

KEMIAN LAITOS
JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO

Grafeenin käyttö insuliinin kuljettimena sekä tunnistimena

Kandidaatintutkielma ja
tutkimusprojekti
14.12.2023
Samu Saarainen



JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO

Tiivistelmä

Kirjallisuuskatsaus käsittelee grafeenin ja grafeenimateriaalien soveltuvuutta insuliinin kuljettimena. Insuliinia ja diabetesta käydään läpi lyhyesti. Insuliinihormonin rooli kehossa sekä insuliiniresistenssin vaikutus ovat diabetesta tarkastellessa tärkeitä. Diabetesta hoidetaan lisäämällä kehoon insuliinia.

Grafeeni on kaksiulotteinen hiilimateriaali, jolla on monipuolisia ominaisuuksia, esimerkiksi suuri pinta-ala sitoutumiseen, erinomainen mekaaninen lujuus sekä hyvä sähkön- ja lämmönjohtavuus. Vertaamalla grafeenin, grafeenioksidin sekä pelkistetyn grafeenin ominaisuuksia, saadaan ymmärrys grafeenimateriaalien soveltuvuudesta biologiseen ympäristöön. Grafeenia voidaan muokata kovalenttisesti tai ei-kovalenttisesti, lisäten liukoisuutta biologisiin nesteisiin. Grafeenin pintamuokkaus myös vähentää materiaalin toksisuutta. Grafeenioksidia käytetään lääkeaineiden kuljettimena soluihin merkittävässä määrin. Tutkielman lopuksi tarkastellaan grafeenioksidin pintakäsittelyä biologisen yhteensopivuuden saavuttamiseksi ja grafeenimateriaalien potentiaalia insuliinin kuljettimena.

SISÄLLYSLUETTELO

TIIVISTELMÄ	iii
LYHENNELUETTELO	v
1 JOHDANTO	1
2 GRAFEENIMATERIAALIT	2
2.1 GRAFEENI	2
2.2 GRAFEENIOKSIDI JA PELKISTETTY GRAFEENI	3
3 INSULIINISTA TAUSTATIETOA	5
3.1 INSULIINI	5
3.2 DIABETES	6
4 KEMIALLINEN VUOROVAIKUTUS	8
4.1 KOVALENTTINEN MUOKKAUS	10
4.2 EI KOVALENTTINEN MUOKKAUS	10
5 BIOLOGINEN YHTEENSOPIVUUS	12
5.1 BIOLOGINEN YHTEENSOPIVUUS	12
5.2 SYTOTOKSISUUS	13
6 YHTEENVETO	15
KIRJALLISUUSLUETTELO	16

Lyhenteet

DOX	dokсорubisiini
GO	Grafeenioksidi
PEG	Polyetyyliyglykoli
rGO	Pelkistetty grafeenioksidi

1. Johdanto

Grafeeni on ollut löytämisestään asti lupaava materiaalit lukuisille tulevaisuuden sovelluksille. Grafeeni koostuu sp²-hybridisoituneista hiiliatomeista, jotka ovat sitoutuneet kaksiulotteiseksi (2D) levyksi, joka on yhden atomin paksuinen. Grafeeni on hiilen yksi allotrooppi (rakennemuoto). Grafiittia, joka on useamman grafeenilevyn muodostama kerrosrakenne, löytyy lyijykynästä eli jokainen on ainakin kerran elämässään kohdannut tämän.¹

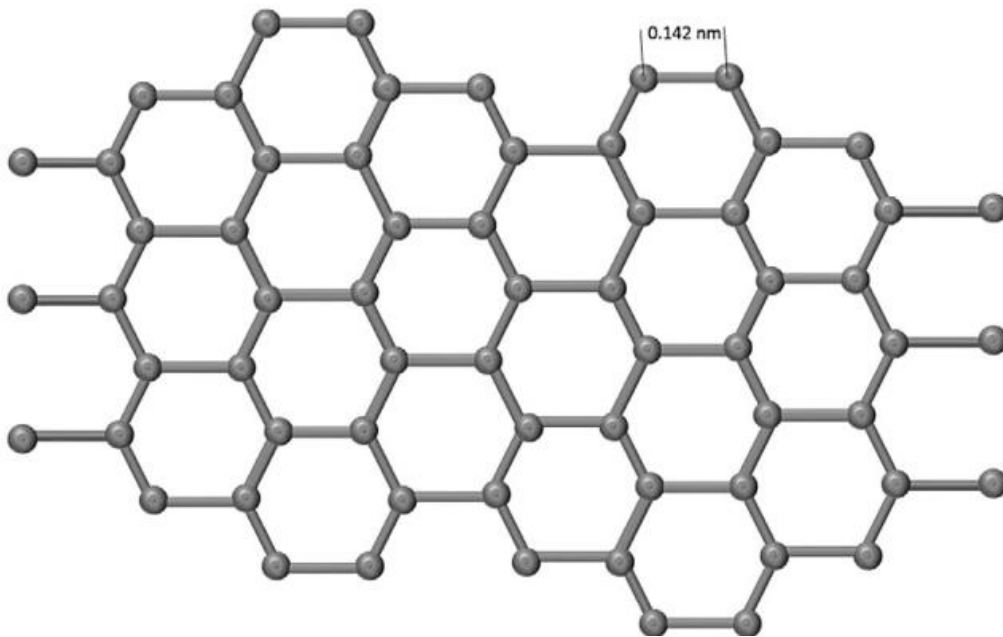
Insuliini on elimistön hormoni, jota haima erittää kehoon. Sen tehtävä on varastoida sokeria kehon kudoksiin, esimerkiksi rasvakudokseen. Insuliini estää verensokeria kohoamasta liian korkealle ja insuliinin puutos aiheuttaa pitkäaikaisena diabetesta. Diabetes on suomalainen kansantauti. Siitä tunnetaan useampia variantteja, joista tunnetuimpia ovat ensimmäisen tyypin diabetes, toisen tyypin diabetes sekä raskausdiabetes. Diabetes on itsessään ryhmä sairauksia, jotka kaikki vaikuttavat haiman insuliinintuotantoon. Tämän takia sairastavilla on kohonnut verensokeri. Diabetesta kutsutaankin kansankielellä sokeritaudiksi. Suomessa on yli puoli miljoonaa diabeetikkoa joista >75 % sairastaa tyypin 2 diabetesta. Diabetesta todetaan noin 20 000 tapausta vuodessa. Hoitaminen tapahtuu insuliinilisäyksillä, joilla kontrolloidaan verensokerin tasoa. Insuliinia lisätään ennen ja jälkeen ruokailun eli normaalilla ruokavaliolla näitä pistoksia on monta päivässä. Diabetekseen myös liittyy lisäsairauksia, jotka johtuvat pitkäaikaisesti kohonneesta verensokerista. Näitä sairauksia ovat esimerkiksi silmän verkkokalvosairaus, munuaissairaus sekä ääreishermoston häiriö. Diabetes myös altistaa valtimotaudeille. Taloudelle diabeteksen sekä sen lisäsairauksen hoitokulut ovat merkittäviä.²

