

综 述

氧化石墨烯作为抗肿瘤药物纳米载体的性能研究进展

钟余特¹ 赵立春^{1,2} 唐 农¹ 冷 静¹ 宋 策³ 王 雪¹ 于培良¹

(1 广西中医药大学药学院, 南宁, 530200; 2 广西壮瑶药工程技术研究中心, 南宁, 530200; 3 石墨烯生物医药技术研究院, 南宁, 530200)

摘要 氧化石墨烯由于其特殊的理化性质现已在各种领域得到了广泛的应用。在肿瘤治疗方面, 其常被用作抗肿瘤药物的载体。鉴于其表面丰富的修饰位点, 可有目的地对其表面结构进行改造与修饰以更好地发挥其载药与释药作用。本文综述了部分国内外对其结构改造方面的研究以及将其作为抗肿瘤药物载体的研究, 旨在为今后进一步开发其在抗肿瘤方面的应用提供理论依据。

关键词 氧化石墨烯; 抗肿瘤; 结构改造; 分散性; 血液相容性; 细胞粘附性; 细胞毒性; 纳米载体

Research Progress of Graphene Oxide as Antitumor Drug NanocarrierZhong Yute¹, Zhao Lichun^{1,2}, Tang Nong¹, Leng Jing¹, Song Ce³, Wang Xue¹, Yu Peiliang¹

(1 College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China; 2 Guangxi Zhuang Yao Medicine Center of Engineering and Technology, Nanning 530200, China; 3 Institute of Graphene Medicinal Biotechnology, Nanning 530200, China)

Abstract Graphene oxide has been widely used in various fields due to its special physical and chemical properties. It is often used as a carrier of antitumor drugs in the treatment of cancer. The surface structure can be purposefully modified to better exert its drug-loading and drug-releasing effects according to its rich surface modification sites. Aiming to provide a theoretical basis for further development of its application in antitumor, this article reviews some of the domestic and foreign research on its structural transformation and its use as a carrier of anticancer drugs.

Key Words Graphene oxide; Antitumor; Structural transformation; Dispersity; Blood compatibility; Cell adhesion; Cytotoxicity; Nanocarrier

中图分类号: R2-03 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2019.01.051

石墨烯(Graphene)是一种由碳原子以 Sp^2 杂化方式连接形成的蜂窝状碳结构物质, 是目前世界上发现的最薄的新型纳米材料。由于其具有良好的电学、力学、热学、光学及等特性而成为“新材料之王”, 被誉为“黑金”^[1]。石墨烯性能优异、成本低廉, 经过数十年的研究与发展, 现已在新能源、复合材料以及生物医学等领域得到了应用^[2]。

1 分类综述

1.1 氧化石墨烯 氧化石墨烯(Graphene Oxide, GO)是石墨烯的氧化物, 不同原材料及不同方法制备所得的 GO 结构存在一定差异, 故现今对其结构研究尚未很明确, 但确定其同石墨烯一样具有六角形蜂巢层状结构, 边缘多含有羧基, 平面上主要有环氧基、酚羟基、内酯等含氧基团^[3]。纯石墨烯不溶于水, 而 GO 由于结构上含氧基团的存在, 其片层间具

有静电斥力, 使其在水及其他有机溶剂中体现良好的分散性, 由于 GO 上面含有如此丰富的修饰位点, 可通过对 GO 中 C/O 的调节实现对其亲疏水性的调控^[4-5]。鉴于其较高的比表面积与特殊的两亲性, GO 可以通过多种作用力与其他分子共价结合, 构成的复合纳米材料各种性能都较石墨烯相比更为优异。再加上 GO 特殊的荧光猝灭以及光热转化特性, 其在生物医学领域的应用前景较石墨烯而言更为良好, 且已经在药物运输、生物传感、肿瘤光热治疗等方面得到了一定的应用^[6]。

现今世界, 恶性肿瘤已经严重危害到人类健康, 传统肿瘤治疗药物主要有化疗药物和生物制剂, 虽然对肿瘤的治疗均有一定效果, 但易产生耐药性, 而且往往是“杀敌一千, 自损八百”地对正常细胞同样具有毒性, 因此, 研发高效、特异性强、机体耐药性低

基金项目: 广西中医药大学石墨烯医药类专项课题(P16008); 广西科技重大专项(KJT17019)

作者简介: 钟余特(1994. 10—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药化学成分提取及活性研究, E-mail: 1002126899@qq.com

通信作者: 赵立春(1980. 04—), 男, 博士, 研究员, 广西中医药大学药学院常务副院长, 研究方向: 中药化学成分提取及活性研究, E-mail: kli-zlc@126.com

