

## Alkol Tedavisinde Kullanılan Disülfiram'ın Nanotaşıyıcısı Olarak Sistein-Altın Nanopartiküllerin Sentezi

Fatma BAYRAKÇEKEN NİŞANCI<sup>1\*</sup>

**ÖZET:** Disülfiram (DS), alkol caydırıcı olarak kullanılan bir karbamat türevidir. Tek başına uygulandığında nispeten toksik olmayan bir maddedir, ancak alkol ile birlikte metabolizmayı belirgin bir şekilde değiştirmektedir. Disülfiram, aldehit dehidrojenazını inhibe ederek etki etmektedir. Disülfiram uygulandıktan sonra alkol alınır, kanda asetaldehit konsantrasyonu artar, ardından sistemik vazodilatasyon, solunum güçlüğü, bulantı, hipotansiyon ve diğer semptomlar (asetaldehit sendromu) izlenir. Disülfiramın daha hızlı bir şekilde etki göstermesi altın nanopartiküller (Au NP) gibi nanotaşıyıcılarla mümkün olmaktadır. Altın nanopartiküller, kuantum noktalarla karşılaştırıldığında daha yüksek potansiyelli toksik olmayan biyomarkerlerdir ve bu çalışma kapsamında, sisteinin (Cys) indirgeyici ve koruyucu ajan olarak Au NP ile sentezine odaklanılmıştır. Yaklaşık 5 nm çapında altın nanopartiküller, Cys ile modifiye edilen ve disülfiramın nanotaşıyıcısı olarak Cys-Au NP'ler şeklinde konjugasyonu gerçekleştirilerek, (Altın nanopartiküllerin sentezi, taze Cys solüsyonlarına karıştırılarak karışım gece boyunca 37°C'de bir su banyosu içinde karıştırılarak) özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM), atomik kuvvet mikroskobu (AFM), geçirgen elektron mikroskobu (TEM), FT-IR, raman ve UV-Vis spektroskopisi ile değerlendirildi.

**Anahtar kelimeler:** Altın nanopartikül, Disülfiram, S-Au etkileşimi, Sistein

## Synthesis of Cystein-Gold Nanoparticles as Nanocarriers of Disulfiram used in Alcohol Treatment

**ABSTRACT:** Disulfiram (DS) is a carbamate derivative used as an alcohol deterrent. It is a relatively non-toxic substance when administered alone, but it significantly changes metabolism with alcohol. Disulfiram acts by inhibiting aldehyde dehydrogenase. If alcohol is used after disulfiram is administered, the concentration of acetaldehyde increases, followed by systemic vasodilatation, respiratory distress, nausea, hypotension, and other symptoms (acetaldehyde syndrome). It is possible that disulfiram is acting more rapidly with nanostructures such as gold nanoparticles (Au NP). Gold nanoparticles are higher potency non-toxic biomarkers when compared to quantum dots, and in this study, cysteine (Cys) is focused on synthesis with Au NP as a reducing and protective agent. Gold nanoparticles of about 5 nm in diameter were conjugated to cysteine (Cys) and conjugated to Cys-Au NPs as nanostructures of disulfiram, (Synthesis of gold nanoparticles, mixing in fresh Cys solutions and mixing the mixture overnight at 37 ° C in a water bath) were characterized by scanning electron microscopy (SEM), atomic force microscopy (AFM), permeable electron microscopy (TEM), FT-IR, raman and UV-Vis spectroscopy.

**Keywords:** Gold nanoparticles, Disulfiram, S-Au interaction, Cysteine

<sup>1</sup> Fatma BAYRAKÇEKEN NİŞANCI (Orcid ID: 0000-0002-3166-2301), Atatürk Üniversitesi, Narman Meslek Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Programı, Erzurum, Türkiye

\*Sorumlu yazar/Corresponding Author: Fatma BAYRAKÇEKEN NİŞANCI, fbayrakceken@atauni.edu.tr