Grafeenia voidaan käyttää insuliinin kuljettimena sekä tunnistimena ihmiskehossa. Insuliinin tunnistaminen mahdollistaisi veren insuliinipitoisuuden pitämisen tasaisena. Kuljettimena käyttäminen tarkoittaisi sitä, että insuliinia voitaisiin pitää kehossa pidemmän ajan ja tasaisesti vapauttaa sitä kehoon. Tämä tarkoittaa vähemmän insuliinipistoksia diabeteksestä sairastavalle ja tämän takia myös helpottaa elämää.

2. Grafeenimateriaalit

2.1 Grafeeni

Grafeeni on kaksiulotteinen materiaali, joka koostuu pelkästään hiiliatomeista ja on vain yhden atomin paksuinen. Se on järjestäytynyt hiiliverkosto ja johtaa hyvin lämpöä sekä sähköä. Grafiitissa useampi grafeenilevy muodostaa päällekkäin ollessaan grafiitin. Grafeenilla on useita käyttötarkoituksia sen monipuolisten ominaisuuksiensa takia lääketieteestä elektroniikkaan. Grafeeni on myös puolijohde. Kuvassa 1 näkyy puhtaan grafeenin levymäinen muoto.^{1,3,4}



Kuva 1. Grafeenin atomirakenne ja sidospituus.⁴ This figure was published in Phiri, J.; Gane, P. ja Maloney, T. C., General overview of graphene: Production, properties and application in polymer composites, *Mater. Sci. Eng. B Solid-State Mater. Adv. Technol.*, **2017**, 215, 9–28 Copyright Elsevier.

Vapaat π -elektronit muodostavat grafeeniin delokalisoituneen elektronikentän molemmiin puolin grafeenilevyä. Grafeenin kemialliset ominaisuudet johtuvat näistä vapaista π -elektroneista, joista

muodostuu delokalisoituneiden elektronien verkko. Tämä mahdollistaa substituutioreaktion elektrofiilien kanssa, mutta ei nukleofiilisiä reaktioita. sp^2 -hybridisoituneiden hiiliatomien tasomainen rakenne antaa molekyyille mahdollisuuden liittyä rakenteeseen ja muuntaa täten sp^2 -hybridisoituneista hiiliatomeista sp^3 -hybridisoituneita. Tämä johtaa rakenteen vääristymiseen. Puhdas grafeenilevy on kemiallisesti huonosti reagoiva, mutta hydrofobisilla vuorovaikutuksilla π -elektronipinta mahdollistaa kovalenttisen ja ei-kovalenttisen muokkauksen. Nämä mahdollistavat huonosti vereen sekoittuvien lääkeaineiden siirtämisen puuttumatta niiden toimivuuteen tai potenssiin.^{1,3}

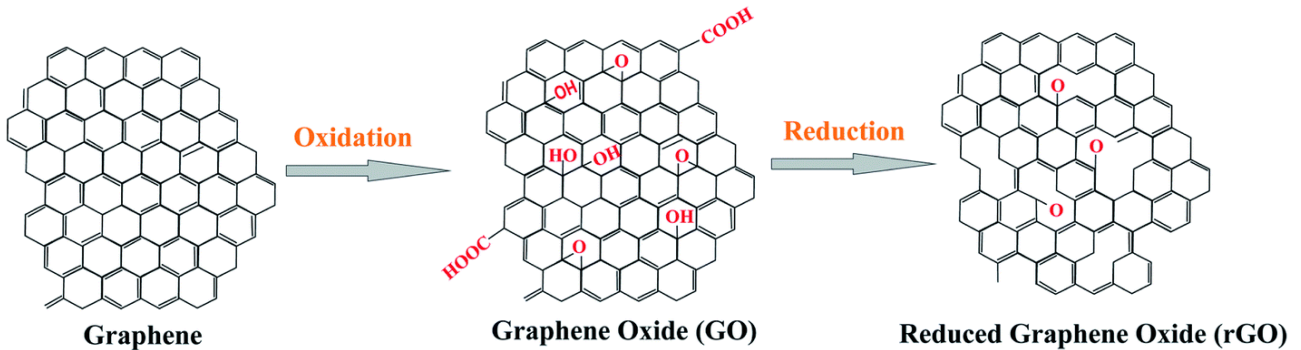
Grafeenin hyvät mekaaniset ominaisuudet johtuvat useasta syystä. Grafeenin vetolujuus on erinomainen johtuen hiiliatomien sidosten pituudesta (0,142 nm). Grafeenin lämmönjohtavuus ja elektroniset ominaisuudet ovat erinomaiset. Lämmönjohtavuus johtuu siitä, että grafeenin kidehilassa on verrattain vähän atomeita ja täten sen tiheys on pieni. Sama ilmiö vaikuttaa myös sähkönjohtavuuteen ja kun grafeenia lähdetään muokkaamaan hapettamalla. Sähkönjohtavuus heikkenee hapettumisen jatkuessa. Grafeeni absorboi 2.3 % valkoisesta valosta, joka läpäisee grafeenilevyn. Tämä efekti on hyödyllinen optisissa sovelluksissa. Lisäämällä grafeenikerroksia, tämä efekti on kumulatiivinen.^{1,3}

