

# 石墨烯量子点的制备及其生物应用

孙晓丹<sup>1</sup>, 刘中群<sup>2</sup>, 颜昊<sup>1</sup>

(1. 清华大学 材料学院, 先进材料教育部重点实验室, 北京 100084; 2. 北京科技大学 材料科学与工程学院, 北京 100083)

**摘要:** 石墨烯量子点(GQDs)作为石墨烯材料的衍生物, 在兼顾了石墨烯优良特性的同时, 又依靠量子限域效应和边界效应而具备了光致发光(PL)等石墨烯所不具备的性质, 而且在细胞毒性、生物相容性等方面也有更好的表现。近年来, GQDs的制备方法日趋多样化, 通常将其分为 Top-down 和 Bottom-up 两种方法。随着 GQDs 在生物医学领域应用的不断深化, 对其形貌和尺寸控制也提出了更高的要求, 因此本文对 Bottom-up 法等一些有希望精确控制 GQDs 形貌和尺寸的方法进行了重点介绍, 并对各种方法的优缺点进行了对比。目前 GQDs 的生物应用主要包括生物成像、生物传感器、药物输运和抗菌剂等, 本文对其各种应用分别进行了介绍, 并结合各种应用对 GQDs 的要求给出了制备方法的建议。文章最后还指出了 GQDs 研究中存在的问题及发展方向。

**关键词:** 石墨烯量子点; 形貌尺寸控制; 制备方法; 生物应用; 综述

中图分类号: O613 文献标识码: A

## Preparation and Biological Application of Graphene Quantum Dots

SUN Xiao-Dan<sup>1</sup>, LIU Zhong-Qun<sup>2</sup>, YAN Hao<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Advanced Materials of Ministry of Education of China, School of Materials Science & Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 2. School of Materials Science and Technology, University of Science and Technology Beijing, Beijing 100083, China)

**Abstract:** As the derivatives of graphene, graphene quantum dots (GQDs) have the excellent properties of graphene, and photoluminescence (PL) properties that ordinary graphene does not possess, which is attributed to quantum confinement effect and boundary effect. Moreover, GQDs perform well in terms of cytotoxicity and biocompatibility. Recently, the synthetic method of GQDs is increasingly diverse, which is usually divided into two main groups: top-down and bottom-up. With increasing application of GQDs in biomedical field, higher requirements on their morphology and size control are put forward. In this paper, we focus on the synthetic methods that are promising to control morphology and size of GQDs. Advantages and disadvantages of these methods are listed and analyzed comparatively. The biological applications of GQDs, including biological imaging, biological sensors, drug delivery and antibacterial agents, etc. are introduced. Suggestions on the choice of synthetic method for preparation of GQDs are given based on the requirements of diverse applications. The remained problems and the development directions in the research of GQDs are put forward.

**Key words:** graphene quantum dots; morphology and size control; synthetic methods; biological applications; review

石墨烯是一种具有网状周期结构的二维碳材料, 因其具有独特的电学和光学性质, 在许多方面展现

出广阔的应用前景<sup>[1-2]</sup>。但是石墨烯在生物医药领域的应用受到诸多限制, 能带结构和生物毒性是最主

收稿日期: 2015-09-09; 收到修改稿日期: 2015-11-30

基金项目: 清华大学自主科研计划项目(20131089199)

Tsinghua University Initiative Scientific Research Program (20131089199)

作者简介: 孙晓丹(1975-), 女, 副研究员. E-mail: sunxiaodan@tsinghua.edu.cn

要的问题,而石墨烯量子点的出现恰好可以解决这两个问题。

石墨烯是一种零带隙的半导体,没有能带间隙,无法产生荧光,因此限制了其在生物成像方面的应用。但是将石墨烯的尺寸缩小到纳米尺度形成石墨烯量子点(GQDs)后,由于量子限域效应和边界效应,使其具有可调节的能带间隙,可以受激发出稳定的荧光,从而弥补石墨烯在生物成像方面的不足。

石墨烯具有一定程度的细胞毒性,在生物实验<sup>[3-4]</sup>和体外细胞实验<sup>[5-6]</sup>中,GQDs 都表现出了较低的毒性,而且研究者发现石墨烯的细胞毒性随片层尺寸的减小而减弱<sup>[7]</sup>。因此在保证安全的前提下,GQDs 的应用范围更为广泛,这可以在很大程度上拓展石墨烯材料的应用范围。

随着 GQDs 在细胞成像、组织标记和药物输送等生物医学领域应用的不断深化,对石墨烯的形貌和尺寸控制也提出了更高的要求。目前用来制备 GQDs 的方法一般可以分为两类:自上而下法(Top-down)和自下而上法(Bottom-up)<sup>[8]</sup>。

文献[8]已经对 Top-down 法进行了较为系统的介绍,本文主要介绍几个典型的制备方法<sup>[8]</sup>。另外,本文还将介绍碳纤维剥离法和电子束刻蚀法。目前对 Bottom-up 法进行详细总结的文章很少,而 Bottom-up 法在 GQDs 的生物应用方面具有不可忽略的优势,所以本文将对其进行特别介绍。

## 1 制备方法

### 1.1 Top-down 法

Top-down 法是通过物理或化学方法将大尺寸的石墨烯破碎成小尺寸的石墨烯量子点,它起源于纳米石墨烯的制备方法<sup>[9-10]</sup>,可以看作是纳米石墨烯制备方法的拓展和补充。这类方法操作步骤相对简单、产率较高,也是目前应用最多的一类方法,但是由于其破碎位点的随机性,难以控制 GQDs 的尺寸和形貌。Top-down 法主要包括水热法、溶剂热法、强酸氧化法和电化学法等方法。