的抗肿瘤药物显得尤为重要。研究表明,将纳米材料作为抗肿瘤药物的运输载体,通过对纳米材料进行功能化改造,可显著提高纳米载体-抗肿瘤药物的靶向性,使抗肿瘤药物在病灶部位或靶部位聚集,降低药物非特异性聚集所致的毒性。此外,利用纳米材料载药,还可以达到对药物进行控释、提高药物的生物膜透过性、提高口服药物的生物利用度等诸多优良作用^[7]。而 GO 作为理化性质优良的新型纳米材料,将其运用于制备靶向抗肿瘤药物具有良好的开发前景。基于此,本文对近些年来开发 GO 作为抗肿瘤靶向制剂纳米载体的相关研究成果进行综述,旨在为进一步开发高效、低毒的抗肿瘤药物提供理论参考。

1.2 改善氧化石墨烯性能的结构改造 制备氧化石墨烯作为药物载体,要求其具有较良好的生物相容性,评价药物载体的生物相容性包括血液相容性、细胞毒性、生殖毒性、致畸性等^[8-9]。如需利用氧化石墨烯抗肿瘤药物载体起到靶向抗肿瘤作用,除了需要有良好的生物相容性外,还需要具有良好的细胞粘附性等性能。故通过化学反应改造 GO 表面的基团,或者将各种有机或无机分子连接其上对其进行功能化修饰,可对其性质有目标地进行优化,从而可以充分实现对 GO 的功能化应用。

1.3 改变 GO 在溶剂中的分散性能 对氧化石墨烯的功能化改造常常在液体环境中进行,GO 在水中的分散性较好,而在有机溶剂中的分散能力较弱。为了改善其溶解性,Chao^[10] 等对氧化石墨烯进行了功能化改造。他们将聚乙二醇与癸二酸进行缩合制得双亲性高分子聚合物。利用甲苯 2,3-二异氰酸酯 (TDI) 与 GO 表面的羧基反应对其表面进行修饰,使 TDI 充当桥联剂将双亲性高分子聚合物与 GO 连接在一起,从而对 GO 进行改性。经过验证,经过改性后的氧化石墨烯在水和 DMF 中均具有较好的分散效果。

曹也文等^[11-12] 制备了末端含炔基的氧化石墨烯 (ALK-t-GOS),再用 Clicks 反应将嵌段共聚物 N3-SEBS (叠氮修饰的苯乙烯-乙烯/丁烯-苯乙烯三嵌段共聚物)接枝到 ALK-t-GOS 上,制备所得的 SEBS-c-GOS 在 SEBS 的良溶剂如 DMF、THF、NMP 等当中具有良好分散性,而在 SEBS 的非溶剂中分散性能较差。此外其还将叠氮修饰的单分散聚苯乙烯 (N3-PS) 与末端含炔基的 GOS 进行“Click”偶合,制得了 PS-c-GOS,其溶剂分散性取决于 PS 的溶剂分散性,即在 PS 的良溶剂中分散较好,而在 PS 的非溶剂中

分散较差。

这些实例均体现了功能化 GO 的分散性能往往取决于 GO 上接枝的基团性能。通过化学方法将具有特定分散性能的物质连接其上,可以有目的地对 GO 的分散性能进行调控。

1.4 增强 GO 在生理条件下的分散能力 要利用 GO 进行载药以供机体利用,便需要 GO 在生理盐水条件下具有良好的分散性能。Di^[13] 等发现,GO 以及 GO-COOH 在含盐溶液中均会出现聚集现象,而用聚乙二醇 (PEG) 或大分子量的聚乙烯亚胺 (PEI25k) 修饰的 GO 在同样浓度的含盐溶液条件下却表现良好,且在 DMEM 溶液中的稳定性与 NaCl 溶液中一致。谢旭东^[14] 将 GO 羧基化,然后通过酰胺反应将 PEG 接枝到 GO 上,制备 GO-PEG。实验显示 GO-PEG 在 PBS 以及细胞培养液中分散性能良好,说明用 PEG 对 GO 功能化改善了其生物相容性。PEG 在多种极性溶剂中体现较好的溶解性能,其常作为非离子表面活性剂与药物的无免疫控释载体。开发 GO 的 PEG 化功能改造,可大大增加 GO 作为药物载体的价值。

1.5 增强 GO 的血液相容性 研究表明,GO 的血液相容性与其尺寸大小有关,尺寸为 350 nm 的 GO 会产生较严重的溶血,而尺寸为 3 μm 的 GO 引起较少的溶血但也会达到 10%,微米尺寸的 GO 不大引起溶血,但易引发凝血现象^[15-16]。为了降低其溶血能力,除减小其尺寸外或可通过对其进行结构改造达到目的。

