

УГЛЕРОДНЫЕ НАНОКОМПОЗИТЫ В МЕДИЦИНЕ: ГРАФЕН И ПОЛИГРАФЕН КАК ВОЗМОЖНОЕ СРЕДСТВО ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ ПРИ ОНКОЛОГИИ КИШЕЧНИКА

Ботин А.С.^{1,2}, Машал Д.А.¹, Попова Т.С.², Ризк М.Г.Х.¹, Кордова А.В.¹

¹ Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы
ул. Миклухо-Маклая, 6, г. Москва, 117198, РФ; e-mail: botin-as@rudn.ru

² ГБУЗ «НИИ Скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»,
Большая Сухаревская площадь, 3, г. Москва, 129090, РФ; e-mail: BotinAS@sklif.mos.ru

Поступила в редакцию 26.08.2023. DOI: 10.29039/rusjbpс.2023.0649

Аннотация. В работе рассматривается одно из важнейших направлений в современной фармакологии – адресная доставка лекарственных препаратов, а именно направленный транспорт лекарственного вещества в заданную область организма, которая реализуется при помощи носителей, имеющих, как правило, размеры в десятки или сотни нанометров, различную природу и химическое строение. Обсуждается доставка противоопухолевых препаратов с помощью наночастиц. Иммунизация лекарств на наноносителях позволяет повысить их биодоступность. Различные производные графена – оксид графена (GO) и восстановленный оксид графена (RGO) – тестируются в качестве носителей для доставки лекарств. Для адресной доставки лекарств в онкологии есть несколько подходов. Первый, простой – прикрепление, как низко-, так и высокомолекулярного препарата на поверхность носителя напрямую. Препарат доксорубин, прочно связанный с поверхностью оксида графена и высвобождается только в кислотной среде опухоли. Второй, более сложный способ – прикрепить к поверхности носителя не только действующее вещество, но и направляющие молекулы – лиганды. Иногда сам лиганд может быть одновременно и лекарством. ПолиГрафен (ПГ) – оригинальный модифицированный аналог терморасщепленного графита, получен в виде новой формы расширенного графита, после многократной химической модификации и термоактивации приводится к характеристикам слоистого материала со стопками углеродных монослоев меньшей кратности (от 5 до 50), вплоть до одиночных листов графена. Приведены результаты испытаний ПГ в качестве действующей основы для иммобилизации ферментов, в частности, на примере противоопухолевого фермента L-лизин- α -оксидазы. Эти данные указывают на перспективность возможного биомедицинского применения ПГ в онкологии, а именно, при лечении рака кишечника. Модифицированные формы графена и полиграфена следует рассматривать как новый переносчик лекарственных средств.

Ключевые слова: графен, полиграфен, доставка лекарств, онкология кишечника.

Введение. Актуальность исследуемой темы обусловлена высокой ролью графена как средства доставки лекарств. Одним из важнейших направлений в современной фармакологии является адресная доставка лекарственных препаратов. Такая доставка предполагает направленный транспорт лекарственного вещества в заданную область организма, органа или клетки. Она реализуется при помощи носителей, имеющих, как правило, размеры в десятки или сотни нанометров, различную природу и химическое строение.

В последние годы большинство ученых заняты поиском высокоэффективного переносчика лекарств в организме человека. Такой переносчик должен быть точным, безопасным, общедоступным, иными словами – эффективным. В частности, исследованы магнитные частицы и углеродные нанотрубки, липосомы и биополимеры в качестве средства доставки лекарств.

Целью данной работы является оценка возможности применения графена и графенсодержащих углеродных носителей, как объектов и способов направленной доставки лекарств. Наряду с проведением анализа, систематизацией и обобщением существующих данных, изложить результаты собственных исследований. Для этого необходимо рассмотреть следующие аспекты задачи: 1) описать особенность структуры графена; 2) охарактеризовать уникальные свойства графена; 3) рассмотреть способы применения графена; 4) изучить возможности использования графена в доставке лекарств.

Одним из перспективных и стремительно развивающихся направлений современной фармакологии является адресная (или таргетная) доставка лекарственных препаратов. Несмотря на достижения медицины в лечении ряда заболеваний, многие лекарственные препараты обладают серьезным недостатком – негативным воздействием на интактные ткани.

Начиная с последних десятилетий 20-го века, активно разрабатывается доставка противоопухолевых препаратов с помощью наночастиц. Наночастицы проникают в опухоль благодаря так называемому эффекту «повышенной проницаемости и удержания» [1].

Наноносители. Иммунизация лекарств на наноносителях позволяет повысить их биодоступность, улучшая растворимость и обеспечивая преодоление различных барьеров, например, гематоэнцефалического барьера, снизить влияние на организм в целом, в то же время целенаправленно воздействуя на поврежденную область. Иммунизированные на наноносителях препараты открывают новые перспективы для эффективного лечения различных очаговых патологических процессов, например, раковых опухолей, патологии сердца, в том числе ишемической болезни сердца, воспалительных процессов и т. д.

Использование систем из лекарственных препаратов, закрепленных на химически модифицированных нанодисперсных носителях, способных отвечать изменением структуры на стимуляцию со стороны окружающей среды, дает новые интересные возможности для управления процессом направленной доставки препаратов, поскольку наночастица перестает быть пассивным переносчиком лекарства и становится активным участником процесса доставки. Преимущества таких наночастиц особенно очевидны в ситуации, когда изменения физико-химических свойств вне или во внутриклеточной среде являются уникальными для определенного патологического процесса или заболевания. К таким свойствам среды относят pH, температуру и окислительно-восстановительное равновесие [2].