#### 1) 水热法

水热法制备 GQDs 的机理是通过对石墨烯进行强酸氧化,在碳晶格上引入环氧基等含氧官能团,并且在室温下进一步氧化为羰基对。由于羰基对不稳定,在水热条件下可以除去环氧键上的氧原子,从而破碎成 GQDs(如图 1 所示)。反应主要分为三个阶段<sup>[11]</sup>:首先将 GO 热还原为石墨烯;然后在浓硫酸和浓硝酸组成的混酸中将石墨烯氧化,在石墨烯

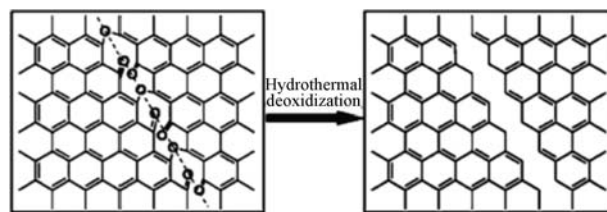


图 1 水热法切割产生 GQDs 的机理示意图<sup>[11]</sup>

Fig. 1 Mechanism for the hydrothermal cutting of oxidized GSs into GQDs: a mixed epoxy chain composed of epoxy and carbonyl pair groups (left) is converted into a complete cut (right) under the hydrothermal treatment<sup>[11]</sup>

片层上引入环氧基等含氧官能团,且这些含氧官能团倾向于在碳骨架上排成一条直线;最后将氧化后的石墨烯在弱碱性条件(pH=8)下进行水热处理,去除含氧基团,导致片层破裂,生成 GQDs,并过滤提纯。Pan 等<sup>[11]</sup>利用三步水热法制得了尺寸为 5~13 nm 的 GQDs,其荧光量子产率(QY)约 6.9%。Pan 等<sup>[12]</sup>和 Li 等<sup>[13]</sup>又分别对这种三步水热法进行了改进,Pan 等<sup>[12]</sup>将水热的弱碱性条件改为 pH>12 的强碱性,使产物尺寸减小到 1.5~5 nm;Li 等<sup>[13]</sup>用 PEG 对产物 GQDs 进行表面钝化修饰,将荧光量子产率提高到 28%。

#### 2) 溶剂热法

溶剂热法的机理与水热法基本相同,其主要区别是使用了 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)等有一定还原性的有机溶剂替代水作为溶剂,在破碎 GO 的同时,使其得到还原。Yang 等<sup>[6]</sup>以改进的 Hummers 法制备的 GO 为起始原料,将其分散在 DMF 中,然后将 GO/DMF 悬浮液再加热至 200℃,冷却至室温后得到的棕色悬浮液,即为 GQDs 的 DMF 分散液。通过旋转蒸发除去溶剂,得到石墨稀量子点,可以发出稳定的绿色荧光,其尺寸约 5.3 nm,量子产率约 11.4%。

#### 3) 强酸氧化法

强酸氧化法是利用强酸的氧化性,在微波辐射、超声处理等辅助手段下,将氧化石墨烯(GO)直接切割得到 GQDs。这种方法不可避免地会在产物的表面引入大量带负电的含氧官能团,在提高 GQDs 亲水性的同时,其生物毒性也会增强,而且含氧官能团的存在会破坏石墨烯碳结构,GQDs 量子产率也随之降低。此方法还有一个缺点是去除氧化过程中使用的氧化剂十分困难,这严重影响了产物 GQDs 的生物相容性。Wang 等<sup>[14]</sup>将 GO、浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 和浓 HNO<sub>3</sub> 按一定比例混合,并利用微波辐射进行加热处理,得到尺寸为 2 nm 和 5 nm 两种石墨稀量子点。实验还发现 GQDs 的荧光强度与 pH 相关,在

pH 为 1 时荧光淬灭, pH 为 13 时荧光恢复。强酸在反应过程中主要作为氧化剂, 并起到防止 GQDs 聚集的作用。Zhu 等<sup>[15]</sup>在此基础上对该方法进行了改进, 将 GO 与浓  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 、浓  $\text{HNO}_3$  混合物经过微波辐射后得到的 GQDs 用硼氢化钠还原得到石墨稀量子点, 可发出稳定的蓝色荧光(如图 2 所示)。而且经过硼氢化钠还原后, GQDs 的荧光颜色由绿色变为蓝色的同时, 量子产率也由 11.7% 提高到了 22.9%。

#### 4) 电化学法

电化学法的机理为由石墨烯片层上的物理或化学缺陷提供电化学氧化位点, 通过电极施加足够的电位, 驱动水电离出羟基和氧自由基将碳晶格氧化, 在石墨烯基面上产生呈线性排列的环氧基、羧基、羟基等含氧基团, 同时使堆叠石墨烯片层之间间距增大。由于线性排列的含氧基团自身的表面张力, 石墨烯被破碎成 GQDs。由于含氧基团的存在, GQDs 在水溶液中可以稳定分布, 而且量子点表面结合的官能团可以取决于使用的有机溶剂<sup>[16-17]</sup>。Zhang 等<sup>[18]</sup>以石墨棒为阳极, Pt 为阴极, 以片层石墨烯为前体, 在氢氧化钠溶液中制得 GQDs, 其量子产率为 14%, 反应示意图如图 3 所示。Li 等<sup>[19]</sup>以石墨烯薄膜为电极, 在磷酸缓冲溶液中制备了 GQDs, 其尺寸分布较为均匀(3~5 nm), 可以发出绿色荧光, 且其性质非常稳定。

