

氧化石墨烯纳米载体的生物相容性研究进展

俞文英¹, 余陈欢¹, 方杰¹, 徐骏军², 孙洁胤^{3*} (1.浙江省医学科学院, 杭州 310013; 2.浙江大学医学院附属第二医院, 杭州 310052; 3.浙江医药高等专科学校, 浙江 宁波 315100)

摘要: 氧化石墨烯是一种石墨烯的含氧衍生物, 作为新型碳纳米材料, 氧化石墨烯具有高载药能力、高度可修饰性及独特的光学性质等特性, 在药物传递、生物成像及光热治疗等方面表现出了巨大的应用潜力。然而, 随着氧化石墨烯在生物医学领域的广泛研究, 其生物相容性问题成为其进入临床应用的主要障碍。基于此, 本文系统综述了氧化石墨烯在体外和体内的生物相容性, 以及表面修饰如何影响其在体内外的毒性。通过分析氧化石墨烯的理化性质、使用剂量和表面修饰等对细胞和实验动物毒性的影响, 为开发高效、安全的新型纳米载体提供参考。

关键词: 氧化石墨烯; 药物递送; 生物相容性; 肿瘤; 光动力疗法

中图分类号: R945

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2017)05-0777-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.05.034

引用本文: 俞文英, 余陈欢, 方杰, 等. 氧化石墨烯纳米载体的生物相容性研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(5): 777-782.

Research Progress on Biocompatibility of Graphene Oxide as a Nanocarrier

YU Wenyi¹, YU Chenhuan¹, FANG Jie¹, XU Junjun², SUN Jieyin^{3*} (1.Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China; 2.The Second Affiliated Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310052, China; 3.Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China)

ABSTRACT: Graphene oxide is a kind of oxygenated derivative of grapheme, as a new type of carbon nanomaterial, it has various characteristics: high drug loading capacity, high ability of being modified, and unique optical property, thus it shows great application potential in the aspects of drug delivery, bio-imaging, photothermal therapy, and so on. However, with more and more researches of graphene oxide in the biomedical field, its biocompatibility becomes a main obstacle for its clinical application. Therefore, this paper reviews the biocompatibility of graphene oxide *in vitro* and *in vivo*, and how its toxicity *in vitro* and *in vivo* is influenced by the surface modifier. Through analyzing the influence of such toxicity on cells and animals subjected to studies, which is caused by physicochemical properties of graphene oxide, its dosage, and surface modification, etc., it provides reference for the development of effective and safe new nanocarriers.

KEY WORDS: graphene oxide; drug delivery; biocompatibility; tumor; photodynamic therapy

氧化石墨烯(graphene oxide, GO)是一种石墨烯的含氧衍生物, 通常由石墨经过化学过程氧化、超声后制备获得。作为新型碳纳米材料, GO 具有其他纳米材料无法比拟的优势: ①较大的比表面积, 双面都能负载药物, 从而拥有超高的载药能力^[1]; ②独特的表面性质, 同时含有疏水性中间片层与亲水性边缘, 使其具有两亲性, 前者可通过 π - π 堆积或疏水作用等负载疏水性药物和染料, 后者为功能化提供位点^[2]; ③良好的水分散性, 由于表面带有大量显负电的含氧官能团, 使片层间存在静电斥力^[3]; ④固有的光学性质及光热转换能力, 使 GO 不仅能实现活体细胞的生物成像, 还能在活体水平上实现光热治疗。基于这些特性, GO

已被广泛应用于生物医学和复合材料等研究领域, 尤其在药物载体^[4]、生物成像^[5]及肿瘤的光热治疗^[6]等方面表现出了巨大的应用潜力。

尽管 GO 在生物医学领域展现出独特的优势, 但其安全性问题仍有待解决^[7]。迄今为止, 针对 GO 的制备方法、化学表征及在生物医学领域的应用已作了系统阐述, 但 GO 与生物体之间的相互作用还不甚明确, GO 的体内外行为, 如毒性、炎症反应、病理变化、体内清除等尚未有一致的结果。

基于此, 本文综述了近年来关于 GO 的生物相容性研究工作, 主要包括 GO 的体外以及体内生物相容性研究, 并提出除了可以通过控制其尺寸大小及剂量高低, 还可以通过表面修饰来解决以 GO