2.2 Grafeenioksidi ja pelkistetty grafeeni

Erona grafeeniin grafeenioksidissa on funktionaalisia ryhmiä, jotka sisältävät happea. Näitä ryhmiä esiintyy grafeenioksidin rakenteen keskellä sekä sen reunoilla. Funktionaalisia ryhmiä ovat karbonyyli-, hydroksyyli- tai karboksyyli-ryhmä. Funktionaalisten ryhmien lisäys myös muuttaa sp^2 -hybridisoituneita hiiliatomeita sp^3 -hybridisoiduksi ja happea sisältävät ryhmät vaikuttavat grafeenin ominaisuuteen johtaa sähköä. Funktionaaliset ryhmät lisäävät hydrofiilisyyttä ja siten vesiliukoisuutta. Vesiliukoisuus mahdollistaa käytön vettä sisältävissä ympäristöissä.

Pelkistetty grafeeni on grafeenioksidia, jota on kemiallisesti käsitelty, jotta saadaan happea sisältävien funktionaalisten ryhmien määrä alhaisemmaksi. Nämä ominaisuudet näkyvät myös kuvassa 2. Kemiallisen käsittelyn takia ominaisuudet ovat puhtaan grafeenin ja grafeenioksidin väliltä ja hyvin vaihtelevia. Taulukossa 1 näemme, että grafeenimateriaalin valmistustavalla on vaikutus

siihen millaisia ominaisuuksia kyseinen materiaali omaa. Ominaisuuksissa on paljon eroja grafeenin, grafeenioksidin sekä pelkistetyt grafeenin välillä.



Kuva 2. Grafeenin pelkistys grafeenioksidiksi, jonka jälkeen uudelleen pelkistetään pelkistetyksi grafeenioksidiksi.⁵ Copyright license CC BY-NC 3.0 DEED

Taulukko 1. Grafeenin, grafeenioksidin sekä pelkistetyt grafeenin ominaisuudet. Taulukossa oleva haarukka vastaa kirjallisuusarvojen suurinta ja pienintä arvoa. Lähteet on laitettu hakasulkeisiin selvyyden vuoksi.

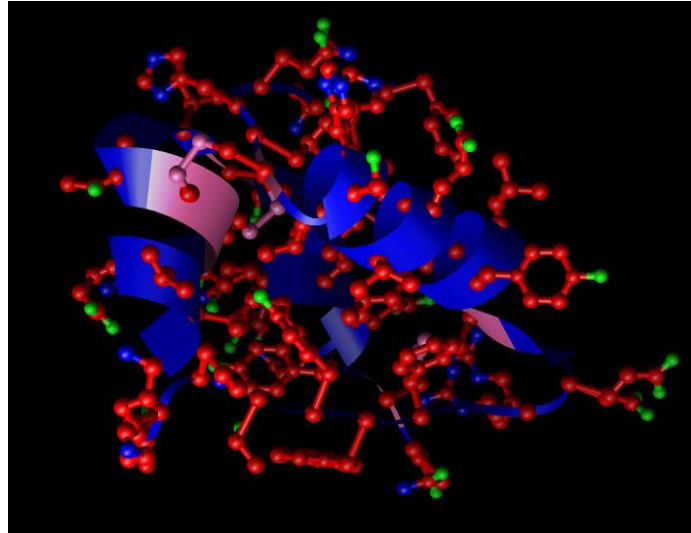
Ominaisuus	Grafeeni	Grafeenioksidi	Pelkistetty grafeeni
Mekaaninen vahvuus	1000 Gpa [6]	220 Gpa [6]	Ei tiedossa.
Sähkönjohtavuus [7]	$6 \times 10^8 \frac{S}{cm}$	$5,7 \times 10^{-6} \frac{S}{cm}$	$10^2 - 10^5 \frac{S}{cm}$
Lämmönjohtavuus	$5000 \frac{W}{mK}$ [7]	$0,5 - 2000 \frac{W}{mK}$ [7,6]	$0,14 - 2275 \frac{W}{mK}$ [6,7]
Optinen läpäisykyky	97,7 % [7]	Ei tiedossa.	60-90 % [7]
Hydrofobisuus	Hydrofobinen	Hydrofiilinen	Hydrofiilinen
Pinta-ala [7]	$2630 \frac{m^2}{g}$	$736,6 \frac{m^2}{g}$	$466 - 758 \frac{m^2}{g}$

3. TAUSTATIETOA INSULIINISTA

3.1 Insuliini

Insuliini on hormoni, jonka tehtävänä on säädellä energian tasoa sekä ravinteiden määrää solussa. Insuliini koostuu useasta yhteen liittyneestä aminohaposta eli yhdestä pitkästä polypeptidistä. Soluissa insuliini viestii aloittamaan rasvakudoksen synteesiä glukoosista sekä proteiinien synteesiä. Insuliini sitoo sokereita rasvoiksi kudoksissa ja tasoittaa täten ravinnosta johtuvaa verensokerin nousua. Insuliinin konsentraation kasvaessa glukoosin konsentraatio veressä vähenee, sillä keho pyrkii pitämään verensokerin mahdollisimman vakaana.⁸