Geliş tarihi / Received: 04.10.2018  
Kabul tarihi / Accepted: 13.11.2018

## GİRİŞ

Geçmiş yıllarda, nanoteknoloji araştırmalarında hızlı bir büyüme olmuştur. Nanoteknoloji nanometre ölçeğinde, yani yaklaşık 1-100 nm arasında gerçekleşen işlemler ile ilgilenir. Nanoteknoloji metalik nanopartiküllerin bir araya gelerek ilginç elektronik, optik ve kimyasal özellikleri farklı yeni materyallerden oluşmaktadır (Kang et al., 2010; Aragay et al., 2011; Farhadi et al., 2012). Metal nanopartiküller, biyo-fonksiyonelleşme, yüksek yüzey alanı ve spektral özelliklerden dolayı hem kimyasal sensör hem de biyosensör olarak büyük ilgi görmektedir (Singh et al., 2011). Bu metal nanopartiküller arasında altın nanopartiküller (Au NP) kimyasal analizde faydalı uygulamalar bulmuştur (Vaseghi et al., 2013; Pan et al., 2008; Thaxton et al., 2006). Son birkaç yılda nanopartiküllerin agregasyonu üzerine önemli analizlerin saptanması için, algılayıcı prob olarak Au NP'lerin kullanımı önemli ölçüde artmıştır. Au NP malzemeler, bulk materyallerdeki gibi olmayan, olağandışı kimyasal, fiziksel, elektriksel ve optik özellikler sergileyebilirler.

Mükemmel optik özelliklere sahip olan Au NP'ler, kolorimetrik prob uygulamalarından dolayı bilim insanlarını etkilemektedir. (Jongjinakool et al., 2014). Kolorimetrik sensör veya prob olarak Au NP'ler; mutasyonlar, immünoglobulin, cıva (II) iyonu, kartap ve melanin gibi birçok analit için yaygın olarak kullanılmaktadır. Au NP'ler, karakteristik yüzey plazmon rezonans (SPR) absorpsiyon özellikleri sergilediklerinden tespit için yüksek hassasiyet sağlamaktadırlar. Bu SPR'nin rezonans frekansı, büyük ölçüde, şekle, dielektrik özelliklerine ve nanopartiküllerin çevresine güçlü şekilde bağlıdır. Çoğu durumda, kimyasal algılama olarak Au NP'lerin kullanımı, agregasyon/ayırıştırma prosesleri ile renkteki değişimleri belirlenerek başarılabilir. Au NP'lerin rengi, agregaların oluşumu nedeniyle

kırmızı, mor, mavi ve siyah şeklinde sıralanabilir. Au NP'ler kovalent olmayan amin veya tiyol gruplu moleküllerin eklenmesiyle agregasyona neden olmuştur (Su et al., 2012). Ayrıca Cys çeşitli biyokimyasal reaksiyonlara katılımı sağlayan polar olmayan sülfidril (-SH) grubu içeren esansiyel olmayan bir amino asittir. Cys eksikliği birçok hastalığa neden olmaktadır. Saçların yavaş büyümesine, depigmentasyona, karaciğer ve kasların zarar görmesine neden olur (Bulatov et al., 2013). Bu nedenle, biyolojik matrislerde Cys'nin takip edilmesi yüksek oranda talep edilmektedir.

Cys, metal yüzeylerdeki proteinler ve Cys içeren peptitlerin bağlanmasını sağlayan sülfidril (tiyol) yan zinciri nedeniyle altın için özellikle yüksek bir afiniteye sahiptir. Cys altın substratlara proteinlerin bağlanması için bir çapraz bağlayıcı olarak kullanılmıştır ve amin, karboksilik gruplar (Sharon et al., 2014; Tengvall et al., 1992) sayesinde biyofonksiyonel tutulduğundan Au NP kombinasyonu ile çoğu biyosensörün temelini oluşturur (Vallee et al., 2010; Di et al., 2002; Sasaki et al., 1997). Cys'nin biyolojik önemi nedeniyle Au NP'lerin tespiti için tasarlanmış birçok sensör bulunmaktadır. Cys ile işlevselleştirilmiş Au-NP'lerin kendi kendini bir araya geldiği bilinmektedir (Sudeep et al., 2005; Ding et al., 2012). Cys kaynaklı Au NP agregasyonu, (Robert et al., 2014) karşıt gruplar ile Au NP bağlı Cys'nin protonlanmış amin ( $\text{NH}_3^+$ ) ve proton çıkarılmış karboksilatın ( $\text{COO}^-$ ) etkileşmesini kapsayan zwitteriyonik ağlarının oluşumu ile ilişkilendirilir (Hormozi et al., 2012). Disülfiram (DS) ise alkolizm tedavisi için kullanılan bir aldehit dehidrojenaz inhibitörüdür. Alkol bağımlılığında caydırıcı olan DS, geniş bir ditiyokarbamat ailesinin üyesidir ve bakır gibi metaller ile kompleks yapabilen sülfidril ve glutasyon grupları ile reaksiyona girer (GSH). DS aldehit dehidrojenazı dönüşümsüz olarak inhibe etme yeteneğine sahip olduğu için alkol

tedavisinde yıllar boyunca kullanılmıştır (Xiao et al., 2011).