#### 5) 碳纤维剥离法

碳纤维剥离法是指以碳纤维为碳源, 剥离得到 GQDs, 其基本原理是通过化学或物理方法使石墨烯片层碎化, 碳纤维结构被破坏, 最终导致碳纤维(CF)横向和纵向裂解, 产生 GQDs。

##### a) 碳纤维化学剥离法

碳纤维化学剥离法的基本原理与强酸氧化法类似, 即通过化学氧化在碳晶格上引入环氧基等含氧

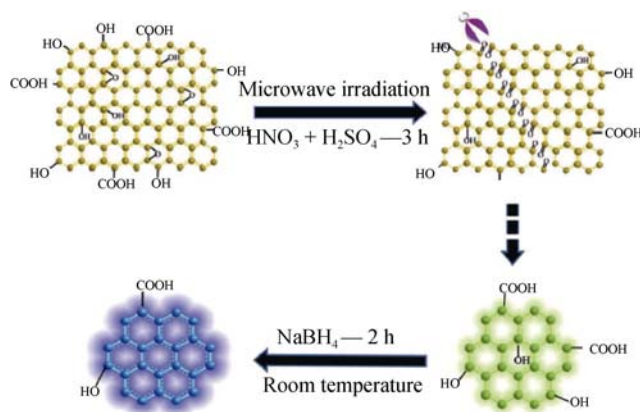


图 2 绿色荧光 GQDs 和蓝色荧光 GQDs 制备流程图<sup>[15]</sup>

Fig. 2 Schematic representation of the preparation route for gQDs and bQDs<sup>[15]</sup>

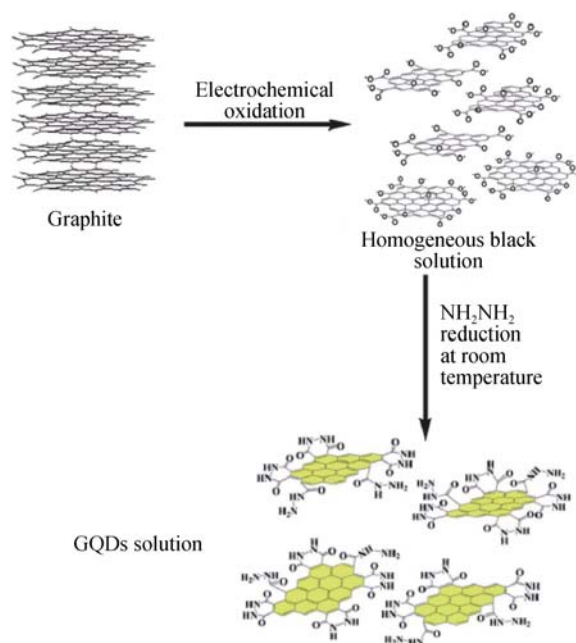


图 3 电化学方法制备 GQDs 溶液反应示意图<sup>[18]</sup>

Fig. 3 Schematic illustration of the generation process of GQDs solution<sup>[18]</sup>

基团, 然后通过超声加热等手段使其断裂。Zhu 和 Ajayan 等<sup>[20]</sup>利用碳纤维化学剥离法, 通过酸处理, 将堆垛在碳纤维中的石墨片层剥离, 制得尺寸为 1~4 nm 的 GQDs。另外, 由于环氧键的结合位点为 C-C 键, 断裂之后边缘结构大多数成锯齿状。研究还发现温度对 GQDs 尺寸的影响很大, 可以通过调节温度来改变 GQDs 的尺寸, 从而改变其荧光颜色。

##### b) 碳纤维超声剥离法

液相超声波法在石墨烯的制备上已经应用的十分广泛, 用于直接制备 GQDs 的还比较少见。传统的 Top-down 方法在制备过程中存在很多缺点, 因为它的基本原理是利用强酸等氧化 GO 产生含氧基团, 通过环氧键等含氧基团的断裂来破碎石墨烯, 因此不可避免地会在 GQDs 基面和边缘处引入大量含氧基团。为了提高量子产率, 一般要经过化学还原等操作, 所以整个过程中会产生很多缺陷。而液相超声剥离法却可以改善这个问题, 因为整个过程不发生化学反应, 不会引入含氧基团, 没有化学还原等步骤, 有效地避免了缺陷的产生。Li 等<sup>[21]</sup>利用二甲基亚砷溶液较高的表面张力, 在超声波的作用下使石墨烯片层剥离, 然后通过离心处理、微孔滤膜抽滤等方法除去残余大片层, 得到 GQDs 上清液。

##### c) 电子束刻蚀法

电子束刻蚀法是利用纳米刻蚀技术, 在大尺寸石墨烯片层上进行刻蚀, 精确地控制 GQDs 的形状和尺寸。Ponomarenko 等<sup>[22]</sup>以大尺寸的石墨烯片层



为前体,通过纳米刻蚀技术制备出横向尺寸为 30 nm 的 GQDs。但由于刻蚀技术分辨率的限制,这种方法制备出的 GQDs 尺寸最小为 10 nm,并由于仪器设备的特殊性,操作的复杂程度限制了这种方法的普及和 GQDs 的大批量制备。

## 1.2 Bottom-up 法

Bottom-up 法是以小分子为前体,通过一系列化学反应逐步合成尺寸较大的 GQDs,它可以通过控制反应条件来调节 GQDs 的形状和尺寸<sup>[23]</sup>,但是步骤繁琐,操作过程复杂。Bottom-up 法中最常用的是溶液化学法和热解炭化法。由于 C<sub>60</sub> 开笼法制备的 GQDs 的形貌和尺寸是通过控制碳簇的聚集来实现的,因此也将其归入 Bottom-up 法。

