

Received: 2015.02.25
Accepted: 2016.11.17
Published: 2017.02.15

Farmaceutyczne zastosowania grafenu

Pharmaceutical applications of graphene

Justyna Żwawiak, Lucjusz Zaprutko

Katedra i Zakład Chemii Organicznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Obecnie obserwuje się dynamiczny rozwój nauk nanotechnologicznych. Nanocząstki są coraz częściej wykorzystywane w medycynie i farmacji jako układy transportujące różnego rodzaju substancje aktywne do ściśle określonych tkanek organizmu. Jedną z niedawno otrzymanych substancji o niezwykle szerokim zakresie zastosowań jest grafen. Sposoby jego wykorzystania w różnych dziedzinach, nie tylko farmaceutycznych i medycznych, wzbudziły zainteresowanie naukowców już od chwili jego odkrycia w 2004 r. Grafen w czystej postaci charakteryzuje się dużą hydrofobowością. Jednak defekty występujące na powierzchni jego cząsteczki pozwalają na wiele modyfikacji chemicznych, np. wprowadzenie określonych grup funkcyjnych zawierających atom tlenu z utworzeniem wiązań kowalencyjnych. Wykorzystywane są również inne metody, w których nie tworzy się klasyczne kowalencyjne wiązanie chemiczne, a oddziaływania między grafenem a modyfikującą go substancją opierają się na siłach van der Waalsa i elektrostatycznych lub wiązaniach wodorowych i koordynacyjnych, a także na oddziaływaniach warstwowych typu π - π . Ponadto, duża powierzchnia aktywna grafenu może być wykorzystana podczas tzw. terapii skojarzonej, polegającej na jednoczesnym podawaniu dwóch lub więcej środków farmakologicznych. Innym ważnym kierunkiem wykorzystania grafenu jest terapia genowa. Zastosowanie układu PEI z tlenkiem grafenu wpływa niezwykle korzystnie na znaczący wzrost poziomu transfekcji. Możliwości grafenu i jego tlenku nie ograniczają się jedynie do ich roli jako nośników związków biologicznie czynnych. Substancje te same w sobie charakteryzują się aktywnością bakteriostatyczną i bakteriobójczą.

Słowa kluczowe:

nanotechnologia • grafen • tlenek grafenu • substancje aktywne • modyfikacje chemiczne

Summary

Nowadays, dynamic development in nanotechnological sciences is observed. Nanoparticles are frequently used in medicine and pharmacy as delivery systems for different kinds of active substances. One of the latest developed substances, with an unusually wide scope of utility, is graphene. The ways of its use in different fields of industry, not only pharmaceutical and medical, have been a subject of study for many research groups since the moment of its development in 2004. Graphene in pure form is highly hydrophobic. However, the presence of defects on its surface allows chemical modifications to be made, e.g. introduction of oxygen groups by covalent bonding. Also, non-covalent modifications are extensively used, including van der Waals forces, hydrogen bonding, coordination bonds, electrostatic and π - π stacking interactions. Due to the large surface area, graphene can be used in combination therapy, consisting in simultaneous administration of two or more pharmacologically active agents. Another interesting approach is gene therapy. Application of the PEI-graphene oxide system increased the efficacy of transfection. Possibilities of graphene and graphene oxide are not limited to their use as active substance delivery systems. These compounds by themselves were also found to be bacteriostatic and antibacterial agents.

Keywords:

nanotechnology • graphene • graphene oxide • active substances • chemical modifications

Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1231616
DOI:	10.5604/01.3001.0010.3797
Word count:	1985
Tables:	—
Figures:	4
References:	32

