

## Zastosowanie nanorurek węglowych w medycynie

Jadwiga Mielcarek, Marta Kruszyńska, Paweł Sokołowski

Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Adres do korespondencji: Jadwiga Mielcarek, Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej UM, ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań, tel. 061 854 66 04, faks 061 84 66 09, e-mail: jmielcar@ump.edu.pl

Nanotechnologia jest obecnie najintensywniej rozwijającym się interdyscyplinarnym kierunkiem badań, łączącym osiągnięcia wielu dziedzin nauki. Nanomateria wykazuje bowiem nowe właściwości, inne niż w przypadku rozmiarów charakterystycznych dla skali mikro [11, 20]. Przykładem nanostruktur są m.in. nanorurki węglowe (ang. *carbon nanotubes* – CNT), które stanowią alotropową odmianę węgla. Są zbudowane z płaszczyzn grafenowych zwiniętych w cienkie rurki i są ok. 10 tys. razy cieńsze od ludzkiego włosa (**rycina 1a**) [17, 22]. Uzyskanie takich struktur powoduje delokalizację elektronów oraz zmianę gęstości stanów elektronowych. Te nowe właściwości elektronowe mają duże znaczenie dla ich potencjalnych zastosowań.

Do najważniejszych właściwości CNT należą duża powierzchnia właściwa oraz wytrzymałość mechaniczna na rozciąganie, a także wysokie przewodnictwo cieplne; są mocniejsze od stali, lżejsze od aluminium i dwa razy twardsze od diamentu [3].

Wyróżnia się trzy główne techniki otrzymywania CNT:

- laserowe parowanie grafitu,
- metodę elektrołukową,
- chemiczne osadzanie par (CVD – *chemical vapor deposition*) [14].

Każda z metod wykorzystuje powolną kondensację gorących par atomów węgla oraz wymaga użycia katalizatora, który następnie eliminuje się na wiele sposobów, np. przez użycie stężonych kwasów. Metoda CVD jest wysoko wydajną techniką, powszechnie stosowaną na skalę przemysłową. Proces zachodzi w podwyższonych temperaturach (700–1000°C), w obecności gazu zawierającego cząstki węgla.

Nanorurki węglowe cechuje duża różnorodność budowy. Mogą być otwartymi bądź zamkniętymi z obu stron cylindrami, o średnicy nieco powyżej nanometra i długości nawet kilku centymetrów. Na podstawie uporządkowanej struktury nanorurki klasyfikuje się jako jednościenne (*single-walled carbon nanotubes*

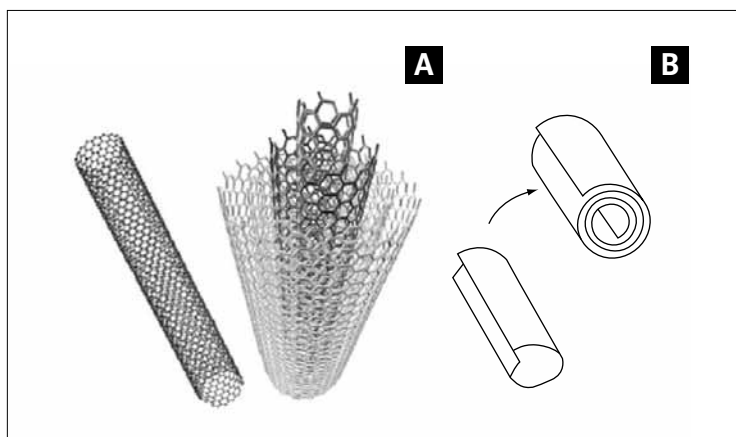
**Application of carbon nanotubes in medicine** · In this review we present different various applications of carbon nanotubes in medicine, particularly in the pharmacotherapy. These unique nanostructures can be utilized also in other fields, for example in the electronics. It is connected with their properties result from the structure. In medicine main investigations are focus on make use of carbon nanotubes as drug delivery system.