### 1) 溶液化学法

溶液化学法是 bottom-up 法中较为常用的办法,小分子前体经过氧化聚合等一系列化学反应逐步生成 GQDs。但是随着反应的进行,聚合产物 GQDs 尺寸不断增大,π-π 键之间的引力增强,导致其水溶性迅速降低<sup>[20]</sup>。通常所使用的增溶方法是在 GQDs 边缘处连接增溶基团,当 GQDs 与溶剂之间的吸引力大于石墨烯片层之间的吸引力时,溶解度就会相应的增大。Li 等<sup>[24]</sup>基于氧化缩合反应,以有机小分子为前体,通过精确控制石墨烯量子点六圆环的环数,得到环数为 132、168、170 的量子点,实现了对 GQDs 尺寸的精确控制,并且在石墨烯片层边缘连接增溶基团以提高其在水溶液中的稳定性。TANG 等<sup>[25]</sup>以葡萄糖为前体,利用葡萄糖微波辅助水热法(MAH)制备出尺寸均匀的 GQDs。葡萄糖分子发生脱水缩合,通过 C=C 键形成 GQDs 核,随着反应的进行, GQDs 核心逐渐生长, GQDs 的尺寸在 1.65~21 nm 范围内随微波加热时间的延长(1~9 min)而增大,其量子产率为 7%~11%。由于反应过程中唯一的反应物就是葡萄糖,不需要任何表面钝化剂和无机添加剂,所以产物 GQDs 的纯净度较高。另外,由于微波辐射加热的快速性、同时性和均匀性, GQDs 得以均匀形核和生长,所以产物 GQDs 具有良好的尺寸一致性。

### 2) 热解炭化法

有机盐热解炭化法的主要原理是将有机盐等有机小分子前体加热至其熔点以上,然后冷凝集形核长大,最终形成一定尺寸和形状的 GQDs。Chi 等<sup>[26]</sup>通过对柠檬酸进行炭化,制备出横向尺寸为 15 nm,厚度 0.5~2.0 nm 的 GQDs,且其量子产率相对较高。柠檬酸分子之间发生脱水反应,形成苯环,随着反应的进行,苯环逐渐长大,可以通过控制反应时间

来调节 GQDs 的尺寸(如图 4 所示)。Zhao 等<sup>[2]</sup>通过对谷氨酸的热解炭化制备出 GQDs,其量子产率为 54.5%,是柠檬酸制备 GQDs 的 4~5 倍。制备过程与柠檬酸类似,主要区别是加热时间短,只有 45 s。Liu 等<sup>[27]</sup>以六苯基苯为碳源,制备了尺寸均匀的 GQDs,其横向尺寸为 60 nm,纵向厚度为 2~3 nm。其基本过程主要分为三步:首先利用脱氢环化将六苯基苯变为粉末,然后通过炭化裂解得到人造石墨,最后以人造石墨为碳源制备 GQDs,并用水合肼还原以提高其量子产率。

### 3) C<sub>60</sub> 开笼法制备 GQDs

C<sub>60</sub> 开笼法制备 GQDs 的基本思路是在一定反应条件下,将具有相同尺寸和形状的富勒烯展平,并通过控制加热温度,使碳簇聚合形成具有特定形状和尺寸的 GQDs。主要反应过程如下:首先将温度加热到 1200 K,由于 C<sub>60</sub> 和 Ru 单晶的晶格常数不同,在过渡金属 Ru 的催化作用下, C<sub>60</sub> 分子中的碳原子会嵌入 Ru 单晶表面,并会逐渐碎裂成碳团簇;然后在不同温度下退火时,这些碳团簇经过扩散和聚集会形成不同形状和尺寸的 GQDs,而且可以通过改变退火温度以及碳团簇的密度来控制 GQDs 的形状和尺寸。Lu 等<sup>[23]</sup>通过 C<sub>60</sub> 开笼法制备出不同形貌和尺寸的 GQDs,退火温度为 725 K 时, GQDs 呈三角形或六角蘑菇状和花朵状;在 825 K 下退火时,小尺寸 GQDs 消失,聚合成为六边形尺寸较大的 GQDs(图 5)。

