopa versus Standard-Release Levodopa/Carbidopa Tablets in Parkinson's Disease: A Randomised Study, *Parkinson's Dis.*, 2015, **2015**, 369465, DOI: [10.1155/2015/369465](https://doi.org/10.1155/2015/369465).
- 10 T. Alexander, C. E. Sortwell, C. D. Sladek, R. H. Roth and K. Steece-Collier, Comparison of neurotoxicity following repeated administration of l-dopa, d-dopa and dopamine to embryonic mesencephalic dopamine neurons in cultures derived from Fisher 344 and Sprague-Dawley donors, *Cell Transplant.*, 1997, **6**, 309–315, DOI: [10.1177/096368979700600313](https://doi.org/10.1177/096368979700600313).
- 11 P. G. Jenner and M. F. Brin, Levodopa neurotoxicity: experimental studies versus clinical relevance, *Neurology*, 1998, **50**, S39–S43, DOI: [10.1212/wnl.50.6_suppl_6.s39](https://doi.org/10.1212/wnl.50.6_suppl_6.s39); discussion S44–S48.
- 12 B. J. Stansley and B. K. Yamamoto, L-dopa-induced dopamine synthesis and oxidative stress in serotonergic cells, *Neuropharmacology*, 2013, **67**, 243–251, DOI: [10.1016/j.neuropharm.2012.11.010](https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.11.010).
- 13 A. Yusuf, A. R. Z. Almotairy, H. Henidi, O. Y. Alshehri and M. S. Aldughaim, Nanoparticles as Drug Delivery Systems: A Review of the Implication of Nanoparticles' Physicochemical Properties on Responses in Biological Systems, *Polymers*, 2023, **15**, 1596, DOI: [10.3390/polym15071596](https://doi.org/10.3390/polym15071596).
- 14 F. Kurul, H. Turkmen, A. E. Cetin and S. N. Topkaya, Nanomedicine: How nanomaterials are transforming drug delivery, bio-imaging, and diagnosis, *Next Nanotechnol.*, 2025, **7**, 100129, DOI: [10.1016/j.nxnano.2024.100129](https://doi.org/10.1016/j.nxnano.2024.100129).
- 15 A. Kowalska, E. Adamska and B. Grobelna, Medical Applications of Silver and Gold Nanoparticles and Core-Shell Nanostructures Based on Silver or Gold Core: Recent Progress and Innovations, *ChemMedChem*, 2024, **19**, e202300672, DOI: [10.1002/cmdc.202300672](https://doi.org/10.1002/cmdc.202300672).
- 16 J. K. Patra, G. Das, L. F. Fraceto, E. V. R. Campos, M. D. P. Rodriguez-Torres, L. S. Acosta-Torres, L. A. Diaz-Torres, R. Grillo, M. K. Swamy, S. Sharma, S. Habtemariam and H.-S. Shin, Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects, *J. Nanobiotechnol.*, 2018, **16**, 71, DOI: [10.1186/s12951-018-0392-8](https://doi.org/10.1186/s12951-018-0392-8).
- 17 C.-Y. Hsu, A. M. Rheima, M. M. Kadhim, N. N. Ahmed, S. H. Mohammed, F. H. Abbas, Z. T. Abed, Z. M. Mahdi, Z. S. Abbas, S. K. Hachim, F. K. Ali, Z. H. Mahmoud and E. Kianfar, An overview of nanoparticles in drug delivery: Properties and applications, *S. Afr. J. Chem. Eng.*, 2023, **46**, 233–270, DOI: [10.1016/j.sajce.2023.08.009](https://doi.org/10.1016/j.sajce.2023.08.009).
- 18 T. Chen, T. Li and J. Wang, Nanoscale Au@SiO₂-drug/VEGF as an in vivo probe for osteosarcoma diagnosis and therapy, *Oncol. Lett.*, 2021, **22**, 766, DOI: [10.3892/ol.2021.13027](https://doi.org/10.3892/ol.2021.13027).
- 19 K. S. Meena, K. I. Dhanalekshmi and K. Jayamoorthy, Study of photodynamic activity of Au@SiO₂ core-shell nanoparticles in vitro, *Mater. Sci. Eng., C*, 2016, **63**, 317–322, DOI: [10.1016/j.msec.2016.03.010](https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.03.010).
- 20 T. Yuan, L. Gao, W. Zhan and D. Dini, Effect of Particle Size and Surface Charge on Nanoparticles Diffusion in the Brain White Matter, *Pharm. Res.*, 2022, **39**, 767–781, DOI: [10.1007/s11095-022-03222-0](https://doi.org/10.1007/s11095-022-03222-0).
- 21 E. Asimakidou, J. K. S. Tan, J. Zeng and C. H. Lo, Blood–Brain Barrier-Targeting Nanoparticles: Biomaterial Properties and Biomedical Applications in Translational Neuroscience, *Pharmaceuticals*, 2024, **17**, 612, DOI: [10.3390/ph17050612](https://doi.org/10.3390/ph17050612).

- 22 V. Ceña and P. Játiva, Nanoparticle Crossing of Blood–Brain Barrier: A Road to New Therapeutic Approaches to Central Nervous System Diseases, *Nanomedicine*, 2018, **13**, 1513–1516, DOI: [10.2217/nnm-2018-0139](https://doi.org/10.2217/nnm-2018-0139).
- 23 A. Jiménez, E. Estudillo, M. A. Guzmán-Ruiz, N. Herrera-Mundo, G. Victoria-Acosta, E. M. Cortés-Malagón and A. López-Ornelas, Nanotechnology to Overcome Blood–Brain Barrier Permeability and Damage in Neurodegenerative Diseases, *Pharmaceutics*, 2025, **17**, 281, DOI: [10.3390/pharmaceutics17030281](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17030281).
- 24 A. M. Hersh, S. Alomari and B. M. Tyler, Crossing the Blood-Brain Barrier: Advances in Nanoparticle Technology for Drug Delivery in Neuro-Oncology, *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, **23**, 4153, DOI: [10.3390/ijms23084153](https://doi.org/10.3390/ijms23084153).
- 25 E. Adamska, A. Kowalska, A. Wcisło, K. Zima and B. Grobelna, Studying the Effect of Reducing Agents on the Properties of Gold Nanoparticles and Their Integration into Hyaluronic Acid Hydrogels, *Molecules*, 2024, **29**, 5837, DOI: [10.3390/molecules29245837](https://doi.org/10.3390/molecules29245837).
- 26 P. Nowicka, S. Brzeska and M. Makowski, Exploring the interactions of biologically active compounds (including drugs) with biomolecules: Utilizing Surface Plasmon Resonance and SwitchSense techniques, *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 2024, **176**, 117764, DOI: [10.1016/j.trac.2024.117764](https://doi.org/10.1016/j.trac.2024.117764).
- 27 M. Kowalik, P. Nowicka, J. Brzeski, N. Żukowska, J. Masternak, K. Kazimierzczuk and M. Makowski, Exploring novel Cd(II) complexes with 5-methyl-4-imidazolecarboxaldehyde: synthesis, structure, computational insights, and affinity to DNA through switchSense methodology, *Dalton Trans.*, 2024, **53**, 10347–10360, DOI: [10.1039/D4DT00879K](https://doi.org/10.1039/D4DT00879K).
- 28 D. J. Pochapski, C. Carvalho dos Santos, G. W. Leite, S. H. Pulcinelli and C. V. Santilli, Zeta Potential and Colloidal Stability Predictions for Inorganic Nanoparticle Dispersions: Effects of Experimental Conditions and Electrokinetic Models on the Interpretation of Results, *Langmuir*, 2021, **37**, 13379–13389, DOI: [10.1021/acs.langmuir.1c02056](https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.1c02056).
- 29 A. Serrano-Lotina, R. Portela, P. Baeza, V. Alcolea-Rodríguez, M. Villarroel and P. Ávila, Zeta potential as a tool for functional materials development, *Catal. Today*, 2023, **423**, 113862, DOI: [10.1016/j.cattod.2022.08.004](https://doi.org/10.1016/j.cattod.2022.08.004).
- 30 N. M. Bahadur, S. Watanabe, T. Furusawa, M. Sato, F. Kurayama, I. A. Siddiquey, Y. Kobayashi and N. Suzuki, Rapid one-step synthesis, characterization and functionalization of silica coated gold nanoparticles, *Colloids Surf., A*, 2011, **392**, 137–144, DOI: [10.1016/j.colsurfa.2011.09.046](https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.09.046).
- 31 E. Adamska, K. Niska, A. Wcisło and B. Grobelna, Characterization and Cytotoxicity Comparison of Silver- and Silica-Based Nanostructures, *Materials*, 2021, **14**, 4987, DOI: [10.3390/ma14174987](https://doi.org/10.3390/ma14174987).
- 32 J. P. Spencer, P. Jenner and B. Halliwell, Superoxide-dependent depletion of reduced glutathione by L-DOPA and dopamine. Relevance to Parkinson's disease, *NeuroReport*, 1995, **6**, 1480–1484, DOI: [10.1097/00001756-199507310-00004](https://doi.org/10.1097/00001756-199507310-00004).
- 33 M. B. Spina and G. Cohen, Exposure of striatal [corrected] synaptosomes to L-dopa increases levels of oxidized glutathione, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1988, **247**, 502–507.
- 34 F. Pinnen, I. Cacciatore, C. Cornacchia, P. Sozio, A. Iannitelli, M. Costa, L. Pecci, C. Nasuti, F. Cantalamessa and A. Di Stefano, Synthesis and Study of L-Dopa–Glutathione Codrugs as New Anti-Parkinson Agents with Free Radical Scavenging Properties, *J. Med. Chem.*, 2007, **50**, 2506–2515, DOI: [10.1021/jm070037v](https://doi.org/10.1021/jm070037v).
- 35 E. A. Sabens, A. M. Distler and J. J. Mieyal, Levodopa Deactivates Enzymes That Regulate Thiol–Disulfide Homeostasis and Promotes Neuronal Cell Death: Implications for Therapy of Parkinson's Disease, *Biochemistry*, 2010, **49**, 2715–2724, DOI: [10.1021/bi9018658](https://doi.org/10.1021/bi9018658).
- 36 C. Mytilineou, S.-K. Han and G. Cohen, Toxic and Protective Effects of L-DOPA on Mesencephalic Cell Cultures, *J. Neurochem.*, 1993, **61**, 1470–1478, DOI: [10.1111/j.1471-4159.1993.tb13642.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1993.tb13642.x).
- 37 J. P. E. Spencer, A. Jenner, J. Butler, O. I. Aruoma, D. T. Dexter, P. Jenner and B. Halliwell, Evaluation of the Pro-Oxidant and Antioxidant Actions of L-DOPA and Dopamine in Vitro: Implications for Parkinson's Disease, *Free Radical Res.*, 1996, **24**, 95–105, DOI: [10.3109/10715769609088005](https://doi.org/10.3109/10715769609088005).
- 38 S.-K. Han, C. Mytilineou and G. Cohen, L-DOPA Up-Regulates Glutathione and Protects Mesencephalic Cultures Against Oxidative Stress, *J. Neurochem.*, 1996, **66**, 501–510, DOI: [10.1046/j.1471-4159.1996.66020501.x](https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1996.66020501.x).
- 39 A. Garcia-Garcia, L. Zavala-Flores, H. Rodríguez-Rocha and R. Franco, Thiol-Redox Signaling, Dopaminergic Cell Death, and Parkinson's Disease, *Antioxid. Redox Signaling*, 2012, **17**, 1764–1784, DOI: [10.1089/ars.2011.4501](https://doi.org/10.1089/ars.2011.4501).
- 40 D. A. Gonzalez-Carter, Z. Y. Ong, C. M. McGilvery, I. E. Dunlop, D. T. Dexter and A. E. Porter, L-DOPA, functionalized, multi-branched gold nanoparticles as brain-targeted nano-vehicles, *Nanomedicine*, 2019, **15**, 1–11, DOI: [10.1016/j.nano.2018.08.011](https://doi.org/10.1016/j.nano.2018.08.011).
- 41 V. Morales, J. McConnell, M. Pérez-Garnes, N. Almendro, R. Sanz and R. A. García-Muñoz, L-Dopa, release from mesoporous silica nanoparticles engineered through the concept of drug-structure-directing agents for Parkinson's disease, *J. Mater. Chem. B*, 2021, **9**, 4178–4189, DOI: [10.1039/D1TB00481F](https://doi.org/10.1039/D1TB00481F).
- 42 R. Hanumanthappa, G. B. Heggannavar, A. Banakar, D. D. Achari, V. R. Karoshi, B. R. R. Krushna, A. Bepari, R. A. Assiri, H. N. Altamimi, H. Nanjaiah, D. Sannanigaiah, S. V. Raghu, V. Kaveeshwar, H. Nagabhushana and K. S. Devaraju, A Levodopa-Encapsulated Poly-ε-Caprolactone Nanocomposite Improves the Motor Symptoms and Neurochemical Changes in a Rotenone-Induced Mouse Model of Parkinson's Disease, *ACS Omega*, 2025, **10**, 19682–19696, DOI: [10.1021/acsomega.5c00691](https://doi.org/10.1021/acsomega.5c00691).

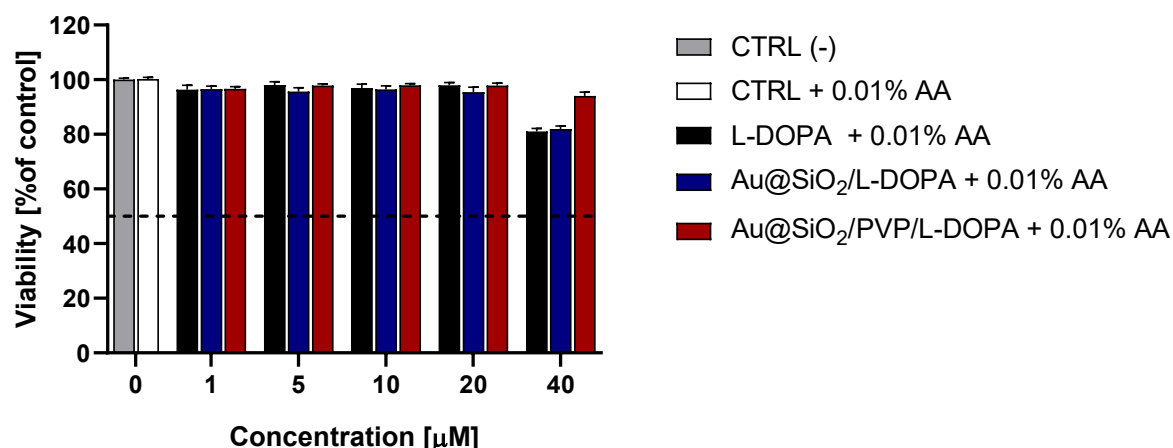


Figure S1. Effect of free L-DOPA and Au@SiO₂-based nanoformulations on SH-SY5Y cell viability after 24 h in the presence of 0.01% ascorbic acid. Cells were exposed to increasing L-DOPA-equivalent concentrations (1–40 μM) delivered as free L-DOPA, Au@SiO₂–L-DOPA, or Au@SiO₂/PVP–L-DOPA. Viability was determined by the Trypan Blue exclusion assay and normalized to the untreated control (CTRL (-); medium only). CTRL + AA refers to cells treated with 0.01% ascorbic acid alone. Bars represent mean $\pm$ SD ($n = 3$). The dashed horizontal line at 50% denotes the IC₅₀ threshold.