基金项目: 浙江省中医药科技计划项目(2016ZA130)

作者简介: 俞文英, 女, 硕士, 助理研究员 Tel: (0571)88215628
副研究员 Tel: (0571)88215628 E-mail: sunjieyin@163.com

E-mail: zjywenying@163.com

*通信作者: 孙洁胤, 女, 博士,

为载体的纳米药物的生物安全性问题,旨在为开发高效、低毒的药物输送载体提供参考。

1 GO 载药体系的体内外生物相容性

作为一种药物载体,GO 不可避免地会与细胞、组织和器官接触,因此,对 GO 进行体内外生物相容性评价是决定其能否应用于临床的重要环节。

1.1 体外生物相容性

1.1.1 血液相容性 由于给药后,生物材料会与血液中的成分直接或间接接触,因此,血液相容性是生物材料安全性评价的重要内容之一。Liao 等^[8]在体外实验中发现,尺寸约 3 μm 的 GO 在浓度为 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,仅引起 10% 的溶血,而 350 nm 的 GO 在 25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时就会导致 70% 的溶血。红细胞膜被纳米尺寸的 GO 严重破坏,可能由于 GO 表面所带负电荷与红细胞膜表面磷脂双分子层之间强烈的静电作用;相反,微米尺寸的 GO 具有良好的血液相容性,很可能是由于聚集的 GO 总表面积较小,减少了与红细胞膜的接触。这一结果与之前对碳纳米管的报道一致^[9]。然而,尽管微米尺寸的 GO 溶血反应较小,但聚集时易发生凝血现象。有趣的是,当 GO 的尺度分布范围比较宽时(10~800 nm),溶血反应会大大降低,即便浓度高达 80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,溶血率也<10%^[10]。

1.1.2 炎症反应 巨噬细胞在非特异性免疫中发挥着重要作用,但同时也对药物载体建立了一个坚实的防御屏障。GO 纳米载体在到达病变部位前很有可能被巨噬细胞吞噬或诱导炎症反应。

Yue 等^[11]比较了 2 μm 和 350 nm 的 GO 在巨噬细胞中的反应,发现无论是微米尺寸的 GO 还是纳米尺寸的 GO 都能被巨噬细胞摄取,但微米尺寸的 GO 能诱导更强的免疫反应,已证实 2 μm 的 GO 能引起白介素 6、白介素 12、肿瘤坏死因子 α 、单核细胞趋化蛋白 1 和 γ 干扰素等炎症细胞因子水平显著增加,推测该免疫反应很可能是由于微米尺寸的 GO 在细胞内化时存在较大的空间位阻效应引起的。Ma 等^[12]进一步研究发现,较大尺寸的 GO 会激活 Toll 样受体信号通路,促进炎症介质的生成和免疫细胞的募集。

这些研究表明,纳米尺寸的 GO 在避免炎症反应方面可能更为合适。事实上,根据 Vila 和 Stolnik 等^[13-14]的研究发现,将 GO 的尺寸大小保持在 150 nm 左右或用亲水性聚合物修饰,都可明显降低调脂素和脂蛋白之间的作用,从而避免被巨噬

细胞识别。

1.1.3 细胞毒性 一般来说,微米尺寸的 GO 比纳米尺寸的 GO 具有更高的细胞毒性,这可能由于大尺寸的 GO 较快地沉积和聚集在细胞表面,阻遏了细胞生长所需养分的获得^[8]。而且,GO 的细胞毒性呈剂量依赖性。当浓度>50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,微米尺寸的 GO 无论对正常人体细胞还是对肿瘤细胞都显示出明显的毒性^[12,15]。

相反,Liao、Chang 和 Li 等^[8,16-17]研究发现,纳米尺寸的 GO(430~780 nm)对成纤维细胞、人肺癌细胞(A549 细胞)和人低分化肺癌细胞的毒性均较小,在浓度高达 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,细胞存活率仍>80%。Zhang 等^[18]对不同尺寸(205.8, 146.8, 33.78 nm)GO 的细胞毒性和摄取率进行了研究,发现人宫颈癌细胞(Hela 细胞)对 3 种不同尺寸 GO 的摄取率存在尺度依赖性,尺寸越小,细胞摄取量越大;同等浓度下,尺寸越小,GO 的细胞毒性越小,尺寸<50 nm 的 GO 具有低毒和高摄取的优势,可用于药物运输和生物成像研究。