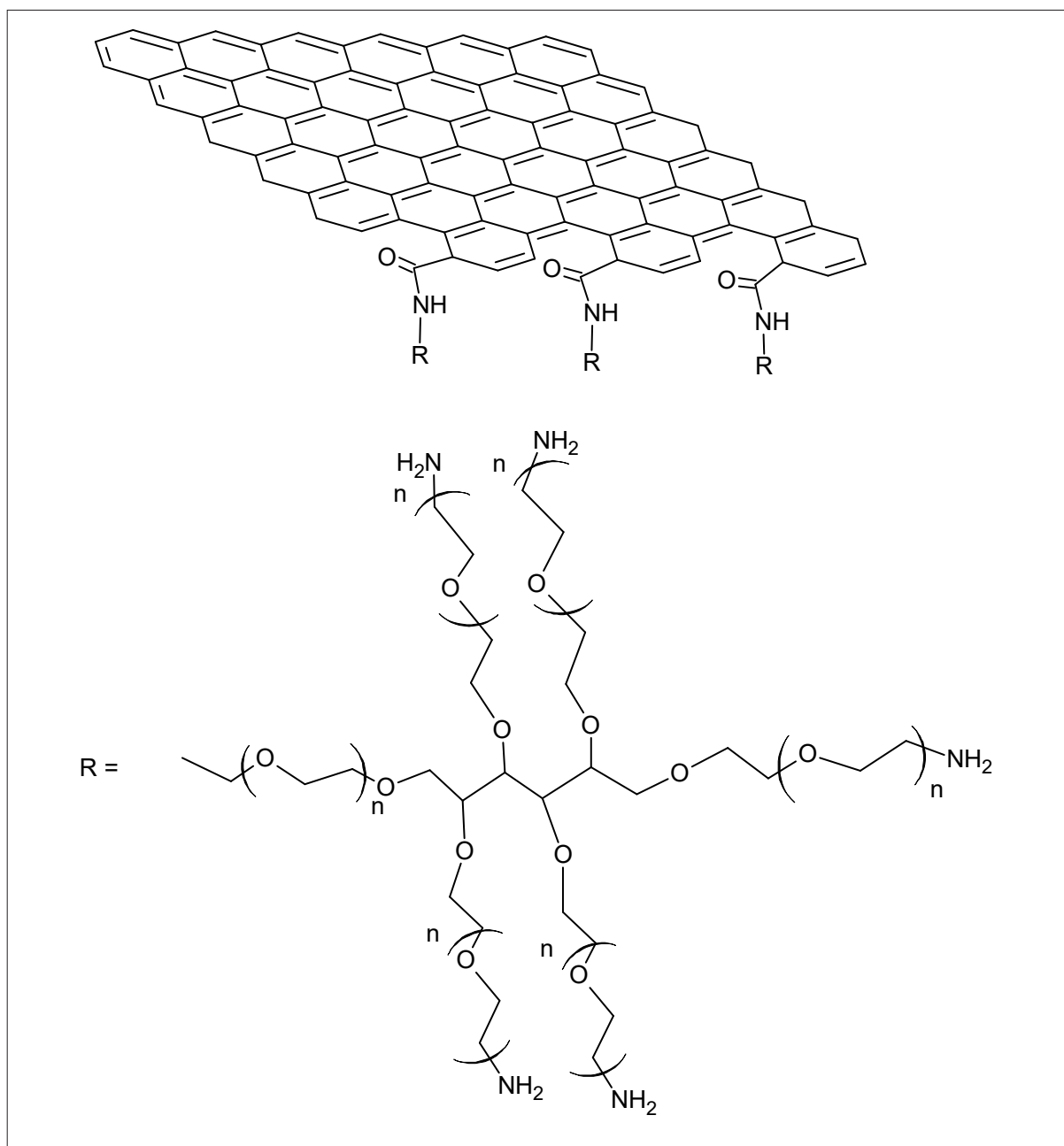
Adres autorki: dr Justyna Żwawiak, Katedra i Zakład Chemii Organicznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań; e-mail: jzwawiak@ump.edu.pl

Otrzymanie nowych i efektywnych układów dostarczających substancje lecznicze do konkretnych, chorobowo zmienionych tkanek, przy jednoczesnym zachowaniu lub nawet ulepszeniu właściwości farmakologicznych leku jest jednym z głównych zadań współczesnej chemii medycznej. Dynamiczny rozwój nanonauki dotyczący syntezy nowych nanomateriałów, doprowadził do uzyskania wielu przydatnych nośników substancji aktywnych [27]. Jedną z otrzymanych substancji o niezwykle szerokim, zarówno potencjalnym jak i dowiedzionym zakresie zastosowań jest grafen. Pod względem chemicznym jest jedną z alotropowych odmian węgla, obok diamentu, grafitu, fulerenów i lonsdaleitu. Jest złożony z warstwy atomów węgla o hybrydyzacji sp^2 o grubości odpowiadającej jednemu atomowi. Grafen składa się z wielu π -skoniugowanych pierścieni sześciatomowych, przedstawianych jako płaska aromatyczna makrocząsteczka. Metody wykorzystania grafenu w różnych dziedzinach przemysłowych wzbudziły zainteresowanie naukowców już od chwili odkrycia w 2004 r. [5,20,24]. Z powodu unikalnej struktury i geometrii cząsteczki, grafen charakteryzuje się interesującymi właściwościami fizykochemicznymi. Wykazuje wysoką wartość modułu Younga, a zatem jest to materiał niezwykle elastyczny przy jednoczesnej dużej wytrzymałości mechanicznej, dwustukrotnie wyższej od stali [8]. Jest doskonałym przewodnikiem elektrycznym i cieplnym dzięki dużej ruchliwości elektronów. Wystarczy jednak poddać jego cząsteczkę uwodornieniu, aby z przewodnika stał się bardzo dobrym izolatorem, zwanym grafanem. Tego typu właściwości sprawiają, że grafen jest rozpatrywany jako materiał niemal idealny w szerokim zakresie zastosowań, m.in. w fizyce kwantowej, nanoelektronice, katalizie oraz inżynierii nanokompozytów i biomateriałów, a także w nanomedycynie [15]. Płaska struktura grafenu stwarza duże możliwości zatrzymywania na jego powierzchni różnego rodzaju substancji chemicznych, m.in. metali i leków. Stąd też pojawiło się zainteresowanie taką cząsteczką, która poddana odpowiednim modyfikacjom chemicznym, mogłaby być wykorzystywana jako platforma transportująca związki biologicznie aktywne, czy też w terapii genowej albo inżynierii kultur komórkowych i tkankowych. W porównaniu z nanorurkami użycie grafenu okazuje się pod kilkoma względami bardziej korzystne. Przede wszystkim koszty wyprodukowania grafenu są niższe, z powodu łatwiejszej jego syntezy i prostszych ewentu-

alnych następnych modyfikacji chemicznych. Ponadto, powierzchnia aktywna grafenu jest przeciętnie cztery razy większa niż innych, znanych układów transportujących cząsteczki leków. W praktyce oznacza to, że grafen może przenieść substancję aktywną w ilości sięgającej dwukrotności jego masy cząsteczkowej. Grafen w czystej, niezmodyfikowanej chemicznie postaci charakteryzuje się wysoką hydrofobowością z powodu braku w strukturze grup funkcyjnych zawierających atom tlenu. Zatem praktycznie nie jest rozpuszczalny w wodzie. Jednak defekty występujące na powierzchni jego cząsteczki pozwalają na wprowadzenie określonych grup funkcyjnych zawierających atom tlenu, z utworzeniem wiązań kowalencyjnych. Przemiany takie dotyczą najczęściej modyfikacji powierzchni grafenu z użyciem różnego rodzaju polimerów, m.in. glikolu polietylenowego (PEG) [25] (ryc. 1), kwasu poliakrylowego (PAA) [7], polilizyny (PLL) [23] lub polietylenoiminy (PEI) [22].