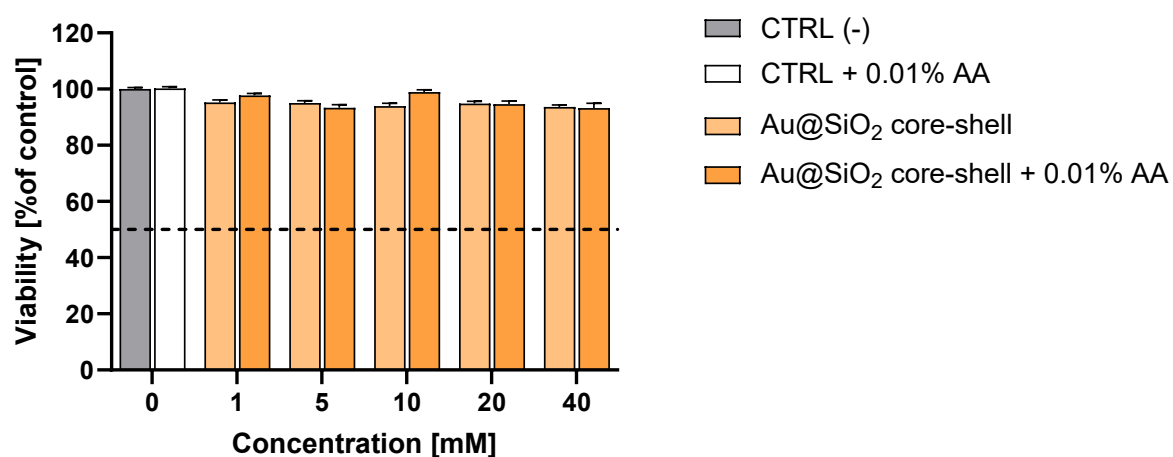


Figure S2. Effect of Au@SiO₂ core-shell nanoparticles on SH-SY5Y cell viability after 24 h with or without 0.01% ascorbic acid. Cells were exposed to increasing nanoparticle concentrations (1–40 mM). Viability was determined by the Trypan Blue exclusion assay and normalized to the untreated control (CTRL; medium only). CTRL + 0.01% AA denotes cells treated with ascorbic acid alone. Bars show mean $\pm$ SD ($n = 3$). The dashed horizontal line at 50% indicates the IC₅₀ threshold.

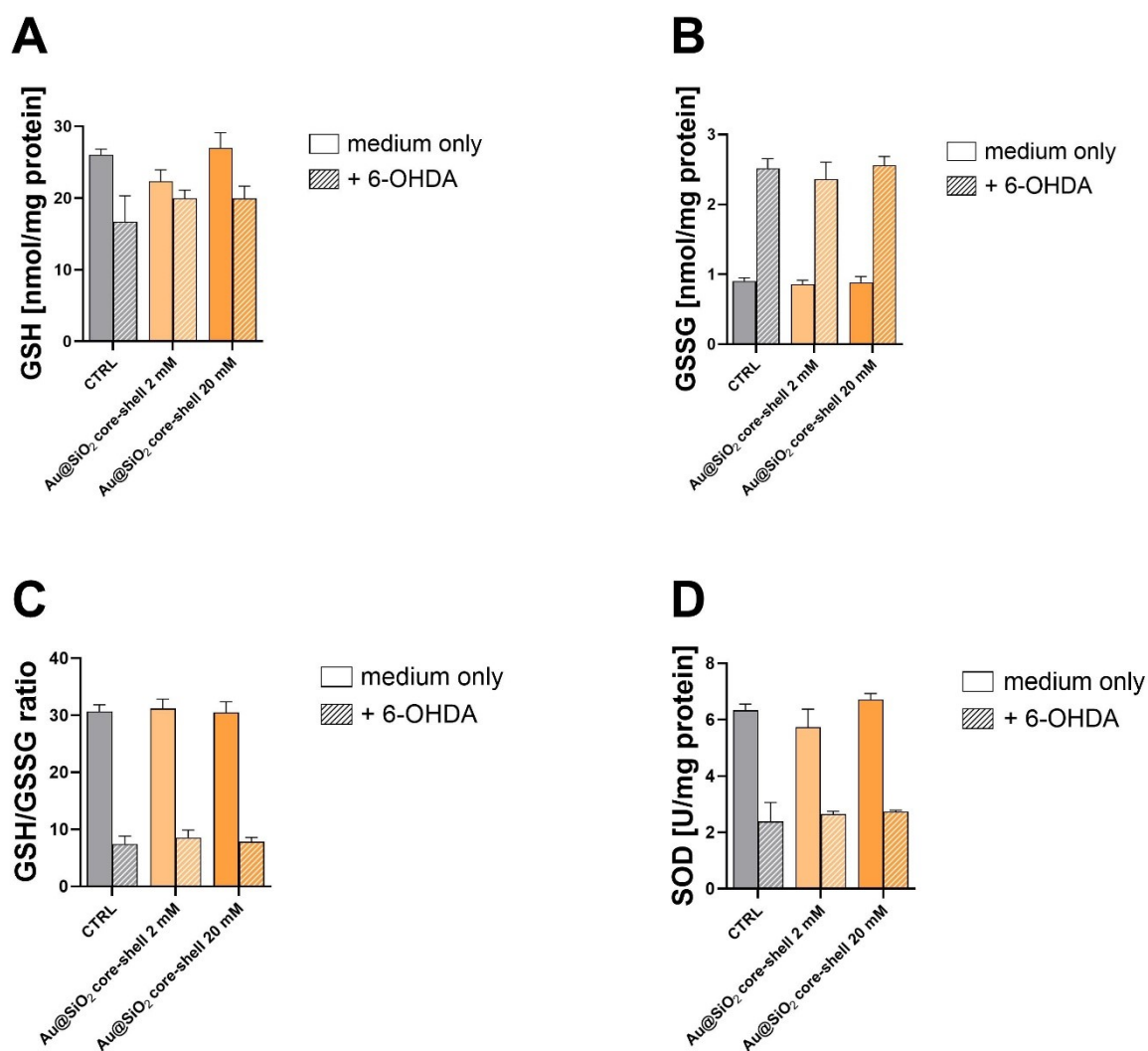


Figure S3. Effects of Au@SiO₂ core-shell nanoparticles on the cellular redox state of SH-SY5Y cells in the absence or presence of 6-hydroxydopamine (6-OHDA). Cells were pre-incubated for 2 h with Au@SiO₂ core-shell at 2 or 20 mM, then either maintained in medium alone to a 6 h total or exposed to 50 μ M 6-OHDA for the final 4 h. Open bars: medium only; hatched bars: +6-OHDA; CTRL: untreated cells. Panels: (A) reduced glutathione (GSH), (B) oxidized glutathione (GSSG), (C) GSH/GSSG ratio, (D) superoxide dismutase (SOD) activity. Data are mean $\pm$ SD (n = 3).



OPEN

Colloidal stability and controlled release of Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ core-shell nanostructures from biopolymer-based hydrogels

Agata Kowalska[✉], Elżbieta Adamska[✉], Anna Wcisło[✉], Kinga Deja, Adrianna Kalinowska & Beata Grobelna[✉]

Nanotechnology offers innovative strategies for developing multifunctional cosmetic ingredients. Here, we synthesize Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ core-shell nanostructures with high shape and size uniformity, colloidal stability, and hydrophilicity. The silica shell stabilizes the metal core and enables surface functionalization, enhancing applicability in biopolymer-based formulations. We characterize the nanomaterials using UV-Vis spectroscopy, TEM, DLS, zeta potential, and contact angle measurements, confirming well-defined core-shell morphology and favorable surface properties. Both nanostructures display comparable antioxidant activity, while Ag@SiO₂ exhibits superior catalytic efficiency. To evaluate delivery performance, we incorporate the nanoparticles into sodium hyaluronate (HA) and hydroxyethylcellulose (HEC) hydrogels. The hybrid gels maintain homogenous morphology and enable tunable nanoparticle release profiles: HA gels promote rapid release and significantly improve skin hydration, whereas HEC gels provide sustained release suitable for prolonged action. These results demonstrate that Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ nanostructures act as versatile, stable, and bioactive components for cosmetic and biomedical formulations. The study highlights the potential of core-shell nanomaterials at soft matter interfaces, combining antioxidant and antimicrobial functionality with controlled delivery and enhanced skin barrier performance.

Keywords Core-shell nanostructures, Au@SiO₂, Ag@SiO₂, Colloidal stability, Biopolymer hydrogels, Controlled release

In recent years, nanotechnology has gained significant importance in the cosmetics industry due to the possibility of designing materials with unique physicochemical properties. The use of nanomaterials in cosmetic products allows for increased bioavailability of active ingredients, improved formulation stability, and targeted biological action^{1–3}.

Nanoparticles (NPs) of noble metals, especially gold (Au NPs) and silver (Ag NPs), exhibit numerous beneficial biological properties. Au NPs is known for its antioxidant, anti-inflammatory, and regenerative effects, making it a valuable ingredient in anti-aging and skin care products^{4–6}. Additionally, their ability to penetrate the epidermal barrier supports the transport of active ingredients into the skin^{7,8}. Ag NPs has been used for years due to its wide spectrum of antimicrobial activity, thanks to which it is used in cleansing, anti-acne, and skin inflammation-soothing cosmetics^{9–11}.

However, their colloidal instability, susceptibility to aggregation, and potential cytotoxicity in biological systems have restricted their broader application. A promising strategy to overcome these limitations is encapsulation of metal nanoparticles in a biocompatible coating, such as silica shell (SiO₂). Silica not only stabilizes the nanoparticles and enhances their hydrophilicity but also provides a versatile platform for further surface functionalization. Core-shell nanostructures (e.g., Au@SiO₂, Ag@SiO₂) exhibit improved biocompatibility, long-term stability, and controlled release capabilities, making them attractive candidates for applications in skin care, wound healing, and drug delivery^{12,13}. Importantly, silica coating also reduces uncontrolled ion release, thereby improving the safety profile of noble metal nanoparticles in cosmetic applications^{14,15}.

Faculty of Chemistry, University of Gdansk, Wita Stwosza 63, Gdansk 80-308, Poland. ✉email: elzbieta.adamska@ug.edu.pl; beata.grobelna@ug.edu.pl

Hydrogels, particularly those based on biopolymers such as sodium hyaluronate (HA) and hydroxyethylcellulose (HEC), are widely used in cosmetic and pharmaceutical formulations due to their excellent moisturizing properties, high biocompatibility, and ease of topical application^{16–19}. Incorporation of nanostructures into hydrogel matrices leads to multifunctional hybrid systems that can provide synergistic effects like enhancing skin hydration, offering properties exhibited by nanostructures such as antioxidant and antimicrobial protection, and improving the mechanical and rheological properties of the formulation^{20,21}. HA is especially valued for its regenerative and moisturizing potential, while HEC offers rheological stability and controlled release, making these polymers complementary platforms for cosmetic applications^{22,23}.

Despite the growing number of reports on Au and Ag NPs in cosmetology, there is still a lack of studies comparing their functionality after silica coating, especially in relation to their antioxidant and catalytic activity and their impact on cosmetic properties. Moreover, little is known about how different hydrogel carriers influence the release kinetics and performance of embedded silica-coated nanostructures. Addressing this gap is essential for the rational design of safe and multifunctional cosmetic formulations.

In this work, the focus was on obtaining and characterizing core-shell nanostructures, in which the core consists of gold or silver nanoparticles, and the shell is a layer of amorphous silica. The aim was to obtain uniform particles of controlled size, good colloidal stability, and high hydrophilicity. The obtained materials were characterized in detail using microscopic techniques such as transmission electron microscopy (TEM) and scanning electron microscopy (SEM), spectroscopic techniques (UV–Vis), analysis of zeta potential by electrophoretic light scattering (ELS), and particle size distribution by dynamic light scattering (DLS) and contact angle measurements (WCA). Additionally, their antioxidant and catalytic properties in selected model reactions were assessed. In the final stage of the study, Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ nanostructures were incorporated into a hydrogel based on HA or HEC, i.e., biocompatible matrices commonly used in cosmetology and dermatology. The assessment of physicochemical and application properties of the obtained hydrogel systems aimed to determine the cosmetic potential of the tested nanomaterials, with particular emphasis on their effect on skin hydration. The release profile of nanostructures from the hydrogel matrix was also investigated. A schematic of the project concept and the research conducted is presented in Fig. 1.

In summary, the aim of this study was to synthesize and characterize Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ nanostructures, incorporate them into HA- and HEC-based hydrogels, and evaluate their release profile and cosmetic potential, with particular emphasis on skin hydration and barrier protection.

Experimental section

Materials

All reagents were of analytical grade and were used without purification. Silver nitrate(V) (AgNO₃), tetrachloroauric acid (III) (HAuCl₄), trisodium citrate (TCA, Na₃C₆H₅O₇), ethanol (99.8%, EtOH, C₂H₅OH), tetraethoxysilane (TEOS, SiC₈H₂₀O₄), ammonia water (25%) (NH₄OH), triethanolamine (TEA, C₆H₁₅NO₃), sodium borohydride (NaBH₄), methanol (CH₃OH), methyl orange (MO, C₁₄H₁₄N₃SO₃Na), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH, C₁₈H₁₂N₅O₆) came from Sigma-Aldrich (Poznań, Poland). Whereas sodium hyaluronate (HA, (C₁₄H₂₀NO₁₁Na)_n, average molecular weight 1.1 MDa) came from the Esent company (Szczecin, Poland), and hydroxyethylcellulose (HEC, (C₂H₆O₂)_n) from Beautyever (Nowy Dwór Mazowiecki, Poland). All samples were prepared using deionized water obtained using the Hydrolab system (Hydrolab sp. z o.o., Straszyn, Poland).

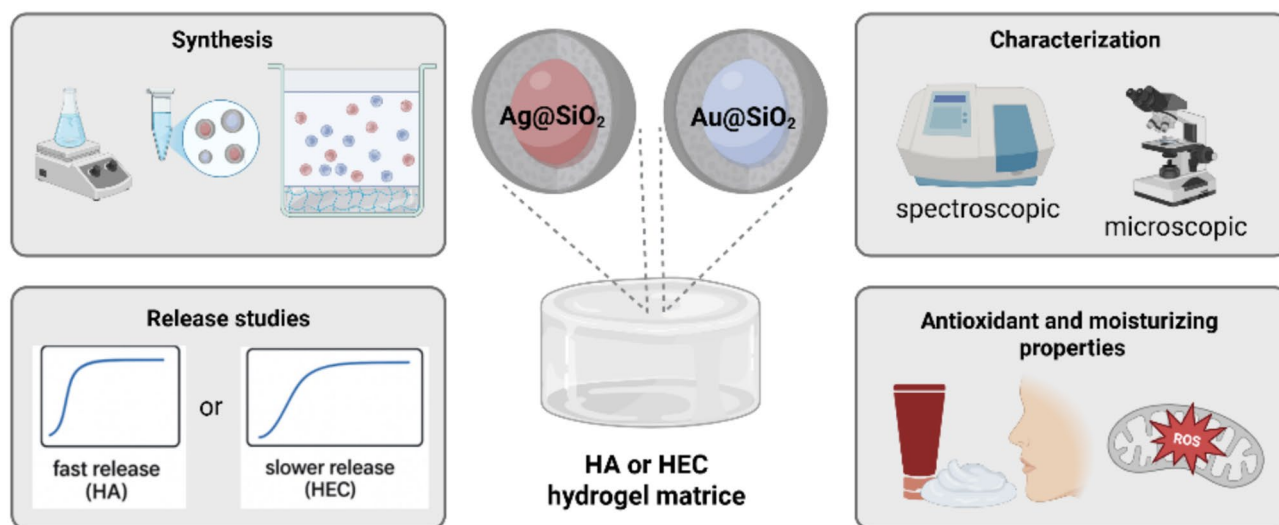


Fig. 1. Schematic presentation of the research workflow, including synthesis, characterization, incorporation of nanomaterials into the hydrogel, and evaluation of cosmetic potential.

Methods

Characterization of nanostructures

Transmission electron microscopy (TEM) images were taken using a Tecnai G2 Spirit BioTWIN microscope from FEI (Eindhoven, The Netherlands). Particle size distributions were determined by analyzing TEM images using ImageJ software (NIH, USA). Scanning Electron Microscope (SEM) images were taken with a Prisma E Thermofisher Scientific microscope (Waltham, MA, USA). Absorption spectra were recorded using a Shim-Ad UV-1900i spectrophotometer. Zeta potential was measured using electrophoretic light scattering (ELS). Particle size distribution was measured using dynamic light scattering (DLS) using a Litesizer 500, ANTON-PAAR analyzer, which has a measuring range of $> \pm 1000$ mV. Contact angle measurements were performed using a DSA100 goniometer from Krüss (Hamburg, Germany). The ethanol-dispersed suspension of nanoparticles and nanostructures was applied to a glass slide and allowed to evaporate at room temperature. The nanoparticle surface thus created was subjected to further tests. A 2 μ L water droplet was applied with a syringe onto the surface made of the tested nanoparticles. The wetting angle on both sides of the droplet was measured with a CCD camera, and after digital image analysis, the average wetting angle was determined using the Young–Laplace method. Each measurement was repeated 20 times.