上述研究说明,GO 的尺寸大小直接影响其细胞毒性,而且存在明显的浓度依赖性。除此之外,不同细胞株对 GO 的敏感性存在差异。Chowdhury 等^[19]比较了 GO 对 Hela 细胞、人乳腺癌上皮细胞 MCF-7 和高表达 ErbB2 人乳腺癌细胞 SKBR3 的细胞毒性,发现同等浓度下 GO 对 Hela 细胞的毒性明显大于 MCF-7 和 SKBR3 细胞。

1.2 体内生物相容性

1.2.1 体内毒性 研究者们对 GO 在斑马鱼^[20]、昆明小鼠^[10]、C57/B6 小鼠^[12]和日本大耳白兔^[21]中的体内毒性进行了研究。结果发现,在斑马鱼中,不同剂量的 GO(250, 500, 750 μg)经显微注射后,均诱导了其体内细胞凋亡,引起胚胎发育形态缺陷,且严重程度与剂量有关,高剂量组(750 μg)的 GO 可导致(32.54 $\pm$ 2.09)%的胚胎发育出现严重缺陷^[20]。这一结果在小鼠体内实验中也得到了证实,Wang 等^[15]发现,当低剂量(0.1 mg)或中剂量(0.25 mg)尾静脉给药时,GO 未表现出明显的毒性反应;而当 GO 高剂量(0.4 mg)给药时,出现慢性毒性,7 d 内引起 44.4% 的小鼠死亡。

1.2.2 病理变化 通常,无论是微米尺寸的 GO 还是纳米尺寸的 GO,在高剂量给药时,都会累积在肺、肝和脾中,在肺中的滞留时间可长达 1 个月。这种累积呈剂量依赖性,会引起肺部明显的

病理变化, 包括炎性细胞浸润、肺水肿以及肉芽肿的形成^[15,22]。微米尺寸的 GO 经静脉注射给药后, 可在 1 min 内由于片层的聚集而导致肺栓塞^[22]; 相反, 纳米尺寸的 GO 未引起肝、脾和肾的显著病理改变, 表明纳米尺寸的 GO 与大多数器官具有良好的生物相容性。Zhang 等^[10]用放射性同位素铼(¹⁸⁸Re)示踪 GO, 通过尾静脉将 ¹⁸⁸Re-GO(1 mg·kg⁻¹) 注入小鼠体内, 发现 GO 主要沉积在小鼠肺部 [(25.53±6.27)%], 但网状内皮系统对 GO 的摄取量较少; 当 ¹⁸⁸Re-GO 浓度提高到 10 mg·kg⁻¹ 时, 小鼠肺部出现明显的病理性改变, 提示高剂量的 GO 存在肺毒性。

1.2.3 炎症反应 Yue 等^[11]比较了不同尺寸的 GO 诱发的体内炎症反应, 通过小鼠颈部皮下注射发现微米尺寸的 GO(2 μm)相比纳米尺寸的 GO(350 nm)会引起更严重的炎症反应。在注射了 2 μm 大小的 GO 的小鼠颈部脂肪组织中, 观察到大量的单核细胞以及组织损伤。Sydlik 等^[22]研究也证实了这一结果, 微米尺寸的 GO 会诱导一系列异物反应。而在另一项研究中, Yan 等^[21]考察了约 1 μm 大小的 GO 在兔眼内的生物相容性, 发现在眼内注射 0.3 mg GO 后, 49 d 内未见炎症反应, 但 GO 有可能已扩散到玻璃体腔内。

1.2.4 体内清除 尺寸大小决定了以 GO 为载体的给药系统的体内清除途径。通常<10 nm 的 GO 能够快速通过肾脏途径清除^[10], 而微米尺寸的 GO 会优先通过肝脏分泌到胆道系统中排出^[15]。Zhang 等^[23]发现尺寸分布范围较宽的 GO 纳米载体(50~100 nm)具有 2 种不同的清除途径, 较小尺寸的经肾脏途径由尿液中排泄, 而较大尺寸的经粪便途径排出体外。而且, 大部分 GO 纳米载体在 1 周内就可从 Balb/c 小鼠体内清除, 而未对各器官造成明显损害。