Wykorzystywane są również metody modyfikacji, w których nie tworzy się klasyczne kowalencyjne wiązanie chemiczne, a oddziaływania między grafenem a modyfikującą go substancją opierają się na siłach van der Waalsa i elektrostatycznych lub wiązaniach wodorowych i koordynacyjnych, a także na oddziaływaniach warstwowych typu π - π , charakterystycznych dla związków aromatycznych. W 2011 r. po raz pierwszy zastosowano metodę funkcjonalizowania grafenu za pomocą żelatyny, w celu zwiększenia jego biokompatybilności [3,16]. Naturalne biopolimery są biokompatybilne, biodegradowalne oraz charakteryzują się niewielką immunogennością, co znacząco wpływa na obniżenie toksyczności połączonego z nimi grafenu. Otrzymany układ charakteryzował się stabilnością w roztworach płynów fizjologicznych oraz dużą powierzchnią aktywną mogącą służyć do transportowania cząsteczek leków. Z tych powodów kompleks grafen – żelatyna może się okazać niezwykle użyteczny w farmacji i medycynie.

W wielu ośrodkach naukowych, zainspirowanych sukcesem nanorurek w roli nośników substancji biologicznie aktywnych, postanowiono przeprowadzić analogiczne testy z wykorzystaniem tlenku grafenu (GO). Pod względem chemicznym GO jest utlenioną postacią grafenu, charakteryzującą się obecnością grup karboksylowych, hydroksylowych i epoksydowych. Ponadto, niezmodyfikowana płaszczyzna hydrofobowych, skoniugowa-

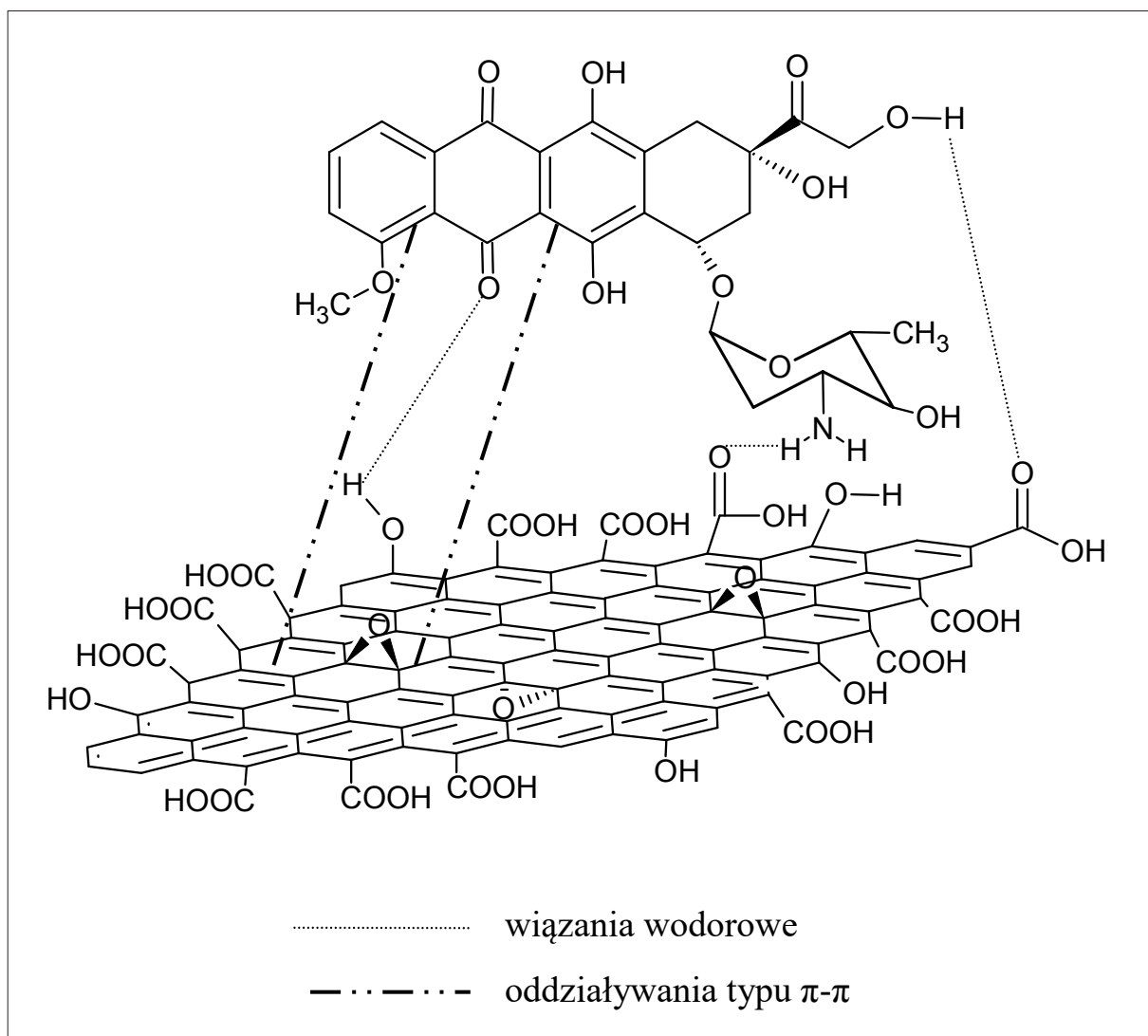


Ryc. 1. Struktura chemiczna grafenu modyfikowanego chemicznie polimerem PEG (wg [25] zmodyfikowano)