Synthesis of Au NPs

To synthesize gold nanoparticles, an aqueous solution of the precursor HAuCl_4 at a concentration of 0.25 mM was prepared and heated to boiling. Then, a sodium citrate solution at a concentration of 195 mM was added, and the whole mixture was kept at boiling until the solution color changed from colorless to ruby, indicating gold nanoparticle formation.

Synthesis of Ag NPs

To synthesize silver nanoparticles, silver nitrate (V) was dissolved in water to prepare a solution with a concentration of 1.06 mM. Then, the reaction solution was heated to boiling, after which sodium citrate was added in such an amount that the concentration in the solution was 0.775 mM. The reaction was considered complete when the solution color changed from colorless to gray-green.

Synthesis of Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ nanostructures

Ethanol was added to the Au NPs or Ag NPs colloid in a ratio of 1:5, then TEOS was added, the concentration of which in the reaction solution was 2.79×10^{-3} M, and NH_4OH was added to adjust the pH of the reaction solution to 11. The solution was stirred for 24 h using a magnetic stirrer (500 rpm) at 50 °C. Then, the nanostructures were centrifuged and re-dispersed in water.

Preparation of hydrogels and modification with nanostructures

As part of the study, two hydrogel preparations were obtained using two types of gelling agents, hydroxyethylcellulose (HEC) and sodium hyaluronate (HA). In order to prepare each of the hydrogels, 0.06 g of the appropriate thickener was weighed and then dispersed in 3 mL of water. Three drops of triethanolamine were added to both systems. The obtained mixtures were subjected to homogenization for about 2 min until clear and stable hydrogels were obtained. For the purpose of modification, a hydrogel base was prepared analogously, to which 0.1 ml of previously obtained nanostructures was added with the concentration: 25 mM Au@SiO₂, 106 mM Ag@SiO₂, and then homogenization was performed.

Determination of antioxidant and catalytic properties

The DPPH method was used to evaluate the antioxidant properties, based on our previous protocol²⁴. Therefore, 4.3 mg of DPPH was dissolved in 3.3 mL of methanol, and the solution was covered with aluminum foil to protect it from light. For the control, 150 μ L of the prepared DPPH solution was taken, dissolved in 3 mL of methanol, and the absorbance at 517 nm was measured. To measure the properties exhibited by the nanostructures, 0.1 mL of Au@SiO₂ or Ag@SiO₂ colloid solution was taken, and 150 μ L of DPPH solution was added, and then diluted with methanol to 3 mL. The absorbance was checked after 1 h at the same wavelength. The measurements were performed again after 2 and 7 days.

DPPH scavenging activity was calculated using the formula:

$$RSA\% = 100 (A_0 - A_s) / A_0$$

where: RSA – antioxidant potential, A_0 – control absorbance, A_s – absorbance of the sample.

In order to investigate the catalytic activity of the nanostructures towards methyl orange, a solution was prepared by dissolving 0.0049 g of the dye and 0.02 g of NaBH_4 in 135 mL of water and 15 mL of ethanol. Then, 2 mL of an aqueous solution of nanostructures (Au@SiO₂ and Ag@SiO₂) was added to the mixture prepared in this way. Absorbance measurements were performed at a wavelength of 645 nm.

Hydrogel synthesis and cosmetic tests

The T10 basic ULTRA-TURRAX homogenizer (IKA brand) was used to prepare the hydrogels. Pig skin from the animal's hind legs, prepared in advance according to the method developed by us, was used in cosmetic tests²⁵. The skin originated as a by-product of animals slaughtered for the food industry and therefore did not require additional ethical approval. A part of the hydrogel before and after modification with nanostructures was applied to the skin, and tests were performed. The MPA 6 multichannel probe adapter was used to evaluate skin condition. Skin hydration was measured using the Corneometer® CM 825, and the Tewameter® TM Hex was used to measure transepidermal water loss (TEWL).

Release study protocol

The release of Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ nanostructures from HA- and HEC-based hydrogels was investigated under static conditions. For each experiment, 1.0 g of hydrogel was weighed, and 1 mL was carefully transferred to the bottom of a 10 mL glass vial using a syringe. Subsequently, 5 mL of distilled water was added as the release medium. At predetermined time intervals, 0.5 mL aliquots of the release medium were withdrawn for UV–Vis spectrophotometric analysis using a 2 mm path-length cuvette. After each sampling, the removed volume was replaced with an equal volume of fresh distilled water to maintain a constant total volume, without returning the collected aliquot to the vial. The absorbance of the samples was measured at the characteristic plasmon resonance wavelengths of the respective nanoparticles to construct the cumulative release profile.

To determine the 100% release value, after the last measurement (120 min), the vials containing the remaining hydrogels and release medium were incubated for 24 h at 70 °C under continuous stirring, and the absorbance of the resulting solutions was measured under the same conditions.

The final release profile was expressed as a percentage of the total amount of nanoparticles. The absorbance measured for the initial amount of NPs diluted in water in a volume corresponding to the hydrogel was taken as 100%. Hydrogels without nanoparticles were used as a reference to account for the absorbance contribution resulting from partial thermal degradation of the hydrogel matrix. This ensures that the measured UV–visible signal reflects only the release of nanoparticles from the hydrogel matrix.

Results and discussion

Characterization of obtained nanostructures

Transmission electron microscopy (TEM)

Transmission electron microscopy is a method that allows the estimation of morphological features, including the size and shape of nanomaterials obtained. In order to determine these parameters, microscopic photographs of the obtained nanostructures were taken. Figure 2 shows photographs of the obtained Au (Fig. 2a) and Ag (Fig. 2b) NPs. For Au NPs, the image analysis indicates that the majority of particles exhibit a nearly spherical shape with good dispersion and no visible agglomeration. However, a fraction of the nanoparticles shows slightly anisotropic morphologies, such as oval or irregular shapes. The particle size distribution reveals an average diameter of approximately 12.8 nm, indicating a relatively narrow size distribution. In contrast, Ag NPs display a broader size distribution with a mean diameter of 43.3 nm. The TEM image clearly shows that the Ag nanoparticles are not exclusively spherical, several particles possess polyhedral or irregular shapes, suggesting partial anisotropy in the sample. This morphological diversity may result from differences in the nucleation and growth kinetics during the synthesis process. Overall, both types of nanoparticles exhibit favorable morphological characteristics, making them suitable for further modification and application in cosmetic or biological systems.

Figure 3 presents TEM images of the obtained nanostructures with a silica layer. Figure 3a shows a photograph of the obtained Au@SiO₂ nanostructures, in which the observed structure of the material indicates the presence of core–shell type nanostructures. Darker areas, corresponding to cores about 20 nm in size, are attributed to gold nanoparticles, while the surrounding gray shell, 40–50 nm thick, suggests a silica shell. All analyzed structures exhibit spherical morphology and are highly homogeneous. Figure 3b, in turn, shows photos of the Ag@SiO₂ nanostructures obtained. As in the case of the previous nanostructures, a significant contrast is visible between the core and the shell. Ag@SiO₂ nanostructures are characterized by lower homogeneity than Au@SiO₂, the cores are less uniform in shape and size.

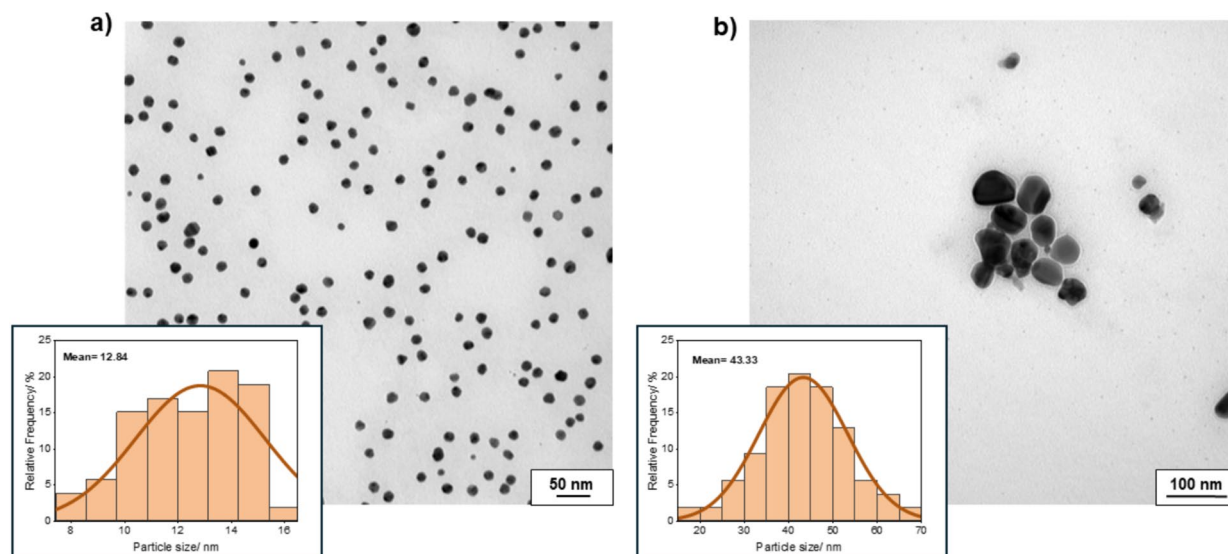


Fig. 2. TEM image and size distribution of (a) Au NPs and (b) Ag NPs.

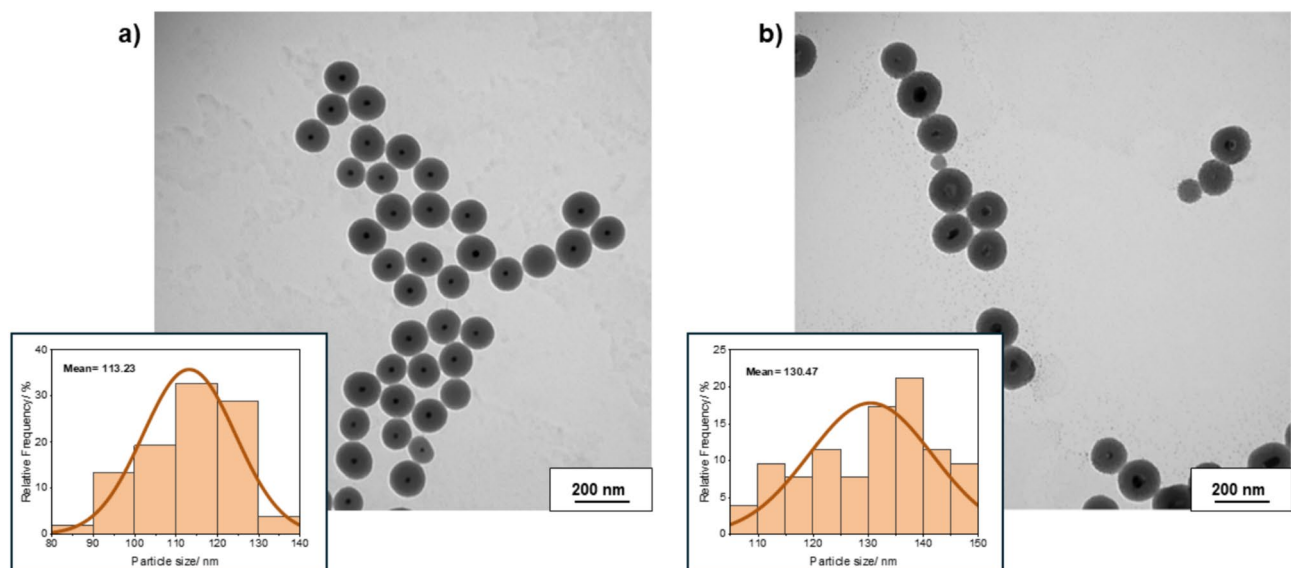


Fig. 3. TEM image and size distribution of (a) Au@SiO₂ and (b) Ag@SiO₂.

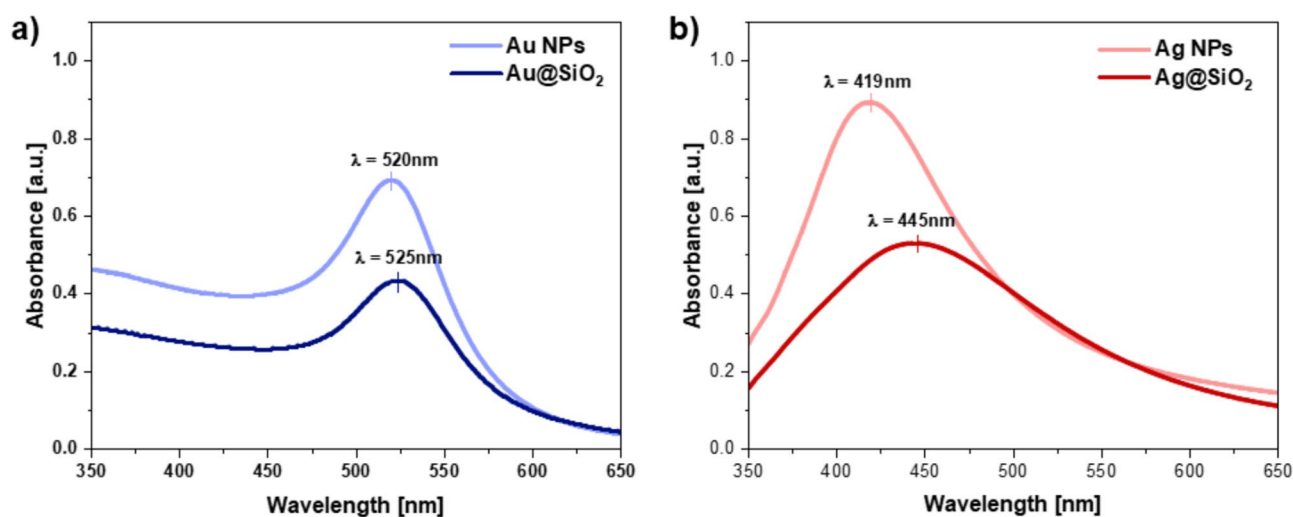


Fig. 4. Absorption spectrum for (a) Au NPs and Au@SiO₂ and (b) Ag NPs and Ag@SiO₂.

UV-visible spectroscopy

UV-Visible spectroscopy is a sensitive tool for analyzing the optical properties of noble metal nanoparticles, enabling their identification and indirect size estimation. The recorded spectra for the obtained nanomaterial samples are presented in Fig. 4. According to literature data, gold nanoparticles exhibit a broad absorption band in the range of 500–600 nm²⁶, with the maximum depending on the particle diameter and shape^{27,28}. For Au NPs with dimensions of the order of 10–50 nm, the typical maximum range is 515–560 nm. The absorption spectrum obtained for gold-based nanoparticles and nanostructures is presented in Fig. 4a. In both cases, bands with a maximum wavelength of about 520 nm are visible, confirming the presence of gold nanoparticles and corresponding to a diameter of about 20–30 nm. In turn, silver nanoparticles are characterized by an absorption band in the range of 350–450 nm, the position of which also depends on the particle size²⁹. As shown in Fig. 4b, the absorption maximum of the analyzed sample is located at a wavelength above 400 nm, which indicates the presence of silver nanoparticles with a size of about 20–30 nm. In the case of Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ nanostructures, a bathochromic shift of the absorption maximum is observed. This effect results from the influence of the silica shell on the local optical environment of the nanoparticles, confirming the formation of core-shell type nanostructures. The observed differences in the intensity of the absorption bands may be related to the different concentrations of the analyzed samples.

Particle size distribution

Dynamic light scattering (DLS) is a technique that allows the determination of the size distribution of nanoparticles in a suspension based on the analysis of the intensity of light scattered by particles moving as a result of Brownian motion. The sample is illuminated with a laser beam, and changes in light intensity are recorded by a detector at an appropriate angle. The obtained data are then converted into the hydrodynamic size distribution of particles. Measurements performed using the DLS technique for the obtained samples allowed the determination of the average particle size and the thickness of the silica shell in core-shell structures. The summary of the average values of the hydrodynamic diameters of nanomaterials are presented in Fig. 5. The obtained results confirm that the synthesized gold nanoparticles are characterized by a size in the range of 28 nm (Fig. 5a), while silver nanoparticles are larger (Fig. 5b), because their average size is about 70 nm. The presence of the silica shell (Fig. 5c,d) contributes to the increase in the diameter of nanomaterials, which confirms the effectiveness of the process of creating a core-shell structure. The diameters of nanomaterials determined by DLS are larger than those from TEM, which is due to the hydrodynamic effect and the presence of possible aggregates in the solution. Microscopic images provide information on the actual dimensions of individual dry particles in the solid state.