2 GO 的表面功能化修饰

为了充分发挥 GO 作为药物载体的优势, 克服其自身缺陷, 研究者们已提出了多个策略, 其中最方便、有效的方式是 GO 的表面功能化修饰, 将表面修饰剂以共价或非共价的形式结合在 GO 上, 可提高其生物相容性, 扩展 GO 在生物医学领域的应用范围。

2.1 牛血清白蛋白

牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)作为一种新型的生物材料, 因其良好的生物相容性、

精确的几何结构, 在纳米医药领域受到越来越多的关注。BSA 在细胞培养基中能影响纳米材料的细胞摄取、胞内定位及生物相容性。Mu 等^[24]考察了小鼠骨髓间充质干细胞(C2C12)对 BSA-GO 的摄取效率以及不同尺寸对摄取机制的影响, 结果发现 BSA-GO 在 30 min 内就被细胞摄取完全, 且不同尺寸的 BSA-GO 具有不同的细胞内化模式, 尺寸>500 nm 会激活吞噬反应, 而<500 nm 的 BSA-GO 主要通过网格蛋白介导的内吞作用进入细胞。

GO 经 BSA 修饰后还能提高在生理溶液中的稳定性, 且能有效抑制血管生成。Lai 等^[25]发现 BSA-GO 在 pH 4.2~9.8 的磷酸钠缓冲溶液中能稳定分散, 当浓度为 30 μg·mL⁻¹ 时, 能有效抑制血管内皮生长因子 A₁₆₅ 诱导的人脐静脉内皮细胞的血管生成, 抑制率达 80%以上; 体内实验进一步证明当 BSA-GO 浓度为 150 μg·mL⁻¹ 时, 能阻断鸡胚绒毛尿囊膜和兔角膜新生血管的形成。

2.2 聚乙二醇

聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)是一种中性、无毒且具有良好生物相容性的高分子聚合物, 已被 FDA 批准用于人体。2008 年 Dai 课题组首次制备获得 GO-PEG-喜树碱衍生物(SN38)复合物。结果显示, 该复合物在不同的溶液中均能稳定分散, 且保持了药物的活性。更重要的是, GO-PEG 作为药物载体未表现出明显的细胞毒性^[26]。另一方面, PEG 还赋予了 GO “隐形” 的性能, 这可能是由于 PEG 不仅能屏蔽 GO 所带的静电, 而且能减少 GO 和生物界面的接触, 因此 GO 经 PEG 修饰后能尽可能避免被巨噬细胞吞噬^[13]。Yang 等^[27]研究了 PEG 修饰的 GO 经不同给药途径的体内分布及毒性反应, 发现 PEG-GO 经小鼠灌胃后, 未出现明显的组织吸收; 相反, PEG-GO 经腹腔注射后, 主要集中在网状内皮系统(肝脏、脾脏), 且材料最终被降解; 持续观察注射后的小鼠, 发现 90 d 内, PEG-GO 处理并没有引起小鼠体质量减轻和死亡。

Vila 等^[13]还比较了 PEG 支化数量对 GO 的细胞摄取和细胞毒性的影响。研究发现, 在成骨细胞、成纤维细胞和巨噬细胞中, 对线性 PEG 修饰 GO(1PEG-GO)的摄取显著高于六臂 PEG 修饰的 GO(6PEG-GO), 这可能是由于高度支化的 PEG 和细胞表面的接触减少引起的。然而, 6PEG-GO 虽

具有较低的细胞摄取率,但它对细胞活性也会产生影响,在浓度为 $75\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,细胞活性只有 60%,提示 6PEG-GO 相比 1PEG-GO,更有可能引起细胞功能的改变。

2.3 葡聚糖

葡聚糖(Dextran, DEX)是一种可生物降解的天然高分子材料,可显著抑制补体系统的激活。此外,DEX 偶联 GO 后,还能改善 GO 在生理溶液中的稳定性及生物相容性。Zhang 等^[23]考察了 DEX-GO 与 Hela 细胞的生物相容性,发现在浓度高达 $450\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,细胞活性仍能保持>80%。DEX-GO 用 ^{125}I 进行示踪后,通过小鼠尾静脉注入材料,发现材料在网状内皮系统富集,但该材料在 1 周内可被清除,且没有短期毒性。值得注意的是,DEX-GO 在近红外区域(800 nm)的光学密度比 GO 增加了 18.6 倍,这一发现再一次证明功能化修饰后的 GO 在光热治疗中的应用前景。