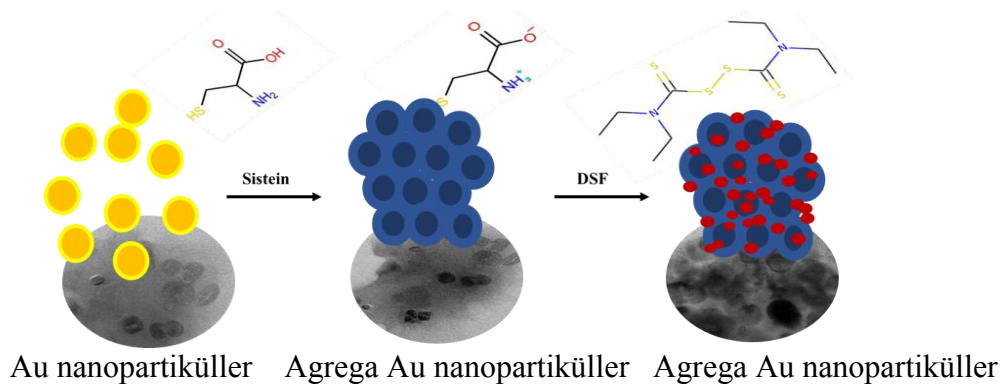
Disülfiram ile yapılan çalışmada, literatürde mevcut olmayan DS nanotaşınmasının daha hızlı yapılabilmesi ve yüzeyde adsorpsiyonunun sağlanmasının yanı sıra potansiyel kontrollü ilaç dağıtım uygulamaları için önemli olduğunun literatüre kazanılması amaçlanmıştır. Bu amaç kapsamında, disülfiram'ın altın nanopartiküller sayesinde çok hızlı bir şekilde aldehit dehidrojenaz enzimini bloke edebileceği ve bu maddeyle beraber alkol alınması durumunda kronik alkolik bireylerin daha fazla alkol almadan kısa sürede caydırılması için tasarlanmış disülfiram'ın nanotaşıyıcısı olarak sistein-altın nanopartiküllerinin sentezi ve karakterizasyonu gerçekleştirildi.

## MATERYAL VE YÖNTEM

Kimyasallar Sigma Aldrich'den satın alındı ve deneylerde kullanıldı. Yaklaşık 5 nm çapında altın nanopartiküller (0.5 nM),  $10^{-3}$  M Cys ile (1:1 hacim oranında) oda sıcaklığında 12 saat karıştırıldı. Aminoasit ile fonksiyonlanmış altın nanopartikül yüzeylerinde Cys'nin fazlası birkaç dakika boyunca 8000 rpm'de santrifüj ile

uzaklaştırıldı. Disülfiram (DS) ise 0.06 mM deiyonize suda hazırlanan çözelti manyetik karıştırıcıda 300rpm de 10 dakika hazırlanarak Cys modifiye edilmiş Au NP'lerin üzerine ilave edilerek 12 saat bekletilerek hazırlandı ve Şekil 1'de bu işlemlerin şematik gösterimi ile TEM görüntüleri verilmektedir.

SEM (Taramalı elektron mikroskobu), TEM (Geçirimli elektron mikroskobu) ve AFM (Atomik kuvvet mikroskobu) görüntüleri ile Au NP, Au NP-Cys, Au NP-Cys-DS yüzey karakterizasyonu yapılarak, yüzeyler hakkında atomik ve moleküler boyutlarda inceleme olanağı sağlandı ve sırası ile Zeiss/Sigma 300 model SEM, Hitachi HT770 marka TEM ve Hitachi S100N marka AFM sistemleri kullanıldı. FTIR spektrumları ile Au NP, Au NP-Cys, Au NP-Cys-DS nanopartikülleri,  $1000-4500\text{ cm}^{-1}$  aralığında Bruker VERTEX 704 cihazı kullanılarak elde edildi. Raman spektrumları ise WITech alpha 300R cihazı kullanılarak  $1000-3500\text{ cm}^{-1}$  aralığında analizlerdeki Au-NP, Au-NP-Cys, Cys, Au NP-Cys-DS'leri oluşturan atom veya moleküllerin yapmış olduğu bağlar belirlendi.