徐东^[17] 等通过对羧基化氧化石墨烯进行血液相容性实验发现,即使当 GO-COOH 浓度高达 100 $\mu\text{g/mL}$ 时,其溶血率依然低于 5%。何蔼^[18] 等通过氢键、范德华力、 π - π 共轭等作用力将壳聚糖、白蛋白与脱氧核糖核苷酸连接在 GO 上制备成生物高分子-氧化石墨烯复合凝胶,通过体外溶血实验发现 GO-BSA、GO-CS、GO-DNA 的溶血率最高均不超过 1%。氯乙酸原为剧毒物质,而氯乙酸改性的所计划氧化石墨烯与细胞接触后短期内不体现毒性,且几乎无溶血作用^[19]。

对 GO 的血液相容性改造既可通过直接改造其上官能团,也可将其他小分子或高分子通过共价或非共价键作用连接其上。原本生物相容性很低的物质将其与 GO 连接后,其功能也会发生较大的改变。

1.6 提高氧化石墨烯对细胞粘附性的功能化修饰 提高 GO 作为药物载体的细胞粘附性,可以更大程度上提高药物作用的靶向性。赵长虹^[20] 等将

GO 上的羧基活化后,把精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(Arg-Gly-Asp, RGD)连接其上,制备得到 GO-RGD 膜,相比于 GO 膜,GO-RGD 上表现出非常好的细胞粘附。徐宏杨等利用 L929 细胞对 GO 以及 GO-PEG 进行了细胞粘附性实验,GO 对细胞粘附性的随着 GO 浓度的升高与孵育时间的增长呈现降低的趋势,而 PEG 功能化的 GO 对细胞粘附性能的影响明显低于 GO。

GO 通过对细胞的刺激,抑制了细胞中与粘附性相关的基因表达,从而导致降低细胞的粘附性^[21]。对 GO 进行功能化,降低其对细胞中粘附性相关基因表达的抑制能力,从而提高其血液相容性。

1.7 改善氧化石墨烯毒性的功能化修饰 未经修饰的 GO 对于细胞具有一定的毒性,且毒性随着浓度的升高呈现增大的趋势。作为药物载体,GO 对于细胞的毒性需控制在安全范围内,若将其用作抗肿瘤治疗方面,则需要其具有选择细胞毒性,即对肿瘤细胞具有选择性杀灭作用。

Robinson 等研用聚乙二醇对还原氧化石墨烯(RGO)进行了修饰并利用人上皮乳癌细胞对其进行了细胞毒性实验,发现 RGO-PEG 的细胞毒性远小于未经修饰的 RGO^[22]。徐志远等利用 A549 和 MCF-72 种癌细胞对 PEG 功能化的 GO 进行细胞毒性实验,结果显示 GO-PEG 对 2 种细胞的毒性十分小,不具有统计学意义,而将其负载冬凌草甲素后,细胞毒性明显增大,且大于未被负载于 GO-PEG 的游离冬凌草甲素^[23]。壳聚糖作为生物相容性良好的生物材料,是很好的抗肿瘤药物载体^[24]。曹秀芬^[25]等将乳糖酰化壳聚糖(LCO)与 GO 相连制备得 GO-LCO⁺,并利用肝癌细胞(QGY-7703)对其进行了细胞毒性研究。发现当 GO-LCO⁺的浓度达到 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 才会出现明显的细胞毒性,而浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时基本不体现毒性。种种实例说明利用生物相容性良好的物质对 GO 进行结构改造与修饰,可以目标性地控制其细胞毒性并将之加以利用。

1.8 功能化氧化石墨烯作为抗肿瘤药物载体

1.8.1 作为经典化疗药载体 SN38(喜树碱衍生物)由于其水分散性不好而限制了其应用,临床上多用其前药伊立替康(CPT-11),而 CPT-11 在转化为 SN38 之前却代谢了大部分或转变成其他无活性形式。于是戴宏杰^[26]等人最早利用功能化 GO 进行了抗肿瘤药物的载药研究。其利用生物相容性良好的 PEG 对 GO(<50 nm)的支链进行了功能化改造制得 NGO-PEG,再通过非共价键将 SN38 负载其上,