В качестве носителей лекарственных препаратов в настоящее время наиболее активно изучаются углеродные нанотрубки, липосомы, полимеры, дендримеры, фуллерены, магнитные наночастицы, нанодисперсные кремнеземы [3].

По данным, вплоть до настоящего времени, наибольшую долю (56%) среди «нанолекарств», одобренных для терапии, составляют липосомы [4]. Как известно, липосомы - это сферические пузырьки из двойного слоя липидов размером 25-100 нм, заполненные жидкостью. Липосомы эффективны, потому что состоят из нативных липидов и обладают высоким сродством к клеточным мембранам [1].

Большое значение в доставке лекарств имеют углеродные наночастицы. В их состав помимо нанотрубок, фуллеренов, наноалмазов, входит и графен.

Графен. Графен – одна из аллотропных модификаций углерода. Графен представляет собой sp²-гибридизированный материал, состоящий из отдельных монослоев графита и получаемый различными методами, в том числе и такими как химическое осаждение, рост при высоком давлении и температуре и др. [5]. Данный двумерный кристалл состоит из одиночного слоя атомов углерода, которые собраны в гексагональную решетку [6].

Открыт графен был в 2004 году двумя российскими физиками – Андреем Геймом и Константином Новоселовым. Ученые смогли выделить графен - двумерный материал, состоящий из одноатомного слоя углерода [7], хотя теоретические расчеты предсказали существование графена ещё более 50 лет назад, но получить графен удалось только спустя десятилетия.

Его атомы образуют шестиугольные кольца, похожие на пчелиные соты, причем он напоминает множество ароматических молекул (таких как бензол), связанных между собой в одной плоскости.

Начиная с 2008 года, производные графена – оксид графена (Graphene Oxide - GO) и восстановленный оксид графена (Reduced Graphene Oxide - RGO) – тестируются в качестве носителей для доставки лекарств. Они обладают исключительными физико-химическими свойствами. Оксид графена может содержать различные кислородсодержащие группы: эпоксидные, гидроксильные, карбонильные и карбоксильные [5].

К числу уникальных свойств графена относят исключительную электронную проводимость, теплопроводность, механическую прочность. Высокая механическая прочность графена сочетается в нем с легкостью, гибкостью, эластичностью, электропроводностью и биосовместимостью.

То, что графен очень легкий, было ясно многим и, что это свойство можно эффективно использовать в разных целях. В результате в 2017 году был разработан графеновый аэрогель на 99% состоящий из воздуха. Было доказано, что материал выдерживает вес в 4000 раз больше своего собственного [8].

Самым удивительным свойством графена большинство ученых считают то, что он сам может выделять и поглощать энергию. Графен хоть и двумерен, но практически никогда не бывает совершенно плоским. Его структура напоминает скорее «рябь на воде» - случайные колебания атомов создают на поверхности конформационные «волны», которые выгибаются попеременно то в одну, то в другую сторону, генерируя и поглощая энергию [9].

Уникальные свойства графена обусловлены, благодаря особой природе его носителей заряда – они ведут себя подобно релятивистским частицам.

Графен в электронике. Подтверждением тому, что графен является перспективным материалом для электроники, стали результаты исследований, проведенных Schedin F., Geim A.K., Morozov S.V. и другими. В ходе работ было установлено, что графен является исключительно малошумящим электронным материалом, что делает его перспективным не только для химических детекторов, но и для других применений, где требуются локальные зонды, чувствительные к внешнему заряду, магнитному полю или механическому напряжению [10].

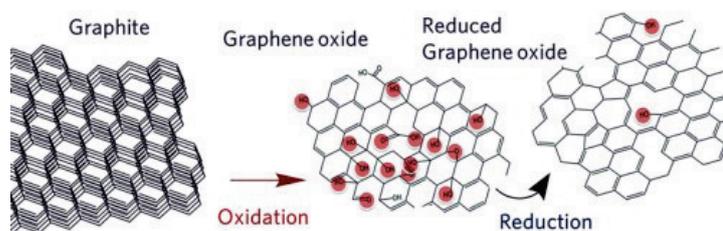


Рисунок 1. Получение из исходного графита некоторых производных графена - оксида графена (Graphene Oxide) и восстановленного оксида графена (Reduced Graphene Oxide) <https://mavink.com>

Принцип действия графеновых устройств основан на изменении их электропроводности, за счет молекул газа, адсорбированных на поверхности графена и действующих как доноры или акцепторы.

Schedin F., Geim A.K., Morozov S.V. и др. выявили следующие характеристики графена: 1) во-первых, графен является строго двумерным материалом и весь его объем подвергается воздействию поверхностных адсорбатов, что максимизирует их эффект; 2) во-вторых, графен обладает высокой проводимостью, проявляя металлическую проводимость; 3) в-третьих, графен имеет мало кристаллических дефектов, что обеспечивает низкий уровень избыточного шума, вызванного их тепловым переключением; 4) в-четвертых, графен позволяет проводить четырехзондовые измерения на однокристаллическом устройстве с электрическими контактами, которые являются омическими и имеют низкое сопротивление. Все эти функции способствуют созданию уникальной комбинации, которая максимизирует отношение сигнал/шум до определенного уровня. Таким образом, графен достаточно электронно бесшумный для использования в одноэлектронных детекторах, работающих при комнатной температуре, и в сверхчувствительных датчиках магнитного поля или механического напряжения, в которых разрешение часто ограничено шумом.

Вследствие своей сверхвысокой площади поверхности и отличной подвижности электронов, графен и графенсодержащие композиционные материалы используются для модификации электродов в электрохимическом зондировании различных биомолекул с высокой чувствительностью, включая глюкозу, ДНК и белки.