**Keywords:** Carbon nanotubes, cytotoxicity, biocompatibility, drug delivery system.

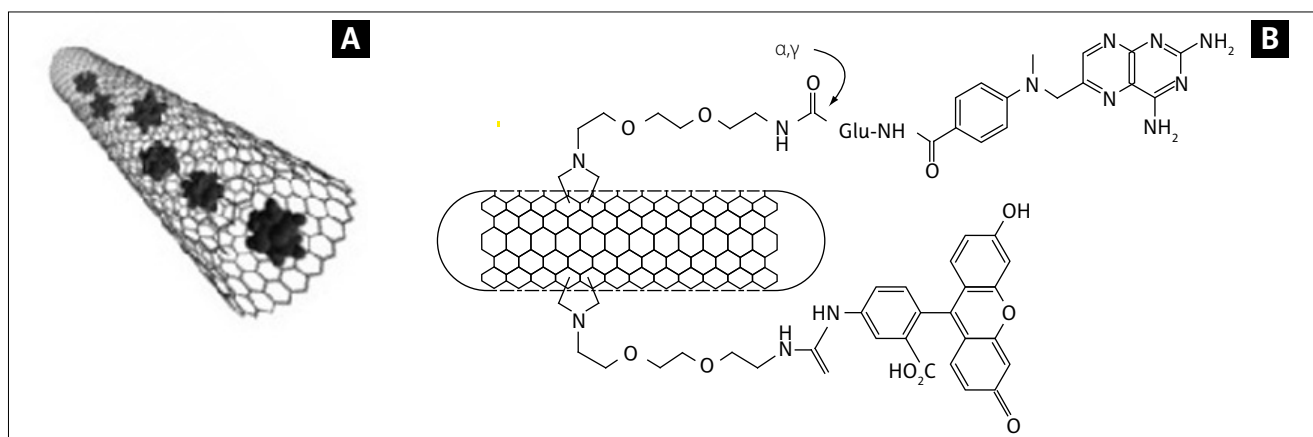
© Farm Pol, 2009, 65(4): 251-254

– SWCNT), złożone z pojedynczej warstwy grafenowej oraz wielościenne (*multi-walled carbon nanotubes* – MWCNT), zawierające wiele koncentrycznie ułożonych cylindrów grafenowych (**rycina 1a i 1b**) [22].

Niemodyfikowane nanorurki węglowe są trudno rozpuszczalne w wodnych roztworach, co niekiedy ogranicza ich medyczne aplikacje. Z tego względu stosowana jest różnorodna funkcjonalizacja warstw grafenowych [1, 13, 15, 18]. Funkcjonalizację CNT



**Rycina 1.** Modele jedno- i wielościennej nanorurki węglowej (a) oraz sposób zwijania płaszczyzn grafenowych (b) [wg 10]



**Rycina 2.** Funkcjonalizacja nanorurek węglowych: endohedralnie (2a) oraz egzohedralnie (2b) [wg 19]

najczęściej przeprowadza się dwoma sposobami: endohedralnie – przez wypełnianie pustych rdzeni substancjami o zróżnicowanej polarności, np. rozdrobnionymi metalami lub związkami chemicznymi (**rycina 2a**) oraz egzohedralnie – przez modyfikację zewnętrznych ścian (**rycina 2b**) [16, 19].

Modyfikacja nanorurek może odbywać się m.in. przez oddziaływanie z proteinami, aminokwasami, enzymami lub kwasami nukleinowymi. Łączenie ze specyficznymi markerami umożliwia wbudowanie DNA do wnętrza komórek, co pozwala uniknąć problemów związanych z odpowiedzią immunologiczną organizmu biorcy [15, 18, 21]. Inny sposób modyfikacji – polegający na zastosowaniu pierścieni piperolidyny – prowadził do powstawania form charakteryzujących się rozpuszczalnością w niektórych rozpuszczalnikach organicznych [16]. Wzrost rozpuszczalności nanorurek można uzyskać także przez wprowadzenie surowiczej albuminy wołowej do roztworu nanostruktur. W ten sposób zmienione chemicznie nanorurki w połączeniu z odpowiednimi przeciwciałami są stosowane w niszczeniu komórek bakterii *Escherichia coli* [15].