2.4 聚酰胺-胺树状大分子

聚酰胺-胺(PAMAM)树状大分子是一类高度支化的单分散性大分子,具有精确可控的分子结构,在表面活性剂、纳米复合材料等方面有着广泛的应用。Siriviriyannun 等^[28]将 PAMAM 树状大分子和叶酸(folic acid, FA)修饰到 GO 上,构建了 GO-PAMAM-FA 共轭体系。该体系在细胞毒性试验中显示出良好的生物相容性,在浓度高达 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,细胞存活率仍能>70%;在细胞光毒性试验中,将 GO-PAMAM-FA 与 Hela 细胞共孵育 2 h 后,予 780 nm 的激光照射 15 min,发现 GO-PAMAM-FA 的存在诱导了 Hela 细胞的死亡,而对照组并未受到激光照射的影响。

在另一项研究中,Gu 等^[29]设计了 PAMAM-GO 载药体系,该纳米体系具有高载药量、水分散性和 pH 响应控制释放等多重特性;此外,当 PAMAM-GO 的浓度 $<50\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,对小鼠胚胎成纤维细胞 3T3 几乎无毒性;体内毒性研究亦发现,PAMAM-GO($50\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)经小鼠尾静脉注入体内后,并未引起心、肝、肺、脾、肾等脏器病变,提示 GO 经 PAMAM 修饰后,具有较好的生物相容性。

2.5 其他表面修饰剂

二氧化钛(TiO_2)具有光催化和光致亲水性 2 种优越的性质。Hu 等^[30]将 TiO_2 与 GO 制成复合材料后,发现在可见光照射下,GO/ TiO_2 复合物(GO 的

浓度为 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)与单独使用 GO 相比,能诱导 Hela 细胞产生 4 倍多的活性氧,引发细胞凋亡,且无暗毒性。提示 GO 经 TiO_2 修饰后具有更好的光动力抗癌活性。

除了 TiO_2 修饰,还可以在 GO 混悬液中添加表面活性剂等来改善 GO 的潜在毒性。Qu 等^[31]发现吐温-80 可以通过改变 GO 的 zeta 电位来阻止其与血细胞接触,从而减慢血细胞沉积;在小鼠体内实验中,吐温-80 能够减少 GO 在肺中的沉积,且不会引起脑、肾、睾丸等组织病变。

上述研究均提示,GO 的体内外毒性在一定程度上可通过表面修饰来避免。这些功能化修饰不仅有助于 GO 提高生物相容性,同时也保留了其在药物传递系统中的优良性质。除了以上这些表面修饰剂,还有很多聚合物可用于 GO 的表面修饰。表 1 列举了 GO 经不同聚合物修饰后作为抗肿瘤药物(包括化疗药和光敏剂)载体的体内外研究。

3 结论和展望

综上所述,GO 的体内外生物相容性与材料的理化性质和使用剂量等密切相关。其中,GO 尺寸大小的选择是研究工作的重点和难点,一般来说,尺寸较小的 GO 具有低毒和高摄取的优势^[18],但同时易引发溶血反应^[8];而尺寸较大的 GO 虽溶血作用弱,但细胞毒性较大,且易引起肺栓塞^[22];因此,选择合适的尺寸和使用剂量,并通过表面修饰来降低 GO 诱发的生物毒性,是解决其生物相容性问题的关键,从而使其能更好地运用于药物传递、生物成像和肿瘤光热治疗中。

GO 的生物相容性研究已经积累了一定的研究基础,但由于 GO 制备方法的多样性和生物系统的复杂性,会显著影响其在体内外的生物相容性,导致研究结果的不一致,因此 GO 的生物相容性问题不能简单归纳得出结论,需要综合多方面的因素进行深入研究。

在推动以 GO 为载体的新药进入临床试验前,势必会面临诸多挑战:①GO 制备方法的优化,使其具有可重复性,并能精确控制 GO 的尺寸和质量;②最佳使用剂量的摸索,找到以 GO 为载体的处方疗效和毒性之间的平衡点;③其他表面修饰剂的开发,需具有良好生物相容性且修饰后的 GO 能在短时间内清除;④毒理学方法的进一步规范,系统阐明以 GO 为载体处方的潜在毒性;⑤体内外模型的建立,全面评价 GO 处方的生物相容性,使