NGO-PEG-SN38 体现出了极好的水分散性并且保留了 SN38 在有机溶剂中的高效力。通过实验验证纳米级的 NGO-PEG 不具有细胞毒性,而 NGO-PEG-SN38 在体外对人体结肠癌细胞(HCT-116)有强效的杀灭作用,细胞毒性是 CPT-11 的 2-3 倍。此外,他还用星型 PEG 对横向尺寸小于 10 nm 的 GO 进行了修饰,制备成了超小型 NGO-PEG,进一步加强了 NGO-PEG 在水以及其他溶剂中的稳定性,而后再将利妥昔单抗(Rituxan)结合在 NGO-PEG 上,最后将制备的复合物负载多柔比星(DOX)。通过比较游离 DOX、NGO-PEG/DOX、NGO-PEG-Rituxan/DOX 在体外环境中对淋巴瘤 Raji 细胞的作用,发现 NGO-PEG-Rituxan/DOX 对细胞生长的抑制能力最强,这意味着其在体外环境中具有杀灭癌细胞的潜力。并且 NGO-PEG-Rituxan/DOX 对 DOX 的释放在 pH 为 5.8 时的大于 pH 为 7.4 时,说明其的释药性能与环境的 pH 密切相关,由于肿瘤细胞周围环境多为偏酸性环境,该药物可作为肿瘤靶向药物^[27-28]。

徐兴英^[29]利用 Fe₃O₄ 与叶酸(FA)分别对 GO 进行功能化,制备成 Fe₃O₄-GO 与 FA-GO,发现 Fe₃O₄-GO 具有明显的超顺磁性。在体外环境下浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 Fe₃O₄-GO 与 FA-GO 对宫颈癌 Hela 细胞均不具有细胞毒性。然后将 DOX 分别负载于其上制得 Fe₃O₄-GO-DOX 与 FA-GO-DOX,同样用 Hela 细胞进行体外细胞毒性实验发现 Fe₃O₄-GO-DOX 与 FA-GO-DOX 在体外同样具有明显的抗肿瘤作用。且两中载体对 DOX 均有缓释作用,其中 FA-GO 具有明显的细胞靶向作用。后来,赵旭波^[30]等亦用叶酸对 GO 进行了修饰,进行 DOX 负载的相关研究。其将叶酸端基化 PEG 通过共价键连接在 GO 微球表面,再通过球面上交联聚甲基丙烯酸壳层以防所负载药物发生泄漏,实验发现该复合物能够高效地释放 DOX,这是对叶酸修饰 GO 负载 DOX 的一次更高层次的改进。

刘国栋^[31]等用 PEG 修饰纳米级 GO,再将转铁蛋白(Tf)通过共价键连接其上,再将其负载 DOX 制得了 Tf-PEG-NGO-DOX。并进行了对 Tf-PEG-NGO 的载药及释药评价、Tf-PEG-NGO-DOX 的体外以及体内治疗胶质瘤的评价。结果表明,Tf-PEG-NGO 对 DOX 的载药量达到了 277 $\mu\text{g}/\text{mL}$,Tf-PEG-NGO-DOX 能在中性条件下保持稳定,在酸性条件下释药速度明显加快,72 h 候的释药率达到了 30%。对 Tf-PEG-NGO-DOX 的溶血实验、细胞毒性实验、胞内摄取定量试验结果显示:1)其在 0.1 ~ 5.0 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 浓

度范围内培养 2 h 后的溶血率 $< 6\%$; 2) 在浓度为 $800 \mu\text{g/mL}$ 的 Tf-PEG-NGO 作用下, C6 胶质瘤细胞的存活率仍然保持有 80% , 说明 Tf-PEG-NGO 作为 DOX 的载体本身细胞毒性极其微弱, 而 Tf-PEG-NGO-DOX 对 C6 胶质瘤细胞的 IC_{50} 为 $13 \mu\text{g/mL}$; 3) 通过测量不同时间点 (1、2、4、8、12 h) C6 细胞内 DOX 的含量, 通过相关计算发现相同 DOX 浓度下 Tf-PEG-NGO-DOX 的细胞摄取速度明显比单纯的 DOX 以及未用 Tf 修饰的 PEG-NGO-DOX 的细胞摄取速度快得多。说明 Tf-PEG-NGO-DOX 具有一定的生物安全性, 并且对 C6 胶质瘤细胞具有一定的靶向性杀灭作用。此外, 刘国栋等还建立了大鼠 C6 胶质瘤脑内移植模型对 Tf-PEG-NGO-DOX 进行体内抗肿瘤效果实验。通过测量 DOX 在肿瘤内以及脑组织内的含量发现, Tf-PEG-NGO-DOX 组的脑组织以及肿瘤内的 DOX 含量明显高于 DOX 裸药组以及 PEG-NGO-DOX 组。且通过 Tf-PEG-NGO-DOX 观察组的大鼠寿命明显比其他组长, 生存期延长率达到了 47.1% 。这说明 Tf-PEG-NGO-DOX 不但在体外有抗 C6 胶质瘤的作用, 在体内同样具有作用, 而且具有很好的胶质瘤靶向性。其原因主要是连接于 PEG-NGO 上的 Tf, Tf 对胶质瘤细胞表面转铁蛋白受体有特异性结合的作用, 用其作为靶向功能基可显著提升 NGO 作为抗肿瘤药物载体的靶向作用。