С другой стороны, так как графен выступает в качестве важнейшей составляющей некоторых электропроводящих композитных материалов, которые применяют с целью модернизации современного специального медицинского оборудования.

На основе графена разрабатываются прототипы различных электронных и оптоэлектронных устройств. К числу таковых устройств можно отнести газовые сенсоры с экстремальной чувствительностью, графеновый одноэлектронный транзистор, жидкокристаллические дисплеи и солнечные батареи (в качестве прозрачного проводящего электрода), спиновый транзистор, графеновые полевые транзисторы, графеновые выпрямители, умножители частоты и высокочувствительные фотодетекторы.

Графен в биомедицине. В 2017 году было показано, что графен можно применять в лечении рака поджелудочной железы. Авторы работы использовали оксид графена с фолиевой кислотой и ПЭГ в качестве носителя для коротких интерферирующих РНК (киРНК). Они «выключают» гены HDAC1 и K-Ras, ответственные за рост злокачественных опухолей, и вызывают смерть раковых клеток. Комбинация такой генной терапии и терапии инфракрасным излучением подавляет рост опухоли *in vivo* более чем на 80% [11].

Графен используют как контрастное вещество при МРТ и КТ. А при добавлении графена в смесь ПЦР увеличивается выход ДНК [7].

В качестве еще одного вида использования графена в медицине следует выделить графеновую бумагу (GO). Такая бумага обладает выраженным антибактериальным действием. Было показано, что бумага легко расправляется с колониями кишечной палочки (*E.coli*). Преимущество такого способа борьбы с бактериями состоит в том, что оксид графена действует только на патогены, здоровые клетки при этом не затрагиваются. Благодаря этому оксид графена может также применяться в качестве материала для покрытия поверхности для имплантата.

Taras Nayak и др. обнаружили у графена способность ускорять дифференцировку стволовых клеток [12].

Gaurav Lalwani и др. в ходе исследований установили способность графена селективно связывать антитела [13]. Эти свойства графена объясняют то, что он может использоваться в клеточной инженерии.

Alessandra Fabbro и др. в своем исследовании отмечают, что из графена делают даже живляемые в организм электроды [14].

Графен для таргетной диагностики и фототермической терапии. Еще одной областью применения графена являются системы адресной или таргетной доставки диагностических, лекарственных средств, а также средств таргетной терапии.

В настоящее время активно исследуются возможности использования графена в поставке лекарств/генов, биологического обнаружения и визуализации, антибактериальных материалов как биосовместимого каркаса для клеточной культуры.

Наноразмерный графен и оксид графена обладают фотолуминесцентными свойствами. Отличная фотостабильность этих материалов обеспечивает их использование для биологической визуализации. Они также могут производить интенсивное тепло под действием лазерного излучения, что позволяет им служить фототермическими агентами при лечении рака [15].

Применение графена в фототермической терапии является новым перспективным направлением. Этот вид лечения использует генерацию тепла в результате поглощения света фоточувствительными агентами в больших клетках. Чтобы избежать повреждения здоровых клеток, поглощение должно быть в ближнем ИК-диапазоне (700-1100 нм). Графен проявляет заметный фототермический эффект благодаря сильному оптическому поглощению в этой области спектра. Экспериментально подтверждена противораковая активность нано-G и нано-GO. Впервые нанографен был успешно использован для фототермического уничтожения опухоли в естественных условиях, было изучено взаимодействие *in vivo* нанографеновых листов (NGS) с полиэтиленгликолем (ПЭГ) покрытием методом флуоресцентной маркировки. Проведенное исследование стало первым успехом использования углеродных наноматериалов для эффективной фототермической терапии

in vivo путем внутривенного введения и предполагает большие перспективы графена в биомедицинских приложениях, таких как лечение рака [16].

Флуоресцентная визуализация in vivo показала удивительно высокое поглощение NGS опухолью в нескольких моделях ксенотрансплантата опухоли мыши. Отличаясь от «пегелированных» углеродных нанотрубок, пегелированные NGS демонстрировали несколько интересных моделей поведения in vivo, включая высокоэффективное пассивное таргетирование опухоли и относительно низкое удержание в ретикулоэндотелиальных системах. Затем было использовано сильное оптическое поглощение NGS в ближней инфракрасной области (NIR) для фототермической терапии in vivo, достигая сверхэффективной абляции опухоли после внутривенного введения NGS и маломощного лазерного облучения NIR на опухоль. Кроме того, никакой очевидный побочный эффект пегелированного NGS не был отмечен для введенных мышей гистологией, химией крови и полным анализом панели лечения в пилотном исследовании токсичности.

Эффективность фототермического лечения зависит от размеров частиц G, GO и химии поверхности. Считаются перспективными многофункциональные наноконструкции G (GO, RGO) с парамагнитными частицами и противоопухолевыми препаратами. Используя такие наноконструкции, можно сочетать хемо- и фототермическую терапию, обеспечить точную адресную доставку.

Графен для направленной доставки БАВ. Первые исследования в области применения графена как способа доставки лекарств были проведены в 2008 году по аналогии с успешным применением углеродных нанотрубок в биомедицине [17]. Исследования по доставке лекарства в организм и терапии от рака, показали, что высокоэффективная загрузка лекарственного средства обеспечивается благодаря чрезвычайно большой поверхности графена, которая «обнажала» каждый атом поверхности.

В отличие от привычной химиотерапии, при которой препараты, подавляющие рост раковых клеток, странствуют по всему кровотоку и равномерно распределяется во всех частях организма, использование графена делает этот процесс точным и направленным.