## 1.3 制备方法的比较

通过上文对 GQDs 制备方法的介绍,可以看出每种制备方法都具有各自的优缺点,表 1 对各种制

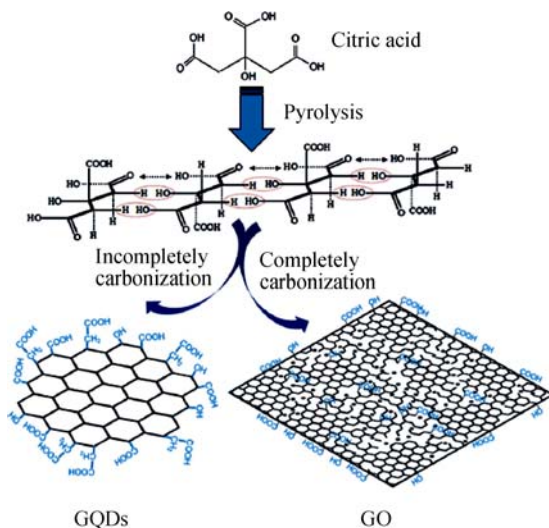


图 4 柠檬酸炭化形成 GQDs 和 GO 的示意图<sup>[26]</sup>

Fig. 4 Diagram for the synthesis of GQDs and GO<sup>[26]</sup>

The black dots in the GO represent oxygen atoms

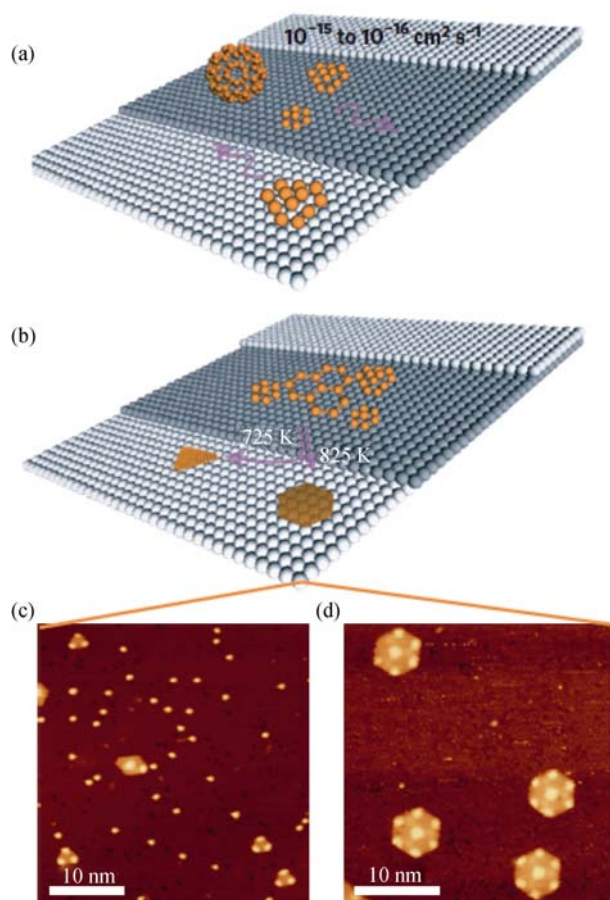


图5  $C_{60}$  开笼法制备 GQDs 示意图<sup>[23]</sup>

Fig. 5 Preparation mechanisms of GQDs using  $C_{60}$ <sup>[23]</sup>

(a)  $C_{60}$  molecules adsorb on the terrace, and these decompose to produce carbon clusters. (b) Temperature-dependent growth of GQDs with different equilibrium shape from the aggregation of the surface diffused carbon clusters. (c, d) Corresponding STM images for the well-dispersed triangular and hexagonal equilibrium shaped GQDs produced from  $C_{60}$ -derived carbon clusters

备方法的优缺点进行了总结。由于 Top-down 法中水热法、溶剂热法、强酸氧化法和电化学方法的优缺点大同小异, 所以没有进行详细区分。

## 2 生物应用

GQDs 具有可调节的光致发光性、荧光稳定性、优良的溶解性、低毒性和高的生物相容性等特性, 其中 GQDs 的光学性能和低毒性是其在细胞成像、生物传感和药物输运等领域得到广泛应用的关键。

### 2.1 荧光成像

GQDs 在近红外光区有较强的光致荧光性能、荧光稳定性和较高的生物相容性, 所以可以用于细胞和生物成像。相对于其他的有机、无机的量子点和荧光剂, GQDs 最为突出的就是分辨率、荧光稳定性和较低的细胞毒性<sup>[18]</sup>, 比较有影响的研究就是将

石墨烯量子点用于细胞成像、活细胞的实时分子追踪、体内光学成像。Zhang 等<sup>[18]</sup>将 GQDs 用于干细胞标记, 发现 GQDs 可以比较容易地进入干细胞, 表现了极低的生物毒性, 并且可以产生清晰稳定的影像。Zhu 等<sup>[20]</sup>将  $400 \mu\text{g}$  量子产率为 11.4% 的 GQDs 加入  $150 \mu\text{L}$  人体骨肉瘤细胞培养基中, 利用共焦荧光显微镜可以观察到细胞内部为亮绿色, 而且细胞的活性没有明显减弱。Nurunnabi 等<sup>[28]</sup>将用强酸氧化法制备的 GQDs 用聚多巴胺(pDA)包被后, 在  $500 \mu\text{g/mL}$  的浓度下, 没有表现出明显的生物毒性, 从小鼠尾部进行静脉注射, 可以对小鼠的内脏器官内形成清楚的荧光图像, 而且通过对比实验发现 pDA 包被后的 GQDs 的荧光稳定性比裸露 GQDs 更强。

### 2.2 生物传感器

石墨烯量子点与无机或有机物通过能量共振转移等形式发生相互作用, 可能导致 GQDs 的荧光猝灭, 根据这一特性, 可以制作成生物传感器。Zhao 等<sup>[29]</sup>以石墨烯为受体, 以小鼠抗人免疫球蛋白 mIgG 结合的 GQDs 为抗体, 制造了免疫传感器, 用以检测人类免疫球蛋白 G (IgG)。其机理是先将 mIgG 非共价键键合到 GQDs 上, 石墨烯与 GQDs 之间发生长程能量共振转移, 致使 GQDs 荧光猝灭; 然后由于 IgG 和 mIgG 之间的特异性作用, 当 IgG 存在时, mIgG-GQDs 不能与石墨烯发生长程共振能量转移, 荧光恢复, 从而根据荧光恢复情况定量检测 IgG 的量。Li 等<sup>[30]</sup>利用  $\text{Fe}^{3+}$  对 GQDs 的荧光淬灭作用, 制备了用于分析血清中  $\text{Fe}^{3+}$  含量的传感器。硫分子修饰的 GQDs(S-GQDs)在  $0.01\sim 0.70 \mu\text{mol/L}$  的浓度范围内对  $\text{Fe}^{3+}$  非常敏感, 其荧光强度对  $\text{Fe}^{3+}$  浓度表现出了良好的线性负相关, 其检测极限低至  $4.2 \text{ nmol/L}$ 。