周锐^[32]等利用 PEI 修饰了 GO, 利用叶酸 (FA) 作为 PEI-GO 的靶向功能基, 制备了 4 种金属配位化合物: 1) $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{CuN}_3$; 2) $\text{C}_{25}\text{H}_{18}\text{CuN}_6\text{O}_{14}$; 3) $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_6\text{O}_{12}\text{Zn}$; 4) $\text{C}_{44}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{P}_2\text{RuS}_2$, 并将这 4 种金属配合物分别负载于 FA-PEI-GO。并利用 2 种鼻咽癌细胞 NHE-1 与 CNE-2 对这 4 种负载金属配合物的载药颗粒进行了细胞毒性实验。发现 4 种载药颗粒对 2 种癌细胞均有抑制作用, 且对 NHE-1 的抑制作用强过对 CNE-2 的抑制作用。其中载药颗粒 2) 的作用最强, 具有进一步研究与开发的意义。

黎静雯^[33]对纳米级 GO 进行了 PEG 功能化, 再将抗肿瘤药物 Pt 负载其上制备得 PEG-NGO-Pt, 发现 PEG-NGO 不仅对 Pt 具有负载与运输功能, 并且可以利用 NGO 的光热性能协同 Pt 对宫颈癌 Hela 细胞进行杀灭, 由于光热效应可以增加药物对肿瘤细胞的靶向性, 故 PEG-NGO-Pt 的抗肿瘤性能十分良好。

1.8.2 作为中药抗肿瘤化学成分载体 冬凌草甲素 (Oridonin) 为贝壳杉烷类二萜化合物, 有研究表明其具有抗肿瘤作用^[34]。徐志远^[23]等用六臂 PEG 对

GO 进行功能化, 再将其负载冬凌草甲素展开了系列研究, 发现 GO-PEG 对冬凌草甲素的负载率达到了 105% 。通过利用肺癌细胞 (A549) 与乳腺癌细胞 (MCF-7) 对 GO-PEG-oridonin 进行了细胞毒性实验, 未负载冬凌草甲素的 GO-PEG 基本不具有细胞毒性, 而 GO-PEG-oridonin 对 2 种肿瘤细胞的杀灭作用比未被负载于 GO-PEG 上的冬凌草甲素更强。毛萼乙素 (Eriocalyxin B) 为冬凌草甲素的类似物, 其对肿瘤细胞同样具有抑制作用^[35]。徐志远^[36]等同样利用 GO-PEG 负载毛萼乙素并同样研究了其负载率、细胞毒性等性质。结果发现 GO-PEG 对毛萼乙素的负载率为 $18.8\text{wt}\%$ 。与 GO-PEG-oridonin 一样, GO-PEG-ericalyxin B 一样对肿瘤细胞产生了杀灭作用, 对 A549 的杀灭作用由强到弱依次为 GO-PEG-oridonin $>$ Oridonin $>$ GO-PEG-ericalyxin B $>$ Eriocalyxin B, 对 MCF-7 的杀灭作用由强到弱依次为 GO-PEG-ericalyxin B $>$ GO-PEG-oridonin $>$ Oridonin $>$ Eriocalyxin B。说明 GO-PEG-oridonin 适合开发用于治疗肺癌, GO-PEG-ericalyxin B 适合开发用于治疗乳腺癌。此外, 俞文英^[37]等研究了 GO-PEG-oridonin 对结肠癌的作用, 同样发现其对结肠癌细胞的杀灭作用也比 Oridonin 裸药强得多。

血根碱 (SAN) 对人脑胶质瘤细胞具有抑制作用, 但其溶解性低、稳定性差, 一直很难得到临床应用。崇羽^[38]用六臂聚乙二醇对 GO 进行修饰, 再将血根碱负载其上成功地克服了 SAN 水溶性不好的缺点, 并且研究了 GO-PEG-SAN 的体外细胞毒性, 发现其很好的保持了血根碱的抗肿瘤作用。