Из-за сложного строения человеческого тела и труднодоступного расположения опухолей используют несколько разных стимулов одновременно. Согласно исследованиям, гибридная везикула на основе оксида графена не только вмещает большую дозу противоопухолевого препарата доксорубицина (DOX), но также может последовательно высвобождать его при инфракрасном облучении и под действием кислой внутриклеточной среды. При лазерном облучении везикула «лопается», и в полость клетки выходят молекулы DOX, закрепленные на чешуйках оксида графена. Затем в дело вступает кислая среда - за счет понижения pH DOX высвобождается и направляется в ядро клетки [18].

Такие гибридные подходы повышают эффективность доставки лекарства и позволяют снизить его дозировку, а, следовательно, уменьшить побочные эффекты [19, 20].

Вообще, системы доставки на основе графена развиваются в двух направлениях: доставка лекарств и доставка генетического материала.

Для адресной доставки лекарств есть несколько подходов. Первый, наиболее простой - прикрепление препарата на поверхность носителя напрямую. Например, как доксорубин, прочно связанный с поверхностью оксида графена и высвобождающийся только в кислой среде опухоли, как уже отмечалось ранее. Более сложный способ - прикрепить к поверхности носителя не только действующее вещество, но и направляющие молекулы - лиганды. Этими лигандами могут быть, например, поликлональные антитела, фолиевая кислота или трансферрин. Они распознают клетки-мишени и связываются с ними. Иногда лиганд может быть одновременно и лекарством. К примеру, было показано, что противоопухолевый белок TRAIL может связываться с поверхностью раковых клеток [21].

Что касается доставки генетического материала, то генная терапия для лечения таких заболеваний, как болезнь Паркинсона, кистозный фиброз (муковисцидоз) и различные виды рака, требует наличия транспортера для защиты целевого гена от разрушения. В 70% случаев для этого исследователи используют вирусные векторы. Но учитывая их непредсказуемость, многие пытаются создать синтетические аналоги на основе липосом или производных графена. Гибридные наноконструкции на основе графена вмещают большой объем ДНК или РНК, защищают их от деградации и облегчают поглощение клеткой. «Загрузить» нуклеиновые кислоты на графеновые чешуйки можно благодаря гидрофобным и характерным для ароматических молекул π - π взаимодействиям. Последние образуются между кольцевыми структурами нуклеотидов и шестиугольной решеткой углерода в оксиде графена. Предполагается, что участие в этом также принимают и силы Ван-дер-Ваальса. Другие исследования показывают, что двойная спираль лучше связывается с оксидом графена при высокой концентрации соли и низком уровне pH [22; 23].

С другой стороны, для ранней диагностики рака и других заболеваний, благодаря работам, проводимым в МФТИ увеличена чувствительность биосенсоров на основе поверхностного плазмонного резонанса с помощью оксида графена. В ходе исследований было установлено, что сенсоры с покрытием из оксида графена в несколько раз точнее реагируют на молекулы, чем их «чистый собрат» [24]. По мнению исследователей, данное открытие способно облегчить лабораторные исследования медицинских препаратов.

Важно отметить, что наряду с очевидными преимуществами у графена были и существенные недостатки. С одной стороны, большая площадь поверхности позволяет разместить на одном слое графена множество молекул - масса лекарства может быть в два раза больше, чем масса самого носителя [19]. Графен, благодаря своему строению, имеет большую площадь поверхности, что способствует переносу большего количества молекул биологически активных веществ [25]. Но для медицинских применений графен нужно растворить в

биологических жидкостях, при этом не дав чешуйкам слипнуться друг с другом. Ученые доказали, что в своем первоначальном виде материал гидрофобен, поэтому растворить его можно только с помощью неполярного растворителя или поверхностно-активных веществ (ПАВ) [26]. Главная проблема в том, что молекулы ПАВ и растворителя остаются на поверхности графена и не делают препарат безопасным. Более того, в 2011 году исследователи обнаружили, что даже чистый графен сам по себе может быть весьма токсичным - он вызывал гибель мышинных макрофагов. Причина - высокая концентрация активных форм кислорода внутри клетки [27].

Поэтому в биомедицине предпочитают использовать альтернативные формы графена. Сейчас самый распространенный препарат - оксид графена. Он содержит множество гидрофильных групп (например, карбоксильные). Это повышает биосовместимость материала и предотвращает слипание чешуек друг с другом.

Другой способ модифицировать графен - покрыть его полиэтиленгликолем (ПЭГ), декстраном или альгинатом. Эти вещества увеличивают время циркуляции, биосовместимость и растворимость графена. Что, в свою очередь, уменьшает его токсичность и негативные последствия для организма [20].

Полиграфен. Углеродный нанокompозит ПолиГрафен - ПГ (PolyGraphene - PG), полученный в виде вспененного графита после гидротермической обработки модифицированного графита, стал взаимодействовать в качестве сорбента PG с широким спектром органических загрязнителей. Изучены сорбционные свойства углеродного материала на примере полиграфена (ПГ) в отношении органических загрязнителей.

PG – версия ультрадисперсного углеродного сорбента, который был разработан на основе модифицированного кислородсодержащего расширенного графита (OCEG). Такие материалы, как PG, обладают очень высокой абсорбционной способностью, особенно в отношении гидрофобных соединений (1:30 - 1: 100). Поскольку оболочки бактерий и вирусов, а также многие токсины являются гидрофобными, формы графита, полученные путем термического разложения, могут эффективно сорбировать и удерживать токсины, антибиотики, вирусные частицы, патогенные микроорганизмы и многие ксенобиотики (например, диклофенак). Эти факты указывают на возможные биотехнологические применения ПГ.