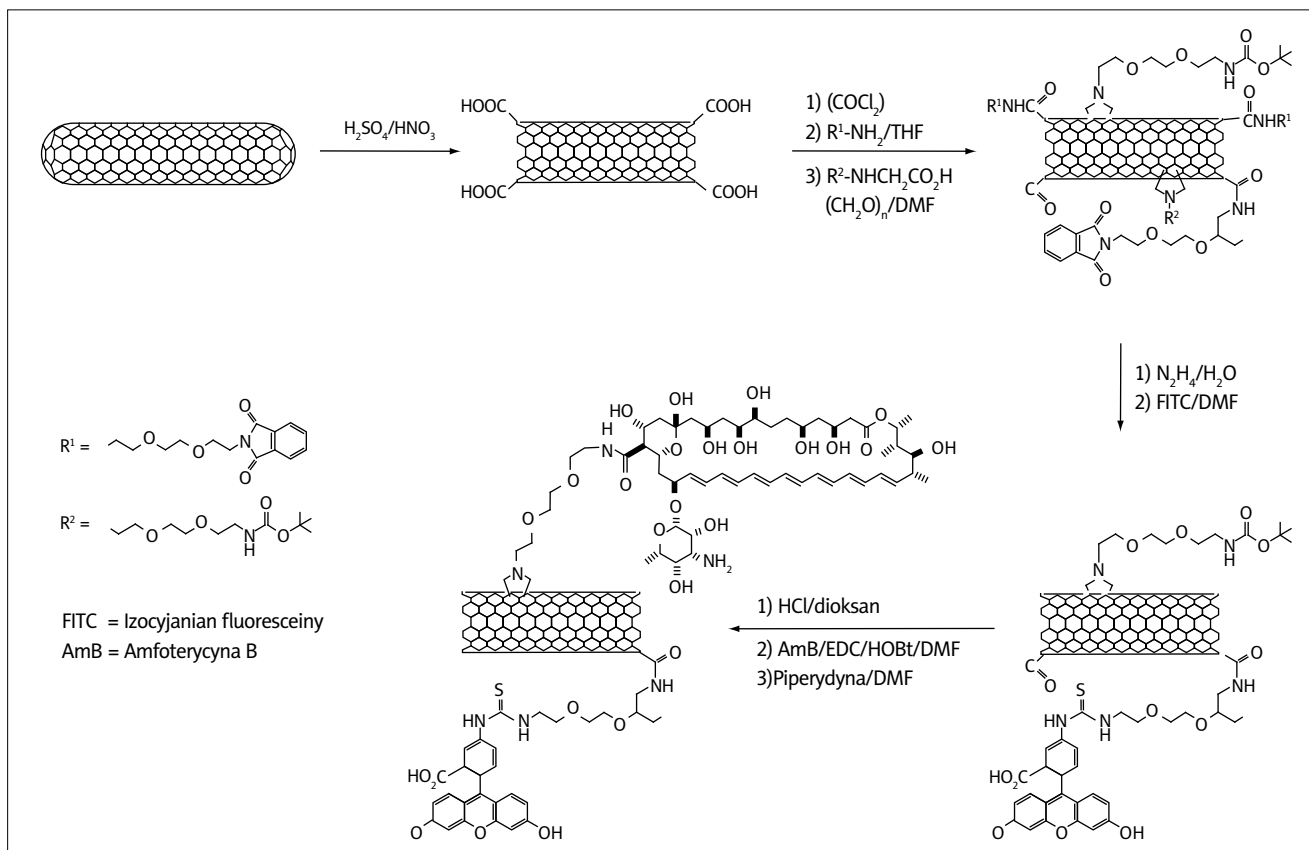
Wpływ zmodyfikowanych nanorurek węglowych na zachowanie tego rodzaju bakterii badali również Kang i wsp. Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń autorzy ci stwierdzili powstawanie nieodwracalnych uszkodzeń błon komórkowych, co w konsekwencji prowadziło do obumierania mikroorganizmów. Ponadto zaobserwowali większą aktywność antybakteryjną nanorurek o mniejszych średnicach. Wykazali także, że sfunkcjonalizowane CNT są zdolne do penetracji przez błonę komórkową bakterii. Tę właściwość można wykorzystać przy wytwarzaniu materiałów bakteriobójczych [12].