### 2.3 药物输运

GQDs 具有大的比表面积、低生物毒性, 良好的生物相容性等特性, 可以与多种分子通过  $\pi-\pi$  键、静电相互作用、物理吸附等相互作用力结合, 所以 GQDs 是运载药物的优良载体。Wang 等<sup>[31]</sup>用 PEG 粒度为  $15 \text{ nm}$  的 GQDs 进行表面修饰后, 利用氢键将阿霉素(DOX)结合到 GQDs 表面, 使 GQDs-PEG 成为药物载体 DOX@GQDs-PEG, 其运载能力可以达到  $2.5 \text{ mg/mg}$ , 而且可以通过 pH 来控制药物的释放。Nahain 等<sup>[32]</sup>将透明质酸(HA)结合到 GQDs 表面, 成为有靶向效果的药物载体, 可以将药物运送到 CD44 过度表达的肿瘤细胞处。而且药物的释放速度和 pH 相关, 环境 pH 越低, 释放速度越快, 而肿

表 1 各方法优缺点比较  
Table 1 Advantages and disadvantages of the methods for preparation of GQDs

Methods	Advantages	Disadvantages	Ref
Top-down	Hydrothermal synthesis; solvothelmal synthesis; acidic oxidation; electrochemical exfoliation	Large output; simple operation.	Irregularly size and shape; lots of oxygen-containing functional groups left on the GQDs surface; strong reductants are needed; numerous defects.
	Oxidation cutting of CF	Simple operation; large output; relatively cheap raw materials.	Too many oxygen-containing functional groups; low quantum yield(QY).
	Ultrasonic exfoliation	Simple operation; no reduction process; fewer surface defects and more stable electronic properties.	Depending on the quality of carbon fiber; special equipments are needed.
	Electron beam lithography	Precise control on both size and shape of resultant GQDs	Complex operation; expensive equipments; extremely low output.
Bottom-up	Solution chemical approaches	Well-defined monodispersed structures; easy control of both size and shape; high purity.	Low-output; difficulty to prevent aggregation.
	Carbonization of organic molecules	Well-defined monodispersed structures; high QY; simple operation	Low-output.
	Cage-opening of C60	Well-defined monodispersed structures; precise control on both size and shape; high QY.	Strict reaction conditions; very high heating temperature; expensive raw materials; low-output.

瘤细胞处往往成弱酸性环境，所以药物可以在肿瘤处快速释放。

2.4 光动力治疗

GQDs 在激光照射下可以产生活性氧自由基(ROS)，而活性氧自由基可以导致细胞的凋亡，与传统的无机量子点 CdSe 和 CdTe 等相比，具有较低的生物毒性和较好的生物相容性，因此 GQDs 在光动力治疗方面具有很广阔的应用前景，可以用来杀死细菌和肿瘤细胞。Ristic 等<sup>[33]</sup>发现通过电化学方法制备的 GQDs 在蓝光(470 nm, 1 w)照射下，可以产生活性氧自由基，对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌和大肠杆菌等都有较好的抗菌性，而且在相同的 GQDs 浓度和光照条件下，小鼠正常胰腺细胞凋亡比例较低，说明 GQDs 的动力学治疗具有相对的特异性。Markovic 等<sup>[34]</sup>发现电化学法制备的粒度为 56.6 nm 的 GQDs 进入人胶质瘤细胞后，在体外蓝光(470 nm, 1 w)的照射下，产生了活性氧自由基(ROS)，导致人胶质瘤细胞的死亡，证明 GODs 对肿瘤细胞的动力学治疗的效果。Ge 等<sup>[35]</sup>将 GQDs 的荧光成

像和光动力治疗结合，见图 6。在 502~540 nm 光波的激发下，发出波长 695~775 nm 的红色荧光。同时利用 GQDs 产生活性氧自由基的特点，进行光动力治疗。Gui 等<sup>[36]</sup>将 N 和 S 原子结合到 GQDs 表面(NS-GQDs)，在 800 nm 光波的激发下，有较高的 ROS 产率，可以用于肿瘤的光动力治疗。

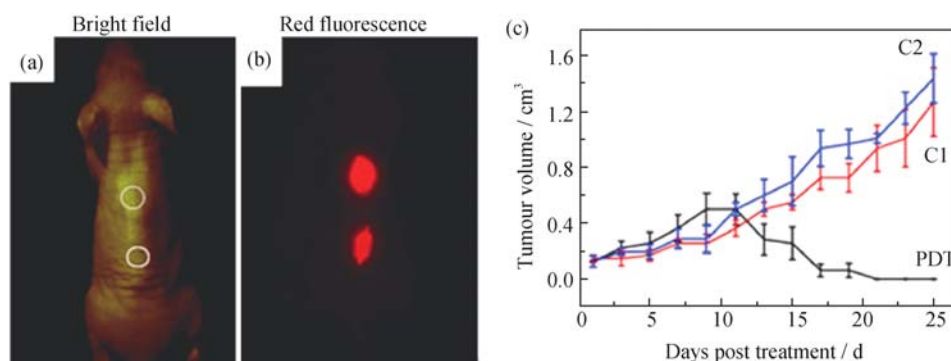
2.5 抗菌剂

GQDs 还具有高效的类过氧化物酶催化活性，可以催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 分解为羟基，而羟基的抗菌性比 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 更强。根据上述机理，Qu 等<sup>[37]</sup>用 GQDs 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 构建了一个较强的抗菌体系，并避免了高浓度 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 较强的生物毒性。