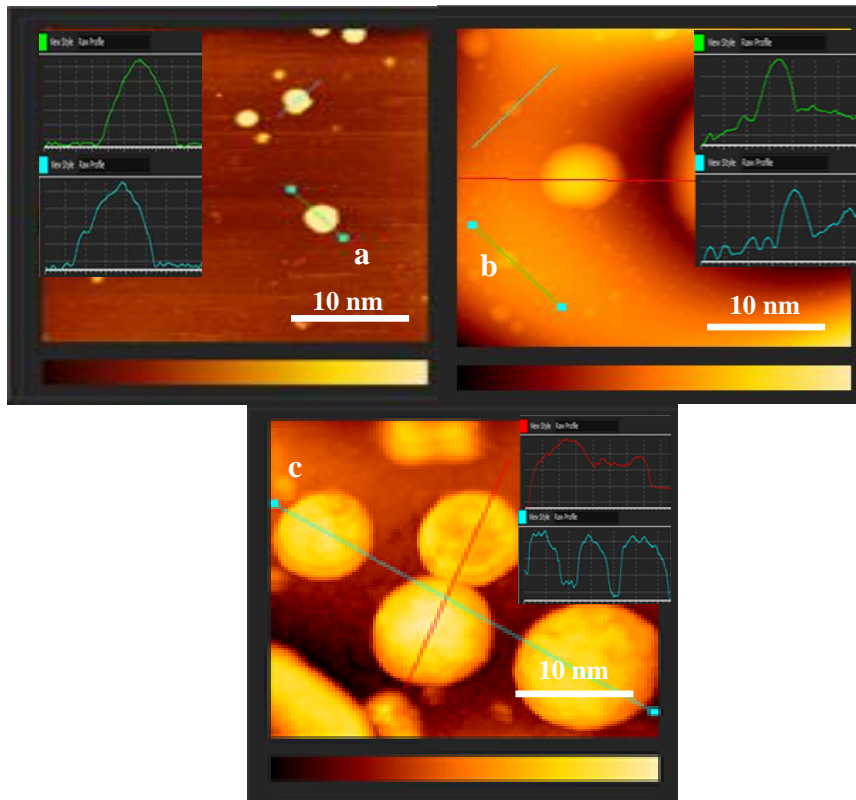


**Şekil 1.** Au nanopartikül, Au nanopartikülleri-sistein ve Au nanopartikülleri-sistein üzerine DS modifikasyonunun şematik gösterimi ve her bir aşamaya ait TEM görüntüleri.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

Temizlenmiş cam yüzeyler üzerinde Au NP, Au NP-Cys, Au NP-Cys-DS'lerin AFM görüntüleri Şekil 2'de görülmektedir. Şekil 2a'da sadece Au-NP'lerinin yaklaşık 5 nm çaplara sahip olduğu ve Cys'nin Au NP'leri modifiye ettiği durumlarda ise Au NP'lerin koordine edilerek agregasyona neden olduğu ve ayrıca –NH<sub>2</sub> ve –SH sunan Cys'nin Au NP'ler ile amino nitrojen etkileşimi sağlayarak modifikasyonun gerçekleşmesini sağladığı verilmektedir. Şekil 2b'de verilen AFM görüntüsünde agregasyon sonucunda Au NP'lerin boyutlarının artış

gösterdiği ve yaklaşık 7 nm çaplara ulaştığı görülmektedir. Cys modifiye Au NP'ler üzerinde DS biriktirilerek alınan AFM görüntüsünde (Şekil 2c) daha fazla agregasyon olduğu, DS'lerin Au NP-Cys boşlukları dahil olmak üzere yüzeyi kapladığı ve 8 nm çapında olduğu görülmektedir. AFM cihazında alınan her bir görüntüye ait line profil grafikleri ışığında yüzeydeki nanopartiküllerin bir doğru boyunca pik yüksekliklerinin ve şekillerinin benzer yapıda olmasından dolayı nanopartiküllerin homojen dağılım gösterdiği düşünülmektedir.



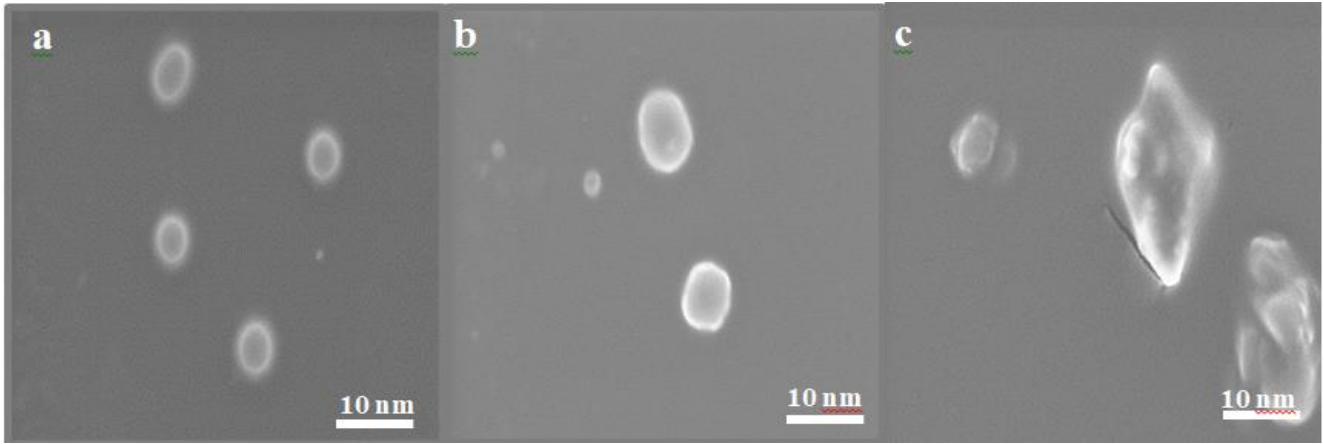
Şekil 2. (a) Au NP, (b) Au NP-Cys'lerin (c) Au NP-Cys-DS'lerin oluşum mekanizmasının 2 boyutlu AFM görüntüleri.

