

Marek WIŚNIEWSKI*, Pamela ROSSOCHACKA, Karolina WERENGOWSKA-CIEĆWIERZ
Agnieszka BIELICKA, Artur P. TERZYK, Piotr A. GAUDEN

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Wydział Chemii
Zespół Fizykochemii Materiałów Węglowych, ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń

*e-mail: marekw@uni.torun.pl

Medyczne aspekty nanostrukturalnych materiałów węglowych

Praca przedstawia krótki przegląd literaturowy z zakresu zastosowania nanostrukturalnych materiałów węglowych jako potencjalnych kontenerów dostarczania leków czy swoistych markerów. Nanorurki węglowe ze względu na swoje specyficzne właściwości mogą z powodzeniem zostać zastosowane w nowoczesnych nośnikach leków III generacji. Badania te niosą ze sobą wiele nadziei, ale także i obaw, gdyż wszystko, co nowe, nie do końca poznane, może zaskoczyć badaczy. Nadzieje, jakie budzi nanotechnologia w medycynie, a w szczególności w onkologii i diagnostyce medycznej, są tak ogromne, że rzesze badaczy na całym świecie nie zrażają się ani wielkimi kosztami, ani sceptycznym podejściem tzw. ostrożnych naukowców do pracy nad udoskonaleniem nanocząstek, aby były jak najbardziej kompatybilne z organizmem ludzkim, nietoksyczne i biodegradowalne. Gdyby udało się na szeroką skalę rozpowszechnić terapie onkologiczne przy zastosowaniu nanocząstek, wielu chorych zostałoby uratowanych przy minimalnych skutkach ubocznych zastosowanego leczenia.

Słowa kluczowe: węgiel nanostrukturalny, nanonośniki leków, markery, nanorurki węglowe, fulereny

Materiały węglowe to obok zeolitów najczęściej stosowane adsorbenty. Mimo pewnych ograniczeń związanych z metodami ich badania, prostota otrzymania, szeroka gama prekursorów oraz, co najważniejsze z punktu widzenia ochrony środowiska, łatwość degradacji zużytego materiału stawia je na czołowym miejscu wśród adsorbentów porowatych. Wynikiem tego jest szerokie zastosowanie materiałów węglowych np. w ochronie dróg oddechowych, do oczyszczania gazów przemysłowych, w przemyśle spożywczym (polepszanie smaków, odbarwianie olejów i tłuszczów), do oczyszczania wody, jako katalizatory i nośniki katalizatorów oraz wiele innych.

Osobną grupę stanowią materiały węglowe stosowane w medycynie. Już Hipokrates zalecał zasypywanie ran węglem drzewnym w celu usunięcia wydzielającego się przykrego zapachu. Już od czasów starożytnych znajdujemy opisy zastosowania doustnego materiału węglowego w medycynie [1]. Przeprowadzono wiele badań dotyczących roli i zastosowania tegoż materiału w medycynie. Rezultaty były tak uderzające, że potrzebowano wielu indywidualnych potwierdzeń. Materiał węglowy był przedmiotem zainteresowania naukowców ze względu na swoje,

niespotykane wśród innych minerałów właściwości. Działa jak filtr oczyszczający organizm z niepożądanych toksyn, które dostają się do organizmu z zewnątrz (przez skórę, oczy, drogi oddechowe, drogi pokarmowe) lub wewnętrznie - wytwarzane przez organizm w warunkach patologicznych, tak jak: stres, choroba czy też wszelkiego rodzaju infekcje. Toksyny te doprowadzają do zatrucia organizmu porównywalnego z zatruciem środowiska [1]. Wraz z rozwojem przemysłu na początku ubiegłego stulecia nastąpiło ponowne, zwielokrotnione zainteresowanie szeroko rozumianym „węglem” stosowanym w medycynie. Wyniki wielu badań [2] doprowadziły do powszechnego stosowania węgla drzewnego do usuwania trucizn z krwi.