3 总结和展望

由于应用领域的不同，对石墨烯量子点的要求也会不相同。针对实际应用的需要，可以结合表 1 给出的各种方法的优缺点，综合考虑成本和应用效果等多种因素，选择最优的制备方法。例如，当需要



图6 体内荧光成像和光动力治疗<sup>[35]</sup>Fig. 6 *In vivo* imaging and PDT<sup>[35]</sup>

(a) Bright-field image and (b) red-fluorescence image after subcutaneous injection of GQDs in different areas and (c) time-dependent tumour growth curves after different treatments (PDT: GQDs+light irradiation; C1: GQDs only; C2: light irradiation only)

制备大批量的石墨烯量子点, 而对量子点荧光的颜色和强度等品质要求较低时, 可以选择 Top-down 法中水热法、溶剂热法、碳纤维化学剥离法操作简单, 产量较大和原材料价格相对便宜的方法; 若是需要作为造影剂进入人体内进行生物成像时, 则要首先保证荧光成像的质量和安全性, 要求 GQDs 的形貌尺寸均匀且量子产率较高, 可以选择 Bottom-up 法; 在传感器等对 GQDs 形状和尺寸要求更为精细的应用领域, 可以选择电子束刻蚀法对 GQDs 的形状进行精细控制。

随着石墨烯量子点研究工作的不断深入, 其应用领域逐渐扩展, 并对 GQDs 的质量提出了更高的要求, 然而目前石墨烯量子点的制备方法中还存在很多问题需要解决, 如水溶性较差, 产量和量子产率较低, 形貌和尺寸的控制不够精确, 光谱吸收范围窄等。有些问题可以通过化学改性和表面修饰等手段在一定程度上得到改善, 但是还远远不够, 需要研究人员在这方面付出更多的努力。如果这些问题得不到很好的改善, 会严重限制 GQDs 的应用。

在 GQDs 生物毒性的研究上, 也存在很多的不足。目前对 GQDs 生物毒性的研究大多都忽略了 GQDs 在光照下潜在的光敏毒性, GQDs 在光的激发下会产生活性氧自由基, 会降低细胞活性, 甚至导致细胞凋亡<sup>[33-36]</sup>, 所以今后评估 GQDs 生物的毒性时, 不可忽略 GQDs 的光敏毒性。

综上所述, 研究人员必须更多关注如何改善 GQDs 的制备方法以及 GQDs 的表面修饰, 以提高其量子产率, 增强荧光强度, 具备更好的生物相容性, 在深化生物成像、免疫检测、药物运输、催化剂等领域应用的同时, 不断拓展新的应用范围, 加速 GQDs 的应用进程。

## 参考文献:

- [1] SEABRA A B, PAULA A J, LIMA R, *et al.* Nanotoxicity of graphene and graphene oxide. *Chem. Res. Toxicol.*, 2014, **27**(2): 159–168.
- [2] WU X, TIAN F, WANG W, *et al.* Fabrication of highly fluorescent graphene quantum dots using L-glutamic acid for in vitro/in vivo imaging and sensing. *J. Mater. Chem. C*, 2013, **1**(31): 4676–4684.
- [3] ZHANG X, YIN J, PENG C, *et al.* Distribution and biocompatibility studies of graphene oxide in mice after intravenous administration. *Carbon*, 2011, **49**(3): 986–995.
- [4] NURUNNABI M, KHATUN Z, HUH K M, *et al.* In Vivo biodistribution and toxicology of carboxylated graphene quantum dots. *ACS Nano*, 2013, **7**(8): 6858–6867.
- [5] LIAO K, LIN Y, MACOSKO C W, *et al.* Cytotoxicity of graphene oxide and graphene in human erythrocytes and Skin Fibroblasts. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2011, **3**(7): 2607–2615.
- [6] ZHU S, ZHANG J, QIAO C, *et al.* Strongly green-photoluminescent graphene quantum dots for bioimaging applications. *Chem. Commun.*, 2011, **47**(24): 6858–6860.
- [7] CHUNG C, KIM Y, SHIN D, *et al.* Biomedical applications of graphene and graphene oxide. *Accounts of Chemical Research*, 2013, **46**(10): 2211–2224.
- [8] ZHENG X T, ANANTHANARAYANAN A, LUO K Q, *et al.* Glowing graphene quantum dots and carbon dots: properties, syntheses, and biological applications. *Small*, 2015, **11**(14): 1620–1636.
- [9] YANG K, FENG L, SHI X, *et al.* Nano-graphene in biomedicine: theranostic applications. *Chem. Soc. Rev.*, 2013, **42**(2): 530–547.
- [10] ROBINSON J T, TABAKMAN S M, LIANG Y, *et al.* Ultrasmall reduced graphene oxide with high near-Infrared absorbance for photothermal therapy. *J. Am. Chem. Soc.* 2011, **133**(17): 6825–6831.
- [11] PAN D, ZHANG J, LI Z, *et al.* Hydrothermal route for cutting