表 1 不同聚合物修饰的 GO 负载抗癌药物或光敏剂的体内外研究

Tab. 1 *In vitro* and *in vivo* studies of GO-based formulations carrying chemotherapeutic and photodynamic drugs

载体	药物/光敏剂	尺寸/nm	细胞或动物模型	文献
GO-CS	多西紫杉醇	536.2±6.2	MCF-7 细胞、S180 荷瘤小鼠	[32]
GO-RGD-CS	DOX	150~170	人肝癌细胞 Bel-7402、Bel-7402 荷瘤裸鼠	[33]
GO-PVP-RGD	二氢卟吩 e6*	—	人胃癌细胞 MGC803	[34]
GO-IPEG	整合素 $\alpha v\beta 3$ 抗体、焦脱镁叶绿酸 a*	100~400	恶性胶质瘤细胞 U87MG、MCF-7 细胞	[35]
GO-6PEG-PAMAM	anti-miR-21	10~100	A549 细胞、A549 荷瘤裸鼠	[36]
GO/DSPE-PEG-Tf	二氢青蒿素	100~200	小鼠乳腺癌细胞 EMT-6、EMT-6 荷瘤小鼠	[37]
GO/DEX-HT	DOX	220~240	MCF-7/ADR 耐药细胞株	[38]
GO-TiO ₂	竹红菌甲素*	~100	Hela 细胞	[39]
GO-HP- β -CD	紫杉醇	~100	Hela 细胞	[40]
GO-FA-BSA	脱镁叶绿酸 a*	182.0±33.2	小鼠黑色素瘤高转移细胞 B16F10、MCF7 细胞、MCF7 荷瘤裸鼠	[41]
GO-HA-F68	米托蒽醌	~100	MCF-7 及 MCF-7/ADR 细胞、MCF-7 及 MCF-7/ADR 荷瘤裸鼠	[42]
GO-Cyt-ALG-IPEG	DOX	94.7±9.6	人肝癌细胞 HepG2	[43]
GO-bPEI-IPEG	DOX	100-200	人前列腺癌细胞 PC-3	[44]

注：RGD-精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸；PVP-聚乙烯吡咯烷酮；DSPE-PEG-二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 2 000；Tf-转铁蛋白；HT-血红素；HP- β -CD-羟丙基- β -环糊精；HA-透明质酸；F68-泊洛沙姆 F68；Cyt-胱胺；ALG-藻酸盐；bPEI-支化聚乙烯亚胺；*光敏剂。

Note: RGD-Arg-Gly-Asp; PVP-Polyvinylpyrrolidone; DSPE-PEG-DSPE-PEG 2 000; Tf-Transferrin; HT-Hematin; HP- β -CD-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin; HA-Hyaluronic acid; F68-Pluronic F68; Cyt-Cystamine; ALG-Alginate; bPEI-Branched polyethyleneimine; *photosensitizer.

其能更好地转化到临床。此外，以 GO 为载体的处方在大规模工业化生产和应用时，还需考虑到对人体和环境的不利影响，是否可能导致潜在的人体暴露和环境污染问题，这些有待于进一步研究。

REFERENCES

- [1] FANG J L, XU J, ZHANG Y W, et al. Preparation and *in vitro* release of functionalized graphene oxide loading fluorouracil [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2014, 31(10): 1215-1219.
- [2] VACCHI I A, SPINATO C, RAYA J, et al. Chemical reactivity of graphene oxide towards amines elucidated by solid-state NMR [J]. Nanoscale, 2016, 8(28): 13714-13721.
- [3] LI D, MÜLLER M B, GILJE S, et al. Processable aqueous dispersions of graphene nanosheets [J]. Nat Nanotechnol, 2008, 3(2): 101-105.
- [4] HOU L, SHI Y, JIANG G, et al. Smart nanocomposite hydrogels based on azo crosslinked graphene oxide for oral colon-specific drug delivery [J]. Nanotechnology, 2016, 27(31): 315105.
- [5] KALLURU P, VANKAYALA R, CHIANG C S, et al. Nano-graphene oxide-mediated *in vivo* fluorescence imaging and bimodal photodynamic and photothermal destruction of tumors [J]. Biomaterials, 2016(95): 1-10.
- [6] THAPA R K, CHOI J Y, POUDEL B K, et al. Receptor-targeted, drug-loaded, functionalized graphene oxides for chemotherapy and photothermal therapy [J]. Int J Nanomedicine, 2016(11): 2799-2813.
- [7] ZHANG M, YU Q, LIANG C, et al. Graphene oxide induces plasma membrane damage, reactive oxygen species accumulation and fatty acid profiles change in *Pichia pastoris* [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2016(132): 372-378.
- [8] LIAO K H, LIN Y S, MACOSKO C W, et al. Cytotoxicity of graphene oxide and graphene in human erythrocytes and skin