Electrokinetic potential

Electrophoretic light scattering (ELS) is a technique for determining the zeta potential, based on the measurement of electrophoretic mobility of charged particles dispersed in a liquid, subjected to an external electric field. The movement of particles in an electric field at a specific speed, the so-called electrophoretic mobility, allows the determination of the electrokinetic potential, known as zeta potential. Zeta potential measurements were performed to assess the stability of the obtained colloidal systems. According to literature data, zeta potential values exceeding +30 or below −30 mV indicate good colloid stability³⁰, resulting from strong repulsive interactions between particles, which prevent their aggregation³¹. A summary of zeta potential values for the tested nanostructures are presented in Fig. 6. The obtained values are below −30 mV, which indicates high colloidal stability of the analyzed nanomaterials.

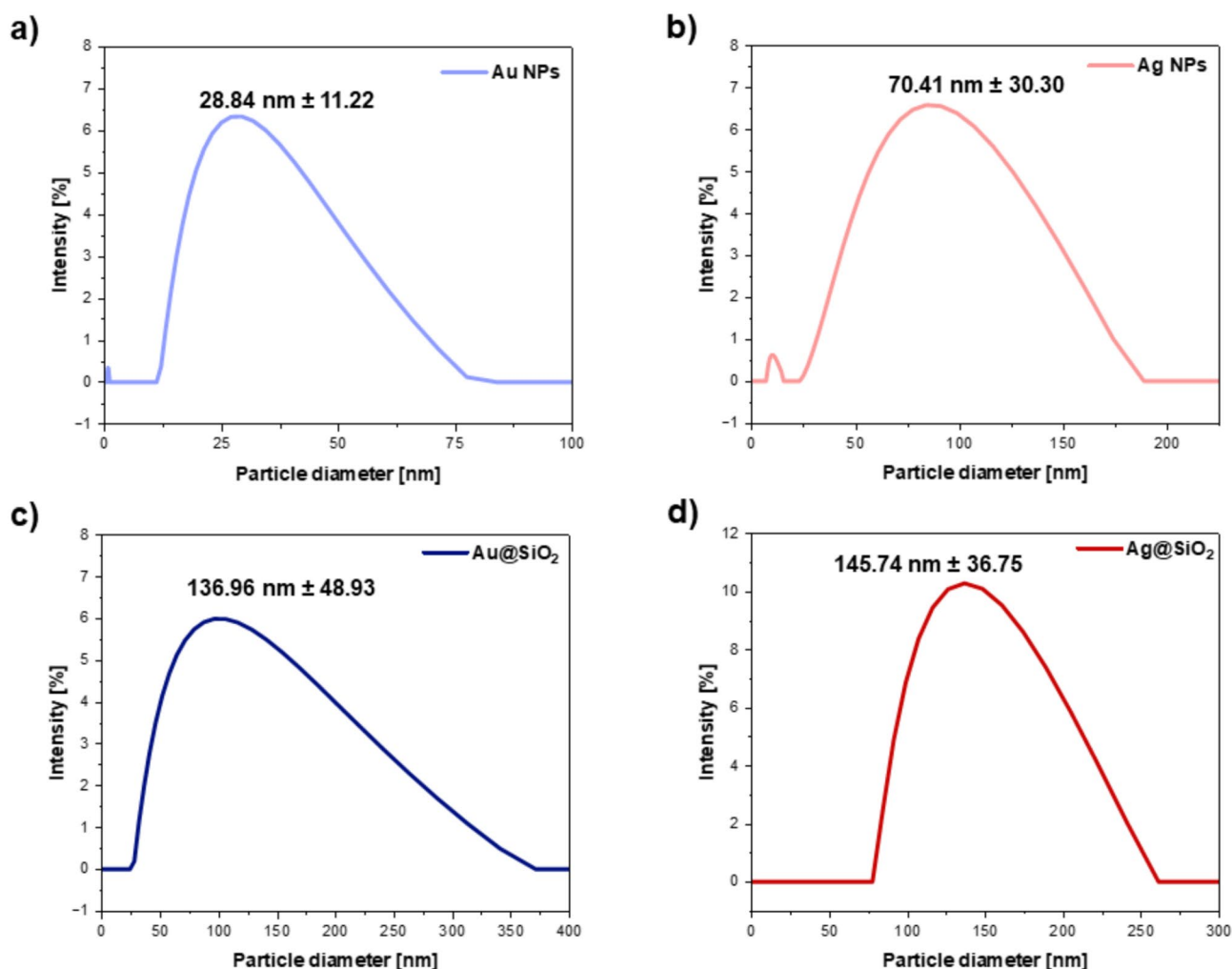


Fig. 5. Particle size distribution graph for (a) Au NPs, (b) Ag NPs, (c) Au@SiO₂ and (d) Ag@SiO₂.

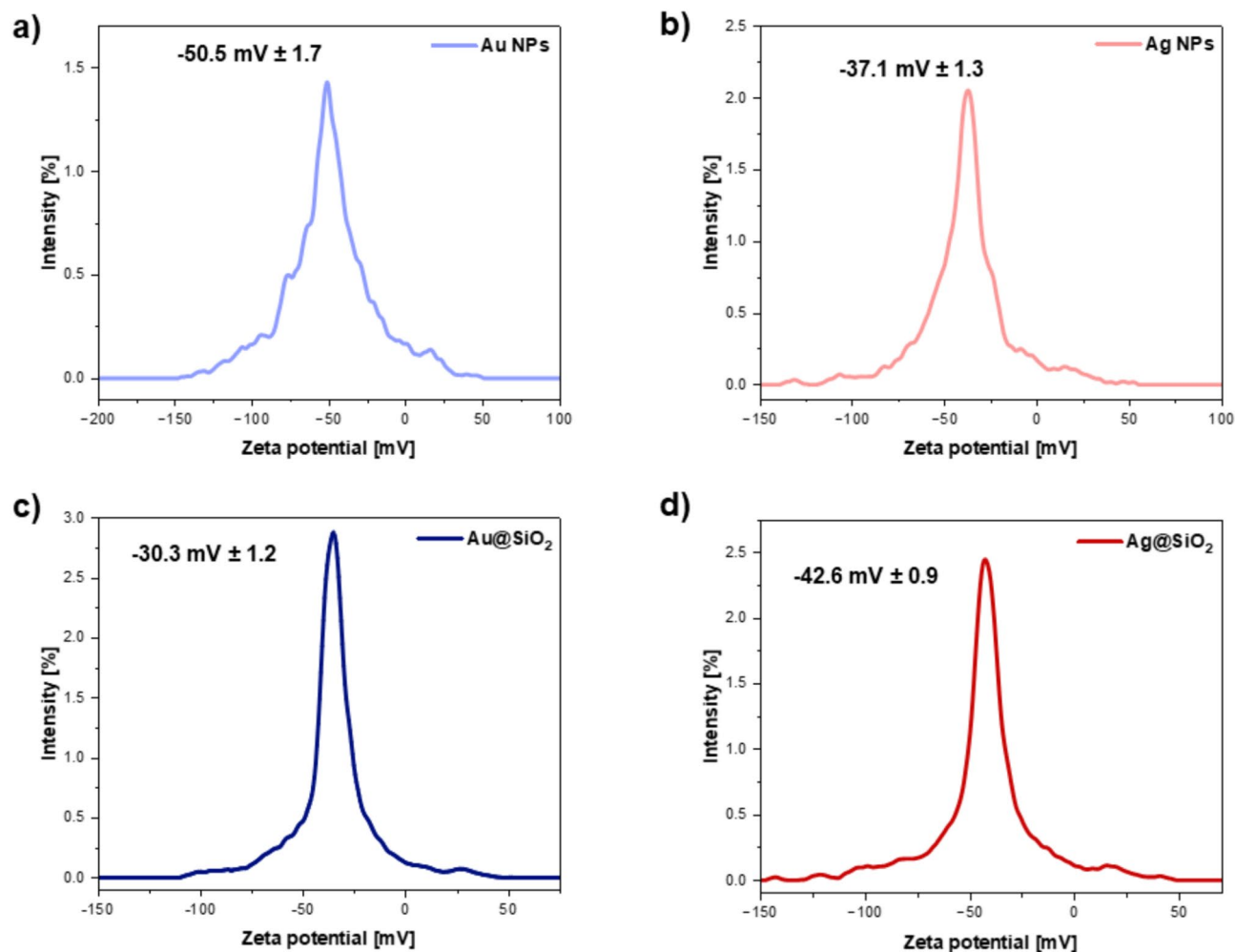


Fig. 6. Electrokinetic potential graph for (a) Au NPs, (b) Ag NPs, (c) Au@SiO₂ and (d) Ag@SiO₂.

Water contact angle measurement

Contact angle measurements were used to assess the surface properties of the obtained nanomaterials. The analysis was performed on thin films deposited on a glass plate. The obtained values are graphically illustrated in Fig. 7. All tested nanostructures showed good hydrophilic properties, because the measured contact angle was lower than 90°. According to the literature data, the presence of silica on the surface should cause a decrease in the contact angle³², which was noted taking into account the result obtained for Au@SiO₂ (Fig. 7c) contrast to Au NPs (Fig. 7a). In the case of Ag@SiO₂ nanostructures (Fig. 7d), the value increased compared to Ag NPs (Fig. 7b). This may be due to the presence of small spots visible within the shell may correspond to silver-rich domains or embedded metallic clusters. Their presence could locally alter the surface energy and hydrophilicity, leading to a higher apparent contact angle compared to the expected behavior for a fully homogeneous SiO₂ surface.

Antioxidant properties

The antioxidant properties of nanomaterials are particularly important in medicine and cosmetology, where the ability to neutralize free radicals (ROS) helps to limit their harmful effects, including damage to DNA, proteins, and lipids. Such oxidative damage contributes to skin aging, inflammation, and loss of skin elasticity. In cosmetics, nanomaterials with antioxidant activity can act as protective agents, reducing oxidative stress and supporting skin health and regeneration. Additionally, they can increase the effectiveness of cosmetic products by supporting cellular protection, slowing down the aging process, and improving skin immunity. Previous studies have also confirmed that nanostructures based on Ag and Au NPs with a silica shell exhibit significant antioxidant effects. For example, Ag@SiO₂ nanocomposites synthesized with rosemary extract demonstrated strong radical scavenging activity in the DPPH assay³³. Similarly, Au@SiO₂ nanoparticles have been shown to protect keratinocytes under oxidative stress by restoring endogenous antioxidant defenses and preventing DNA and lipid damage³⁴. The antioxidant activity of the obtained Ag@SiO₂ and Au@SiO₂ nanostructures was assessed using the DPPH method. In the radical form, the compound exhibits an intense purple color, while after reaction with a proton donor, creating a stable DPPH-H compound, it changes to yellow. The results of the studies are presented in Fig. 8. For Au@SiO₂ nanoparticles (Fig. 8a), the RSA% increased from approximately 4% after 1 h

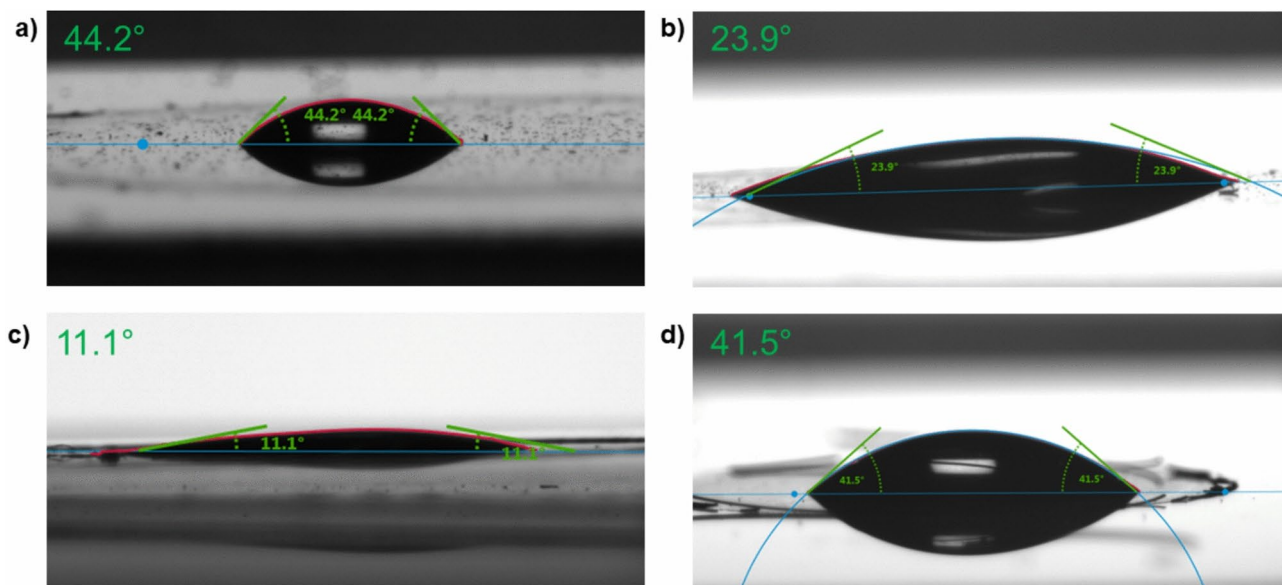


Fig. 7. Water contact angle measurement results for (a) Au NPs, (b) Ag NPs, (c) Au@SiO₂ and (d) Ag@SiO₂.

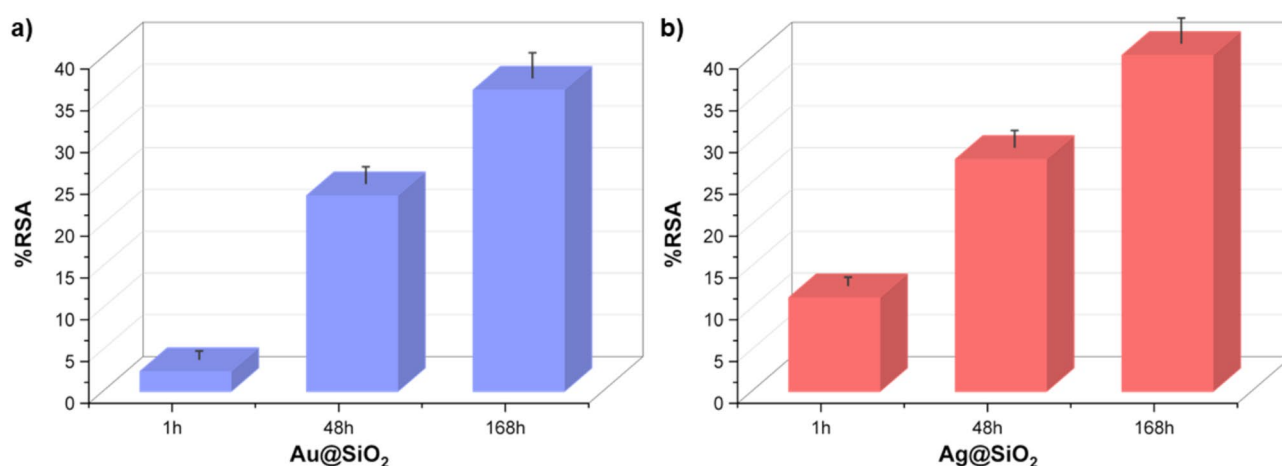


Fig. 8. Radical Scavenging Capacity (RSA%) graph for nanostructures (a) Au@SiO₂ and (b) Ag@SiO₂.

to 27% after 48 h, reaching approximately 40% after 168 h. This gradual increase suggests a time-dependent increase in free radical scavenging activity, likely due to the progressive interaction of the Au@SiO₂ surface with DPPH radicals. For Ag@SiO₂ nanoparticles (Fig. 8b), a similar time-dependent trend was observed, with the RSA% increasing from approximately 13% after 1 h to 30% after 48 h, reaching approximately 41% after 168 h. Compared with Au@SiO₂, Ag@SiO₂ showed higher initial antioxidant activity, but both types of nanoparticles reached comparable final RSA% values after 1 week, indicating their significant antioxidant potential. The similar DPPH radical-scavenging activity observed for both Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ nanostructures indicates that the antioxidant response is mainly governed by the silica surface rather than the metallic core. Although Au and Ag possess distinct redox properties, the silica coating isolates the metals from direct interaction with DPPH radicals. Therefore, the radical-scavenging effect likely originates from surface silanol groups or defect sites within the silica shell rather than from the core composition.