- graphene sheets into blue-Luminescent graphene quantum dots. *Adv. Mater.* 2010, **22**(6): 734–738.
- [12] PAN D, GUO L, ZHANG J, *et al.* Cutting sp<sup>2</sup> clusters in graphene sheets into colloidal graphene quantum dots with strong green fluorescence. *J. Mater. Chem.*, 2012, **22**(8): 3314–3318.
- [13] SHEN J, ZHU Y, YANG X, *et al.* One-pot hydrothermal synthesis of graphene quantum dots surface-passivated by polyethylene glycol and their photoelectric conversion under near-infrared light. *New J. Chem.*, 2012, **36**(1): 97–101.
- [14] CHEN S, LIU J, CHEN M, *et al.* Unusual emission transformation of graphene quantum dots induced by self-assembled aggregation. *Chem. Commun.*, 2012, **48**(61): 7637–7639.
- [15] LI L, JI J, FEI R, *et al.* A facile microwave avenue to electrochemiluminescent two-color graphene quantum dots. *Adv. Funct. Mater.*, 2012, **22**(14): 2971–2979.
- [16] LU J, YANG J, WANG J, *et al.* One-pot synthesis of fluorescent carbon nanoribbons, nanoparticles, and graphene by the exfoliation of graphite in ionic liquids. *ACS Nano*, 2009, **3**(8): 2367–2375.
- [17] ANANTHANARAYANAN A, WANG X, ROUTH P, *et al.* Facile synthesis of graphene quantum dots from 3d graphene and their application for Fe<sup>3+</sup> sensing. *Adv. Funct. Mater.*, 2014, **24**(20): 3021–3026.
- [18] ZHANG M, BAI L, SHANG W, *et al.* Facile synthesis of water-soluble, highly fluorescent graphene quantum dots as a robust biological label for stem cells. *J. Mater. Chem.*, 2012, **22**(15): 7461–7467.
- [19] LI Y, HU Y, ZHAO Y, *et al.* An electrochemical avenue to green-luminescent graphene quantum dots as potential electron-acceptors for photovoltaics. *Adv. Mater.*, 2011, **23**(6): 776–780.
- [20] PENG J, GAO W, GUPTA B K, *et al.* Graphene quantum dots derived from carbon fibers. *Nano Lett.*, 2012, **12**(2): 844–849.
- [21] SHIH Y, TSENG G, HSIEH C, *et al.* Graphene quantum dots derived from platelet graphite nanofibers by liquid-phase exfoliation. *Acta Materialia*. 2014, **78**(2): 314–319.
- [22] PONOMARENKO L A, SCHEDIN F, KATSNELSON M I, *et al.* Chaotic dirac billiard in graphene quantum dots. *Science, New Series.*, 2008, **320**(5874): 356–358.
- [23] LU J, YEO P S, GAN C K, *et al.* Transforming C60 molecules into graphene quantum dots. *Nat. Nanotechnol.*, 2011, **6**(4): 247–252.
- [24] YAN X, CUI X, LI L, *et al.* Synthesis of large, stable colloidal graphene quantum dots with tunable size. *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**(17): 5944–5945.
- [25] TANG L, JI R, CAO X, *et al.* Deep ultraviolet photoluminescence of water-soluble self-passivated graphene quantum dots. *ACS Nano*, 2012, **6**(6): 5102–5110.
- [26] DONG Y, SHAO J, CHEN C, *et al.* Blue luminescent graphene quantum dots and graphene oxide prepared by tuning the carbonization degree of citric acid. *Carbon*, 2012, **50**(12): 4738–4743.
- [27] LIU R, WU D, FENG X, *et al.* Bottom-up fabrication of photoluminescent graphene quantum dots with uniform morphology. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**(39): 15221–15223.
- [28] NURUNNABI M, KHATUN Z, NAFIUIJJAMAN M, *et al.* Surface coating of graphene quantum dots using mussel-inspired polydopamine for biomedical optical imaging. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2013, **5**(16): 8246–8253.
- [29] ZHAO H, CHANG Y, LIU M, *et al.* A universal immunosensing strategy based on regulation of the interaction between graphene and graphene quantum dots. *Chem. Commun.*, 2013, **49**(3): 234–236.
- [30] LI S, LI Y, CAO J, *et al.* Sulfur-doped graphene quantum dots as a novel fluorescent probe for highly selective and sensitive detection of Fe<sup>3+</sup>. *Anal. Chem.*, 2014, **86**(20): 10201–10207.
- [31] WANG Z, XIA J, ZHOU C, *et al.* Synthesis of strongly green-photoluminescent graphene quantum dots for drug carrier. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2013, **112**(3): 192–196.
- [32] NAHAIN A A, LEE J, IN I, *et al.* Target delivery and cell imaging using hyaluronic acid-functionalized graphene quantum dots. *Mol. Pharmaceutics*, 2013, **10**(10): 3736–3744.
- [33] RISTIC B Z, MILENKOVIC M M, DAKIC I R, *et al.* Photodynamic antibacterial effect of graphene quantum dots. *Biomaterials*, 2014, **35**(15): 4428–4435.
- [34] MARKOVIC Z M, RISTIC BILJANA Z, ARSIKIN K M, *et al.* Graphene quantum dots as autophagy-inducing photodynamic agents. *Biomaterials*, 2012, **33**(29): 7084–7092.
- [35] GE J, LAN M, ZHOU B, *et al.* A graphene quantum dot photodynamic therapy agent with high singlet oxygen generation. *Nature Communications*, 2014, **5**: 4596.
- [36] GUI R, LIU X, JIN H, *et al.* N, S co-doped graphene quantum dots from a single source precursor used for photodynamic cancer therapy under two-photon excitation. *Chemical Communications*, 2015, **51**: 10066–1–4.
- [37] SUN H, GAO N, DONG K, *et al.* Graphene quantum dots-band-aids used for wound disinfection. *ACS Nano*, 2014, **8**(6): 6202–6210.