- fibroblasts [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2011, 3(7): 2607-2615.
- [9] LIU S, WEI L, HAO L, et al. Sharper and faster “nano darts” kill more bacteria: a study of antibacterial activity of individually dispersed pristine single-walled carbon nanotube [J]. ACS Nano, 2009, 3(12): 3891-3902.
- [10] ZHANG X Y, YIN J L, PENG C, et al. Distribution and biocompatibility studies of graphene oxide in mice after intravenous administration [J]. Carbon, 2011, 49(3): 986-995.
- [11] YUE H, WEI W, YUE Z, et al. The role of the lateral dimension of graphene oxide in the regulation of cellular responses [J]. Biomaterials, 2012, 33(16): 4013-4021.
- [12] MA J, LIU R, WANG X, et al. Crucial role of lateral size for graphene oxide in activating macrophages and stimulating proinflammatory responses in cells and animals [J]. ACS Nano, 2015, 9(10): 10498-10515.
- [13] VILA M, PORTOLÉS M T, MARQUES P A, et al. Cell uptake survey of pegylated nanographene oxide [J]. Nanotechnology, 2012, 23(46): 465103.
- [14] STOLNIK S, ILLUM L, DAVIS S S. Long circulating microparticulate drug carriers [J]. Adv Drug Deliv Rev, 1995, 16(2): 195-214.
- [15] WANG K, RUAN J, SONG H, et al. Biocompatibility of graphene oxide [J]. Nanoscale Res Lett, 2011, 23(6): 1-8.
- [16] CHANG Y, YANG S T, LIU J H, et al. *In vitro* toxicity evaluation of graphene oxide on A549 cells [J]. Toxicol Lett, 2011, 200(3): 201-210.
- [17] LI Y P, WU Q L, ZHAO Y L, et al. Response of microRNAs to *in vitro* treatment with graphene oxide [J]. ACS Nano, 2014, 8(3): 2100-2110.
- [18] ZHANG H, PENG C, YANG J, et al. Uniform ultrasmall graphene oxide nanosheets with low cytotoxicity and high cellular uptake [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2013, 5(5): 1761-1767.
- [19] CHOWDHURY S M, LALWANI G, ZHANG K, et al. Cell specific cytotoxicity and uptake of graphene nanoribbons [J]. Biomaterials, 2013, 34(1): 283-293.