nych pierścieni aromatycznych jest bogata w elektrony π , które mogą brać udział w tworzeniu wiązań niekowalencyjnych ze związkami farmakologicznie aktywnymi. Taka amfifilowa cząsteczka może być stosowana jako surfaktant w razie konieczności stabilizacji hydrofobowych substancji aktywnych w roztworze. W 2008 r. opublikowano wyniki próbnej terapii antynowotworowej z użyciem doksorubicyny (DOX), należącej do grupy antybiotyków antracyklinowych, naniesionej na tlenek grafenu (GO) [26]. Udowodniono, iż między hydrofobowym fragmentem leku a powierzchnią GO zachodzą oddziaływania typu π - π , natomiast grupy hydroksy-

lowe i aminowa antybiotyku tworzą wiązania wodorowe z atomami tlenu grup karboksylowych i hydroksylowych powierzchni nośnika (ryc. 2).

Przedstawiony układ tworzy się w prosty sposób, polegający na zmieszaniu obu składników w roztworze wodnym poddanym działaniu ultradźwięków. Podczas badań farmakologicznych zaobserwowano korzystną zależność między stopniem uwalniania DOX z nośnika a wartością pH – im środowisko bardziej kwasowe lub zasadowe tym lek jest uwalniany w większej ilości. Jest to szczególnie ważne w przypadku chorób nowotworowych, ponieważ



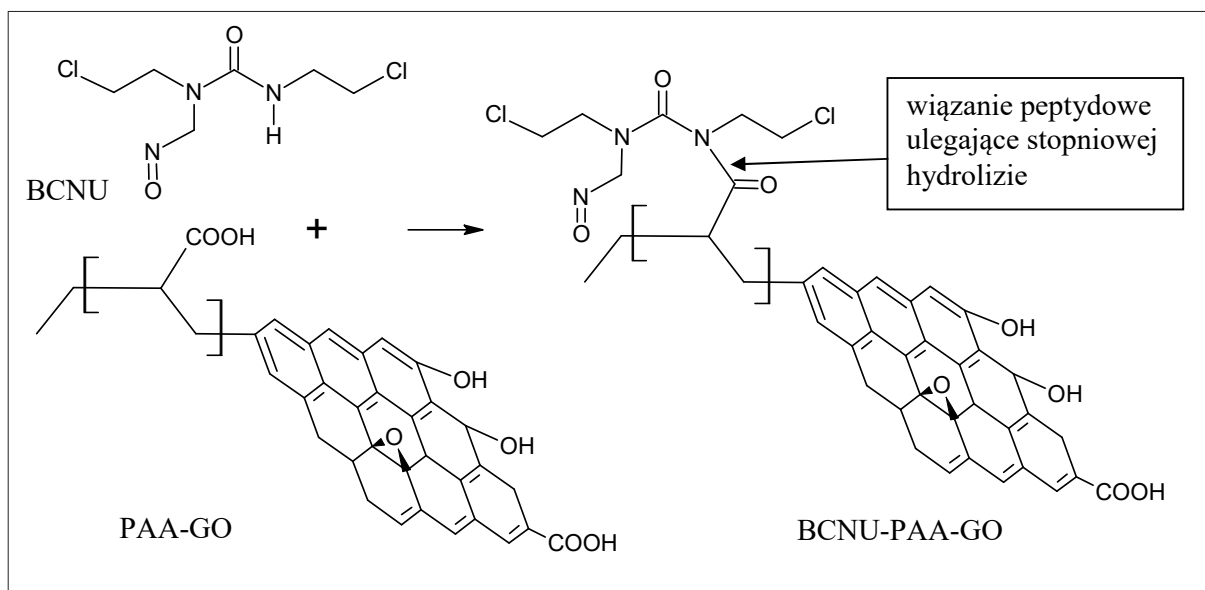
Ryc. 2. Oddziaływania międzycząsteczkowe pomiędzy tlenkiem grafenu i dokсорubicyną

pH komórek rakowych i ich bezpośredniego otoczenia wykazuje odczyn lekko kwasowy i dlatego może wywoływać stopniowy, ale zdecydowany rozpad kompleksu GO-DOX. Jest to metoda niezwykle skuteczna i z każdym rokiem coraz bardziej rozwijana [32]. Zapobiega niepożądanemu uwalnianiu leku w układzie krwionośnym podczas jego transportu do tkanek chorobowo zmienionych. Odmienna strategia kontrolowanego uwalniania substancji biologicznie aktywnej jest związana z reakcją hydrolizy estrów lub rozrywania wiązań peptydowych. Lu i wsp. [18] zsyntezowali układ tlenku grafenu (GO) funkcjonalizowany kwasem poliakrylowym (PAA). Otrzymany nośnik PAA-GO poddano reakcji z 1,3-bis (2-chloroetylo)-1-nitrozomocznikiem (BCNU), znanym również pod nazwą karmustyny, będącym związkiem z grupy chemioterapeutyków stosowanym w leczeniu pacjentów z nowotworami mózgu (ryc. 3). Utworzenie tego rodzaju układu wpływa znacząco na poprawę termicznej stabilności BCNU, a stopniowa hydroliza takiego połączenia ponad dwukrotnie przedłuża okres pół-

trwania, w porównaniu z niezwiązaną postacią tego chemioterapeutyku.