Catalytic activity

The catalytic properties of nanomaterials may offer significant potential in the cosmetics industry, particularly in the development of cleansing, anti-aging, and regenerative formulations. These properties enable nanostructures to participate in or accelerate chemical reactions on the skin's surface, such as the breakdown of pollutants, neutralization of reactive oxygen species (ROS), or activation of bioactive compounds, thereby enhancing the performance of cosmetic products. The assessment of the catalytic activity of core-shell nanostructures was performed on the example of methyl orange degradation. Methyl orange (MO) shows a maximum absorption at a wavelength of 645 nm, which allows monitoring its degradation by UV-Vis spectrophotometry. In order

to assess the catalytic activity of nanostructures, an experiment was carried out consisting in the photocatalytic decomposition of this dye in the presence of the tested nanomaterials. In the case of the sample containing Ag@SiO₂ structures (Fig. 9b), a significant change in the color of the solution from orange to pale yellow was observed within 20 min, which indicates effective degradation of methyl orange. In contrast, the sample containing Au@SiO₂ nanostructures (Fig. 9a) did not show any visible color change, suggesting the lack of catalytic activity towards the selected dye under the present experimental conditions.

Ag@SiO₂ nanostructures exhibited significantly higher catalytic activity than Au@SiO₂, likely due to the superior electrical conductivity of silver, which facilitates electron transfer and accelerates the reduction of MO. The disappearance of the absorption band at 464 nm, along with the visible fading of the solution, indicates chemical reduction of the dye rather than mere adsorption on the silica surface. The inactivity of Au@SiO₂ may be explained by less favorable interactions between the dye and gold. While MO was used as a model compound, extending this study to other dyes could provide insight into the broader catalytic potential of Ag@SiO₂ nanostructures.

Analysis of hydrogel mask morphology

Scanning electron microscopy (SEM)

The surface morphology of HA- and HEC-based hydrogel masks, with and without nanoparticle incorporation, was examined by scanning electron microscopy (SEM) (Fig. 10). The control HA hydrogel (Fig. 10a) exhibited a dense structure with numerous well-defined pores of varying sizes distributed across the surface. Incorporation of Au@SiO₂ nanoparticles into the HA matrix (Fig. 10c) resulted in a more compact surface with fine cracks and reduced porosity, suggesting nanoparticle-induced densification of the polymer network. In contrast, HA hydrogels containing Ag@SiO₂ nanoparticles (Fig. 10e) displayed a smooth and homogeneous morphology with no visible pores, and only slight surface granularity, indicating limited aggregation or surface exposure of the nanoparticles.

The control HEC hydrogel (Fig. 10b) showed a smooth morphology without visible porosity or particulate structures. Upon addition of Au@SiO₂ nanoparticles (Fig. 10d), the surface exhibited a heterogeneous topography with a distinct defect area, accompanied by layered surface features, potentially associated with localized stresses during sample preparation. The HEC hydrogel containing Ag@SiO₂ nanoparticles (Fig. 10f) presented a porous surface with large, irregular voids surrounded by smaller depressions, indicating that this nanostructures loading may promote localized pore formation within the hydrogel matrix.

These observations highlight distinct interactions between the nanoparticle systems and the two hydrogel matrices. In sodium hyaluronate, nanoparticle incorporation led to surface densification and loss of porosity, suggesting effective nanoparticle dispersion facilitated by the highly hydrated and flexible HA chains. In contrast, HEC hydrogel retained their smooth or defective surface morphology, and particularly in the case of Ag@SiO₂, showed a tendency toward formation of irregular pores and larger defects. Such differences may originate from the lower hydration capacity and more rigid network architecture of HEC compared to HA, which may hinder uniform nanoparticle distribution. From an application perspective, the irregular and porous morphology observed in HEC with Ag@SiO₂ nanosystems could be advantageous for controlled release or antimicrobial activity, whereas the more compact and homogeneous HA-based composites may offer improved mechanical stability and enhanced user comfort in mask applications.

Water contact angle measurement

The results of contact angle measurements for the surface of hydrogel masks based on HA and HEC are presented in Fig. 11. For HA hydrogels (Fig. 11a), the contact angle for the control sample was 64.7°, indicating moderate

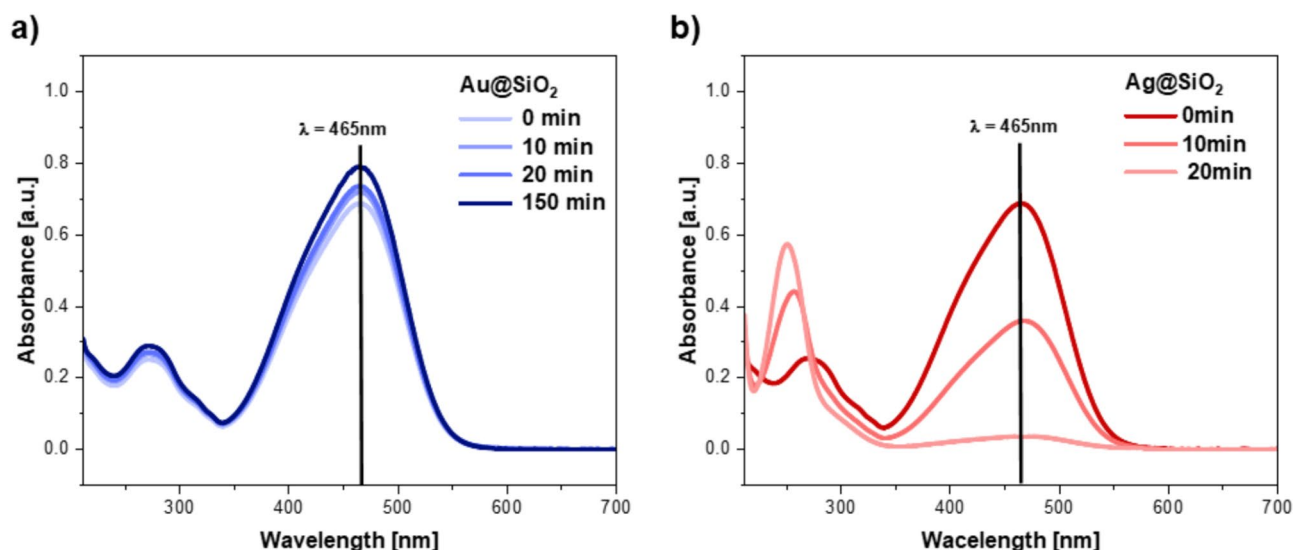


Fig. 9. Absorption spectrum of MO degradation by NaBH₄ in the presence of (a) Au@SiO₂ and (b) Ag@SiO₂.

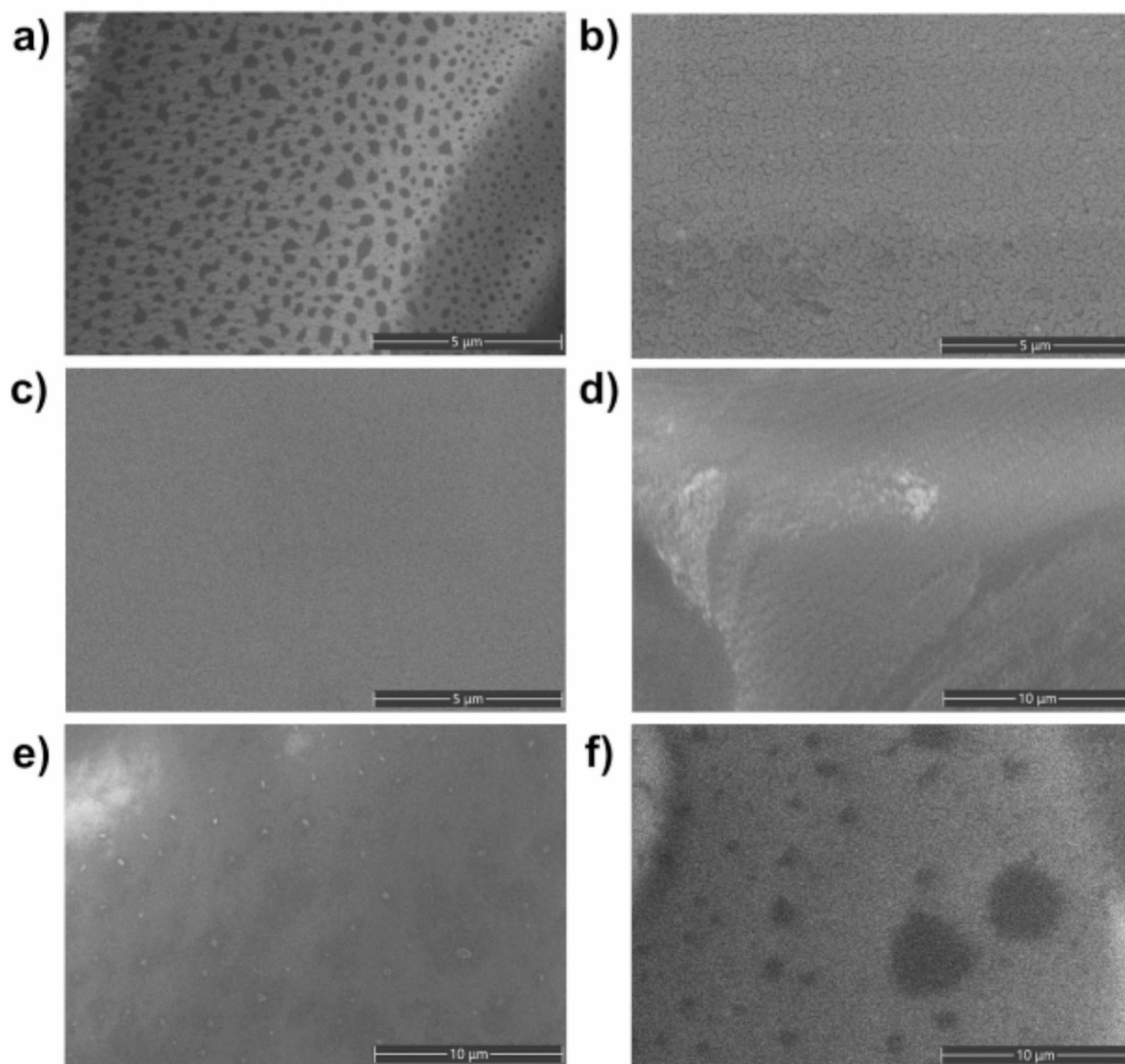


Fig. 10. SEM micrographs of the surfaces of hydrogel masks (a) control HA hydrogel, (b) control HEC hydrogel, (c) HA with Au@SiO₂, (d) HEC with Au@SiO₂, (e) HA with Ag@SiO₂ and (f) HEC with Ag@SiO₂. Scale: 5 μm (a–c) and 10 μm (d–f).

hydrophilicity. The addition of Au@SiO₂ nanostructures (Fig. 11c) resulted in a significant reduction of the angle to 48.4°, thus increasing the surface hydrophilicity, while the introduction of Ag@SiO₂ (Fig. 11e) resulted in a reduction of the angle to 58.8°, which also confirms improved wettability, although to a lesser extent than for gold nanostructures. The results for HEC hydrogels were different. The control sample (Fig. 11b) was characterized by a very low contact angle (26.5°), indicating high hydrophilicity. The addition of Au@SiO₂ (Fig. 11d) caused a significant increase in the angle value up to 71.7°, changing the surface towards hydrophobicity, while in the case of Ag@SiO₂ (Fig. 11f) this effect did not occur, and the obtained value was close to the control (25.8°). The surface morphology of the hydrogels plays a crucial role in determining their wettability. An increase in the smoothness of the polymer surface generally leads to a lower contact angle, indicating enhanced hydrophilicity, whereas a higher number of surface defects results in an increased contact angle and reduced hydrophilicity. In the case of the HEC hydrogel, which exhibits an inherently smooth surface, the incorporation of Au@SiO₂ nanostructures caused surface heterogenization and the formation of defects (as stated before), which directly affected the material's wettability by increasing the contact angle. Conversely, for the HA hydrogel, the introduction of nanostructures improved the packing and uniformity of the gel network, leading to a more homogeneous surface and a notable enhancement of its wettability. It should be emphasized that the observed

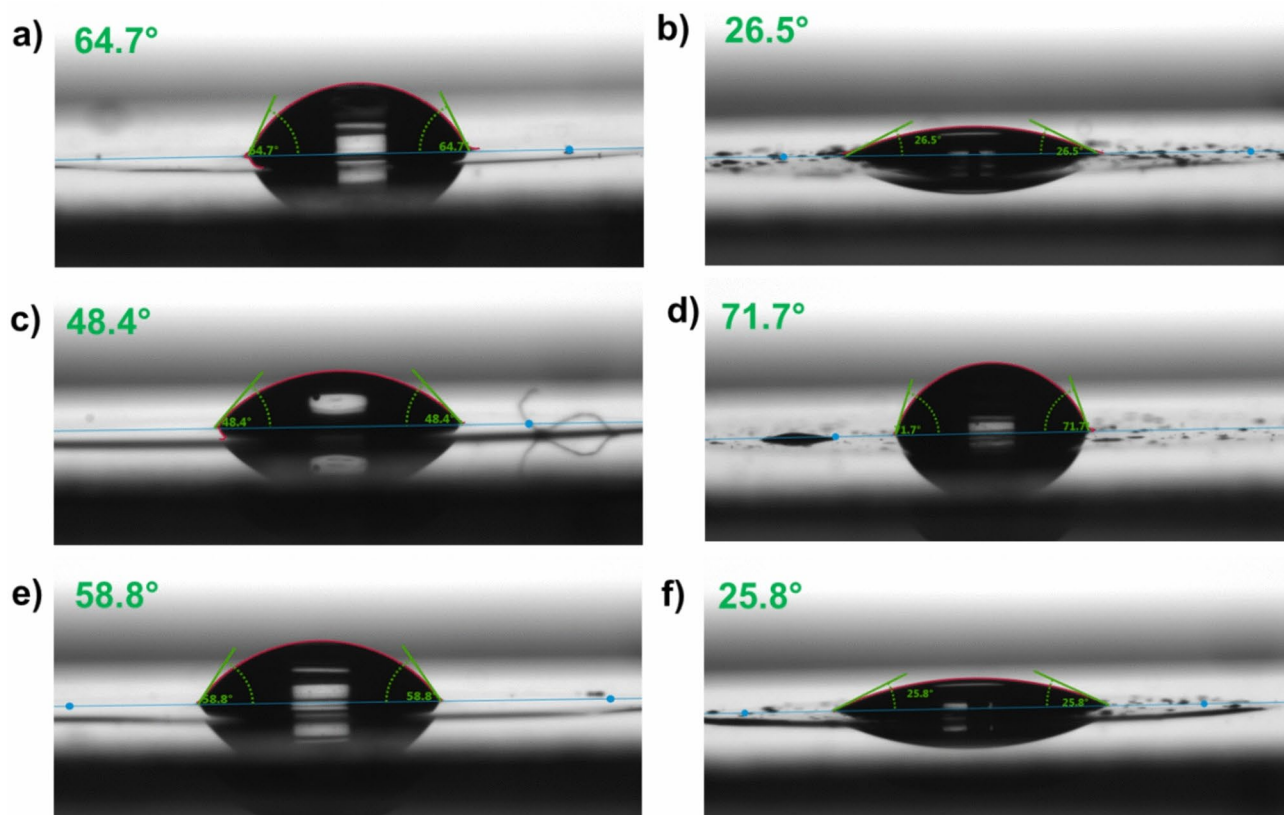


Fig. 11. Water contact angle measurements of hydrogel mask surfaces (a) control HA hydrogel, (b) control HEC hydrogel, (c) HA with Au@SiO₂, (d) HEC with Au@SiO₂, (e) HA with Ag@SiO₂ and (f) HEC with Ag@SiO₂.