Insuliiniresistenssi on solun reaktio insuliinin määrän kohoamiseen. Resistenssi vähentää insuliinin vaikutuksia. Insuliiniresistenssi vaikuttaa eri kudoksissa eri tavalla mutta yleinen reaktio kudoksissa on glukoosin vapautuminen rasvakudoksesta ja täten verensokerin kohoaminen. Resistenssin alkamiseen vaikuttavat monet syyt, muun muassa solun insuliinireseptorin häiriö tai reseptoreiden määrän muutos, glukoosin kuljetusproteiinin määrän muutos tai glukoosin aineenvaihdunnan häiriö.⁴ Osa näistä syistä on geneettisesti periytyviä ja osa taas elämäntavasta johtuvia.^{3,5} Resistenssi voi kehittyä liiallisella rasvaisen ravinnon syömisellä, jolloin perimästä tuleva haiman β -solujen heikkeneminen laukaisee insuliinin erittymisen häiriön.⁹



Kuva 4. Insuliinin rakenne. Siniset kierteet ovat proteiinin α -helikaalista rakennetta. Punainen väri kuvaa hiiltä, vihreä happea, sininen typpeä ja vaaleanpunainen rikkiä. Kuva on alkuperin tehty käyttäen Chimera ohjelmistoa (the Computer Graphics Laboratory, University of California, San Francisco (supported by NIH P41 RR-01081)). CC BY-SA 3.0 DEED

3.2 Diabetes

Diabetes on aineenvaihduntasairaus, jossa insuliinia ei erity tarvittavaa määrää kehoon häiriön takia. Tästä kehittyy kierre, jossa nouseva glukoosin määrä veressä aiheuttaa isompaa vahinkoa ja täten insuliinia erittyy vielä vähemmän. Diabetestyyppejä on olemassa useampi, ja oireet vaihtelevat tyyppin mukaisesti. Tässä tutkielmassa käsitellään ensimmäisen ja toisen tyyppin diabetesta.⁹

Ensimmäisen tyyppin diabeteksen oireet johtuvat β -solujen autoimmuunisairaudesta, jolloin haiman insuliinin tuotanto asteittain loppuu. Autoimmuunisairaus ei välittömästi johda diabetekseen, vaan diabetes ilmenee, kun terveitä soluja on noin viidesosa jäljellä normaalista.² Insuliinin tuotannon loppuminen johtaa siihen, että ravinnosta saatu glukoosi ei varastoidu rasvaksi ja keho alkaa käyttämään rasvakudosta ravinteena. Rasvakudoksen käyttäminen ravinteena johtaa veren pH arvon laskuun. Ketoasidoosi eli happomyrkytys muodostuu insuliinin puutteesta ja johtaa ensin hengenvaaralliseen tilaan ja hoitamattomana koomaan päivän kuluessa.¹⁰ Kakkostyyppin diabeteksessa insuliinin tuotanto heikkenee ja glukoosin taso veressä kasvaa hitaasti vuosien aikana. Diabetes todetaan yleisesti lisäsairauden kautta, sillä toisen tyyppin diabetes ei oireile vahvasti. Toisen

tyypin diabetes altistaa useammalle lisäsairaudelle. Näitä lisäsairauksia ovat esimerkiksi verisuonisairaudet, munuaissairaus ja ääreishermoston häiriö.^{2,10,11}

Diabeteksen hoito tapahtuu lisäämällä insuliinia kehoon keinotekoisesti glukoosin määrää tasaamiseksi veressä. Lisäystapoja on useita, lyhytkestoisia sekä pidempiaikaisia.^{10,11} Näitä ovat esimerkiksi insuliinikynä ja insuliinipumppu. Glukoosin määrään vaikuttaa insuliinin erityis, ruokavalio, liikunta ja muut sairaudet. Ensimmäisen tyypin diabeteksessä insuliinin keinotekoinen lisäys on tärkeää loppuelämän, toisen tyypin diabeteksessä insuliinia ei tarvita jatkuvasti. Toisen tyypin diabeteksen alkuvaiheessa omat elintavat voidaan muokata siten, että keho pyrkii erittämään itse insuliinia tarvittavan määrän. Yleensä tämä tarkoittaa liikunnan lisäämistä ja ruokavalion korjaamista. Toisen tyypin diabetesta voidaan myös hoitaa insuliinin lisäyksillä kehoon.^{2,11} Molemmissa diabetestyypeissä muiden lääkeaineiden käyttö insuliinin lisäksi yleistyy hoidon pitkittyessä. Näillä lääkkeillä hoidetaan esimerkiksi verenpainetta ja kolesterolin määrää veressä.²