### **Nanorurki węglowe jako potencjalne nośniki leków**

W ostatnich latach można zauważyć zainteresowanie biomedycznymi aplikacjami nanorurek węglowych, wynikające z ich biofunkcjonalności oraz

biokompatybilności [1, 3]. Duże nadzieje wiąże się z możliwością zastosowania nanorurek jako układów transportujących związki biologicznie czynne w ściśle określone miejsca. Wielościenne nanorurki są materiałem, który dzięki specyficznym właściwościom stanowi bazę systemu dostarczania leków bezpośrednio do ustroju. CNT zostały wykorzystane do szybszego przyswajania przeciwgrzybicznego antybiotyku – amfoterycyny B (**rycina 3**). W tym wypadku w pierwszej kolejności poddaje się je działaniu kwasów, w którego wyniku do zewnętrznych warstw przyłączają się grupy karboksylowe. Dalsza modyfikacja ścian glikolem diaminotrietylenowym umożliwia inkorporację antybiotyku oraz izocyjanianu fluoresceiny. Przy stosowaniu otrzymanego w ten sposób układu nie zauważono negatywnego oddziaływania na komórki ludzkie [1, 23].

Duże nadzieje wiąże się z możliwością zastosowania nanorurek węglowych w terapii fotodynamicznej. Badania nad zastosowaniem nanorurek węglowych w takiej terapii były już wcześniej prowadzone na hodowlach komórkowych, natomiast Curley i wsp. po raz pierwszy przetestowali nową technikę na żywych zwierzętach. Autorzy ci wstrzykiwali nanorurki węglowe do tkanki nowotworowej w wątrobie królików, a następnie działali falami radiowymi, co powodowało zniszczenie komórek nowotworowych, a tylko niewielkie uszkodzenia sąsiadujących, zdrowych komórek [4]. Innym przykładem jest już testowany klinicznie układ kompleksu kwasu foliowego, nanorurek oraz fotosensybilizatora z grupy porfiryn. Układ ten wykazuje duże powinowactwo do komórek nowotworowych, uzyskując największe stężenie w ich sąsiedztwie. Następnym krokiem terapii jest naświetlanie laserem o odpowiedniej długości fali w celu generowania procesu wydzielania tlenu singletowego. Zależnie od stopnia złośliwości uzyskuje się różną skuteczność, ale nie jest ona niższa niż 60%. Paradoksalnie, lepsze efekty uzyskuje się wobec guzów złośliwych, nie łagodnych. Uzyskanie takiego kompleksu, w połączeniu z innymi formami



Rycina 3. Sposób modyfikacji nanorurek węglowych amfoterycyną B [wg 1]

terapii przeciwnowotworowej, pozwoliłoby ograniczyć wzrost nowotworu bez szkody dla prawidłowych komórek [13].

Obiecującym zastosowaniem nanorurek węglowych jest możliwość ich połączenia ze specyficznymi przeciwciałami, selektywnie wychytującymi np. biologiczne czynniki wzrostu nowotworów. Z szerokim wykorzystaniem wyżej omówionych metod wiąże się duże nadzieje, ponieważ dzięki nim będzie możliwe niszczenie wyłącznie chorych komórek. W ten sposób można zastąpić tradycyjną radioterapię, wykorzystującą wysokoenergetyczne promieniowanie niszczące także zdrowe komórki [6].

### Biokompatybilność i toksyczność nanostruktur węglowych

Istotnym zagadnieniem związanym z nanorurkami węglowymi jest biokompatybilność. Badania na ten temat są prowadzone m.in. przez Chłopek i wsp., którzy w celu zbadania biokompatybilności CNT (otrzymanych na bazie acetyleny i katalizatora Co/MgO), przeprowadzili test komórkowy z wykorzystaniem osteoblastów i fibroblastów. Badania dotyczyły wpływu zmodyfikowanych polisulfonem MWCNT na czas życia komórek oraz ilość wydzielonego kolagenu. Hodowlę prowadzono w inkubatorze pod ciśnieniem atmosferycznym, w temp. 37°C (dla fibroblastów) i 34°C

(dla osteoblastów). Żywotność komórek określano po 24 i 48 godz. oraz po upływie 7 dni. Wykazano, że obecność CNT w niewielkim stopniu osłabiła żywotność komórek, natomiast przyczyniła się do wzrostu ilości wydzielanego kolagenu. Z tym spostrzeżeniem wiąże się duże nadzieje, bowiem uzyskanie zwiększonej syntezy kolagenu może przyczynić się do regeneracji kości oraz tkanek miękkich, a nanorurki mogą stanowić podłoże ich wzrostu [3].