Liu i wsp. [17] otrzymali układ tlenku grafenu funkcjonalizowanego glikolem polietylenowym (PEG-GO), do którego przyłączono działający przeciwnowotworowo, nierozpuszczalny w wodzie analog kamptotecyny (CPT), o symbolu SN38. Tego typu kompleks z substancją bioaktywną mógł powstać dzięki istnieniu niekwalencyjnych oddziaływań van der Waalsa. Układ PEG-GO-SN38 charakteryzowała dobra rozpuszczalność w wodzie z jednocześnie zachowaną dobrą skutecznością terapeutyczną związku SN38. Utworzony w ten sposób kompleks był nawet 1000 razy bardziej aktywny od kamptotecyny.

Unikalne właściwości fizykochemiczne wynikające z płaskiej struktury grafenu charakteryzującego się dużą powierzchnią aktywną, stwarzają możliwości osadzenia na niej wielu różnych mikro- i makrocząsteczek m.in. leków, receptorów, przeciwciał lub znaczników



Ryc. 3. Tworzenie układu PAA-GO z karmustyną (BCNU)

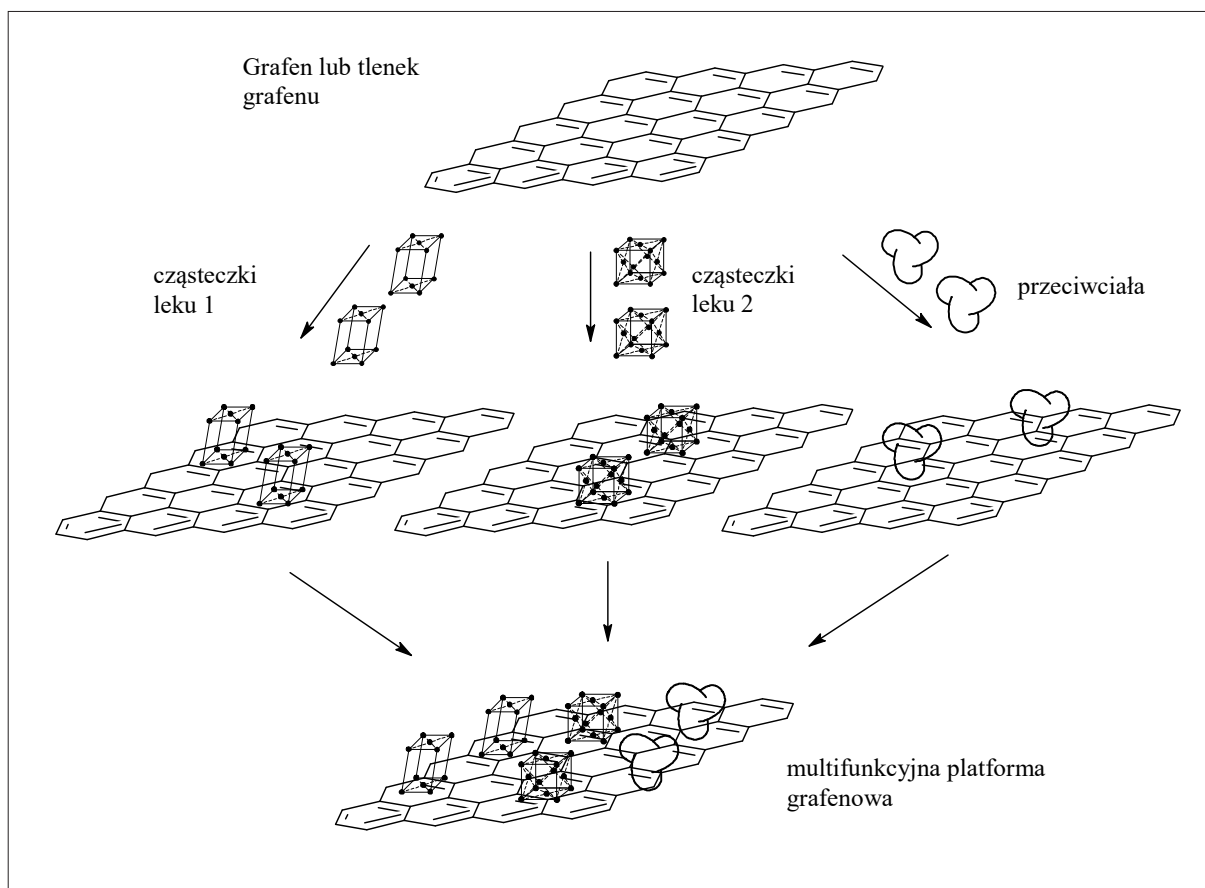
fluorescencyjnych, pozwalających np. na prześledzenie szlaków metabolicznych substancji aktywnej w organizmie. Multifunkcyjność powierzchni grafenu jest szczególnie przydatna w przypadku konieczności zastosowania terapii skojarzonej, zwanej też politerapią lub terapią łączoną, a polegającą na jednoczesnym podawaniu dwóch lub większej liczby środków farmakologicznych. Często konwencjonalna terapia oparta na podawaniu jednego leku jest niewystarczająca, ponieważ bazuje tylko na jednym mechanizmie działania i jednym celu terapeutycznym. Tymczasem przebieg wielu chorób na poziomie molekularnym jest o wiele bardziej skomplikowany. Zastosowanie multifunkcyjnej platformy grafenowej (ryc. 4), będącej nośnikiem jednocześnie wielu substancji czynnych o różnych mechanizmach aktywności farmakologicznej, np. kilku leków, przeciwciał itp., może stanowić podstawę terapii łączonej [15].