AFM, TEM görüntüleri ışığında, SEM görüntülerinde de Şekil 3a'da yaklaşık olarak aynı çaplara sahip Au nanopartiküllerin (5 nm) yüzeydeki dağılımı gösterilmektedir. Şekil 3b'de nanopartiküllerin agregasyonunu gösteren (1:1 hacim oranlarında) 10<sup>-3</sup> M Cys çözeltisi ile fonksiyonlanmış altın nanopartiküller

görülmektedir. Altın nanopartiküllerin bir araya geldiği Cys'li ortamın karakterizasyonu yapılırken partiküllerin boyutlarındaki artış açıkça (7 nm) görülmektedir (Şekil 3b) Cys ile fonksiyonlanmış altın nanopartiküllerin kendiliğinden bir araya toplandığı yapılar üzerinde (0.06 mM) DS'li ortamda

bekletildiğinde, yüzeyde DS birikmesinin meydana geldiği ve boyutları yaklaşık 8 nm olduğu görülmektedir (Şekil 3c). TEM (Şekil 1) ve SEM (Şekil 3) görüntülerindeki Cys ile fonksiyonlanmış altın nanopartiküllerin DS ile modifiye edilerek altın nanopartiküllerin kendiliğinden bir araya gelerek düzenlendiği (agrega olduğu) gözlenmiştir ve bu yapılar AFM

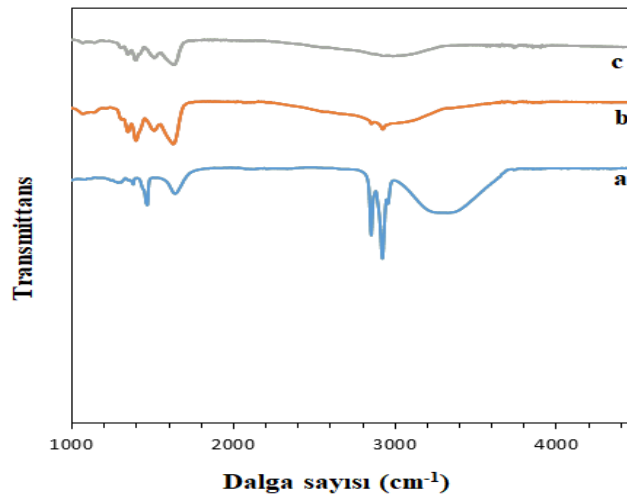
dataları ile desteklemektedir. Cys modifiye altın nanoparçacıkların agregasyonu (agrega parçacıklar arası mesafe azalırken ortalama parçacık çapı, elektriksel dipol-dipol etkileşimi artar) ve elektrostatik ve daha yüksek konsantrasyonlar da hidrojen bağının etkisi altında ( $10^{-4}$  M ve üzerinde Cys) kalarak meydana gelmektedir (Dasary et al., 2009).



Şekil 3. (a) Au NP, (b) Au NP-Cys (c) Au NP-Cys-DS'lerin SEM mikrografikleri.

Yüze adsorbe olan moleküllerin bağlanma şekillerini analiz etmek için en çok kullanılan yöntemler arasında FTIR ve Raman teknikleri kullanılmaktadır (Jafarizad et al. 2017). Bu sonuçlar, Cys'nin altın nanopartiküller ile etkileşimi ve Cys modifiye altın nanopartiküllerin üzerinde DS adsorpsiyonu, FTIR ve Raman spektrumlarının analizine

dayanan sülfür ve altının kovalent etkileşiminin varlığını doğrular ve Au-S kovalent bağının oluşumu literatür ile desteklenmektedir (Petean et al., 2008). Sistein ile modifiye edilen altın nano parçacıkların DS ile hızlı bir şekilde adsorbe edildiği bütün basamaklarda alınan FTIR ve Raman datalarının ışığında açıklanmıştır.