1.9 作为抗肿瘤基因药物载体 Liming^[39]等人最早将 SiRNA 与 DOX 同时负载于 PEI 功能化的 GO 上以实现药物的贯序传递, 并利用宫颈癌 Hela 细胞进行了细胞毒性实验, 实验发 GO-PEI-SiRNA/DOX 对于肿瘤细胞的杀灭作用大于 SiRNA 与 DOX 单独对细胞的杀灭作用, 并对用 PEI-GO 作为抗肿瘤药物以及基因药物的载体进行了展望。此后牛高丽^[40]等将叶酸 (FA) 与聚乙二醇 (PEG) 通过酰胺键连接, 再将该复合物与胺甲基苊盐酸盐连接到 GO 表面对 GO 进行修饰, 再利用该物质与具有负电性靶向的 hTERT 的 SiRNA (抑制凋亡抑制蛋白基因的表达而具有促进细胞凋亡的作用, 从而具有抗肿瘤的潜能) 连接在一起制成 GO-PEG-FA-PyNH₂-hTERT-SiRNA^[41]。叶酸对于肿瘤细胞具有高度的靶向性, 故通过叶酸修饰 GO 制备出的复合物对于肿瘤细胞同样具有靶向性^[42]。同样通过 Hela 细胞进行实验

发现复合物对癌细胞的杀灭率远大于裸 SiRNA。此外其还在 GO-PEG-FA-PyNH₂-hTERTsiRNA 上负载了 DOX 以进行对 SiRNA 和 DOX 的贯序传递释药,通过细胞实验发现既负载有 SiRNA 又负载有 DOX 的复合物其杀灭肿瘤细胞的能力大于仅负载有 SiRNA 的药物。

在多种肿瘤细胞中,信号转导子和转录激活子 3 (Stat 3) 均呈现过度表达,会抑制肿瘤细胞的凋亡,阻断该通路的表达可以达到灭杀肿瘤细胞的作用。Zhang^[43] 等人利用具有 Stat 3 特异的 SiRNA 表达质粒,发现其可以成功抑制 Stat 3 的表达,但并不能完全阻断其表达。殷迪^[44-45] 利用 PEG 与 PEI 对 GO 进行功能化,使 GO 获得 PEG 在生理条件下的稳定性以及 PEI 对基因的靶向作用,制得了 GO-PEI-PEG,再用其对 Stat 3 特异的 SiRNA 质粒进行负载。将 GO-PEI-PEG-SiRNA Stat 3 进行体内实验发现其对小鼠恶性黑色素瘤的生长有抑制作用,且 GO 具有吸收红外线的能力,通过增射红外光,协同物理作用对小鼠体内的肿瘤进行杀灭。

地西他滨(DAC)是一种腺苷类似物,是目前已知最强的 DNA 甲基化特异性抑制剂。卢宜梅^[46] 用一种对肺癌细胞 A549 具有靶向作用与吸附性的寡糖苷酸链 (aptamer A1) 对 GO 进行修饰,然后负载 DAC。发现 A1-GO 对 DAC 的负载率很高,且存在依赖于 pH 的释药性能,即在偏酸性的条件下释药速率比中性环境中快。此外,其还对 A549 细胞具有高度靶向性,可吸附于 A549 细胞并发挥很好的治疗效果。

2 讨论

氧化石墨烯由于其特殊的理化性质近年来得到了广泛的应用,尤其是在生物医学方面,其表面丰富的修饰位点使众多的科研工作者们对其载药释药功能十分感兴趣。通过对 GO 表面进行修饰可以有目的地改变其理化性质以及生物相容性,使其充分发挥药物载体的作用。GO 被修饰后的性质多半取决于其上的功能基团的性质:用血液相容性良好的物质修饰 GO,可使 GO 具有良好的血液相容性;用对病灶具有靶向功能的物质修饰 GO,可使 GO 具有良好的靶向性。其中,氨基酸类物质作为修饰 GO 的功能基既可使 GO 具有良好的生物相容性,又可使其具有良好的靶向性,这将是今后对于 GO 修饰的研究趋势之一。

自 2008 年首次有科学家对其负载抗肿瘤药方面进行了相关研究以来,现已有对 GO 负载经典化

疗药、抗肿瘤中药成分、基因药物的相关研究。但一直以来研究的主要对象多集中于 DOX,而对于其他药物研究很少。某些药物或许本身抗肿瘤活性较低甚至不具备抗肿瘤活性,但将其负载于功能化的 GO 上或可体现出抗肿瘤活性。若对这一类药物进行负载研究,将会是一个新的探索领域。