Электронная микроскопия различных образцов ПГ показала, что этот материал представляет собой стопку графеновых листов с кратностью 1-10-100, в зависимости от технологии приготовления. Повторная химическая модификация и термоактивация позволяют получать материал со стопками меньшей частоты, вплоть до отдельных листов графена. Исследованы различные технологические варианты получения PG, и наилучший вариант был определен с точки зрения соотношения функциональных характеристик и стоимости получаемого сорбента.

Было показано, что ПГ можно использовать в нескольких областях: в качестве активной основы и модификатора, в качестве иммуносорбента - основного биоактивного компонента тест-систем для иммунодиагностики вирусных инфекций; поглотитель для очистки воды от вредных примесей - в том числе биологических; поглотитель для стерилизации воздуха.

Исследование стерилизации жидких сред показало, что ПГ-фильтры способны задерживать и инактивировать до 10^6 клеток на 1 мг сорбента. Исследование фильтров на основе ПГ показало, что вода из загрязненного открытого источника (городской пруд) после однократной фильтрации через фильтр с ПГ приобретает свойства питьевой воды в соответствии с санитарными показателями. Присутствие окисленных

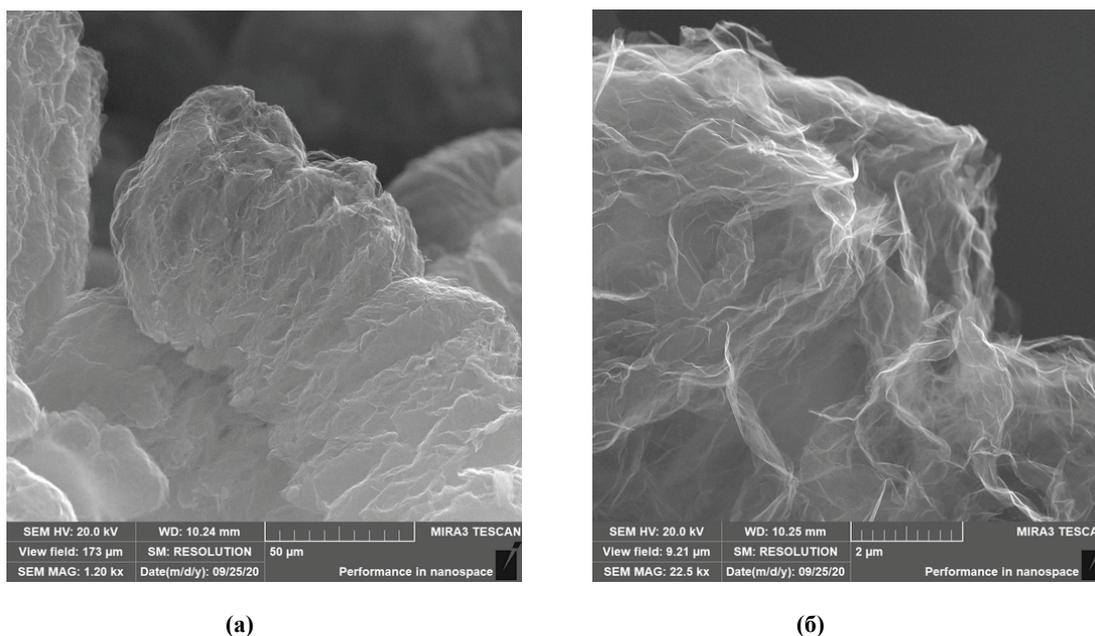


Рисунок 1. Изображения ПолиГрафена (PolyGraphene - PG), полученные на разных увеличениях (а) и (б) с помощью Сканирующего Электронного Микроскопа (СЭМ) – Scanning Electron Microscope (SEM) TESCAN MIRA

углеродных остатков дает PG способность связывать ионы тяжелых металлов. Фильтры, сочетающие ПГ с активированным углем, обладали наивысшей эффективностью. В этом варианте фильтр способен удалять не только ионы металлов, но и ионы хлора.

Использование PG для очистки газовых смесей имеет еще одну привлекательную перспективу: химическая модификация остатков углерода (окисление) позволяет легировать сорбент каталитическими добавками, которые, например, могут окислять монооксид углерода до диоксида, а также выполнять другие функции детоксикации.

Сорбенты на основе PG могут служить основой для создания сложных систем с введением дополнительных компонентов, обладающих специфическими сорбционными характеристиками. Это говорит о том, что сорбенты на основе ПГ являются перспективным материалом для различных применений в области экологии окружающей среды и эндоэкологии - нормализации параметров внутренней среды организма.

Полиграфен для доставки лекарств при онкологии кишечника. Для изучения возможности иммобилизации противоопухолевых ферментов в структуру ПолиГрафена в качестве модельного объекта был взят фермент L-лизин- α -оксидаза (LLAO) из гриба штамм *Trichoderma harzianum* Rifai F 180. L-лизин- α -оксидаза отечественного штамма обладает: 1) ярко выраженной противораковой активностью, подавляя ряд разнообразных онкологических новообразований; 2) высокой антивирусной активностью, в том числе подавляя вирусы герпеса I и II типов и другие; 3) важнейшими свойствами ингибирования ВИЧ инфекции.

В частности, было показано, что фермент LLAO обладает широким спектром противоопухолевого действия, что создает перспективы применения данного фермента в химиотерапии. Имеются данные о предварительных исследованиях в отношении применения фермента у человека [28-34].