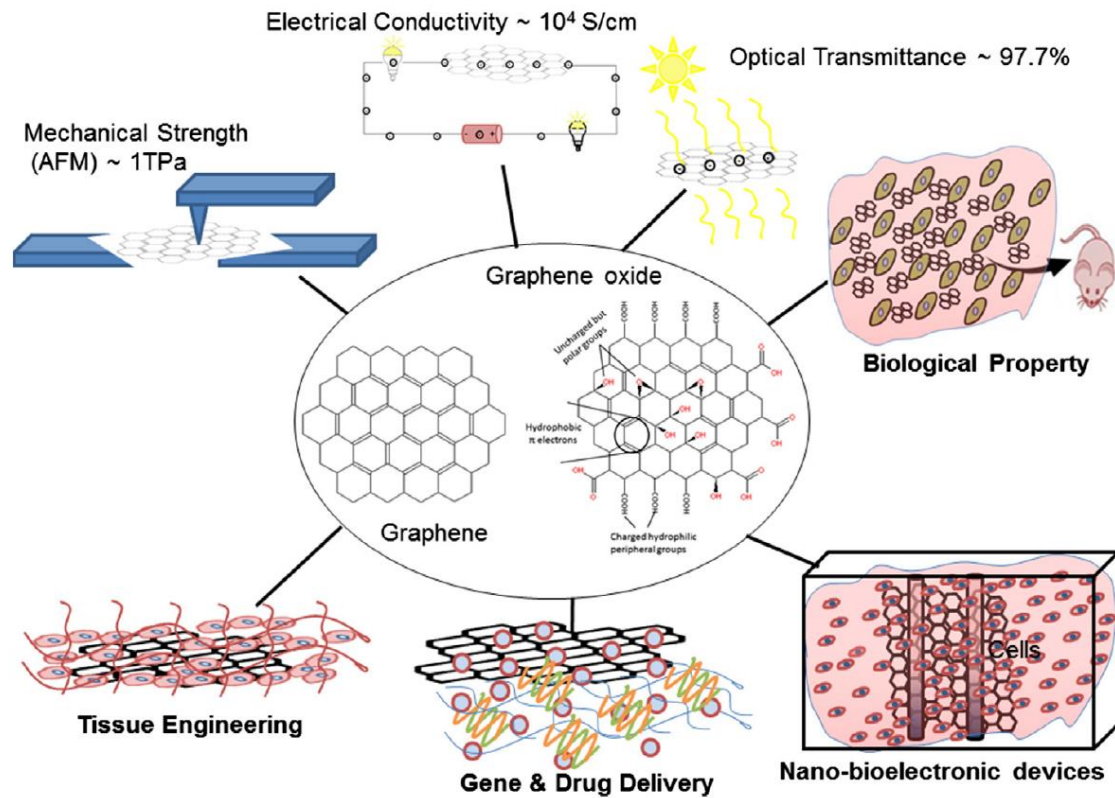
Ainoastaan toisen tyypin diabetesta on mahdollista ehkäistä. Ensimmäisen tyypin diabetesta ei voida nykytiedolla ehkäistä. Ensimmäisen tyypin β -solujen autoimmuunisairautta pyritään korjaamaan, mutta tutkimustulokset ovat olleet negatiivisia.⁹ Toisen tyypin diabeteksen ehkäisy on kiinni erittäin paljon elintavoissa. Lihavuus on iso riskitekijä toisen tyypin diabeteksen muodostumisessa. Monipuolisemman ravinnon saaminen vähentää elimistön mahdollisuutta kehittää insuliiniresistenssiä. Liikunta on tapa saada keho kuluttamaan enemmän energiaa, ja tällä voidaan muokata glukoosin määrää veressä. Laihduttamisen on todettu vähentävän riskiä sairastaa diabetesta. Laihduttamisen mukana suositellaan ravinnon kaloreiden vähentämistä.² Laihdutus ja kalorien vähentäminen toimii paremmin kuin lääkeaineilla ehkäisty diabetes.¹¹

4. Grafeenin muokkaus

Grafeeni ei perusolomuodossaan ole hydrofiilinen ja täten se ei ole biologisiin ympäristöihin sopeutuva. Tämän takia grafeenia muokataan sopivammaksi biologisiin ympäristöihin, kuten ihmiskehoon. Muokkaaminen on tärkeää, sillä grafeeni ei liukene hyvin vettä sisältäviin nesteihin, kuten vereen. GO hydrofiilisenä liukenee veteen hyvin, mutta biologisessa ympäristössä negatiiviset varaukset vaikuttavat fysiologisiin puskureihin.^{12,13}

Grafeenin muokkaus voi tapahtua kovalenttisesti tai ei-kovalenttisesti. Kovalenttisesta muokkauksesta esimerkkejä ovat nukleofiilinen substituutio, elektrofiilinen additio sekä kondensaatio- ja additioreaktio. Pintamuokkauksen mahdollistaa esiintyvät epäpuhtaudet sekä virheet grafeenin muodostuksessa. Muodostusprosessissa olevat virheet voivat myös vaikuttaa toksisuuteen ihmiskehossa. Grafeenin kaksiulotteisuus vaikuttaa biologiseen yhteensopivuuteen ja lisäämällä funktionaalisia ryhmiä muoto muuttuu kolmiulotteiseksi. Grafeenilevyn kovuus aiheuttaa solukuolemia rikkomalla solukalvoa.¹²

Grafeenin eri muotoja voidaan käyttää DNA:n, RNA:n, proteiinien ja pienten lääkeainemolekyylien, kuten insuliinin kuljetukseen. Grafeenin hyödyllisiä ominaisuuksia erilaisten yhdisteiden kuljetukseen ovat suuri pinta-ala, tasojen määrä ja lateraaliset dimensiot. Pinta-alaltaan laajaan grafeeniin voidaan sitoa enemmän molekyyliä kuin muihin vastaaviin nanomateriaaleihin. Useamman levykerroksen omaava grafeeni pystyy läpäisemään solukalvon paremmin, joten sen jäykkyys tulee hyödyksi. Kuvassa 3 on nähtävissä grafeenin ominaisuuksia, joita muokkaamalla voidaan vaikuttaa käyttösoveltuvuuteen.