- [20] JEONG J, CHO H J, CHOI M, et al. *In vivo* toxicity assessment of angiogenesis and the live distribution of nano-graphene oxide and its PEGylated derivatives using the developing zebrafish embryo [J]. Carbon, 2015(93): 431-440.
- [21] YAN L, WANG Y, XU X, et al. Can graphene oxide cause damage to eyesight [J]. Chem Res Toxicol, 2012, 25(6): 1265-1270.
- [22] SYDLIK S A, JHUNJHUNWALA S, WEBBER M J, et al. *In vivo* compatibility of graphene oxide with differing oxidation states [J]. ACS Nano, 2015, 9(4): 3866-3874.
- [23] ZHANG S, YANG K, FENG L, et al. *In vitro* and *in vivo* behaviors of dextran functionalized graphene [J]. Carbon, 2011, 49(12): 4040-4049.
- [24] MU Q X, SU G X, LI L W, et al. Size-dependent cell uptake of protein-coated graphene oxide nanosheets [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2012, 4(4): 2259-2266.
- [25] LAI P X, CHEN C W, WEI S C, et al. Ultrastrong trapping of VEGF by graphene oxide: Anti-angiogenesis application [J]. Biomaterials, 2016(109): 12-22.
- [26] POTTS J R, DREYER D R, BIELAWSKI C W, et al. Graphene-based polymer nanocomposites [J]. Polymer, 2011, 52(1): 5-25.
- [27] YANG K, GONG H, SHI X Z, et al. *In vivo* biodistribution and toxicology of functionalized nano-graphene oxide in mice after oral and intraperitoneal administration [J]. Biomaterials, 2013, 34(11): 2787-2795.
- [28] SIRIVIRIYANUN A, IMAE T, CALDERÓ G, et al. Phototherapeutic functionality of biocompatible graphene oxide/dendrimer hybrids [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2014(121): 469-473.
- [29] GU Y, GUO Y, WANG C, et al. A polyamidoamine dendrimer functionalized graphene oxide for DOX and MMP-9 shRNA plasmid co-delivery [J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2017, 70(1): 572-585.
- [30] HU Z, HUANG Y, SU S, et al. Visible light driven photodynamic anticancer activity of graphene oxide/TiO₂ hybrid [J]. Carbon, 2012, 50(3): 994-1004.
- [31] QU G B, WANG X Y, LIU Q, et al. The *ex vivo* and *in vivo* biological performances of graphene oxide and the impact of surfactant on graphene oxide's biocompatibility [J]. J Environ Sci, 2013, 25(5): 873-881.
- [32] ZHU X, ZHANG Y, HUANG H, et al. Functionalized graphene oxide-based thermosensitive hydrogel for near-infrared chemo-photothermal therapy on tumor [J]. J Biomater Appl, 2016, 30(8): 1230-1241.
- [33] WANG C, LI Y, CHEN B, et al. *In vivo* pharmacokinetics, biodistribution and the anti-tumor effect of cyclic RGD-modified doxorubicin-loaded polymers in tumor-bearing mice [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2016(146): 31-38.
- [34] HUANG P, WANG S, WANG X, et al. Surface functionalization of chemically reduced graphene oxide for targeted photodynamic therapy [J]. J Biomed Nanotechnol, 2015, 11(1): 117-125.
- [35] WEI Y, ZHOU F, ZHANG D, et al. A graphene oxide based smart drug delivery system for tumor mitochondria-targeting photodynamic therapy [J]. Nanoscale, 2016, 8(6): 3530-3538.
- [36] WANG F, ZHANG B, ZHOU L, et al. Imaging dendrimer-grafted graphene oxide mediated anti-miR-21 delivery with an activatable luciferase reporter [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2016, 8(14): 9014-9021.
- [37] LIU L, WEI Y, ZHAI S, et al. Dihydroartemisinin and transferrin dual-dressed nano-graphene oxide for a pH-triggered chemotherapy [J]. Biomaterials, 2015(62): 35-46.
- [38] JIN R, JI X, YANG Y, et al. Self-assembled graphene-dextran nanohybrid for killing drug-resistant cancer cells [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2013, 5(15): 7181-7189.
- [39] DING Y, ZHOU L, CHEN X, et al. Mutual sensitization mechanism and self-degradation property of drug delivery system for *in vitro* photodynamic therapy [J]. Int J Pharm, 2016, 498(1/2): 335-346.
- [40] TAN J, MENG N, FAN Y, et al. Hydroxypropyl- β -cyclodextrin-graphene oxide conjugates: Carriers for anti-cancer drugs [J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2016(61): 681-687.
- [41] BATTOGTOKH G, KO Y T. Graphene oxide-incorporated pH-responsive folate-albumin-photosensitizer nanocomplex as image-guided dual therapeutics [J]. J Control Release, 2016(234): 10-20.
- [42] HOU L, FENG Q, WANG Y, et al. Multifunctional hyaluronic acid modified graphene oxide loaded with mitoxantrone for overcoming drug resistance in cancer [J]. Nanotechnology, 2016, 27(1): 015701. Doi: 10.1088/0957-4484/27/1/015701.
- [43] ZHAO X B, LIU L, LI X R, et al. Biocompatible graphene oxide nanoparticle-based drug delivery platform for tumor microenvironment-responsive triggered release of doxorubicin [J]. Langmuir, 2014, 30(34): 10419-10429.
- [44] KIM H, LEE D, KIM J, et al. Photothermally triggered cytosolic drug delivery via endosome disruption using a functionalized reduced graphene oxide [J]. ACS Nano, 2013, 7(8): 6735-6746.

收稿日期: 2016-08-04

(本文责编: 蔡珊珊)