К ферментным препаратам такого рода имеется ряд требований: способность легко проникать через мембраны клеток; низкая аллергенность и иммуногенность; высокая стабильность при физиологических условиях среды (рН и температуре); большой период полужизни; медленное выведение из организма.

Для создания композита ПолиГрафен добавляли к раствору, содержащему фермент LLAO (при концентрациях 0,1 - 1,0 мг/мл); смесь помещали на шейкер, а надосадочную жидкость исследовали на наличие фермента LLAO в реакции. В осадке оставался ЭнзимоСорбент, представлявший собой ПолиГрафен и иммобилизованный на нем фермент LLAO [35].

Результаты экспериментов по иммобилизации (сорбции) LLAO на ПГ - успешная сорбция фермента LLAO на ПГ. Специфической технологической особенностью ПГ как сорбента является необходимость заполнения всей его ажурной структуры раствором с сорбатом, в котором проводились его испытания.

Важнейшим результатом является оценка удельной активности фермента LLAO в адсорбированном на ПГ состоянии, которая снизилась всего на единицы процентов по сравнению с удельной активностью LLAO в растворе, что отражает практически нативную активность композита LLAO + ПГ.

Проанализированы результаты испытаний ПГ в качестве действующей основы для иммобилизации ферментов, в частности, на примере противоопухолевого фермента L-лизин- α -оксидазы. Эти данные указывают на перспективность возможного биомедицинского применения ПГ в онкологии, а именно, при лечении рака кишечника. Изучаются взаимодействия углеродного сорбента нового поколения ПолиГрафен с иммобилизованным противоопухолевым ферментом со структурой слизистой кишечника при наличии очагов онкологии на стенках, для локализованного использования ПГ+ОнкоПрепарат общего и селективного действия.

Таким образом, модифицированные формы графена и полиграфена следует рассматривать как новый переносчик лекарственных средств: противоопухолевых препаратов, антибиотиков, антител и других биологически активных веществ. В отличие от традиционной химиотерапии, при которой препараты свободно распространяются по кровотоку и равномерно распределяются по всему организму, использование специальных углеродных наноносителей делает процесс точечным или направленным.

Заключение. Рассмотрены физико-химические свойства графена, полиграфена, их пространственная структура, особенности строения и свойств полиграфена, а также варианты получения графена и его производных.

Показано, что графен и полиграфен обладают уникальной структурой и исключительными физическими и химическими свойствами, из которых следует множество возможностей для их применения - это и биосенсоры на основе графеновых транзисторов, и графеновые носители для биологической визуализации, и системы доставки лекарственных препаратов. Одним из важнейших способов применения графена и полиграфена является именно доставка лекарств.

Только в последние несколько лет, модифицированные формы графена и полиграфена стали широко испытывать в качестве новых переносчиков лекарственных средств: противоопухолевых препаратов, антибиотиков, антител и даже генетического материала.

Описаны выдающиеся свойства фермента L-лизин- α -оксидазы (LLAO), широкий спектр возможностей его биомедицинского применения: в противоопухолевой и антивирусной терапии.

Показана возможность иммобилизации LLAO на полиграфене с практически полным сохранением удельной активности. В частности, противораковые свойства наблюдаемого адсорбированного фермента указывают на перспективу его применения в медицине, для создания активных противоопухолевых энтеросорбентов, как средств для лечения онкологии кишечника с применением локальной энзимотерапии и отказом от хирургических вмешательств.

Применение графена в медицине не ограничивается только системами доставки. У графена обнаружена способность ускорять дифференцировку стволовых клеток и селективно связывать антитела, что знаменует перспективу его использования в клеточной инженерии.

Список литературы/References:

1. Абашкин Д. Наночастицы - инструмент адресной доставки лекарств [Abashkin D. *Nanoparticles as a tool for targeted drug delivery* (In Russ.)].
2. Ganta S., Devalapally H., Shahiwala A. et al. A review of stimuli-responsive nanocarriers for drug and gene delivery. *J Control Release*, 2008, vol. 126, no. 3, pp. 187-204.
3. Torchilin V.P. *Nanoparticulates as drug carriers*. London: Imperial College Press, 2006, 724 p.
4. Ventola C.L. Progress in nanomedicine: approved and investigational nanodrugs. *P&T a peer-reviewed journal for formulary management*, 2017, vol. 42, no. 12, pp. 742-755.
5. Yuqin Xiao, Yoong Xin Pang, Yuxin Yan, Ping Qian, Haitao Zhao, Sivakumar Manickam, Tao Wu, Cheng Heng Pang; Synthesis and Functionalization of Graphene Materials for Biomedical Applications: Recent Advances, Challenges, and Perspectives. *Adv. Sci.*, 2023, vol. 10, p. 2205292, doi: 10.1002/advs.202205292.
6. Ушакова С.А. Использование графена в медицине. *Научные исследования и разработки 2018 года: сборник материалов IV Международной научно-практической конференции*. Новосибирск: Изд-во ООО «Центр развития научного сотрудничества», 2018, с. 15-19 [Ushakova S.A. The use of graphene in medicine. *Scientific research and development in 2018: a collection of materials of the IV International Scientific and Practical Conference*. Novosibirsk: Publishing House of LLC "Center for the Development of Scientific Cooperation", 2018, p. 15-19 (In Russ.)].
7. Полякова М. 2D-почтальон: системы доставки лекарств на основе графена [Polyakova M. *2D Postman: Graphene-Based Drug Delivery Systems* (In Russ.)].
8. Han Hu, Zongbin Zhao, Wubo Wan, Yury Gogotsi, Jieshan Qiu. Ultralight and Highly Compressible Graphene Aerogels. *Adv. Mater.*, 2013, vol. 25, pp. 2219-2223.
9. Li D., Kaner R.B. MATERIALS SCIENCE: Graphene-Based Materials. *Science*, 2008, vol. 320, pp. 1170-1171.
10. Schedin F., Geim A.K., Morozov S.V. et al. Detection of Individual Gas Molecules Adsorbed on Graphene. *Nat. Mater., Nature Materials*, 2007, vol. 6, no. 9, pp. 652-655, doi: 10.1038/nmat1967.
11. Feng Yin, Kuan Hu, Yangzi Chen, Mengying Yu, Dongyuan Wang, et. al. SiRNA Delivery with PEGylated Graphene Oxide Nanosheets for Combined Photothermal and Genetherapy for Pancreatic Cancer. *Theranostics*, 2017, vol. 7, pp. 1133-1148.
12. Nayak T.R., Andersen H., Makam V.S., Khaw C., Bae S. et. al. Graphene for Controlled and Accelerated Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. *ACS Nano.*, 2011, vol. 5, pp. 4670-4678.
13. Lalwani G., Henslee A.M., Farshid B., Lin L., Kasper F.K., et. al. Two-Dimensional Nanostructure-Reinforced Biodegradable Polymeric Nanocomposites for Bone Tissue Engineering. *Biomacromolecules*, 2013, vol. 14, pp. 900-909.
14. Fabbro A., Scaini D., Leon V., Vazquez E., Cellot G. et. al. Graphene-Based Interfaces Do Not Alter Target Nerve Cells. *ACS Nano*, 2016, vol. 10, pp. 615-623.
15. Постнов В.Н. и др. Наноразмерные носители для доставки лекарственных препаратов. *Биотехносфера*, 2013, № 6 (30), с. 16-27 [Postnov V.N. Nanoscale carriers for drug delivery. *Biotechnosphere*, 2013, no. 6 (30), pp. 16-27 (In Russ.)].
16. Kai Yang et. al. Graphene in Mice: Ultrahigh In Vivo Tumor Uptake and Efficient Photothermal Therapy. *Nano Letters*, 2010, vol. 10, no. 9, pp. 3318-3323, doi: 10.1021/nl100996u.
17. Liangzhu Feng, Zhuang Liu. Graphene in biomedicine: opportunities and challenges. *Nanomedicine*, 2011, no. 6, pp. 317-324.
18. Jibin Song, Xiangyu Yang, Orit Jacobson, Lisen Lin, Peng Huang et. al. Sequential Drug Release and Enhanced Photothermal and Photoacoustic Effect of Hybrid Reduced Graphene Oxide-Loaded Ultrasmall Gold Nanorod Vesicles for Cancer Therapy. *ACS Nano*, 2015, vol. 9, pp. 9199-9209.
19. Zhuqing Wang, Lucio Colombi Ciacchi, Gang Wei. Recent Advances in the Synthesis of Graphene-Based Nanomaterials for Controlled Drug Delivery. *Applied Sciences*, 2017, vol. 7, p. 1175.
20. Jingquan Liu, Liang Cui, Dusan Losic. Graphene and graphene oxide as new nanocarriers for drug delivery applications. *Acta Biomaterialia*, 2013, vol. 9, pp. 9243-9257.
21. Jiang T., Sun W., Zhu Q., Burns N.A., Khan S.A. et. al. Furin-Mediated Sequential Delivery of Anticancer Cytokine and Small-Molecule Drug Shuttled by Graphene. *Adv. Mater.*, 2015, vol. 27, pp. 1021-1028.
22. Vincent M., Lazaro I. de, Kostarelos K. Graphene materials as 2D non-viral gene transfer vector platforms. *Gene Ther.*, 2017, vol. 24, pp. 123-132.
23. Yuqi Yang, Abdullah Mohamed Asiri, Zhiwen Tang, Dan Du, Yuehe Lin. Graphene based materials for biomedical applications. *Materials Today*, 2013, vol. 16, pp. 365-373.
24. Абаев М. Графен и плазмонный резонанс для будущего медицины. *Наука и жизнь*, 2015, № 11, с. 78-80 [Abaev M. Graphene and plasmon resonance for the future of medicine. *Science and life*, 2015, no. 11, pp. 78-80 (In Russ.)].
25. Поройский С.В., Носаева Т.А., Коняева Н.В. Использование графена и наноматериалов на его основе в медицине. *Волгоградский научно-медицинский журнал*, 2014, № 3, с. 9-10 [Poroisky S.V., Nosaeva T.A.,

Konyaeva N.V. The use of graphene and nanomaterials based on it in medicine. *Volgograd scientific medical journal*, 2014, no. 3, p. 9-10 (In Russ.).

26. Hongqian Bao, Yongzheng Pan, Yuan Ping, Nanda Gopal Sahoo, Tongfei Wu et. al. Chitosan-Functionalized Graphene Oxide as a Nanocarrier for Drug and Gene Delivery. *Small*, 2011, vol. 7, no. 11, pp. 1569-1578.

27. Yang Li, Ying Liu, Yujian Fu, Taotao Wei, Laurent Le Guyader et. al. The triggering of apoptosis in macrophages by pristine graphene through the MAPK and TGF-beta signaling pathways. *Biomaterials*, 2012, vol. 33, pp. 402-411.

28. Amano M. et al. Recombinant expression, molecular characterization and crystal structure of antitumor enzyme, L-lysine α -oxidase from *Trichoderma viride*. *The Journal of Biochemistry*, 2015, no. 6 (157), pp. 549-559.