W myśl starej medycznej zasady „po pierwsze nie szkodzić” sięgano w medycynie po takie materiały, których zastosowanie niesie ze sobą korzyść przy jak najmniejszych skutkach ubocznych, czyli węgiel aktywny musi być kompatybilny z organizmem ludzkim, a w przypadku krwi hematobilny. Zjawisko kompatybilności jest ciągle w sferze badań. Uzyskanie dobrego biomateriału cały czas polega na próbach jego użyteczności, a nie na ścisłej wiedzy. Wiąże się to z bardzo dużymi oczekiwaniami co do takich materiałów i urządzeń, które po zastosowaniu nie tylko nie mogą ulec odrzuceniu przez organizm, ale również nie mogą dawać niepożądanych skutków ubocznych [1].

Dlatego też opracowano zasady, które biomateriał powinien spełniać:

- 1) brak reakcji alergicznych, toksycznych, zapalnych i trombotycznych;
- 2) nieuszkodzanie komórek krwi;
- 3) brak reakcji szkodliwych w stosunku do białek i enzymów;
- 4) brak reakcji immunologicznych;
- 5) brak uszkodzenia okolicznych tkanek;
- 6) brak skutków nowotworczych.

W przypadku hematosorbentów szczególną uwagę musimy zwrócić na takie cechy, jak:

- a) czystość chemiczną - jest to powodowane nie tyle wydajnością samego procesu adsorpcyjnego co charakterem środowiska, w jakim znajduje się adsorbat;
- b) dobrą zwilżalność wodną - hematosorbent musi wykazywać dobrą mieszalność z krwią, której składnikiem głównym jest woda;
- c) wysoką pojemność adsorpcyjną - wiąże się to z potrzebą wydobycia z krwi jak największej ilości trucizn przez daną porcję hematosorbentu;
- d) brak pylenia - hematosorbent nie powinien kruszyć się i uwalniać drobin $< 5 \mu\text{m}$.

W związku z tym materiał węglowy nie powinien sam być źródłem skażenia, a właściwości adsorbujące powinny ograniczyć się tylko do pochłaniania trucizn, a nie substancji odżywczych. Materiał węglowy najwyższej czystości jest produkowany z syntetycznych polimerów, takich jak: polistyren lub żywice fenolowo-formaldehydowe. Proces polimeryzacji może być ściśle kontrolowany na każdym etapie. Jednak mimo ścisłej kontroli przestrzegania wszelkich zasad czystej polimeryzacji może dojść do zanieczyszczenia materiału węglowego w czasie aktywacji.

cji. Zanieczyszczenia te powodowane są przez tlenki żelaza, przedostające się do materiału węglowego w trakcie procesu jego wytwarzania.

Węgiel aktywny jest jednym z najbardziej nieselektywnych adsorbentów. Jeżeli nawet wraz z substancjami toksycznymi materiał węglowy zaadsorbuje substancje użyteczne, to jest to mniejsze zło, ponieważ przejściowe niedobory mogą być szybko wyrównane, np. dzięki zastosowaniu odpowiedniej diety. Niewskazane jest podawanie węgla aktywnego z innymi lekami, gdyż ich działanie może być całkowicie wyeliminowane [1].

Początek XXI wieku przynosi ogromny rozwój w dziedzinie nanotechnologii, której wyróżniającym się obszarem stała się nanomedycyna [3]. Zajmuje się ona diagnozowaniem, naprawą, konstrukcją (rozbudowa systemu obronnego) i analizą ludzkiego organizmu na poziomie molekularnym przy zastosowaniu nanostruktur [4]. Nanomedycyna odnosi się do czynności diagnostyczno-badawczych i postępowania leczniczego w nanoskalowym wymiarze. Obejmuje takie dziedziny, jak: nanofarmakologia, nanodiagnostyka, medycyna regeneracyjna, nanochirurgia, nanoonkologia i inne. Obecnie największe zastosowanie nanotechnologii ma miejsce w nanofarmakologii. Nanocząstki, takie jak biodegradowalne polimery i lipidy, nanocząstki złota i srebra, nanocząstki półprzewodnikowe czy nanostruktury węglowe pozwalają na dostarczanie medykamentów bezpośrednio do chorobowo zmienionych komórek. Odgrywa to dużą rolę m.in. w leczeniu nowotworów, gdzie zmienione chorobowo komórki posiadają niezwykle zdolności oporności wielolekowej [3].