W 2010 r., w oparciu o te założenia, otrzymano tlenek grafenu funkcjonalizowany kwasem foliowym (GO-FA), a następnie układ ten posłużył jako nośnik dla cząsteczek jednocześnie dwóch leków przeciwnowotworowych – kamptotecyny (CPT) i doksorubicyny (DOX) [30]. Jednoczesne podanie tych chemioterapeutyków o różnych mechanizmach działania w tej właśnie postaci okazało się bardziej efektywne w porównaniu z rezultatami otrzymanymi w wyniku zastosowania GO-FA-CPT lub GO-FA-DOX oddzielnie.

Innym rozwojowym kierunkiem wykorzystania grafenu jest terapia genowa [6,15]. Może być stosowana w leczeniu wielu zaburzeń genetycznych, wywołujących m.in. chorobę Parkinsona, mukowiscydozę i nowotwory. Pomyślność terapii genowej zależy od efektywnego i bezpiecznego wprowadzenia do komórki wektorów genowych, czyli nośników substancji czynnych, w tym przypadku kwasów nukleinowych, chroniących DNA

przed degradacją pod wpływem enzymu nukleazy. Jedną z metod dostarczania sekwencji genowej do komórki wymagała funkcjonalizacji grafenu za pomocą polimeru kationowego polietylenoiminy (PEI) [28]. Polimer PEI już wcześniej był przedmiotem badań pod kątem jego wykorzystania w roli wektora niewirusowego, ze względu na korzystną budowę jego cząsteczki. Wykazuje silne oddziaływania elektrostatyczne z ujemnie naładowanymi grupami fosforanowymi w RNA i DNA. Ponadto istnieje dogodna możliwość modyfikacji grup funkcyjnych polietylenoiminy, zmierzająca do zwiększenia jej zdolności transfekcji, czyli wprowadzania obcego DNA lub RNA do komórki eukariotycznej oraz podwyższenia selektywności komórkowej i redukcji cytotoksyczności. Niestety niski poziom biokompatybilności i duża toksyczność ograniczyła użycie PEI w czystej postaci w celach biomedycznych. Natomiast zastosowanie układu PEI z tlenkiem grafenu wpływa niezwykle korzystnie na znaczące zmniejszenie toksyczności przy jednoczesnym wzroście poziomu transfekcji. Jednak powszechne użycie grafenu i jego pochodnych w roli wektorów niewirusowych wymaga prowadzenia dalszych badań nad chemizmem jego powierzchni i możliwościami kolejnych modyfikacji cząsteczki [2,4].

Od lat dziewięćdziesiątych ub.w. następuje szybki rozwój inżynierii tkankowej [6,19], będącej interdyscyplinarną dziedziną nauki, łączącą elementy wiedzy medycznej, biotechnologii, bioinformatyki oraz metod inżynierii materiałowej. Głównym celem tej dyscypliny badawczej jest opracowywanie biologicznych zamienników funkcjonalnych dla uszkodzonych tkanek lub całych narządów. Bardzo dobre właściwości mechaniczne grafenu, tzn. duża elastyczność i wytrzymałość, sprzyja użyciu go w roli materiału wzmacniającego m.in. hydrożele i nanowłókna. Zauważono, że wbudowanie tlenku grafenu w strukturę hydrożelu otrzymywanego z alkoholu



Ryc. 4. Schematyczny obraz multifunkcyjnej platformy grafenowej (wg [15] zmodyfikowano)

poliwinylowego, znacznie poprawiło jego odporność na rozciąganie i ściskanie bez jednoczesnej utraty cyto-kompatybilności [29]. W innych badaniach sprawdzono właściwości chitozanowego hydrożelu połączonego z tlenkiem grafenu [12]. Taki układ tworzył się w wyniku reakcji między grupami aminowymi chitozanu a grupami karboksylowymi GO. Otrzymany materiał charakteryzował się widoczną poprawą jego stopnia adhezyności i zwiększoną aktywnością proliferacyjną oraz znacznie lepszymi parametrami mechanicznymi. Zauważalny był także jego mniejszy współczynnik degradacji w porównaniu z czystą postacią chitozanu. Oprócz znakomitych właściwości fizycznych, połączenie chitozan-alkohol poliwinylowy wzbogacone o grafen, wpływa niezwykle korzystnie na gojenie się ran. W jego obecności rany nie ulegają infekcjom bakteryjnym i wzrasta szybkość ich bliznowacenia.

W naukach farmaceutycznych i medycznych możliwości grafenu i jego tlenku nie ograniczają się jedynie do roli nośników związków aktywnych. Substancje te same w sobie w swoisty sposób charakteryzują się właściwościami bakteriostatycznymi i bakterioobójczymi [9,14]. Taki rodzaj działania farmakologicznego jest związany ze swoją budową grafenu. Ostre krawędzie jego płatków (GPs-graphene platelets) przyczyniają się do mechanicz-

nej degradacji błon komórkowych bakterii, tym samym powodując ich zniszczenie. W przypadku tlenku grafenu, destrukcyjnie na drobnoustroje chorobotwórcze oddziaływać może tlen zgromadzony na powierzchni cząsteczki GO i w tej postaci wprowadzany do wnętrza komórek.

Obiecującą, dużą skuteczność bakteriostatyczną i bakterioobójczą wykazuje nanokompozyt grafen-srebro [13]. Wartości MIC dla testowanych szczepów *S. aureus*, *E. coli* i *K. pneumoniae* są zawarte w granicach 0,4–1,6 µg/ml, przy odnotowanej większej podatności bakterii Gram-ujemnych niż bakterii Gram-dodatnich na oceniany materiał. Otrzymany układ może się stać już w nieodległej przyszłości bardzo skuteczną alternatywą wobec dotychczas stosowanych antybiotyków.