参考文献

- [1] Geim AK. NS the rise of graphene[J]. Nature Materials, 2007, 6(3): 183-190.
- [2] 曹烨,卓锦新,邹振东,等. 中国石墨资源形势及其产业升级的出路——基于石墨烯的应用和发展趋势的分析[J]. 现代化工, 2017(7): 1-5.
- [3] Yang D, Velamakanni A, Bozoklu G, et al. Chemical analysis of graphene oxide films after heat and chemical treatments by X-ray photoelectron and Micro-Raman spectroscopy[J]. Carbon, 2009, 47(1): 145-152.
- [4] Li D, Müller MB, Gilje S, et al. Processable aqueous dispersions of graphene nanosheets[J]. Nature Nanotechnology, 2008, 3(2): 101.
- [5] Compton OC, Jain B, Dikin DA, et al. Chemically Active Reduced Graphene Oxide with Tunable C/O Ratios[J]. ACS Nano, 2011, 5(6): 4380-4391.
- [6] Kalluru P, Vankayala R, Chiang CS, et al. Nano-graphene oxide-mediated In vivo fluorescence imaging and bimodal photodynamic and photothermal destruction of tumors[J]. Biomaterials, 2016(95): 1-10.
- [7] 刘亮,晋平,张国亮,等. 用于药物载体的纳米粒子的研究进展[J]. 现代化工, 2005, 25(s1): 106-110.
- [8] Williams DF. On the mechanisms of biocompatibility[J]. Biomaterials, 2008, 29(20): 2941.
- [9] 中国标准出版社第一编辑室. 医疗器械生物学评价标准汇编[M]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [10] Xu C, Wu X, Zhu J, et al. Synthesis of amphiphilic graphite oxide[J]. Carbon, 2008, 46(2): 386-389.
- [11] Cao Y, Lai Z, Feng J, et al. Graphene oxide sheets covalently functionalized with block copolymers via click chemistry as reinforcing fillers[J]. Journal of Materials Chemistry, 2011, 21(25): 9271-9278.
- [12] Choquet-Bruhat Y. Click chemistry as a route for the immobilization of well-defined polystyrene onto graphene sheets[J]. Journal of Materials Chemistry, 2010, 20(27): 5605-5607.
- [13] Yin D, Li Y, Lin H, et al. Functional graphene oxide as a plasmid-based Stat3 siRNA carrier inhibits mouse malignant melanoma growth in vivo[J]. Nanotechnology, 2013, 24(10): 105102.
- [14] 谢旭东. 氧化石墨烯的制备、改性及其载药的可行性研究[D]. 广州: 暨南大学, 2016: 27-40.
- [15] Liao KH, Lin YS, Macosko CW, et al. Cytotoxicity of Graphene Oxide and Graphene in Human Erythrocytes and Skin Fibroblasts[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2011, 3(7): 2607.
- [16] Zhang X, Yin J, Peng C, et al. Distribution and biocompatibility studies of graphene oxide in mice after intravenous administration[J]. Carbon, 2011, 49(3): 986-995.
- [17] 徐东,周宁琳,沈健. 羧基化氧化石墨烯的血液相容性[J]. 高等学校化学学报, 2010, 31(12): 2354-2359.