Kuva 3. Grafeenin ja grafeenioksidin ominaisuuksia (ylhällä) sekä biologisia sovelluksia (alhaalla).⁶ This figure was published in Goenka, S., Sant, V., & Sant, S. Graphene-based nanomaterials for drug delivery and tissue engineering. *J. Controlled Release*, **2014**, 173(1), 75–88. Copyright Elsevier

4.1 Kovalenttinen muokkaus

Grafeenin kovalenttinen muokkaus on mahdollista, koska grafeenista löytyy epäpuhtauksia sekä virheitä. Nämä virheet muodostuvat grafeenin valmistuksessa. Muokkaustapoja on erilaisia ja keinoja muokkaukseen ovat nukleofiilinen substituutio, elektrofiilinen additio, kondensaatio- sekä additioreaktio. Nukleofiilinen substituutio toimii esimerkiksi grafeenioksidin epoksiryhmien ja amiinien välisessä reaktiossa. Reaktio itsessään on helppo ja tapahtuu huoneenlämmössä. Taulukossa 2 on esitetty suurin osa kovalenttisista sidoksista, jotka hyödyttävät grafeenin toimintaa biologisissa ympäristöissä.

Elektrofiilinen additio vaihtaa vetyatomin elektrofiiliin. Reaktiota on tehty diatsoniumsuolakemialla. Merkittävää on se, että nämä muokkaukset voivat tehdä GO:sta R-GO:n ja täten muokata grafeenin ominaisuuksia vielä enemmän.^{3,7,12}

4.2 Ei-kovalenttinen muokkaus

Ei-kovalenttisiin muokkausmenetelmiin kuuluu yhdisteiden kiinnittäminen grafeenin pintaan heikkojen vuorovaikutusten, kuten Van der Waals -voimien, vetysidosten, koordinaatiosidosten, elektrostaattisten vuorovaikutusten tai π - π vuorovaikutusten, avulla. Ei-kovalenttisiä vuorovaikutuksia voidaan hyödyntää monella eri tavalla, esimerkiksi adsorboimalla pinta-aktiivisia aineita, vuorovaikutuksella polymeerien, biomolekyylien ja porfiinien kanssa.¹² Grafeenin kanssa on käytetty myös pieniä orgaanisia molekyyliä, kuten pyreeniä joka muodostavat π - π vuorovaikutusta grafeenin kanssa. GO:n kanssa on käytetty polyeteeni-imiiniä (PEI), joka muodostaa kompleksin GO-PEI.^{3,12} R-GO:iin sekä GO:iin voidaan lisätä nanopartikkeleita, mikä sitten muodostaa komposiittimateriaalin. Yhdistelmällä on magneettisia sekä optisia ominaisuuksia, joita voidaan käyttää lääkkeiden kuljettimena.^{7,12}

Ei-kovalenttisesta muokkaustyylistä löytyy huonoja puolia. Esimerkiksi adsorptio GO:n pinnalle ei ole yhtä vahvaa kuin kovalenttinen sitoutuminen, mikä johtaa systeemin mahdollisiin muutoksiin

ympäristön vaikutuksesta. Ei-kovalenttiset sidokset voivat myös johtaa pienempään määrään sitoutuvia aromaattisia lääkkeitä, koska pintamuokkaus pienentää konjugoitunutta aluetta.¹²

Taulukko 2. Grafeenin muokkausmenetelmät.¹²

Muokkausmenetelmä	Reagenssi tai mekanismi
Kovalenttinen	Polyetyleeniglykoli (PEG)
	Polyakryylinen happo (PAA)
	Poly-L-lysiini (PLL)
	Polyvinyylialkoholi (PVA)
	Polyeteeni-imiini (PEI)
	Poly(N-isopropyyliakryyliamidi)
	Polysebaasiinihappoanhydridi
	Amfifiilinen kopolymeeri
	Sulfonihappo ja aminoryhmä
	Dekstraani
	Kitosaani
	Gelatiini
Ei kovalenttinen	π - π vuorovaikutus
	Van der Waals -voimat
	Elektrostaattinen
	Vetyhidokset
	Koordinaatiosidos

5. Biologinen yhteensopivuus

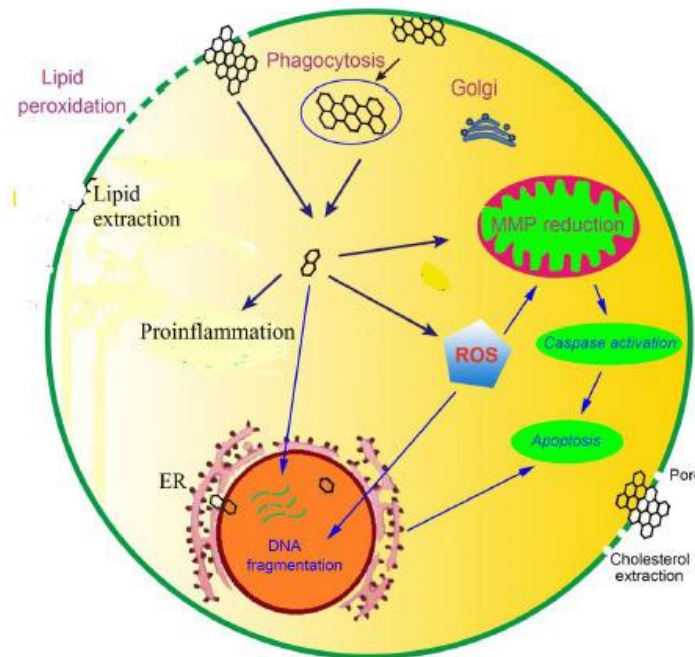
5.1 Biologinen yhteensopivuus

Osa lääkeaineista liukenee huonosti biologiseen ympäristöön. Grafeenin suuri pinta-ala, π - π vuorovaikutukset sekä elektrostaattiset vuorovaikutukset ovat hyödyksi lääkkeiden kuljettamisessa vaikuttamatta niiden tehokkuuteen. Kuljettaminen soluun tapahtuu endosytoosin avulla, ja grafeenilla funktionalisoidut kuljettimet vapauttavat lääkeaineen solulimaan. Solulimaan vapauttaminen on tehty lähialueen infrapunasäteilyllä, happamalla pH:lla sekä korkealla glutationin määrällä. Grafeenin toksisuuden vähentämiseksi voidaan käyttää biopolymeerejä, esimerkiksi gelatiinia sekä kitosaania.⁷ Gelatiinia on käytetty doksorubisiinin kuljettamiseen. Grafeenin kanssa lääkettä saatiin kuljetettua enemmän grafeenin suuren pinta-alan ja π -vuorovaikutusten takia.