Prowadzone są także badania nad aktywnością antynowotworową grafenu. Wstępne wyniki eksperymentów przeprowadzonych przez Jaworskiego i wsp., dotyczących hamowania wzrostu i apoptozy komórek glejaka wielopostaciowego, są niezwykle obiecujące [11]. Glejak charakteryzuje się najwyższym stopniem złośliwości. Cechuje go intensywna migracja oraz szybkie rozprzestrzenianie się w obrębie otaczającej tkanki mózgowej. Zaobserwowano, że grafen w postaci płatków (GPs)

oddziałuje cytotoksycznie na komórki glejaka w stopniu proporcjonalnym do jego stężenia. Stwierdzono, że tworzy cienką, nieprzepuszczalną warstwę wokół komórek rakowych, odcinając je od środowiska zewnętrznego. Dzięki temu zaburzony zostaje transport substancji odżywczych oraz komórkowy układ oddychania mitochondrialnego, powodując zmniejszenie, a w większości przypadków także destrukcję tkanki nowotworowej. Jednocześnie nie zaobserwowano negatywnego oddziaływania na zdrowe tkanki organizmu. Być może badania nad tą metodą zostaną rozszerzone na inne rodzaje nowotworów, a ich ewentualne pozytywne rezultaty przyczynią się do znaczącego postępu w skutecznym zwalczaniu tej choroby.

Wśród innych zastosowań biomedycznych grafenu wymienić należy możliwość wdrożenia technologii wytwarzania implantów, które mogą być pokryte warstwą ochronną, wykonaną z tego materiału [21]. Wykorzystuje się to, że grafen jest materiałem o bardzo dużej twardości, odpornym na ścieranie i dodatkowo o działaniu bakteriobójczym. Ochronna powłoka grafenowa otaczająca części metalowe protezy zabezpiecza je przed niepożądaną korozją zachodzącą pod wpływem występujących w organizmie enzymów i kwasów [1]. W wyniku ich działania metal ulega utlenieniu za

pośrednictwem reakcji elektrochemicznych uwalniając swoje jony mogące wywoływać objawy toksyczne, alergię, zapalenia lub prowadzić do powstania nowotworu. Oprócz wymienionych niekorzystnych skutków biologicznych, korozja powoduje uszkodzenia i szybsze zużywanie się metalowych części implantu przyczyniając się do konieczności jego niezwłocznej wymiany [10]. Badania *in vivo* nad grafenem pod kątem jego właściwości izolacyjnych są niezwykle obiecujące. Wykazano, że pokrycie części metalowych protez warstwą grafenową skutecznie zapobiega uwalnianiu jonów metalu do organizmu [31].

Unikalna struktura i kształt cząsteczki grafenu sprawiają, iż związane z nim są niezwykle szerokie możliwości zastosowań technicznych oraz biomedycznych. Dzięki zastosowaniu grafenu w medycynie i farmacji, możliwe jest przełamanie wielu barier, które hamowały prawidłowy proces leczenia, powodując przedłużanie się terapii lub wywołując konieczność działania skrajnie inwazyjnego. Należy mieć nadzieję, że dalszy postęp w rozwoju badań nad grafenem przyczyni się w perspektywie do kolejnych utylitarnych wdrożeń oraz pozwoli rozwinąć w pełni potencjalne, nie tylko farmaceutyczne aktywności tej obiecującej cząsteczki.