- [18] 何嵩, 雷蓓, 孙树东. 生物高分子-氧化石墨烯三维多功能复合凝胶的制备及其血液净化性能[J]. 功能高分子学报, 2014, 27(1): 54-61.
- [19] 汤毅达, 周宁琳, 陆春燕, 等. 羧基化氧化石墨烯的可控合成及血液相容性[J]. 高等学校化学学报, 2012, 33(11): 2378-2384.
- [20] 赵长虹. 基于聚乳酸和氧化石墨烯的功能化改性及生物医学应用研究[D]. 上海: 上海大学, 2016: 50-51.
- [21] 徐宏杨, 范敏敏, 张志荣, 等. 氧化石墨烯 PEG 化后对 L929 细胞毒性的影响[J]. 华西药学杂志, 2015, 30(4): 425-427.
- [22] Robinson JT, Tabakman SM, Liang Y, et al. Ultrasmall reduced graphene oxide with high near-infrared absorbance for photothermal therapy[J]. Journal of the American Chemical Society, 2011, 133(17): 6825-6831.
- [23] 徐志远, 李永军, 史萍, 等. 功能化石墨烯负载冬凌草甲素抗肿瘤制剂的研究[J]. 有机化学, 2013, 33(3): 573-580.
- [24] Son YJ, Jang JS, Cho YW, et al. Biodistribution and anti-tumor efficacy of doxorubicin loaded glycol-chitosan nanoaggregates by EPR effect[J]. Journal of Controlled Release, 2003, 91(1-2): 135.
- [25] 曹秀芬, 冯福立, 杨晓英, 等. 功能化氧化石墨烯作为基因和抗肿瘤药物纳米载体的制备及性能研究[J]. 天津医科大学学报, 2013, 19(3): 178-181.
- [26] Liu Z, Robinson J T, Sun X, et al. PEGylated Nanographene Oxide for Delivery of Water-Insoluble Cancer Drugs[J]. Journal of the American Chemical Society, 2008, 130(33): 10876.
- [27] Sun X, Liu Z, Welsher K, et al. Nano-Graphene Oxide for Cellular Imaging and Drug Delivery[J]. Nano Research, 2008, 1(3): 203-212.
- [28] Liu Z, Sun X, Nakayama-Ratchford N, et al. Supramolecular chemistry on water-soluble carbon nanotubes for drug loading and delivery[J]. Acs Nano, 2007, 1(1): 50-56.
- [29] 徐兴英. 功能化氧化石墨烯的制备及其载药性能[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2012: 44-56.
- [30] Zhao X, Yang L, Li X, et al. Functionalized Graphene Oxide Nanoparticles for Cancer Cell-Specific Delivery of Antitumor Drug[J]. Bioconjugate Chemistry, 2015, 26(1): 128.
- [31] Liu GD, Mao JN, Sun T, et al. PEG-PLGA Nanoparticle Modified by Transferrin Loading Doxorubicin: In Vitro and In Vivo Studies for Glioma[J]. Advanced Materials Research, 2013, 750-752: 1643-1650.
- [32] 周锐. 叶酸复合聚乙烯亚胺修饰氧化石墨烯负载金属配合物的制备及抗鼻咽癌活性初步研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2016: 18-19, 26-27, 44-58.
- [33] 黎静雯. 构建具有蛋白酶检测功能以及热化疗协同抗肿瘤效应的纳米复合体系[D]. 苏州: 苏州大学, 2015: 42-56.
- [34] 刘淑云, 谭英姿, 范明松, 等. 冬凌草甲素研究进展[J]. 中国当代医药, 2012, 19(13): 17-18.
- [35] 夏怡然, 王健, 朱金屏, 等. 大鼠血浆中毛茛乙素的 HPLC 测定[J]. 中国医药工业杂志, 2010, 41(1): 41-43.
- [36] 徐志远, 李永军, 史萍, 等. 功能化石墨烯负载毛茛乙素抗肿瘤剂的研究[J]. 有机化学, 2013, 33(10): 2162-2168.
- [37] 俞文英. 冬凌草甲素聚乙二醇功能化氧化石墨烯纳米粒的制备及抗结肠癌实验研究[J]. 中草药, 2017, 48(19): 3954-3960.
- [38] 崇羽. 氧化石墨烯-血根碱的可控装载及生物活性研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2013: 32-33, 36-40, 44-52.
- [39] Zhang L, Lu Z, Zhao Q, et al. Enhanced chemotherapy efficacy by sequential delivery of siRNA and anticancer drugs using PEI-grafted graphene oxide[J]. Small, 2011, 7(4): 460-464.
- [40] 牛高丽, 朱建平, 徐鸣, 等. 功能化石墨烯载 hTERTsiRNA 的制备及其对宫颈癌 Hela 细胞的影响[J]. 南开大学学报: 自然科学版, 2013, 46(3): 35-40.
- [41] Aigner A. Applications of RNA interference: current state and prospects for siRNA-based strategies in vivo [J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2007, 76(1): 9-21.
- [42] Han X, Liu J, Liu M, et al. 9-NC-loaded folate-conjugated polymer micelles as tumor targeted drug delivery system: preparation and evaluation in vitro[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2009, 372(1-2): 125-131.
- [43] Pai SI, Lin YY, Macaes B, et al. Prospects of RNA interference therapy for cancer[J]. Gene Therapy, 2006, 13(6): 464.
- [44] Zhang L, Gao L, Li Y, et al. Effects of plasmid-based Stat3-specific short hairpin RNA and GRIM-19 on PC-3M tumor cell growth[J]. Clinical Cancer Research An Official Journal of the American Association for Cancer Research, 2008, 14(2): 559.
- [45] Yin D, Li Y, Lin H, et al. Functional graphene oxide as a plasmid-based Stat3 siRNA carrier inhibits mouse malignant melanoma growth in vivo[J]. Nanotechnology, 2013, 24(10): 105102.
- [46] 卢宜梅. 基于适配体特异性识别作用的新型抗肿瘤药物体系的构建[D]. 南京: 南京师范大学, 2014: 19-22, 27-34.

(2018-01-16 收稿 责任编辑: 张文婷)