Wprowadzeniu nowych materiałów często towarzyszą obawy o ich wpływ na środowisko naturalne i zdrowie człowieka. Wszystkie materiały oraz nowe technologie stosowane w medycynie muszą być bezpieczne. W piśmiennictwie można spotkać różnicowane i często sprzeczne doniesienia na temat cytotoksyczności nanostruktur węglowych [2, 7]. Niektóre badania wskazują, że CNT są toksyczne, podczas gdy inne wskazują na ich idealne właściwości dotyczące wpływu na wzrost komórek. Uzasadniając tę rozbieżność Herzog podkreśla, że każdy producent wytwarza inny rodzaj rurek, tak więc wyniki różnych eksperymentów nie zawsze mogą być praktycznie porównywalne, a ponadto *wyniki badań zależą od zleceńodawcy* [9].

Bardzo często podkreśla się, że wszystkie zastosowane próby chemicznej modyfikacji nanorurek węglowych pozwalają zmniejszyć ich niepożądane właściwości. Jedną z metod funkcjonalizacji została

podana przez Framer i wsp, którzy w badaniach przeprowadzonych na myszach wykazali, że domieszkowane azotem wielościennie nanorurki węglowe są mniej toksyczne. Wymienieni autorzy podawali myszom próbki nanorurek węglowych zarówno zmodyfikowanych, jak i niezmienionych chemicznie. Podane myszom próbki zawierające domieszkowane azotem nanorurki węglowe nie wywoływały widocznego pogorszenia stanu zdrowia zwierząt. Według Framera przetestowane na myszach nietoksyczne, zmodyfikowane azotem wielościennie nanorurki węglowe mogą zostać bezpiecznie wykorzystane w nowoczesnych metodach terapii [5].

Kang i wsp. badali wpływ SWCNT na komórki bakterii *Escherichia coli*. Doświadczenia wykazały, że jednościenne nanorurki węglowe powodują niszczenie szkodliwych drobnoustrojów. Dochodzi do nieodwracalnego uszkodzenia błon komórkowych, a w konsekwencji do obumierania mikroorganizmów. Wykazano, że sfunkcjonalizowane CNT są zdolne do penetracji przez błonę komórkową bakterii i właściwość ta może zostać wykorzystana przy wytwarzaniu materiałów bakteriobójczych. Większą aktywność antibakteryjną wykazywały nanorurki węglowe o mniejszych średnicach [1]. Jednocześnie udowodniono, że negatywny wpływ nanorurek można ograniczyć przez przyłączanie glikopolimeru do ścian CNT. Taka strategia może zwiększyć użyteczność tych struktur w inżynierii komórkowej, której celem jest zastępowanie chorych, uszkodzonych tkanek zdrowym materiałem biologicznym.

### Bioobrazowanie i biosensory

Nanorurki węglowe ze względu na dobrą fotostabilność oraz znakomitą absorpcję światła w podczerwieni (przy długościach fali w zakresie 900–1300 nm) mogą być stosowane jako optyczne znaczniki *in vivo*. Odpowiednio sfunkcjonalizowane nanomateriały, pierwotnie zbudowane wyłącznie z atomów węgla, można wykryć w dość łatwy sposób. Takie struktury są użyteczne przy obserwacjach właściwości komórek czy zmian zachodzących w czasie ich rozwoju oraz umożliwiają kontrolę reakcji enzymatycznych, transportu jonów, a także wydzielania protein czy produktów przemian chemicznych. Stopień wykrywalności cząstek DNA, protein oraz komórek nowotworowych we wczesnych fazach rozwoju jest możliwy przez zastosowanie nanostruktur węglowych jako biosensorów charakteryzujących się wysoką czułością i selektywnością. Przyczynia się do tego

duża powierzchnia właściwa oraz możliwość przeniesienia elektronów przez CNT [12, 23].

