

Abstract

Despite the impressive progress made in cancer research over the last decades, efficient target-specific treatment of smaller malignant tumors, as well as metastases, remains elusive. The lack of strategies for the controlled targeting of tumor cells has resulted in both the healthy and malignant cells being equally influenced by current cancer therapies, which negatively impacts the patient health. In the recent years, ligand-conjugated nanoparticles have become the focus of research owing to their applicability in target-specific binding of receptors expressed on the cell surface as well as cancer-relevant biomarkers for diagnosis, imaging and cancer therapy. Application of nanoparticles as a drug carrier for target-specific tumor treatments ensure lower doses of required therapeutics, thus assisting in inhibiting the associated side effects and improving patient well being. In this work, a novel drug delivery system based on gold-mesoporous silica (Au@mSiO_2) core-shell nanoparticles for targeting breast cancer cells is introduced. The mesoporous silica shell contributed for optimal loading of anti-cancer drugs such as doxorubicin and quercetin. At this stage, surface modification of gold-silica nanoparticles enabled a controlled drug-release kinetic for 8 days for doxorubicin and 30 days for quercetin. The nanocarriers developed in this work were tested with different breast cancer cell lines and tumor-bearing mice model to investigate the efficiency of receptor-mediated active targeting.

In the case of renal cell carcinoma (RCC), currently there are no preoperative methods in clinical practice that can reliably differentiate between a benign and malignant RCC. In this research, a novel early diagnostic non-invasive strategy to extract, purify and quantify micro-RNA (miRNA) from human urine is presented. miRNAs form a subclass of RNAs, usually consisting of 18-22 nucleotides, and serve to regulate gene expression. In this context miRNA15a was used, which has already been identified as a sensitive biomarker for RCC by other research groups. The presented diagnostic tool showed high selectivity and sensitivity towards miRNA15a, and offers superior performance over other standard quantification methods like real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) in terms of required equipment, handling, duration time and associated costs. For both approaches presented, a controlled and reproducible nanoparticle synthesis and surface characterization is required. However, experimental data showed that conventionally used quantification techniques like TGA and FT-IR are not sufficient alone for accurate estimation of ligand density on the surface of carrier particles. To bridge this knowledge gap, two new approaches, one based on modified potentiometric measurements and the other based on electrokinetic sonic amplitude (ESA) measurements are presented. The data obtained from these methods showed correlative trends of reliability for ligand density estimation of sev-

eral different nanocomposites. A theoretical model for the calculation of the ligand density is also presented in support of the newly developed methods applied in this thesis.

Kurzzusammenfassung

Trotz der bemerkenswerten Fortschritte der letzten Jahrzehnte im Bereich der Krebsforschung bleibt die gezielte Behandlung von kleineren malignen Tumoren, sowie Metastasen weiterhin unzugänglich. Das Fehlen von Strategien zum kontrollierten Abzielen auf Tumorzellen führt dazu, dass durch derzeitige Therapien sowohl gesunde, als auch maligne Zellen gleichermaßen beeinflusst werden, was einen negativen Einfluss auf die Gesundheit des Patienten nimmt. In den letzten Jahren kamen Liganden konjugierte Nanopartikel in den Fokus der Forschung, welche durch deren spezifische Anbindung an auf der Zelloberfläche überexprimierte Rezeptoren, wie auch an Tumorrelevante Biomarker eine Diagnose, eine Bildgebung und eine gezielte Krebstherapie ermöglichen. Die Verwendung von Nanopartikeln als Transportmittel für Arzneimittel gewährleistet eine geringere Dosis des benötigten Therapeutikums und hilft so bei der Hemmung der damit verbundenen Nebenwirkungen, was das Wohlbefinden des Patienten steigert. Im Rahmen dieser Arbeit wird ein neues Transportmittel für Arzneimittel, basierend auf Gold-mesoporösem Siliziumdioxid (Au@mSiO_2) Kern-Schale Nanopartikel für die gezielte Anwendung von Brustkrebszellen vorgestellt. Die mesoporöse Siliziumdioxid Schale trug zu einer optimalen Beladung der Partikel mit Krebsmedikamenten wie Doxorubicin und Quercetin bei. Eine Oberflächenmodifizierung der Gold-Siliziumdioxid Nanostäbchen ermöglichte eine langsame Arzneimittelfreisetzungskinetik von 8 Tagen für Doxorubicin und 30 Tage für Quercetin. Die in dieser Arbeit entwickelten Nanocarrier wurden in verschiedenen Brustkrebszelllinien, sowie in tumortragenden Mäusen getestet und auf die Effizienz einer rezeptorvermittelten Partikelaufnahme hin untersucht.

Im Falle von klarzelligem Nierenkarzinomen (RCC) existieren in der klinischen Praxis derzeit keine nicht-operative Methoden zur zuverlässigen Unterscheidung zwischen gut- und bösartigen RCC. In dieser Arbeit wird daher ebenso eine neue non-invasive Strategie zur Extraktion, Aufreinigung und Quantifizierung einer micro-RNA (miRNA), aus menschlichem Urin vorgestellt. miRNAs selbst bilden eine Unterklasse der RNAs, meist bestehend aus 18–22 Nukleotiden und dienen zur Regulierung der Genexpression. Als tumorrelevante miRNA dient miRNA15a, welche bereits durch andere Forschungsgruppen als sensitiver Biomarker für RCC identifiziert wurde. Das präsentierte Diagnosewerkzeug zeigt eine hohe Selektivität und Sensitivität gegenüber miRNA15a und übertrifft in dessen Performance andere Standard-Quantifizierungsverfahren wie z.B. die Quantitative Polymerase-Kettenreaktion in Echtzeit (qRT-PCR) in Bezug auf die benötigte Ausstattung, die Handhabung, die Messdauer und die verbundenen Kosten. Für die beiden bereits vorgestellten Anwendungen bedarf es jeweils eine kontrollierte und reproduzierbare Syn-

these und Oberflächencharakterisierung. Experimentelle Daten dieser Arbeit belegten jedoch, dass konventionelle Quantifizierungsverfahren wie TGA und FT-IR alleine nicht für eine genaue Bestimmung der Ligandendichte an der Oberfläche eines Trägerpartikels ausreichen. Um diese Lücke zu schließen werden zwei neue Techniken präsentiert: eine basierend auf einer modifizierten potentiometrischen Messung und eine weitere basierend auf elektrokinetischen Schallwellenamplitude (ESA) Messungen. Die erhaltenen Daten dieser neuen Techniken ergaben zuverlässige Werte und wurden durch Datensätze von verschiedenen Nanokompositen verifiziert. Ein theoretisches Modell zur Berechnung der Ligandendichte ist ebenso in dieser Arbeit vorgestellt und unterstützt die neu entwickelten Methodiken.