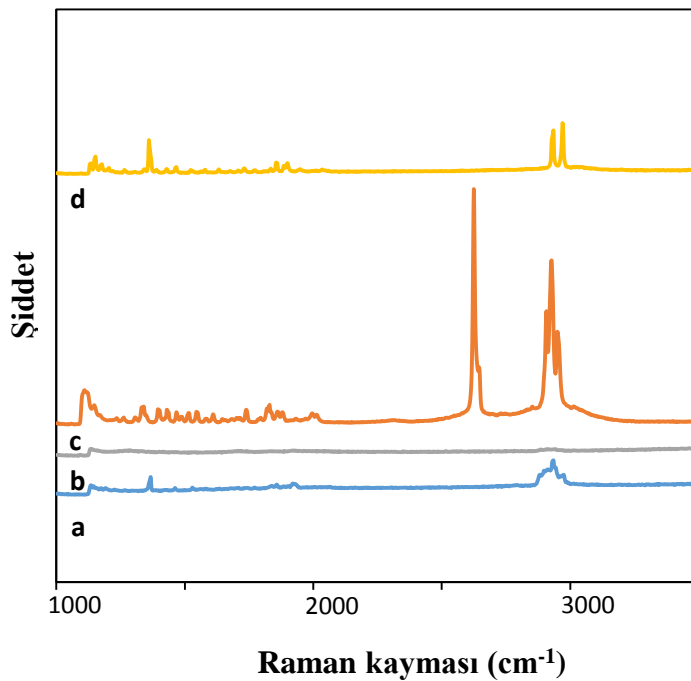


Şekil 4. Au NP (spektrum a), Au NP-Cys (spektrum b), Au-NP-Cys-DS (spektrum c)'nin FTIR spektrumları.

Ayrıca bir araya gelen form elektrostatik bağlanmadan dolayı diğer altın nanopartiküllerin yüzeyi üzerinde negatif yük ile Cys ( $-\text{NH}_3^+$ ) etkileşimde amino grubu pozitif yüklenir. Şekil 4'de Au NP / Au NP-Cys / Au NP-Cys-DS'nin FTIR spektrumlarını göstermektedir. FTIR spektrumları altın nanopartiküllerin Cys ile konjugasyonunu ve DS'nin modifikasyonunun karakteristik bantlarını belirlemek için kullanılmıştır ve spektrumlarda görülen bantlar aşağıdaki gibi tanımlanmıştır. Şekil 4a'da sulu Au NP süspansiyonunun FTIR spektrumlarında,  $1378\text{ cm}^{-1}$  ve  $1645\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler sulu süspansiyondan kaynaklı organik nitrat ve karbon çift bağ gerilme bandını gösterirken  $2852\text{ cm}^{-1}$ ,  $2921\text{ cm}^{-1}$  dar pikler ve  $3321\text{ cm}^{-1}$ 'de geniş bant ise sulu ortam etkileşiminden doğan H-bağlı bir hidroksil grubuna ait -OH gerilme bantlarıdır. Şekil 4b'de Au-Cys süspansiyonuna ait spektrumlarda  $2852\text{ cm}^{-1}$  ve  $2921\text{ cm}^{-1}$  'deki

(Şekil 4a) bantların zayıfladığı Au NP'lerin Cys etkileşimi sonucunda S-Au yapılarını oluşturduğu ve ortamdaki agregasyon sonucunda -OH gruplarına ait piklerin kaybolduğu görülmektedir. Ayrıca şekil 4b de mevcut olan  $1378\text{ cm}^{-1}$  ve  $1645\text{ cm}^{-1}$ 'deki zayıf bantlarda hafif bir kayma (yüksek elektron yoğunluğu ile metal yüzeyi üzerine Cys bağlandığında  $\text{COO}^-$  ve  $\text{NH}_3$  gerilim pozisyonunda bir değişim dipol momentindeki değişimden dolayıdır) olurken,  $1513\text{ cm}^{-1}$  de yeni zayıf pik -NH bükülme (asimetrik/simetrik) bandını (Cys kaynaklı) göstermektedir.

Şekil 4c'de Au NP-Cys süspansiyonuna DS eklenmesi sonucunda  $1300-1600\text{ cm}^{-1}$  aralığındaki bantların çok zayıf olduğu ve  $2800-2950\text{ cm}^{-1}$  aralığındaki spektrumların ise yok olduğu görülmektedir. Bu durum Au NP-Cys agregatlarının üzerinde DS'in adsorbe olduğunu göstermektedir.