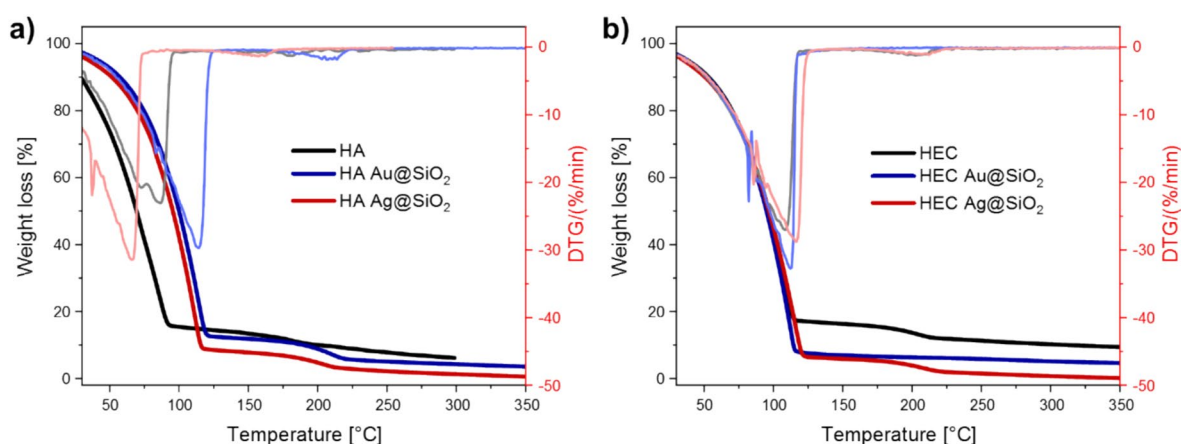


Fig. 12. TGA (Weight loss, black axis, thick lines) and DTG (red axis, thinner lines) curves of (a) HA, HA with Au@SiO₂, and Ag@SiO₂, (b) HEC, HEC with Au@SiO₂, and Ag@SiO₂.

changes in wettability are not a direct effect of the presence of the nanostructures themselves, but rather an indirect consequence of their influence on the hydrogel structure.

Thermal analysis (TG/DTG)

Thermogravimetric (TG) and derivative thermogravimetric (DTG) analyses were performed to evaluate the thermal stability of pure HA and HEC matrices as well as their composites containing Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ nanostructures (Fig. 12).

As seen in Fig. 12a The TG curve for HA hydrogel revealed a multi-step decomposition process. The initial weight loss below 120 °C was attributed to the evaporation of physically adsorbed water. The main decomposition

occurred between 200–300 °C, which corresponds with a sharp peak on the DTG curve. It can be attributed to the degradation of the polysaccharide backbone. Incorporation of Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ nanoparticles slightly shifted the onset of degradation and changed the DTG peak intensity, indicating an influence of the inorganic phase on the thermal behavior. In particular, HA with Ag@SiO₂ exhibited a more pronounced stabilization effect compared to HA with Au@SiO₂, as reflected in the delayed onset of thermal decomposition and the reduced weight loss rate.

Similarly, HEC hydrogel exhibited a two-step degradation profile, as shown in Fig. 12b. The first weight loss below 120 °C corresponded to moisture removal, followed by a major decomposition step between 250–350 °C. The introduction of Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ nanoparticles led to a slight increase in thermal stability, evidenced by the upward shift of the main DTG peak temperature and a reduction in the maximum decomposition rate. Among the HEC-based systems, the Ag@SiO₂ composite showed the most significant stabilization, consistent with the results obtained for the HA-based materials.

Overall, the TG/DTG results confirm that the incorporation of silica-coated metallic nanoparticles into polysaccharide hydrogels enhances their thermal stability. This effect can be ascribed to the barrier properties of the inorganic shell, which hinders thermal diffusion and retards the degradation of the polymeric matrix.

Mechanistic interpretation

The observed morphological differences can be attributed to the distinct interactions between the polymeric network and the inorganic nanoparticles. In HA-based hydrogels, both the carboxylate groups of hyaluronate and the surface of silica are negatively charged under neutral pH conditions; therefore, direct electrostatic attraction between the two is unlikely. Instead, the observed densification of the hydrogel network around silica nanoparticles may be driven by hydrogen-bonding interactions (for example between silanol groups on silica and hydroxyl/ether/carboxylate groups on hyaluronate) and by ion-mediated screening of repulsive charges, which facilitates local organization of polymer chains in the vicinity of the nanoparticles^{35–37}. This effect is particularly pronounced for Au@SiO₂, potentially due to more uniform particle dispersion and stronger interfacial adhesion, which reduces surface roughness and creates a fine-grained morphology.

In contrast, Ag@SiO₂ incorporation in HA hydrogels appears to induce minimal alteration of the bulk surface architecture at the scale observed, possibly due to weaker polymer-particle affinity or partial nanoparticle agglomeration within the bulk rather than on the surface.

For HEC hydrogels, the hydroxyl-rich cellulose backbone may interact with the silica surface primarily through hydrogen bonding. Au@SiO₂ nanoparticles likely form localized microdomains that modify the drying pattern of the gel, producing crack-like features and denser microstructures. The presence of Ag@SiO₂, on the other hand, may alter gelation kinetics or local osmotic pressure during solvent removal, promoting the formation of large, well-defined pores within the matrix.

Overall, these findings suggest that nanoparticle chemistry and polymer composition synergistically determine the final microstructure of hydrogel masks, which could in turn influence their mechanical properties, water retention capacity, and potential bioactive performance.

These morphological modifications, governed by the interplay between polymer matrix composition and nanoparticle type, are expected to directly impact the hydrogel masks' mechanical integrity, moisture retention, and potential for controlled release of bioactive agents.

Level of skin hydration and transepidermal water loss from the skin

The level of skin hydration and the value of transepidermal water loss (TEWL) are key cosmetic properties that determine the condition and functionality of the skin. The appropriate level of hydration of the epidermis provides elasticity, firmness, and resistance to external factors and aging processes. These parameters are determined by numerous factors, including age, skin phenotype, health, diet, exposure to UV radiation, and environmental conditions. In turn, TEWL is an important indicator of the integrity of the epidermal barrier. Increased TEWL values correlate with its dysfunction, leading to dehydration, irritation and accelerated skin aging. In order to assess the cosmetic properties, nanostructures were incorporated into a hydrogel matrix based on HA or HEC as an active ingredient. The measurement results are presented in Fig. 13. Hydrogel based on HEC with the addition of nanostructures (Fig. 13d,f) causes an initial increase in the level of skin hydration, but after 20 min, this value decreases compared to pure hydrogel (Fig. 13b). At the same time, a decrease in TEWL is observed immediately after application, which indicates a short-term strengthening of the epidermal barrier. On the other hand, the hydrogel based on HA with the addition of nanostructures (Fig. 13c,e) shows a sustained increase in the level of hydration, also after 20 min, compared to the unmodified hydrogel (Fig. 13a). Additionally, TEWL is lower both immediately after application and after 20 min, which indicates a lasting protective effect on the epidermal barrier. The presented results show a particularly beneficial effect, which is observed in the case of the modified hydrogel based on HA, which, thanks to synergy with nanostructures, shows both a long-term moisturizing and protective effect.

Release profile of Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ nanostructures from HA and HEC hydrogels

In the case of HA-based hydrogels (Fig. 14a), both types of nanostructures exhibited a rapid initial burst release, with more than 80% of the total content diffusing into the release medium within the first 20 min and reaching a plateau close to 100% after approximately 40 min. The differences between Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ were minimal, suggesting that the diffusion mechanism in the HA network is largely independent of the core metal type. The fast release can be attributed to the highly hydrated, loosely crosslinked structure of HA, which provides relatively large mesh sizes, facilitating unhindered nanoparticle diffusion. This is consistent with previous reports showing that polyanionic hydrogels with high swelling capacity tend to promote rapid diffusion of colloidal particles^{38,39}.

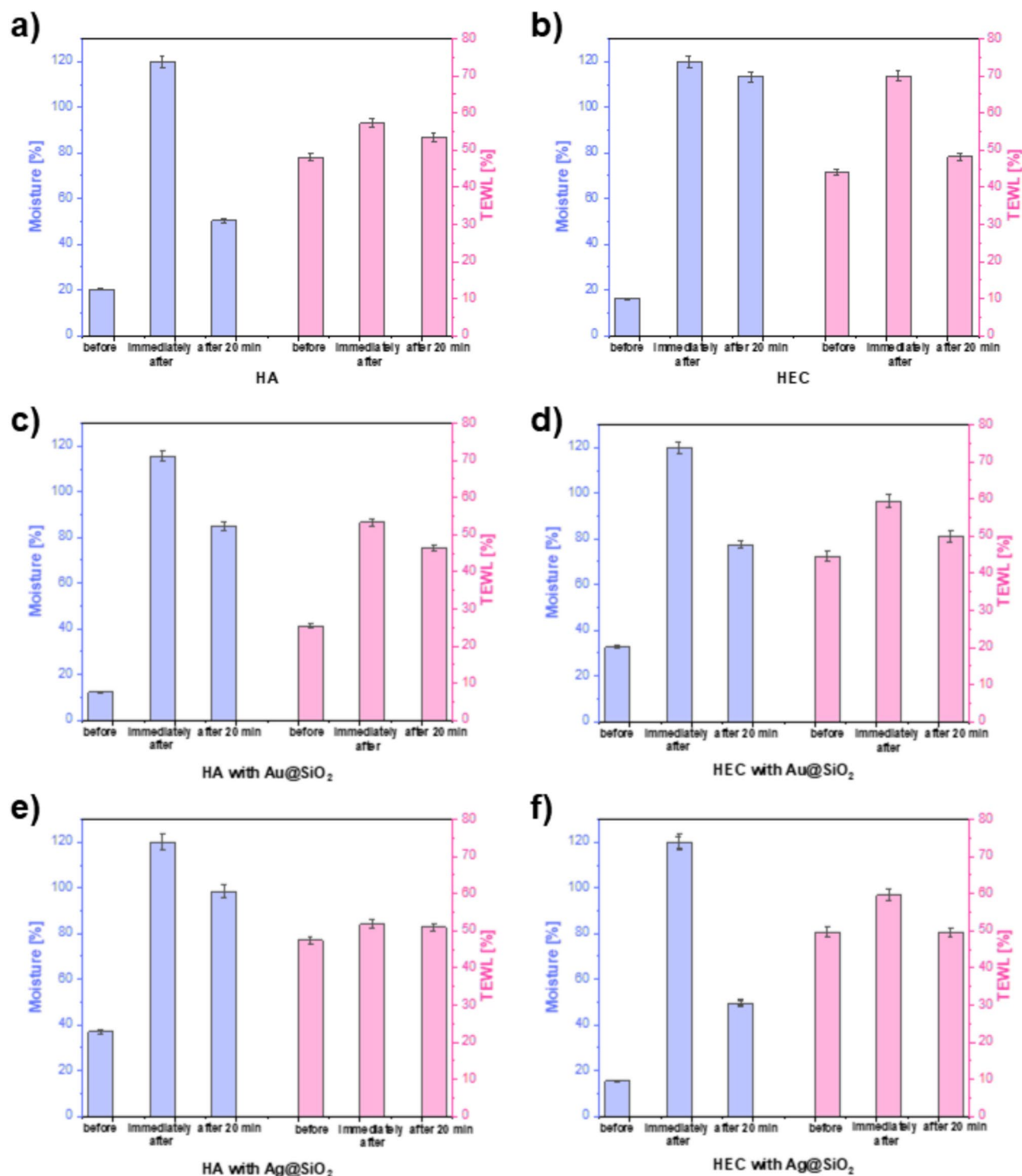


Fig. 13. Skin hydration level (blue bars) and transepidermal water loss (TEWL, pink bars) measured after application of (a) control HA hydrogel (b) control HEC hydrogel, (c) HA loaded with Au@SiO₂, (d) HEC loaded with Au@SiO₂, (e) HA loaded with Ag@SiO₂ and (f) HEC loaded with Ag@SiO₂.

In contrast, the HEC-based hydrogels (Fig. 14b) displayed a slightly slower release in the early stages, with approximately 65–70% of the nanoparticles released within the first 20 min, followed by a gradual increase to values close to 100% after 120 min. The similarity of release profiles for Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ indicates that particle size and surface chemistry were comparable in terms of mobility within the HEC matrix. The slower initial release compared to HA may be explained by the denser polymer network of HEC, which likely results in a smaller effective mesh size and stronger physical interactions between the silica shell and the cellulose chains,

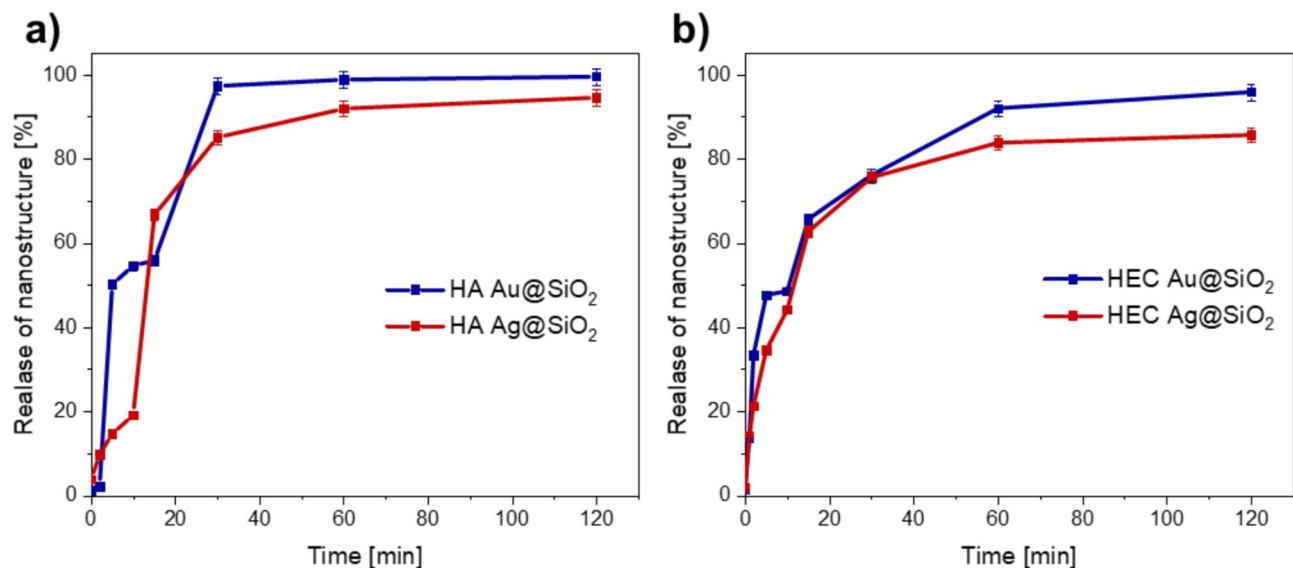


Fig. 14. Release profiles of Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ nanostructures from hydrogels prepared with (a) HA (b) and HEC determined by UV–Vis spectroscopy at the plasmon resonance wavelength of the respective nanostructures.

such as hydrogen bonding. Similar effects of network density and polymer–particle interactions on nanoparticle release kinetics have been described for other cellulose-based hydrogels⁴⁰.

Overall, both the type of polymer matrix and its structural characteristics influence the release kinetics of silica-coated noble metal nanoparticles. HA hydrogels enable rapid and nearly complete release within a short time frame, while HEC hydrogels slow down the initial diffusion phase, despite ultimately achieving similar total release levels. These observations highlight the importance of tailoring hydrogel composition and network architecture when designing controlled-release systems for colloidal nanomaterials. To better visualize these findings, a schematic illustration is provided in Fig. 15, highlighting the structural differences between HA and HEC networks and their impact on nanoparticle release, as well as the experimental setup used for release monitoring.

Conclusions

In this work, we successfully obtained core-shell nanostructures (Au@SiO₂ and Ag@SiO₂), which are characterized by a homogeneous spherical shape and size. Zeta potential measurements showed that obtained nanomaterials exhibited colloidal stability. In addition, contact angle measurements confirmed their hydrophilicity, with Au@SiO₂ exhibiting greater hydrophilicity than Ag@SiO₂. Antioxidant measurement results showed that both nanomaterials had similar antioxidant activity. However, catalytic assessments indicated that Ag@SiO₂ was a more effective catalyst for methyl orange degradation.