Grafeenin yhteensopivuus biologisten systeemien kanssa riippuu pintakäsittelystä ja hydrofiilisyyden lisäämisestä. Vesiliukoisuus ja läpäisevyys lisää biologista yhteensopivuutta. GO sisältää paljon hydrofiilisiä ryhmiä, joten verrattaessa grafeeniin GO on paljon sopivampi biologiseen ympäristöön. Grafeenia ja GO:ta on tutkittu fibroplasteissa, hermosoluissa and keuhkon epiteelisoluissa. Näissä toksisuus ilmentyi annoksissa, jotka olivat yli 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 24 tunnin aikana. Grafeenia testattiin myös veri-aivoesteen yhteydessä. Tässä tutkimuksesta ei löydetty toksisuutta ja grafeeni ei myöskään häirinnyt veri-aivoesteen mallia ollenkaan. Hiirillä tehdyssä fibroplastisolukokeessa havaittiin, että yli 50 $\mu\text{g} / \text{ml}$ määrät loivat sytotoksisuutta. Toksisuus on suuri ongelma, sillä grafeeniin liittyvää toksisuutta ei ymmärretä vielä tarpeeksi. Grafeenin muoto, ohut levy, on epänormaali muoto biologisiin järjestelmiin. Valmistuskeinoista voi jäädä kummassakin tapauksessa epäpuhtauksia, jotka haittaavat biologista yhteensopivuutta^{7,13}

5.2 Sytotoksisuus

Biologinen yhteensopivuus on tärkeää, kun kuljetetaan lääkkeitä ihmiskehoon. Kuten aikaisemmin on mainittu, grafeeni ei perusmuodossaan ole kovin yhteensopiva ihmiskehon kanssa. Muokkaamalla pintaa biologisesti yhteensopivilla polymeereillä saadaan enemmän haluttuja ominaisuuksia, jotka vähentävät toksisuutta soluissa. Grafeenin koko vaikuttaa siihen, minne kaikkialle se voi kehossa päätyä. Lääkeaineen kuljettimena grafeenin koko on 30–200 nm. Pienemmät grafeenilevyt (>35 nm) päätyvät aivoveriестeen lävitse, kun taas >40 nm koko mahdollistaa tumaan kulkeutumisen. Suuremmilla, noin 100 nm kokoisilla levyillä, pystytään tunkeutumaan soluun. Mahdollinen haittavaikutus soluille johtuu grafeenioksidin fyysisestä koosta. Kuva 5 esittää grafeenilevyjen biologisia vaikutuksia.^{7,14}



Mechanisms of graphene-induced cytotoxicity [84, 87, 139]

Kuva 5. Grafeenilevyjen vaikutukset solun sisällä. Ylävasemmalla näkyy grafeenin tunkeutuminen soluun rikkomalla solukalvo. Grafeeni voi solussa joko päätyä tumaan ja hajottaa DNA:ta tai aloittaa solukuoleman. Grafeeni voi poistuessaan solusta ottaa mukanaan kolesterolia.¹⁵ Copyright

Grafeenin sytotoksisuudesta on ristiriitaisia käsityksiä. Suuremmissa määrissä grafeenimateriaalit ovat kaikki toksisia, mutta on epäselvää mitkä pienet määrät ovat tai eivät ole sytotoksisia. Tutkimuksissa GO:a on injektoitu annoksittain soluun tarkkaillen sytotoksista vastetta. Injektoidessa 20 µg/mL soluihin ei aiheutunut vauriota, kun taas 50 µg/mL annosteltaessa solusta löytyy vaurioita. Annoskokona on myös tutkittu suurempia määriä (100 µg/mL), jossa havaittiin samankaltaisia tuloksia, mutta havaittiin myös, että grafeenikuljettimen koko vaikuttaa enemmän toksisuuteen. Erityisesti GO:n funktionalisointi kitosaanilla on tuottanut hyödyllisiä ominaisuuksia toksisuuden vähentämiseen sekä lääkeaineiden sitoutumiseen.¹⁴

Solukalvo koostuu fosfolipideistä, joiden hydrofobisten kohtien kanssa puhdas grafeeni vuorovaikuttaa. Vuorovaikutuksista voi aiheutua kolesterolin kiinnittymistä grafeeniin tasoon, mikä poistaa solukalvoa stabiloivaa efektiä. Grafeenioksidi voi myös poistaa solukalvosta kolesterolia sekä fosfolipidejä ja nämä puutteet aiheuttavat reikiä solukalvoon. Grafeenioksidi voi adsoroida solun kalvolta lipidejä tunkeutumatta solun sisälle. Grafeenin levymäinen muoto myös venyttää solukalvoa, joka myös aiheuttaa ongelmia solukalvon kestävyydelle. 2D-muodon kulmat voivat repiä solun kalvon rikki vuodattaen solun sisällön ulos. Soluun jäävät grafeenimateriaalit voivat lisätä toksisuutta aiheuttamalla ongelmia mitokondrion energiantuotannossa. Materiaalin kulkeutuessa solutumaan DNA voi vaurioitua reagoidessa grafeenimateriaalin kanssa. Tämä voi mahdollisesti johtaa geeniperimän muutoksiin ja siten solukuolemaan.¹⁵