Postęp w dziedzinie tzw. nanodiagnostyki pozwala na wczesne rozpoznanie choroby, co daje szansę nawet na stuprocentowe wyleczenie. Uzyskanie znacznie lepszych pomiarów ma związek z zastosowaniem nanocząstek w roli wskaźnika lub znacznika w testach biologicznych, które ujawniają obecność lub aktywność wybranych substancji. Jako przykład mogą posłużyć magnetyczne nanocząstki połączone z odpowiednim przeciwciałem, odgrywające dużą rolę w znakowaniu molekuł, struktur lub mikroorganizmów.

Nanodiagnostyka wiąże duże nadzieje z zastosowaniem w przyszłości nanostrukturalnych materiałów węglowych jako biosensorów. Typowe biosensory zbudowane są z elementu biologicznego i fizycznego - pełniącego rolę przetwornika. W skład części biologicznej zwykle wchodzi: naturalne przeciwciała lub antygeny, enzymy, kwasy nukleinowe czy syntetyczne receptory utworzone z materiałów biometrycznych. Do części fizycznej zaliczamy: detektory optyczne, wykorzystujące takie zjawiska, jak fluorescencja czy polaryzacja; detektory elektrochemiczne - konduktometryczne, amperometryczne, potencjometryczne; czujniki wrażliwe na zmianę masy; czujniki z detekcją selektywną.

Badania przeprowadzone przez grupę Wanga [5] pozwoliły na opracowanie pierwszej elektrody na bazie CNT do amperometrycznego i woltamperometrycznego oznaczania insuliny. Stosując kombinację nanorurek i tlenków metali, autorzy wykazali, że taka elektroda charakteryzuje się szybszym transferem ładunków. Również Cliffl i inni [6] opracowali detektor insuliny przy użyciu kompozytu MWCNT z polidihidropiraniem. Dzięki wykorzystaniu tej elektrody w specjalnym

chipie autorzy byli w stanie w sposób ciągły kontrolować wydzielanie insuliny w komórkach wysp trzustki. Z tej przyczyny sensory takie pomyślnie rokują jako narzędzie do szybkiej i ciągłej detekcji insuliny.

Do innych zastosowań biosensorów w diagnostyce należy zaliczyć możliwość wczesnego wykrywania markerów niektórych chorób w płynach ustrojowych, np. badanie stężenia pochodnej β -amyloidu jako markera choroby Alzheimera w płynie mózgowo-rdzeniowym. Dzięki zastosowaniu tego testu możliwe jest wykrycie u chorych już 50 cząsteczek pochodnej β -amyloidu. W porównaniu do tradycyjnego testu immunologicznego (ELISA), który pozwala wykryć β -amyloid tylko w tkance mózgowej, jest on znacznie skuteczniejszy.

Obecnie w większości terapii konieczne jest stosowanie dużych dawek leku, które niszczą nie tylko komórki chorobowe, ale także te zdrowe, co związane jest z brakiem precyzji w dostarczaniu leku w miejsce docelowe. Rozwiązanie tego problemu staje się coraz bardziej realne dzięki zastosowaniu nanotechnologii. Wykorzystanie znajomości natury zjawiska umożliwia precyzyjne dostarczenie leku w pożądane miejsce, co pozwala na bardziej efektywne działanie leku i znaczne ograniczenie skutków ubocznych. Obecnie „na rynku” funkcjonują trzy rodzaje systemów dostarczania leków:

- system I generacji, do którego należą mikrokapsułki i mikrosfery,
- system II generacji, do którego należą nośniki o średnicy 1 nm - liposomy, nanokapsułki, nanosfery nazywane biernymi nośnikami koloidowymi,
- system III generacji to nośniki drugiej generacji połączone z dedykowanymi przeciwciałami monoklonalnymi.