Importantly, the nanostructures were incorporated into hydrogel systems based on HA and HEC, which are widely used as cosmetic carriers. The hybrid gels maintained uniform morphology and enabled efficient release of the embedded nanostructures. Release experiments revealed that HA hydrogels promoted rapid diffusion with an initial burst effect, while HEC-based slowed down nanoparticle release, offering more sustained delivery. These differences highlight the possibility of tailoring hydrogel composition to achieve either fast-acting or prolonged-release cosmetic effects.

Cosmetic performance tests confirmed that incorporation of Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ significantly enhanced skin hydration and reduced TEWL, particularly in the case of HA-based hydrogels, which provided long-lasting moisturizing and barrier-supporting effects. These results clearly demonstrate a synergistic action between nanostructures and the biopolymer matrix.

Thermal and release studies further indicated that the polymer matrix exerts the dominant influence on nanocomposite performance: HA hydrogels exhibited lower thermal stability and rapid burst release, while HEC-based showed higher thermal resistance and slower initial release. Importantly, subtle differences between Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ were also observed. Ag@SiO₂ conferred slightly greater thermal stabilization and slower release in HEC hydrogels compared to Au@SiO₂, which may be attributed to stronger interfacial interactions with cellulose chains. Thus, while the polymer network primarily governs functional behavior, the nanoparticle type can fine-tune both stability and release kinetics.

Taken together, Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ nanostructures represent multifunctional cosmetic ingredients, combining antioxidant and antimicrobial activity with the ability to improve hydration and skin barrier properties. Their successful integration into biocompatible hydrogel systems opens perspectives for their application in moisturizing masks, leave-on gels, and advanced dermocosmetic formulations.

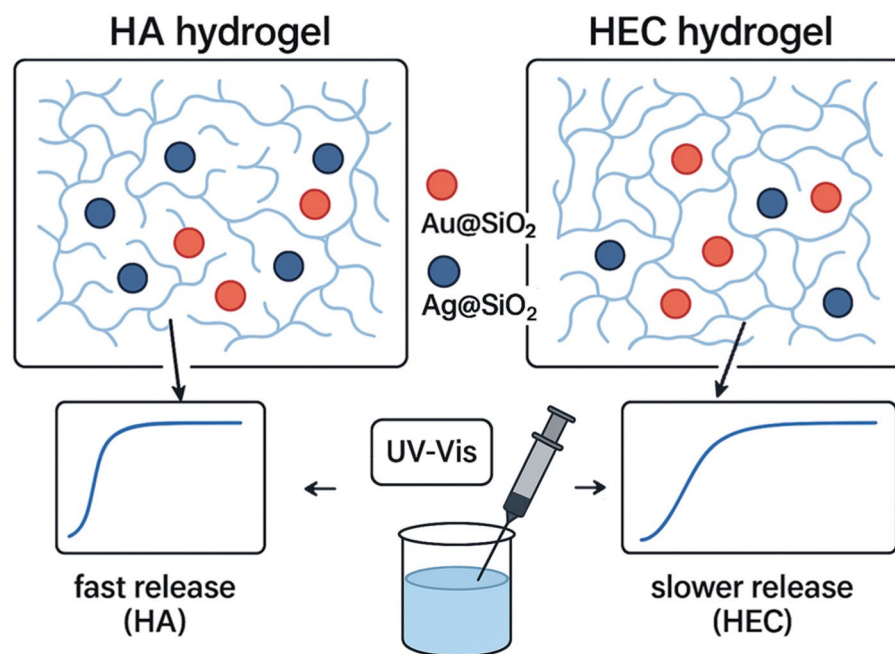


Fig. 15. Schematic representation of the release of Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ nanostructures from HA and HEC hydrogels. The HA hydrogel, characterized by a looser polymer network and higher swelling capacity, allows for rapid nanoparticle diffusion into the release medium, resulting in a pronounced initial burst release and fast attainment of release plateau. In contrast, the denser polymer structure of the HEC hydrogel slows down nanoparticle diffusion, producing a more gradual release profile. The bottom panel illustrates the experimental setup for the release study, in which aliquots of the release medium were periodically collected and analyzed by UV–Vis spectroscopy to determine cumulative release.

Future perspectives and safety considerations

Although Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ nanostructures demonstrated promising multifunctional properties in cosmetic hydrogel formulations, further research is needed to fully validate their safety and optimize their application potential. In particular, future studies should address cytotoxicity and skin compatibility, as the release of metallic ions from nanoparticles may influence long-term biocompatibility. The silica coating significantly reduces uncontrolled ion release, but systematic *in vitro* and *in vivo* dermatological tests will be required before clinical translation⁴¹. From a regulatory perspective, the incorporation of engineered nanomaterials into cosmetics must comply with guidelines such as the European Cosmetics Regulation (EC) No 1223/2009 and FDA recommendations, which emphasize safety assessment, toxicological profiling, and labeling requirements for nanomaterials^{42,43}.

Beyond safety evaluation, future work may also explore surface functionalization of silica shells with bioactive molecules such as vitamins, peptides, or botanical extracts, enabling targeted anti-aging, brightening, or soothing effects. Another promising direction involves designing stimuli-responsive hydrogels that release nanoparticles in response to pH, temperature, or enzymatic activity, offering greater control over delivery kinetics. Finally, large-scale stability studies and sensory evaluations will be necessary to bridge the gap between laboratory-scale formulations and real-world cosmetic products.

Data availability

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Received: 30 September 2025; Accepted: 25 November 2025

Published online: 09 December 2025

References

1. Pandey, A. S., Bawiskar, D. & Wagh, V. Nanocosmetics and skin health: a comprehensive review of nanomaterials in cosmetic formulations. *Cureus* **16**, e52754 (2024).
2. Gupta, V. et al. Nanotechnology in cosmetics and cosmeceuticals—a review of latest advancements. *Gels* **8**, 173 (2022).
3. Salvioni, L. et al. The emerging role of nanotechnology in skincare. *Adv. Colloid Interface Sci.* **293**, 102437 (2021).
4. Ruth, F. et al. Gold nanoparticle synthesized from centella asiatica: emphasis on optimization, characterization, antioxidant, antiglycation, and cytotoxicity effect as an anti-aging cosmetic ingredient. *BioNanoSci.* **15**, 45 (2024).
5. Dhandapani, S., Wang, R., Cheol Hwang, K., Kim, H. & Kim, Y. J. Exploring the potential anti-inflammatory effect of biosynthesized gold nanoparticles using *Isodon excisus* leaf tissue in human keratinocytes. *Arab. J. Chem.* **16**, 105113 (2023).

6. Ben Haddada, M. et al. Assessment of antioxidant and dermoprotective activities of gold nanoparticles as safe cosmetic ingredient. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **189**, 110855 (2020).
7. Gupta, R. & Rai, B. Penetration of gold nanoparticles through human skin: unraveling its mechanisms at the molecular scale. *J. Phys. Chem. B* **120**, 7133–7142 (2016).
8. Michniak-Kohn, B. & Kohn, J. Overcoming the barrier of skin to drug permeation for localized dermatological therapies. *J. Med. Sci.* **92**, e926–e926 (2023).
9. Bruna, T., Maldonado-Bravo, F., Jara, P. & Caro, N. Silver nanoparticles and their antibacterial applications. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 7202 (2021).
10. Gibala, A. et al. Antibacterial and antifungal properties of silver nanoparticles—effect of a surface-stabilizing agent. *Biomolecules* **11**, 1481 (2021).
11. Cardoza, C., Nagtode, V., Pratap, A. & Mali, S. N. Emerging applications of nanotechnology in cosmeceutical health science: Latest updates. *Health Sci. Rev.* **4**, 100051 (2022).
12. Kowalska, A., Adamska, E., Synak, A. & Grobelna, B. The optimization of the one-pot synthesis of Au@SiO₂ core-shell nanostructures: modification with dansyl group and their fluorescent properties. *Materials* **17**, 2213 (2024).
13. Oh, J.-G. & Kim, H. Synthesis of core-shell nanoparticles with a Pt nanoparticle core and a silica shell. *Curr. Appl. Phys.* **13**, 130–136 (2013).
14. Buchman, J. T., Pho, T., Rodriguez, R. S., Feng, Z. V. & Haynes, C. L. Coating iron oxide nanoparticles with mesoporous silica reduces their interaction and impact on *S. oneidensis* MR-1. *Chemosphere* **237**, 124511 (2019).
15. Kembuan, C., Oliveira, H. & Graf, C. Effect of different silica coatings on the toxicity of upconversion nanoparticles on RAW 264.7 macrophage cells. *Beilstein J. Nanotechnol.* **12**, 35–48 (2021).
16. Mitura, S., Sionkowska, A. & Jaiswal, A. Biopolymers for hydrogels in cosmetics: review. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **31**, 50 (2020).
17. Parente, M. E., Ochoa Andrade, A., Ares, G., Russo, F. & Jiménez-Kairuz, Á. Bioadhesive hydrogels for cosmetic applications. *Int. J. Cosmet. Sci.* **37**, 511–518 (2015).
18. Zöller, K., To, D. & Bernkop-Schnürch, A. Biomedical applications of functional hydrogels: innovative developments, relevant clinical trials and advanced products. *Biomaterials* **312**, 122718 (2025).
19. Ijaz, F. et al. Biomolecules based hydrogels and their potential biomedical applications: A comprehensive review. *Int. J. Biol. Macromol.* **253**, 127362 (2023).
20. Zoabi, A., Touitou, E. & Margulis, K. Recent advances in nanomaterials for dermal and transdermal applications. *Colloids and Interfaces* **5**, 18 (2021).
21. Thoniyot, P., Tan, M. J., Karim, A. A., Young, D. J. & Loh, X. J. Nanoparticle–hydrogel composites: concept, design, and applications of these promising, multi-functional materials. *Adv. Sci.* **2**, 1400010 (2015).
22. Chylińska, N. & Maciejczyk, M. Hyaluronic acid and skin: its role in aging and wound-healing processes. *Gels* **11**, 281 (2025).
23. Alves, T. F. R. et al. Applications of natural, semi-synthetic, and synthetic polymers in cosmetic formulations. *Cosmetics* **7**, 75 (2020).
24. Adamska, E., Kowalska, A., Wcisło, A., Zima, K. & Grobelna, B. Studying the effect of reducing agents on the properties of gold nanoparticles and their integration into hyaluronic acid hydrogels. *Molecules* **29**, 5837 (2024).
25. Bartoszewski, M., Adamska, E., Kowalska, A. & Grobelna, B. Novelty cosmetic filters based on nanomaterials composed of titanium dioxide nanoparticles. *Molecules* **28**, 645 (2023).
26. López-Muñoz, G. A., Pescador-Rojas, J. A., Ortega-Lopez, J., Salazar, J. S. & Balderas-López, J. A. Thermal diffusivity measurement of spherical gold nanofluids of different sizes/concentrations. *Nanoscale Res. Lett.* **7**, 423 (2012).
27. Chen, H. et al. Shape-dependent refractive index sensitivities of gold nanocrystals with the same plasmon resonance wavelength. *J. Phys. Chem. C* **113**, 17691–17697 (2009).
28. Maity, I., Dev, D., Basu, K., Wagner, N. & Ashkenasy, G. Signaling in systems chemistry: programing gold nanoparticles formation and assembly using a dynamic bistable network. *Angew. Chem.* **60**, 4512–4517 (2021).
29. Fu, L.-M. et al. Process optimization of silver nanoparticle synthesis and its application in mercury detection. *Micromachines (Basel)* **12**, 1123 (2021).
30. Souza, I. D. L., Saez, V. & Mansur, C. R. E. Lipid nanoparticles containing coenzyme Q10 for topical applications: an overview of their characterization. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **230**, 113491 (2023).
31. Kepekçi, R. A., Yener İlçe, B. & Demir Kanmazalp, S. Plant-derived biomaterials for wound healing. *Stud. Nat. Prod. Chem.* **70**, 227–264 (2021).
32. Adamska, E., Niska, K., Wcisło, A. & Grobelna, B. Characterization and cytotoxicity comparison of silver- and silica-based nanostructures. *Materials* **14**, 4987 (2021).
33. Alrefaee, S. H. et al. Rosmarinus officinalis-based Ag/SiO₂ and CeO₂-Ag/SiO₂ core-shell nanocomposites: A green approach to phytochemical analyses, molecular docking, antioxidant and antimicrobial applications with enhanced biocompatibility. *Results Eng.* **24**, 103478 (2024).
34. Rizwan, H. et al. Effect of Au@SiO₂ core shell nanoparticles on HG-induced oxidative stress triggered apoptosis in keratinocytes. *Life Sci.* **328**, 121893 (2023).
35. Sikkema, R., Keohan, B. & Zhitomirsky, I. Hyaluronic-acid-based organic-inorganic composites for biomedical applications. *Materials* **14**, 4982 (2021).
36. Dannert, C., Stokke, B. T. & Dias, R. S. Nanoparticle-hydrogel composites: from molecular interactions to macroscopic behavior. *Polymers* **11**, 275 (2019).
37. Parfenyuk, E. & Dolinina, E. Silica hydrogels as platform for delivery of hyaluronic acid. *Pharmaceutics* **15**, 77 (2023).
38. Li, J. & Mooney, D. J. Designing hydrogels for controlled drug delivery. *Nat. Rev. Mater.* **1**, 16071 (2016).
39. Vanoli, V. et al. Hyaluronic acid-based hydrogels: drug diffusion investigated by HR-MAS NMR and release kinetics. *Carbohydr. Polym.* **301**, 120309 (2023).
40. Wen, X. et al. Preparation of CMC/HEC crosslinked hydrogels for drug delivery. *BioResources* **10**, 8339–8351 (2015).
41. Croissant, J. G., Fatiev, Y. & Khashab, N. M. Degradability and clearance of silicon, organosilica, silsesquioxane, silica mixed oxide, and mesoporous silica nanoparticles. *Adv. Mater.* **29**, 1604634 (2017).
42. European Commission. Directorate General for Health and Food Safety. *Guidance on the Safety Assessment of Nanomaterials in Cosmetics*. https://health.ec.europa.eu/publications/scs-guidance-safety-assessment-nanomaterials-cosmetics-2nd-revision_en (Publications Office, LU, 2019).
43. Commissioner, O. of the. Guidance for Industry: Safety of Nanomaterials in Cosmetic Products. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-safety-nanomaterials-cosmetic-products> (2024).

Author contributions

A. Kowalska—conceptualization, methodology, investigation (including synthesis and characterization of nanostructures), data curation, formal analysis, visualization, writing—original draft, review & editing, and funding acquisition; E. Adamska—synthesis of hydrogel with nanostructures, characterization of hydrogels, writing—original draft, review & editing, visualization, supervision, and funding acquisition; A. Wcisło—water contact angle measurements; K. Deja and A. Kalinowska—characterization of nanostructures (catalytic and antioxidant

activity); B. Grobelna—writing, review & editing, supervision, and revision of the original draft. All authors reviewed, edited, revised, and approved the final version of the article.

Declarations

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Ethics statement

This study did not involve human or animal experiments requiring ethical approval. All procedures were performed on commercially available skin models according to the manufacturer's guidelines.

Additional information

Correspondence and requests for materials should be addressed to E.A. or B.G.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License, which permits any non-commercial use, sharing, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if you modified the licensed material. You do not have permission under this licence to share adapted material derived from this article or parts of it. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>.

© The Author(s) 2025

Oświadczenia

mgr inż. Agata Kowalska
Pracownia Chemii i Analityki Kosmetyków
Katedra Chemii Analitycznej
Wydział Chemii
Uniwersytet Gdański
ul. Wita Stwosza 63
80-308 Gdańsk

Gdańsk, 26.05.2026

Oświadczenie

Jako współautor 3 publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej mgr inż. Agaty Kowalskiej oświadczam, że mój wkład w publikacje obejmował:

1. **A. Kowalska**, E. Adamska, A. Wcisło, M. Sroczyński, M. Datta, J. Rak, P. Skowron, B. Grobelna, „Synthesis and characterization of Au@SiO₂ core-shell nanostructures for improved antibiotic delivery systems”, Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine, 73, 102921, 2026, 1-9, IF₂₀₂₄ 4,6, MNiSW 140 pkt.

syntezę i charakterystykę nanostruktur oraz ich koniugatów z lekiem, opracowywanie uzyskanych wyników, rysunków i tabel, przygotowywanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz dopracowanie artykułu do publikacji.