YHTEENVETO

Tässä tutkielmassa käsitellään grafeenia, kaksiulotteista hiilimateriaalia, sen ominaisuuksia ja muokkausta sekä sen sovelluksia lääketieteessä erityisesti insuliinin kuljetuksessa. Grafeenin mekaaniset, lämmönjohtavuus- ja elektroniset ominaisuudet tekevät siitä monipuolisen materiaalin. Grafeenin muokkaamisella parannetaan sen biologista yhteensopivuutta ja käyttökelpoisuutta lääketieteellisissä sovelluksissa. Grafeenin muokkaus tapahtuu kovalenttisesti ja ei-kovalenttisesti, ja siitä tehdään vesiliukoinen lisäämällä funktionaalisia ryhmiä. Grafeenilla on hyvät ominaisuudet lääkeaineiden kuljetukseen johtuen suuresta pinta-alastaan ja tasojen määrästä.

Insuliini on hormoni, joka säätelee energian tasoa ja ravinteiden määrää soluissa. Insuliiniresistenssi voi johtaa diabetekseen, aineenvaihduntasairauteen, jota hoidetaan lisäämällä keinotekoisesti insuliinia kehoon. Grafeenia tutkitaan insuliinin kuljettimena diabeteksen hoidossa, mutta sen biologista yhteensopivuutta ja sytotoksisuutta on tarve tutkia vielä enemmän.

Biologisessa ympäristössä grafeenin ja grafeenioksidin yhteensopivuus riippuu pintamuokkauksesta. Grafeeni voi olla sytotoksinen suurina annoksina, mutta muokkauksilla voidaan vähentää sen toksisuutta. Grafeenin muoto ja koko vaikuttavat siihen, minne se kehossa päätyy, ja sen käyttöä lääketieteessä tulee tutkia huolellisesti.

KIRJALLISUUSLUETTELO

1. Teodorescu, F., Oz, Y., Quéniat, G., Abderrahmani, A., Foulon, C., Lecoeur, M., Sanyal, R., Sanyal, A., Boukherroub, R., ja Szunerits, S. Photothermally triggered on-demand insulin release from reduced graphene oxide modified hydrogels. *J. Controlled Release*, **2017**, *246*, 164–173.
2. Ilanne-Parikka P. Diabetes (”sokeritauti”). <https://www.terveyskirjasto.fi/dlk00011>
Lääkärikirja Duodecim. Kustannus Oy Duodecim 10.5.2021
3. Chung, C., Kim, Y., Shin, D., Ryoo, S., Hong, B. H. E. E. ja Min, D., Graphene Oxide, *Acc. Chem. Res.*, **2013**, 2211–2224.
4. Phiri, J., Gane, P. ja Maloney, T. C., General overview of graphene: Production, properties and application in polymer composites, *Mater. Sci. Eng. B Solid-State Mater. Adv. Technol.*, **2017**, *215*, 9–28.
5. Majumder, P., ja Gangopadhyay, R., Evolution of graphene oxide (GO)-based nanohybrid materials with diverse compositions: An overview. *RSC Adv.*, **2022**, *12*, 5686–5719.
6. Taha, M. H. F., Ashraf, H., ja Caesarendra, W. A brief description of cyclic voltammetry transducer-based non-enzymatic glucose biosensor using synthesized graphene electrodes. In *Applied System Innovation*, **2020**, 3,1–33.
7. Goenka, S., Sant, V., ja Sant, S. Graphene-based nanomaterials for drug delivery and tissue engineering. *J. Controlled Release*, **2014**, *173*(1), 75–88.
8. Fargion, S., Dongiovanni, P., Guzzo, A., Colombo, S., Valenti, L. ja Fracanzani, A. L., Iron and insulin resistance, *Aliment. Pharmacol. Ther. Suppl.*, **2005**, *22*, 61–63.
9. Mäkinen, S., Skrobuk, P., Nguyen, YH., ja Koistinen, H., Insuliiniresistenssin mekanismit, *Duodecim.*, **2013**, *129*, 2115–2122.
10. DiMeglio, L. A.; Evans-Molina, C. ja Oram, R. A., Type 1 diabetes, *Lancet*, **2018**, *391*, 2449–2462.
11. Chatterjee, S., Khunti, K. ja Davies, M. J., Type 2 diabetes, *Lancet*, **2017**, *389*, 2239–2251.
12. Liu, J., Cui, L., ja Losic, D. Graphene and graphene oxide as new nanocarriers for drug delivery applications. *Acta Biomaterialia*, **2013**, *9*, 9243–9257.

13. Saharan, R., Paliwal, S. K., Tiwari, A., Tiwari, V., Singh, R., Beniwal, S. K., Dahiya, P., ja Sagadevan, S. Exploring graphene and its potential in delivery of drugs and biomolecules. *J. Drug Deliv. Sci. Tech.*, **2023**, *84*, 104446.
14. A. M. L. Oliveira, M. Machado, G. A. Silva, D. B. Bitoque, J. Tavares Ferreira, L. A. Pinto ja Q. Ferreira, Graphene Oxide Thin Films with Drug Delivery Fuction, *Nanomaterials*, **2022**, *12*, 1149.
15. Liao, C.; Li, Y.; Tjong, S.C. Graphene Nanomaterials: Synthesis, Biocompatibility, and Cytotoxicity. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 3564.