Bardzo istotnym przykładem zastosowania nanotechnologii są terapie przeciwnowotworowe łączące w sobie zarówno diagnostykę, jak i terapię, co ma istotne znaczenie we wczesnym wykryciu choroby. Wykorzystywane są w tym celu nanodruły, które działają z dużą selektywnością. Pokrycie ich cząsteczkami wykrywającymi specyficzne białka lub sekwencje RNA, tj. przeciwciała lub oligonukleotydy, wywołuje zmianę elektrycznej przewodności czynnej mierzonej przez odpowiedni detektor. Umożliwia to wczesne wykrycie białek produkowanych przez komórki rakowe. Wczesna diagnostyka wiąże także duże nadzieje w wykorzystaniu kropek kwantowych. Mają one zdolność emitowania światła np. po wcześniejszym wystawieniu na działanie światła UV. Wstrzyknięte pacjentowi przed operacją, przedostają się do guza, uwidaczniając go, i w ten sposób poprawiają znacznie jakość i skuteczność pracy chirurga [7].

W nanoonkologii badane są najczęściej takie nanocząstki, jak: dendrymery, nanorurki węglowe, fulereny, liposomy czy kropki kwantowe. Wykorzystanie nanorurek węglowych jako nośnika leków przeciwnowotworowych zostało opisane w wielu pracach. Tripisciano i inni [8] w swoich badaniach wykorzystali jednościenne nanorurki węglowe wypełnione cisplatyną znajdujące zastosowanie w leczeniu raka prostaty. W pierwszym etapie przeprowadzono otwarcie struktury jednościennej nanorurki węglowej. Następnie do wnętrza otwartych nanorurek wprowadzono lek metodą nanokondensacji kapilarnej. Metoda ta opiera się na adsorpcji cząsteczek rozpuszczalnika na wewnętrznych i zewnętrznych ścianach noś-

nika. Cząsteczki leku przenikają przez utworzoną cienką warstwę i łączą się ze ścianą nośnika oddziaływaniami van der Waalsa. Po dokonaniu analiz zauważono, że wraz ze wzrostem zawartości nanonośnika z cisplatyną rośnie liczba niszczo-nych komórek nowotworowych. Niestety zastosowanie układu: jednościenna nano- rurka węglowa - cisplatyna nie zwiększyło cytotoksyczności - oddziaływało równie silnie na komórki nowotworowe jak „wolny” lek. Jednakże układ ten przyczynił się do ograniczenia występowania skutków ubocznych. Ci sami autorzy przeprowadzi- li badania nad wykorzystaniem otwartych wielościennych nanorurek węglowych napełnionych cisplatyną metodą nanokondensacji kapilarnej. Zaobserwowano, że wielościenna nanorurka węglowa uwalnia prawie całą ilość leku znacznie szyb- ciejsz w porównaniu do jednościennych nanorurek węglowych. Autorzy tłumaczyli to faktem braku wzajemnych oddziaływań w układzie cisplatyna-wielościenna na- norurka węglowa.