2. **A. Kowalska**, E. Adamska, K. Zima, P. Nowicka, A. Wcisło, M. Makowski, B. Grobelna, “Nanostructures based on gold and silica as a delivery platform for enhanced L-DOPA therapy in neurodegenerative disease”, Dalton Transactions, 54, 47, 2025, 17597-17610, IF₂₀₂₄ 3,3, MNiSW 140 pkt.

syntezę i charakterystykę nanostruktur oraz ich koniugatów z lekiem, opracowywanie uzyskanych wyników, rysunków i tabel, przygotowywanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz dopracowanie artykułu do publikacji.

3. **A. Kowalska**, E. Adamska, A. Weisło, K. Deja, A. Kalinowska, B. Grobelna, "Colloidal stability and controlled release of Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ core-shell nanostructures from biopolymer-based hydrogels", Scientific Reports, 16, 989, 2026, 1-17, IF₂₀₂₄ 3,9, MNiSW 140 pkt.

syntezę i charakterystykę nanostruktur, opracowywanie uzyskanych wyników, rysunków i tabel, przygotowywanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz dopracowanie artykułu do publikacji.

Kowalska Agata

dr hab. Beata Grobelna, prof. UG
Pracownia Chemii i Analityki Kosmetyków
Katedra Chemii Analitycznej
Wydział Chemii
Uniwersytet Gdański
ul. Wita Stwosza 63
80-308 Gdańsk

Gdańsk, 25.05.2026

Oświadczenie

Jako współautor 3 publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej mgr inż. Agaty Kowalskiej oświadczam, że mój wkład w publikacje:

1. A. Kowalska, E. Adamska, A. Wcisło, M. Sroczyński, M. Datta, J. Rak, P. Skowron, **B. Grobelna**, „Synthesis and characterization of Au@SiO₂ core-shell nanostructures for improved antibiotic delivery systems”, Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine, 73, 102921, 2026, 1-9, IF₂₀₂₄ 4,6, MNiSW 140 pkt.
2. A. Kowalska, E. Adamska, K. Zima, P. Nowicka, A. Wcisło, M. Makowski, **B. Grobelna**, “Nanostructures based on gold and silica as a delivery platform for enhanced L-DOPA therapy in neurodegenerative disease”, Dalton Transactions, 54, 47, 2025, 17597-17610, IF₂₀₂₄ 3,3, MNiSW 140 pkt.
3. A. Kowalska, E. Adamska, A. Wcisło, K. Deja, A. Kalinowska, **B. Grobelna**, “Colloidal stability and controlled release of Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ core-shell nanostructures from biopolymer-based hydrogels”, Scientific Reports, 16, 989, 2026, 1-17, IF₂₀₂₄ 3,9, MNiSW 140 pkt.

obejmował opiekę merytoryczną nad realizowanymi badaniami oraz współudział w opracowaniu koncepcji pracy i dyskusji wyników.

B. Grobelna

dr Elżbieta Adamska
Pracownia Chemii i Analityki Kosmetyków
Katedra Chemii Analitycznej
Wydział Chemii
Uniwersytet Gdański
ul. Wita Stwosza 63
80-308 Gdańsk

Gdańsk, 25.05.2026

Oświadczenie

Jako współautor 3 publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej mgr inż. Agaty Kowalskiej oświadczam, że mój wkład w publikacje obejmował:

1. A. Kowalska, **E. Adamska**, A. Wcisło, M. Sroczyński, M. Datta, J. Rak, P. Skowron, B. Grobelna, „Synthesis and characterization of Au@SiO₂ core-shell nanostructures for improved antibiotic delivery systems”, Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine, 73, 102921, 2026, 1-9, IF₂₀₂₄ 4,6, MNiSW 140 pkt.
2. A. Kowalska, **E. Adamska**, K. Zima, P. Nowicka, A. Wcisło, M. Makowski, B. Grobelna, “Nanostructures based on gold and silica as a delivery platform for enhanced L-DOPA therapy in neurodegenerative disease”, Dalton Transactions, 54, 47, 2025, 17597-17610, IF₂₀₂₄ 3,3, MNiSW 140 pkt.
opiekę merytoryczną and realizowanymi badaniami oraz współudział w opracowaniu koncepcji pracy i dyskusji wyników.
3. A. Kowalska, **E. Adamska**, A. Wcisło, K. Deja, A. Kalinowska, B. Grobelna, “Colloidal stability and controlled release of Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ core-shell nanostructures from biopolymer-based hydrogels”, Scientific Reports, 16, 989, 2026, 1-17, IF₂₀₂₄ 3,9, MNiSW 140 pkt.
syntezę hydrożelu z nanostrukturami oraz ich charakterystykę, opiekę merytoryczną and realizowanymi badaniami oraz współudział w opracowaniu koncepcji pracy i dyskusji wyników.

Elżbieta Adamska

dr Anna Wcisło
Pracownia Chemii i Analityki Kosmetyków
Katedra Chemii Analitycznej
Wydział Chemii
Uniwersytet Gdański
ul. Wita Stwosza 63
80-308 Gdańsk

Gdańsk, 01.06.2026

Oświadczenie

Jako współautor 3 publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej mgr inż. Agaty Kowalskiej oświadczam, że mój wkład w publikacje obejmował:

1. A. Kowalska, E. Adamska, **A. Wcisło**, M. Sroczyński, M. Datta, J. Rak, P. Skowron, B. Grobelna, „Synthesis and characterization of Au@SiO₂ core-shell nanostructures for improved antibiotic delivery systems”, *Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine*, 73, 102921, 2026, 1-9, IF₂₀₂₄ 4,6, MNiSW 140 pkt.

Przeprowadzenie badań eksperymentalnych oraz opracowanie, analiza i interpretacja wyników dotyczących właściwości powierzchniowych otrzymanych nanomateriałów, obejmujących pomiary zwilżalności powierzchni nanomateriałów oraz pomiary ich napięcia powierzchniowego. Przygotowanie części publikacji obejmującej omówienie i dyskusję uzyskanych wyników oraz współudział w opracowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów w toku procesu wydawniczego.

2. A. Kowalska, E. Adamska, K. Zima, P. Nowicka, **A. Wcisło**, M. Makowski, B. Grobelna, “Nanostructures based on gold and silica as a delivery platform for enhanced L-DOPA therapy in neurodegenerative disease”, *Dalton Transactions*, 54, 47, 2025, 17597-17610, IF₂₀₂₄ 3,3, MNiSW 140 pkt.

Przeprowadzenie badań eksperymentalnych oraz opracowanie, analiza i interpretacja wyników dotyczących właściwości powierzchniowych otrzymanych nanomateriałów i koniugatów, obejmujących pomiary zwilżalności powierzchni nanomateriałów i koniugatów oraz badań elektrochemicznych służących ocenie stopnia załadowania leku w koniugatach. Przygotowanie części publikacji obejmującej omówienie i dyskusję uzyskanych wyników oraz współudział w opracowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów w toku procesu wydawniczego.

3. A. Kowalska, E. Adamska, A. **Wcisło**, K. Deja, A. Kalinowska, B. Grobelna, "Colloidal stability and controlled release of Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ core-shell nanostructures from biopolymer-based hydrogels", *Scientific Reports*, 16, 989, 2026, 1-17, IF₂₀₂₄ 3,9, MNiSW 140 pkt.

Przeprowadzenie badań eksperymentalnych oraz opracowanie, analiza i interpretacja wyników dotyczących właściwości powierzchniowych otrzymanych materiałów, w tym pomiarów zwilżalności powierzchni nanomateriałów i hydrożeli przed oraz po modyfikacji nanostrukturami. Przygotowanie części publikacji obejmującej omówienie i dyskusję uzyskanych wyników oraz współudział w opracowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów w toku procesu wydawniczego.





GDĄŃSKI
UNIwersYTET
MEDYCZNY

dr Katarzyna Zima
Katedra i Zakład Fizjologii
Wydział Lekarski
Gdański Uniwersytet Medyczny
ul. Dębinki 1
80-211 Gdańsk

Gdańsk, 25.05.2026

Oświadczenie

Jako współautor 1 publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej mgr inż. Agaty Kowalskiej oświadczam, że mój wkład w publikacje:

1. A. Kowalska, E. Adamska, **K. Zima**, P. Nowicka, A. Wcisło, M. Makowski, B. Grobelna, "Nanostructures based on gold and silica as a delivery platform for enhanced L-DOPA therapy in neurodegenerative disease", Dalton Transactions, 54, 47, 2025, 17597-17610, IF₂₀₂₄ 3,3, MNiSW 140 pkt.

obejmował wykonanie oraz opracowanie wyników dotyczących badań biologicznych otrzymanych nanomateriałów i koniugatów *in vitro* na komórkach SH-SY5Y.

mgr inż. Paulina Truszkowska (Nowicka)
Pracownia Oddziaływań Międzycząsteczkowych
Katedra Chemii Bionieorganicznej
Wydział Chemii
Uniwersytet Gdański
ul. Wita Stwosza 63
80-308 Gdańsk

Gdańsk, 25.05.2026

Oświadczenie

Jako współautor 1 publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej mgr inż. Agaty Kowalskiej oświadczam, że mój wkład w publikację:

1. A. Kowalska, E. Adamska, K. Zima, **P. Nowicka**, A. Wcisło, M. Makowski, B. Grobelna, "Nanostructures based on gold and silica as a delivery platform for enhanced L-DOPA therapy in neurodegenerative disease", Dalton Transactions, 54, 47, 2025, 17597-17610, IF₂₀₂₄ 3,3, MNiSW 140 pkt.

obejmował wykonanie oraz opracowanie wyników dotyczących badań oddziaływania otrzymanych nanostruktur z DNA.

Paulina Truszkowska

Gdańsk, 25.05.2026 r.

Oświadczenie

Jako współautor poniższej publikacji wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej mgr inż. Agaty Kowalskiej:

A. Kowalska, E. Adamska, K. Zima, P. Nowicka, A. Wcisło, **M. Makowski**, B. Grobelna, "Nanostructures based on gold and silica as a delivery platform for enhanced L-DOPA therapy in neurodegenerative disease", Dalton Transactions, 54, 47, 2025, 17597-17610, IF₂₀₂₄ 3,3, MNiSW 140 pkt.

oświadczam, że mój wkład w jej powstanie obejmował nadzór i pozyskiwanie funduszy na badania oddziaływań z DNA (technika switchSense) oraz współudział w redagowaniu pracy na etapie końcowym.



prof. dr hab. Janusz Rak
Pracownia Sensybilizatorów Biologicznych
Katedra Chemii Fizycznej
Wydział Chemii
Uniwersytet Gdański
ul. Wita Stwosza 63
80-308 Gdańsk

Gdańsk, 25.05.2026

Oświadczenie

Jako współautor 1 publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej mgr inż. Agaty Kowalskiej oświadczam, że mój wkład w publikację:

1. A. Kowalska, E. Adamska, A. Weisło, M. Sroczyński, M. Datta, **J. Rak**, P. Skowron, B. Grobelna, „Synthesis and characterization of Au@SiO₂ core-shell nanostructures for improved antibiotic delivery systems”, Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine, 73, 102921, 2026, 1-9, IF₂₀₂₄ 4,6, MNiSW 140 pkt.

obejmował współudział w redagowaniu pracy w etapie końcowym.



dr inż. Magdalena Datta
Katedra Chemii Nieorganicznej
Wydział Chemiczny
Politechnika Gdańska
ul. Narutowicza 11/12
80-233 Gdańsk

Gdańsk, 27.05.2026

Oświadczenie

Jako współautor 1 publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej mgr inż. Agaty Kowalskiej oświadczam, że mój wkład w publikacje:

1. A. Kowalska, E. Adamska, A. Wcisło, M. Sroczyński, **M. Datta**, J. Rak, P. Skowron, B. Grobelna, „Synthesis and characterization of Au@SiO₂ core-shell nanostructures for improved antibiotic delivery systems”, Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine, 73, 102921, 2026, 1-9, IF₂₀₂₄ 4,6, MNiSW 140 pkt.

obejmował wykonanie oraz opracowanie wyników dotyczących badań cytotoksyczności otrzymanych nanostruktur.

(Datta Magdalena)

prof. dr hab. Piotr Skowron
Katedra Biotechnologii Molekularnej
Wydział Chemii
Uniwersytet Gdański
ul. Wita Stwosza 63
80-308 Gdańsk

Gdańsk, 25.05.2026

Oświadczenie

Jako współautor 1 publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej mgr inż. Agaty Kowalskiej oświadczam, że mój wkład w publikacje:

1. A. Kowalska, E. Adamska, A. Weisło, M. Sroczyński, M. Datta, J. Rak, **P. Skowron**, B. Grobelna, „Synthesis and characterization of Au@SiO₂ core-shell nanostructures for improved antibiotic delivery systems”, Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine, 73, 102921, 2026, 1-9, IF₂₀₂₄ 4,6, MNiSW 140 pkt.

obejmował współudział w redagowaniu pracy w etapie końcowym.

KIEROWNIK
Katedry Biotechnologii Molekularnej
prof. dr hab. Piotr Skowron



Gdańsk, 25.05.2026

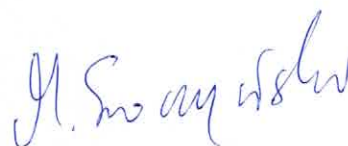
mgr inż. Michał Sroczyński
Katedra Biotechnologii Molekularnej
Wydział Chemii
Uniwersytet Gdański
ul. Wita Stwosza 63
80-308 Gdańsk

Oświadczenie

Jako współautor 1 publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej mgr inż. Agaty Kowalskiej oświadczam, że mój wkład w publikacje:

1. A. Kowalska, E. Adamska, A. Wcisło, **M. Sroczyński**, M. Datta, J. Rak, P. Skowron, B. Grobelna, „Synthesis and characterization of Au@SiO₂ core-shell nanostructures for improved antibiotic delivery systems”, Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine, 73, 102921, 2026, 1-9, IF₂₀₂₄ 4,6, MNiSW 140 pkt.

obejmował wykonanie oraz opracowanie wyników dotyczących oceny aktywności przeciwbakteryjnej otrzymanych koniugatów.





mgr Adrianna Kalinowska
Wydział Chemii
Uniwersytet Gdański
ul. Wita Stwosza 63
80-308 Gdańsk

Gdańsk, 25.05.2026

Oświadczenie

Jako współautor 1 publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej mgr inż. Agaty Kowalskiej oświadczam, że mój wkład w publikację:

1. A. Kowalska, E. Adamska, A. Wcisło, K. Deja, **A. Kalinowska**, B. Grobelna, "Colloidal stability and controlled release of Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ core-shell nanostructures from biopolymer-based hydrogels", Scientific Reports, 16, 989, 2026, 1-17, IF₂₀₂₄ 3,9, MNiSW 140 pkt.

obejmował współudział w przeprowadzeniu badań aktywności antyoksydacyjnych i katalitycznych otrzymanych nanostruktur.

Adrianna Kalinowska

mgr Kinga Deja
Wydział Chemii
Uniwersytet Gdański
Ul. Wita Stwosza 63
80-308 Gdańsk

Gdańsk, 25.05.2026

Oświadczenie

Jako współautor 1 publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej mgr inż. Agaty Kowalskiej oświadczam, że mój wkład w publikację:

1. A. Kowalska, E. Adamska, A. Wcisło, **K. Deja**, A. Kalinowska, B. Grobelna, "Colloidal stability and controlled release of Au@SiO₂ and Ag@SiO₂ core-shell nanostructures from biopolymer-based hydrogels", Scientific Reports, 16, 989, 2026, 1-17, IF₂₀₂₄ 3,9, MNiSW 140 pkt.

obejmował współudział w przeprowadzeniu badań aktywności antyoksydacyjnych i katalitycznych otrzymanych nanostruktur.

Kinga Deja