**Şekil 5.** Au NP (spektrum a), Au NP-Cys (spektrum b), Cys (spektrum c) ve Au NP-Cys-DS (spektrum d)'nin Raman spektrumları.

Raman spektrumunda, Au NP'lerin, Au NP-Cys, Cys, Au NP-Cys-DS'in farklı titreşim modların da çalışmak için alınmıştır ve özellikle de  $\text{NH}_3^+$  ve S-H bükülme ve gerilme modları incelenmiştir. Şekil 5a'da Au NP'lerin sulu süspansiyonundan alınan spektrumlarda zayıf omuz, C-H gerilmesi  $2970 \text{ cm}^{-1}$  ve  $3000 \text{ cm}^{-1}$  de  $\text{CH}_2$  asimetrik gerilmeleri gösterilmektedir. Sadece Cys içeren (Şekil 5c) spektrumdaki  $2546 \text{ cm}^{-1}$  S-H gerilmesi ve  $2970 \text{ cm}^{-1}$  ve  $3000 \text{ cm}^{-1}$  gerilme bantları, Şekil 5b'de Au NP-Cys agregatlarını içeren süspansiyondaki raman spektrumunda kaybolmuştur. Bunun nedeni ise  $2546 \text{ cm}^{-1}$  S-H gerilme bandı FTIR dataları ile desteklenen sülfür ve altın kovalent etkileşiminden kaynaklanmaktadır. Şekil 5c'de  $1050 \text{ cm}^{-1}$  tek bir mod  $\text{NH}_3^+$  'un titreşiminin farklı modlarının kombinasyonundan oluşmuştur. Ayrıca  $\text{NH}_3^+$  (asimetrik ve salınım bükülmeleri) titreşim modları  $1000\text{-}1600 \text{ cm}^{-1}$  arasında Cys'den dipolar iyonik formunu temsil etmektedir (Aryal et al., 2006). Şekil 5d Au NP - Cys üzerinde DS adsorpsiyonu sonucunda  $2968 \text{ cm}^{-1}$ ,  $2912 \text{ cm}^{-1}$  C-H gerilmesi,  $-\text{CH}_2$  asimetrik gerilmesi ve  $1492 \text{ cm}^{-1}$  de yeni bant  $-\text{NH}$  asimetrik/simetrik bükülme bantları oluşmuştur.

## SONUÇ

Alkol tedavisi için kullanılan ilaç etken maddesi disülfiramın yeni tasarlanan bir nanotaşıyıcı sistem tasarlanarak bu sistemin karakterizasyonunun yapılması amaçlanmış ve Au NP/Au NP-Cys/Au NP-Cys-DS'nin etkileşimlerini tanımlamak için sistematik bir çalışma yapılmıştır. Burada Cys grubunun altın ile çok etkili bir etkileşime sahip olduğu ve bu yüzeylerde DS taşıyıcısının daha hızlı yapılabileceği ve yüzeyde adsorpsiyonunun sağlandığı gösterilmiştir. Çeşitli spektroskopik datalar ile altın nanopartiküllerin stabilizasyonu desteklenmektedir. Cys'nin altın nanopartiküllere karşı güçlü afinitesi diğer aminoasitlerin yanı sıra potansiyel kontrollü ilaç

dağıtımının uygulamaları için vazgeçilmez olduğu görülmektedir.

## TEŞEKKÜR

Atatürk Üniversitesi ve Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezine destekleri için teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

- Aragay G, Pons J, Merkoci A, 2011. Recent trends in macro-, micro-, and nanomaterial-based tools and strategies for heavy-metal detection. *Chemical Reviews*, 111: 3433-3458.
- Aryal S, Remant B K C, Dharmaraj N, Bhattarai N, Kim C H, Kim H Y, 2006. Spectroscopic identification of S-Au interaction in cysteine capped gold nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part*, 63: 160-163.
- Bulatov A V, Petrova A V, Vishnikin A B, Moskvina L N, 2013. Stepwise injection spectrophotometric determination of cysteine in biologically active supplements and fodders. *Microchemical Journal*, 110: 369-373.
- Dasary S S, Singh A K, Senapati D, Yu H, Ray P C, 2009. Gold nanoparticle based label-free SERS probe for ultrasensitive and selective detection of trinitrotoluene. *Journal of the American Chemical Society*, 131: 13806-13812.
- Di F R, Selloni A, Molinari E, 2002. DFT Study of cysteine adsorption on Au(111). *Journal of Physical Chemistry B*, 107: 1151-1156.
- Ding N, Zhao H, Peng W, He Y, Zhou Y, Yuan, L, Zhang Y. A, 2012. Simple colorimetric sensor based on anti-aggregation of gold nanoparticles for  $\text{Hg}^{2+}$  detection. *Colloids and Surfaces A*, 395: 161-167.
- Farhadi K, Forough M, Molaei R, Hajizadeh S, Rafipour A, 2012. Highly selective  $\text{Hg}^{2+}$  colorimetric sensor using green synthesized and unmodified silver nanoparticles. *Sensor Actuat B-Chemical*, 161: 880-885.