Grupa badawcza Hampela [9] wykorzystwała inny lek przeciwnowotworowy, w tym przypadku karboplatinę i umieściła ją we wnętrzu nanorurki węglowej me- todą „mokrą” po wcześniejszym otwarciu nanonośnika. Karboplatyna znacznie spowalniała wzrost komórek nowotworowych krwi. Liu wraz ze współpracowni- kami [10] wykorzystał paklitaksel przyłączony wiązaniem amidowym do jedno- ściennych nanorurek węglowych. W pierwszej kolejności nanorurki węglowe zmodyfikowano, poddając je działaniu glikolu polietylenowego z ugrupowaniem aminowym. Natomiast do cząsteczki leku przyłączono grupę karboksylową. Połą- czenie lek-nanonośnik odznacza się większą rozpuszczalnością niż kliniczna forma paklitakselu, dłuższym czasem przebywania w obiegu krwionośnym oraz lepszym wychwytem przez komórki nowotworowe. Układ jednościenna nanorurka węglo- wa-paklitaksel powoduje również resorpcję guza przy zastosowaniu niewielkich ilości chemioterapeutyku. Paklitaksel przyłączony wiązaniem disiarczkowym do powierzchni jednościennych nanorurek znalazł zastosowanie w leczeniu białaczki. Jednościenna nanorurka węglowa zmodyfikowano poprzez: utlenienie, wprowa- dzenie grup amidowych, funkcjonalizację ugrupowaniami aminowymi. Układ taki powodował bardzo efektywne niszczenie komórek nowotworowych. Grupa ba- dawcza Ali-Boucetta [11] wykorzystwała niekowalencyjne połączenie doksorubicyny z nanorurkami węglowymi. Wielościenna nanorurka węglowa zmodyfikowano za pomocą trójblokowego kopolimeru, który przyczynił się do zwiększenia roz- puszczalności w środowisku wodnym. Połączenie doksorubicyna-nanorurka węglowa przyczyniło się do zwiększenia toksycznego działania leku na komórki raka piersi. Stwierdzono, że użycie wielościennych nanorurek węglowych ułatwiło dostarczenie leku do zmienionych chorobowo komórek przez bariery biologiczne oraz poprawiło jego aktywność [12].

Kropki kwantowe, świecące fluorescencyjnie, badane są w celu łatwego obra- zowania nowotworów w określaniu miejsca zmienionego chorobowo podczas za- biegu chirurgicznego. Wprowadzone do guza fulereny, zamiast kropek kwanto- wych, dają możliwość obserwacji tzw. węzłów wartowniczych, czyli węzłów chłonnych umiejscowionych najbliżej ogniska nowotworowego. Zaobserwowano, że kropki kwantowe niemal natychmiast wydostały się z guza wraz z chłonką. Na-

stąpiło szybkie pojawienie się sieci połączeń limfatycznych, poprzez które rozchodzą się komórki nowotworowe. Prowadzone są więc liczne badania nad wykorzystaniem fulerenów jako środków kontrastowych. Ponadto, w środku fulerenu umieszczono wiele izotopów, otrzymując endohedralne metalofulereny. Częsteczki te cechuje wysoka stabilność oraz brak biotransformacji, co uniemożliwia wydostanie się toksycznych izotopów podczas terapii. Podczas badań nad ich wykorzystaniem zaobserwowano, że cyrkulacja związku we krwi wynosiła ponad godzinę. Po pewnym czasie fulereny zostały prawie całkowicie usunięte z ustroju, nie ujawniając toksyczności w badaniach *in vivo*. Trwają również badania nad zastosowaniem endohedralnych metalofulerenów w obrazowaniu rezonansem magnetycznym [13].

Materiał węglowy na przestrzeni wielu lat sprawdził się nie tylko jako doskonały adsorbent różnych rodzajów trucizn, ale także m.in. jako substancja znacznie zmniejszająca skutki napromieniowania organizmu. Dzięki temu ten coraz częściej doceniany przez lekarzy i pacjentów materiał zyskał w ostatnich latach na znaczeniu. Zaskakujące odkrycia nanostrukturalnych materiałów węglowych pozwoliły na wprowadzenie ich do laboratoriów XXI wieku, gdzie uważane są za doskonały materiał do badań, którymi zajmuje się nanotechnologia. Nanorurki, nanocząstki, magnetyczne nanocząsteczki, ich możliwości i udoskonalanie ich zastosowań są cały czas przedmiotem badań wielu naukowców.

Podziękowanie

Praca jest finansowana z grantu NCN DEC-2011/01/B/ST5/01192 (M.W., K.W.-C., A.P.T., P.A.G.).