29. El-Shanawany A. et al. Purification, characterization and antitumor activity of L-lysine- α -oxidase from *Trichoderma harzianum* Rifai AUMC No 848. *Journal of Scientific and Engineering Research*, 2018, no. 9 (5), pp. 350-367.

30. Torii S., Naito M., Tsuruo T. Apoxin I, a Novel Apoptosis-inducing Factor with L -Amino Acid Oxidase Activity Purified from Western Diamondback Rattlesnake Venom. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, no. 14 (272), pp. 9539-9542.

31. Подборонов В.М. и др. Доклинические испытания противоопухолевого фермента L-лизин- α -оксидазы. *Антибиотики и химиотерапия*, 2010, № 9-10 (55), с. 33-36 [Podboronov V.M. Preclinical trials of the antitumor enzyme L-lysine- α -oxidase. *Antibiotics and chemotherapy*, 2010, no. 9-10 (55), pp. 33-36 (In Russ.)].

32. Покровский В.С., Трещалина Е.М. Ферментные препараты в онкогематологии: актуальные направления экспериментальных исследований и перспективы клинического применения. *Клиническая онкогематология*, 2014, № 1 (7), с. 28-38 [Pokrovsky V.S., Treschalina E.M. Enzyme preparations in oncohematology: topical areas of experimental research and prospects for clinical use. *Clinical oncohematology*, 2014, no. 1 (7), pp. 28-38 (In Russ.)].

33. Смирнова И.П. и др. Изучение действия противоопухолевого фермента L-лизин- α -оксидазы из культуры *Trichoderma harzianum* Rifai F180 на окисление L-лизина методом капиллярного электрофореза. *Антибиотики и химиотерапия*, 2014, № 3-4 (59), с. 12-15 [Smirnova I.P. et al. Study of the effect of the antitumor enzyme L-lysine- α -oxidase from the *Trichoderma harzianum* Rifai F180 culture on the oxidation of L-lysine by capillary electrophoresis. *Antibiotics and chemotherapy*, 2014, no. 3-4 (59), pp. 12-15 (In Russ.)].

34. Smirnova I.P., Kuznetsova O.M., Botin A.S., Siatkin S.P., Kuznetsov V.I., Myandina G.I., Nurmuradov M.K. Amino oxidase activities of antitumor enzyme producer from *Trichoderma*. *Drug Invention Today*, 2019, vol. 11, no. 3, pp. 758-762.

35. Ботин А.С., Буравцев В.Н., Полетаев А.И., Смирнова И.П. Возможность иммобилизации ферментов в структуру полиграфена на примере L-лизин-альфа-оксидазы. *Труды 2-й Международной научно-практической конференции «Графен и родственные структуры: синтез, производство и применение»*, 2017, с. 36-39 [Botin A.S., Buravtsev V.N., Poletaev A.I., Smirnova I.P. Possibility of immobilization of enzymes in the structure of polygraphene on the example of L-lysine-alpha-oxidase. *Proceedings of the 2nd International Scientific and Practical Conference "Graphene and related structures: synthesis, production and application"*, 2017, pp. 36-39 (In Russ.)].

CARBON NANOCOMPOSITES IN MEDICINE: GRAPHENE AND POLYGRAPHENE AS POSSIBLE DRUG DELIVERY VEHICLE FOR INTESTINAL ONCOLOGY**Botin A.S.^{1,2}, Mashal D.A.¹, Popova T.S.², Rizk M.G.H.¹, Cordova A.V.¹**¹ Peoples' Friendship University of Russia n.a. P. Lumumba (RUDN)
*Miklukho-Maklaya str., 6, Moscow, 117198, Russia; e-mail: botin-as@rudn.ru*² N.V. Sklifosovsky Institute of Emergency Medicine
Bolshaya Sukharevskaya sq., 3, Moscow, 129090, Russia; e-mail: BotinAS@sklif.mos.ru
Received 26.08.2023. DOI: 10.29039/rusjbpbc.2023.0649

Abstract. The paper considers one of the most important directions in modern pharmacology - targeted delivery of medicines, namely the directed transport of medicinal substance to given area of body, which is realized with help of carriers, which, as a rule, have sizes of tens or hundreds of nanometers, different nature and chemical structure. The delivery of antitumor drugs using nanoparticles is being discussed. Immobilization of drugs on nanocarriers makes it possible to increase their bioavailability. Various graphene derivatives - graphene oxide (GO) and reduced graphene oxide (RGO) - are being tested as carriers for drug delivery. There are several approaches for targeted drug delivery in oncology. The first, simple one is the attachment of both low- and high-molecular preparation to the surface of the carrier directly. The drug doxorubicin is firmly bound to surface of graphene oxide and is released only in acidic environment of tumor. The second, more complex method is to attach to surface of carrier not only active substance, but also guiding molecules - ligands. Sometimes ligand itself can be a drug at the same time. Polygraphene (PG) is an original modified analogue of thermally split graphite, obtained in the form of new form of expanded graphite, after repeated chemical modification and thermal activation, it is reduced to the characteristics of a layered material with stacks of carbon monolayers of smaller multiplicity (from 5 to 50), up to single sheets of graphene. The results of tests of PG as an effective basis for the immobilization of enzymes are presented, in particular, on the example of antitumor enzyme L-lysine- α -oxidase. These data indicate prospects of possible biomedical use of PG in oncology, namely, in treatment of intestinal cancer. Modified forms of graphene and polygraphene should be considered as new carrier of drugs.

Key words: *graphene, polygraphene, drug delivery, intestinal oncology.*