### Podsumowanie

Nanorurki węglowe mogą odegrać znaczącą rolę w inżynierii komórkowej jako wyjątkowy biomateriał do tworzenia tkanek *in vivo* oraz ich kontrolowania. Bezpośredni wzrost komórek wynika z bardzo dobrego przewodnictwa nanostruktur. Spore nadzieje wiąże się także z aplikacjami nanorurek jako nośników leków czy DNA w terapii genowej. Prowadzi się badania wykorzystujące nanostruktury wypełnione substancją leczniczą w tzw. terapii celowanej. W takiej postaci CNT mogą trafiać w ściśle określone miejsca w organizmie, do odpowiednich komórek. Ze względu na wyjątkowe właściwości elektroniczne i mechaniczne nanorurki węglowe wymienia się wśród najkorzystniejszych materiałów XXI wieku. Wymagają jednak dalszych badań, które mogą wskazać kolejne zastosowania w różnych obszarach życia.

Otrzymano: 2009.01.10 · Zaakceptowano: 2009.02.16

### Piśmiennictwo

1. Blanco A., Kostare K., Prato M.: *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2005, 9, 674-679.
2. Carrero-Sánchez J.C., Elias A.L., Mancilla R. i wsp.: *Nano Lett.* 2006, 6, 1609-1616.
3. Chłopek J., Czajkowska B., Szaraniec B. i wsp.: *Carbon* 2006, 44, 1106-1111.
4. Curley S., Gannon C.J., Cherukuri P. i wsp.: *Cancer* 2007, 110, 2654-65.
5. Farmer D.B., Gordon R.G.: *Nano. Lett.* 2006, 6, 699-703.
6. Gannon C.J., Cherukuri P.I., Yakobson B.I. i wsp.: *Cancer* 2007, 110, 2654-2665.
7. Harrison B., Atala A.: *Biomaterials* 2007, 28, 344-353.
8. He P., Xu Y., Fang Y.: *Microchim. Acta* 2006, 152, 175-186.
9. Herzog E., Casey A., Lyng F.M. i wsp.: *Toxicol. Lett.* 2007, 174, 49-60.
10. Iijima S.: *Nature* 1991, 354, 56-58.
11. Jianrong C., Yuqing M., Nongyue H. i wsp.: *Biotechnol. Adv.* 2004, 22, 505-518.
12. Kang S., Pinault M., Pfefferle L.D. i wsp.: *Langmuir* 2007, 23, 8670-8673.
13. Khabashesku V.N., Margrave J.L., Barrera E.V.: *Diam. Relat. Mater.* 2005, 14, 859-866.
14. Lacerda L., Bianco A., Prato M. i wsp.: *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2006, 58, 1460-1470.
15. Lin Y., Jiang X., Elkin T. i wsp.: *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2006, 6, 868-71.
16. Pagona G., Tagmatarchis N.: *Curr. Med. Chem.* 2006, 13, 1789-1798.
17. Paradise M., Goswami T.: *Mater. Design* 2007, 28, 1477-1489.
18. Pantarotto D., Partidos C.D., Hoebeke J. i wsp.: *Chem. Biol.* 2003, 10, 961-966.
19. Pastorin G., Wu W., Wiechowski S. i wsp.: *Chem. Commun.* 2006, 21, 1182-1184.
20. Sahoo S.K., Parveen S., Panda J.J.: *Nanomed.: Nanotech. Biol. Med.* 2007, 3, 20-31.
21. Singh R., Pantarotto D., McCarthy D. i wsp.: *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 4388-4396.
22. Terranova M.L., Sessa V., Rossi M.: *Chem. Vapor. Depos.* 2006, 12, 315-316.
23. Wu W., Wiechowski S., Pasterin G. i wsp.: *Angew. Chem. Int. Edit.* 2005, 44, 6358-62.