Literatura

- [1] Mikhailovsky S.V., Nikoleav V.G., Activated carbons as medical adsorbents, [in:], Activated Carbon Surfaces in Environmental Remediation, ed. T. Bandosz, Interface Science and Technology, vol. 7, Elsevier, New York 2006.
- [2] McLean A.E.M., Host factors in hepatotoxicity, Israel J. Med. Sci. 1974, 10, 4, 431-435.
- [3] Wojnicz R., Nanomedycyna jako fundament medycyny personalizowanej, Kardiolog. Pol. 2011, 69, 10, 1107-1108.
- [4] Freitas R.A. Jr., Current status of nanomedicine and medical nanorobotics, J. Comp. Theor. Nanosc. 2005, 2, 1-25.
- [5] Wang J., Musameh M., Electrochemical detection of trace insulin at carbon-nanotube-modified electrodes, Anal. Chim. Acta 2004, 511, 33-36.
- [6] Snider R.M., Ciobanu M., Rue A.E., Cliffel D.E., A multiwalled carbon nanotube/dihydropyran composite film electrode for insulin detection in a microphysiometer chamber, Anal. Chim. Acta 2008, 609, 44-52.
- [7] Telega K., Latocha M., Nanotechnologia - przyszłość medycyny, Pol. Merk. Lek. 2012, XXXIII, 196, 229-232.
- [8] Tripisciano C., Kraemer K., Taylor A., Borowiak-Palen E., Single-wall carbon nanotubes based anticancer drug delivery system, Chem. Phys. Lett. 2009, 478, 4-6, 200-205.

- [9] Hampel S., Kunze D., Hasse D., Kramer K., Rauschenbach M., Ritschel M., Leonhardt A., Thomas J., Oswald S., Hoffmann V., Buchner B., Carbon nanotubes filled with a chemotherapeutic agent: A nanocarrier mediates inhibition of tumor cell growth, *Nanomedicine (Lond)* 2008, 3, 2, 175-182.
- [10] Liu Z., Chen K., Davis C., Sherlock S., Cao Q., Chen X., Dai H., Drug delivery with carbon nanotubes for in vivo cancer treatment, *Cancer Res.* 2008, 68, 16, 6652-6660.
- [11] Ali-Boucetta H., Al-Jamal K.T., McCarthy D., Prato M., Bianco A., Kostarelos K., Multiwalled carbon nanotube-doxorubicin supramolecular complexes for cancer therapeutics, *Chem. Commun.* 2008, 8, 4, 459-461.
- [12] Werengowska K.M., Wiśniewski M., Terzyk A.P., Gurtowska N., Drewna T.A., Olkowska J., Chemiczne aspekty celowanej terapii przeciwnowotworowej, cz. II Połączenia nośnik - lek, *Wiad. Chem.* 2012, 66, 7-8, 637-670.
- [13] Grabowska J., Fullereny - przyszłość zastosowań w medycynie i farmacji, *Gazeta Farmaceutyczna* 2008, 6, 38-40.

Medical Aspects of Nanostructural Carbonaceous Materials

The paper presents a brief literature review of the scope of nanostructural carbonaceous materials as potential drug containers or specific markers. Carbon nanotubes, due to their specific properties, can be successfully used in modern drug carriers of the 3rd generation. These studies bring a lot of hope, but also some fear because everything new, not fully understood, may surprise researchers. The hopes aroused by using the nanotechnology in medicine, particularly in oncology and medical diagnostics, are so huge that the numbers of researchers around the world bounces back neither at great expense, nor the so-called skepticism of so-called conservative researchers. It is still necessary to work over the improvement of nanoparticles, to be as compatible as possible with the human body, non-toxic and biodegradable. If new technologies in cancer therapies could be widely disseminated, many patients would have been saved, with minimal side effects of the treatment.

Keywords: nanostructural carbon, drug nanocarrier, markers, carbon nanotubes, fullerenes