- Hormozi-Nezhad M R, Seyedhosseini E, Robatjazi H, 2012. Spectrophotometric determination of glutathione and cysteine based on aggregation of colloidal gold nanoparticles. *Sciare in Iran*, 19: 958–963.
- Jafarizad A, Aghanejad A, Sevim M, Metin Ö, Barar J, Omidı Y, Ekinçi D, 2017. Gold Nanoparticles and Reduced Graphene Oxide-Gold Nanoparticle Composite Materials as Covalent Drug Delivery Systems for Breast Cancer Treatment. *Chemistry Select*, 2: 6663-6672.
- Jongjinakool S, Palasak K, Bousod N, Teepoo S, 2014. Gold nanoparticles-based colorimetric sensor for cysteine detection. *Energy Procedia*, 56: 10 – 18.
- Kang T F, Wang F, Lu LP, Zhang Y, Liu T S, 2010. Methyl parathion sensors based on gold nanoparticles nafion film modified glassy carbon electrodes. *Sensor Actuat B-Chemical*, 145: 104-109.
- Pan Q, Zhang R, Bai Y, He N, Lu Z, 2008. An electrochemical approach for detection of specific DNA-binding protein by gold nanoparticle-catalyzed silver enhancement. *Analytical Biochemistry*, 375: 179-186.
- Petean I, Tomoai G H, Horovitz O, Mocanu A, Tomoai-Cotisel M, 2008. Cysteine mediated assembly of gold nanoparticles. *Optoelectronics and Advanced Materials*, 10: 2289 – 2292.
- Robert G A, Vitaliy F, Nataliya T, Elvio C, Kevin C, Prince J, 2014. Mechanisms of aggregation of cysteine functionalized gold nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry C*, 118: 10481–10487.
- Sasaki Y C, Yasuda K, Suzuki Y, Ishibashi T, Satoh I, Fujiki Y, Ishiwata S, 1997. Two-dimensional 5arrangement of a functional protein by cysteine-gold interaction: Enzyme activity and characterization of a protein monolayer on a gold substrate. *Biophysical Journal*, 72: 1842–1848.
- Sharon E, Golub E, Niazov-Elkan A, Balogh D, Willner I, 2014. Analysis of telomerase by the telomeric Hemin/G-Quadruplex- controlled aggregation of Au nanoparticles in the presence of cysteine. *Analytical Chemistry*, 86: 3153–3158.
- Singh R, Verm R, Kaushik A, Sumana G, Sood S, Gupta R K, Malhotra B D, 2011. Chitosan-iron oxide 5 nanocomposite platform for mismatch-discriminating DNA hybridization for Neisseria gonorrhoeae 6 detection causing sexually transmitted disease. *Biosens Bioelectron*, 26: 2967-2974.
- Su H, Ma Q, Shang K, Liu T, Yin H, Ai S, 2012. Gold nanoparticles as colorimetric sensor: A case study on E. Coli O157:H7 as a model for Gram-negative bacteria. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 161: 298- 303.
- Sudeep P K, Joseph S T S, Thomas K G, 2005. Selective detection of cysteine and glutathione using gold nanorods. *Journal of the American Chemical Society*, 127: 6516–6517.
- Tengvall P, Lestelius M, Liedberg B, Lundstroem I, 1992. Plasma protein and antisera interactions with L-cysteine and 3-mercaptopropionic acid monolayers on gold surfaces. *Langmuir*, 8: 1236–1238.
- Thaxton C S, Georganopoulou D G, Mirkin C A, 2006. Gold nanoparticle probes for the detection of nucleic acid targets. *Clinica Chimica Acta*, 363: 120-126.
- Vallee A, Humblot V, Pradier CM, 2010. Peptide interactions with metal and oxide surfaces. *Accounts of Chemical Research*, 43: 1297–1306.
- Vaseghi A, Safaie N, Bakhshinejad B, Mohsenifar A, Sadeghizadeh M, 2013. Detection of pseudomonas syringae pathovars by thiol-linked DNA-gold nanoparticle probes. *Sensor Actuat B-Chemical*, 181: 644-651.