PIŚMIENICTWO

- [1] Caicedo M.S., Pennekamp P.H., McAllister K., Jacobs J.J., Hallab N.J.: Soluble ions more than particulate cobalt-alloy implant debris induce monocyte costimulatory molecule expression and release of proinflammatory cytokines critical to metal-induced lymphocyte reactivity. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2010; 93: 1312-1321
- [2] Chen B., Liu M., Zhang L., Huang J., Yao J., Zhang Z.: Polyethyleneimine-functionalized graphene oxide as an efficient gene delivery vector. *J. Mater. Chem.*, 2011; 21: 7736-7741
- [3] Faghihi S., Gheysour M., Karimi A., Salarian R.: Fabrication and mechanical characterization of graphene oxide-reinforced poly (acrylic acid)/gelatin composite hydrogels. *J. Appl. Phys.*, 2014; 115: 83513
- [4] Feng L., Zhang S., Liu Z.: Graphene based gene transfection. *Nanoscale*, 2011; 3: 1252-1257
- [5] Geim A.K., Novoselov K.S.: The rise of graphene. *Nat. Mater.*, 2007; 6: 183-191
- [6] Goenka S., Sant V., Sant S.: Graphene-based nanomaterials for drug delivery and tissue engineering. *J. Control. Release*, 2014; 173: 75-88
- [7] Gollavelli G., Ling Y.C.: Multi-functional graphene as an *in vitro* and *in vivo* imaging probe. *Biomaterials*, 2012; 33: 2532-2545
- [8] Hebda M., Łopata A.: Grafen – materiał przyszłości. *CzT*, 2012; 22: 45-53
- [9] Hu W., Peng C., Luo W., Lv M., Li X., Li D., Huang Q., Fan C.: Graphene-based antibacterial paper. *ACS Nano*, 2010; 4: 4317-4323
- [10] Jacobs J.J., Hallab N.J.: Loosening and osteolysis associated with metal-on-metal bearings: a local effect of metal hypersensitivity? *J. Bone Joint Surg.*, 2006; 88: 1171-1172
- [11] Jaworski S., Sawosz E., Grodzik M., Winnicka A., Prasek M., Wierzbicki M., Chwalibog A.: In vitro evaluation of the effects of graphene platelets on glioblastoma multiforme cells. *Int. J. Nanomedicine*, 2013; 8: 413-420
- [12] Jayakumar R., Prabakaran M., Sudheesh Kumar P.T., Nair S.V., Tamura H.: Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnol. Adv.*, 2011; 29: 322-337
- [13] Kędziora A., Gerasymchuk Y., Sroka E., Bugla-Płokońska G., Doroszkiewicz W., Rybak Z., Hreniak D., Stręk W.: Wykorzystanie materiałów opartych na częściowo zredukowanym tlenku grafenu z nanocząstkami srebra jako środków bakteriostatycznych i bakteriobójczych. *Polym. Med.*, 2013; 43: 129-134
- [14] Li J., Wang G., Zhu H., Zhang M., Zheng X., Di Z., Liu X., Wang X.: Antibacterial activity of large-area monolayer graphene film manipulated by charge transfer. *Sci. Rep.*, 2014; 4: 4359
- [15] Liu J., Cui L., Losic D.: Graphene and graphene oxide as new nanocarriers for drug delivery applications. *Acta Biomater.*, 2013; 9: 9243-9257
- [16] Liu K., Zhang J.J., Cheng F.F., Zheng T.T., Wang C., Zhu J.J.: Green and facile synthesis of highly biocompatible graphene nanosheets and its application for cellular imaging and drug delivery. *J. Mater. Chem.*, 2011; 21: 12034-12040
- [17] Liu Z., Robinson J.T., Sun X., Dai H.: PEGylated nanographene oxide for delivery of water insoluble cancer drugs. *J. Am. Chem. Soc.*, 2008; 130: 10876-10877
- [18] Lu Y.J., Yang H.W., Hung S.C., Huang C.Y., Li S.M., Ma C.C., Chen P.Y., Tsai H.C., Wei K.C., Chen J.P.: Improving thermal stability and efficacy of BCNU in treating glioma cells using PAA-functionalized graphene oxide. *Int. J. Nanomedicine*, 2012; 7: 1737-1747
- [19] MacNeil S.: Biomaterials for tissue engineering of skin. *Mater. Today*, 2008; 11: 26-35

- [20] Novoselov K.S., Geim A.K., Morozov S.V., Jiang D., Zhang Y., Dubonos S.V., Grigorieva I.V., Firsov A.A.: Electric field effect in atomically thin carbon films. *Science*, 2004; 306: 666-669
- [21] Prasai D., Tuberquia J.C., Harl R.R., Jennings G.K., Rogers B.R., Bolotin K.I.: Graphene: corrosion-inhibiting coating. *ACS Nano*, 2012; 6: 1102-1108
- [22] Shan C., Wang L., Han D., Li F., Zhang Q., Zhang X., Niu L.: Polyethyleneimine-functionalized graphene and its layer-by-layer assembly with Prussian blue. *Thin Solid Films*, 2013; 534: 572-576
- [23] Shan C., Yang H., Han D., Zhang Q., Ivaska A., Niu L.: Water-soluble graphene covalently functionalized by biocompatible poly-L-lysine. *Langmuir*, 2009; 25: 12030-12033
- [24] Singh V., Joung D., Zhai L., Das S., Khondaker S.I., Seal S.: Graphene based materials: Past, present and future. *Prog. Mat. Sci.*, 2011; 56: 1178-1271
- [25] Yang K., Wan J., Zhang S., Zhang Y., Lee S.T., Liu Z.: *In vivo* pharmacokinetics, long-term biodistribution, and toxicology of PEGylated graphene in mice. *ACS Nano*, 2011; 5: 516-522
- [26] Yang X., Zhang X., Liu Z., Ma Y., Huang Y., Chen Y.: High-efficiency loading and controlled release of doxorubicin hydrochloride on graphene oxide. *J. Phys. Chem. C*, 2008; 112: 17554-17558
- [27] Yao J., Sun Y., Yang M., Duan Y.: Chemistry, physics and biology of graphene-based nanomaterials: new horizons for sensing, imaging and medicine. *J. Mater. Chem.*, 2012; 22: 14313-14329
- [28] Zhang L., Lu Z., Zhao Q., Huang J., Shen H., Zhang Z.: Enhanced chemotherapy efficacy by sequential delivery of siRNA and anticancer drugs using PEI-grafted graphene oxide. *Small*, 2011; 7: 460-464
- [29] Zhang L., Wang Z., Xu C., Li Y., Gao J., Wang W., Liu Y.: High strength graphene oxide/polyvinyl alcohol composite hydrogels. *J. Mater. Chem.*, 2011; 21: 10399-10406
- [30] Zhang L., Xia J., Zhao Q., Liu L., Zhang Z.: Functional graphene oxide as a nanocarrier for controlled loading and targeted delivery of mixed anticancer drugs. *Small*, 2010; 6: 537-544
- [31] Zhang W., Lee S., McNear K.L., Chung T.F., Lee S., Lee K., Crist S.A., Ratliff T.L., Zhong Z., Chen Y.P., Yang C.: Use of graphene as protection film in biological environments. *Sci. Rep.*, 2014; 4: 4097
- [32] Zhou T., Zhou X., Xing D.: Controlled release of doxorubicin from graphene oxide based charge-reversal nanocarrier. *Biomaterials*, 2014; 35: 4185-4194

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.