

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2018.11.009

· 综述 ·

石墨烯量子点的抗菌性能及其在口腔医学中的应用前景

张茜柳, 魏常博 综述; 余东升 审校

中山大学附属口腔医院急诊综合科·光华口腔医学院·广东省口腔医学重点实验室, 广东 广州(510055)

【摘要】 细菌耐药问题日益严峻,如何能快速高效地检测和抑制耐药菌成为治疗口腔细菌感染的关键因素。作为石墨烯家族的一员,石墨烯量子点因其低分子量、高比表面积、良好的生物相容性、抗菌性以及特殊的可调节光致发光性能,可以作为新型抗菌材料、药物载体、光敏材料应用于口腔抗菌领域。本文就其合成方法、一般特性及在口腔医学中的应用作一综述。

【关键词】 石墨烯量子点; 光敏材料; 药物载体; 纳米材料; 抗菌

【中图分类号】 R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2018)11-0734-04

【引用著录格式】 张茜柳,魏常博,余东升.石墨烯量子点的抗菌性能及其在口腔医学中的应用前景[J].口腔疾病防治,2018,26(11):734-737.

The antimicrobial activity and application of graphene quantum dots in oral medicine ZHANG Xiliu, WEI Changbo, YU Dongsheng. Department of Oral Emergency, Stomatology Hospital, Guanghua School of Stomatology, Sun Yat-sen University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Stomatology, Guangzhou 510055, China

Corresponding author: YU Dongsheng, Email: yudsh@mail.sysu.edu.cn, Tel: 0086-20-83844247

【Abstract】 The abuse of antibiotics has been increasing bacterial resistance, which means there is a need to develop methods for the efficient detection and effective treatment of multiresistant bacterial infections. As one of graphene-based materials, graphene quantum dots (GQDs) have distinct mechanical, electrical, and optical properties, including a small size, a large surface area-to-volume ratio, biocompatibility, antimicrobial activity and tunable photoluminescence. Therefore, GQDs are expected to be widely used as antimicrobial materials, drug delivery carriers and photosensitizers in antibacterial applications. In this review, we focus on their synthesis, characteristics and antimicrobial applications in oral medicine.

【Key words】 Graphene quantum dots; Photosensitizer; Drug delivery carrier; Nano materials; Antimicrobial

随着近年抗生素的滥用,细菌的耐药问题日益突出,一方面由于对抗生素易感的细菌死亡,对抗生素不敏感的细菌由于竞争对手的减少而大量繁殖,另一方面细菌可以通过质粒、转座子等途径将抗药性传递给下一代或在不同种类的细菌间传

递。如何快速、针对性地检测出耐药细菌的种类,抑制耐药细菌生长的同时减少细菌耐药性的发生,成为控制细菌感染的发展方向^[1]。纳米材料作为一种新兴材料,具有出色的电学、光学、机械性能,同时因其特殊的分子结构,细菌很难对其产生耐药性,可被广泛应用于抗菌领域^[2]。石墨烯量子点(graphene quantum dots, GQDs)是特殊的石墨烯碎片,在三个维度上的尺寸均呈现纳米级别,且同时具有石墨烯和量子点的双重优良特性。GQDs出色的生物学和光学特性,可以作为生物探测器、药物载体、光敏材料等应用于口腔抗菌领域,不易导致口腔菌群失调和耐药细菌的产生,同时还可以微创性地抑制深部组织细菌感染,维持面部美

【收稿日期】 2018-01-03; **【修回日期】** 2018-05-21

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81472526);广东省科技计划项目(2016A020216007)

【作者简介】 张茜柳,医师,硕士研究生,Email: zhangxliu@mail2.sysu.edu.cn

【通信作者】 余东升,主任医师,博士,Email: yudsh@mail.sysu.edu.cn, Tel: 0086-20-83844247

观^[3]。本文就其合成方法、一般特性及在口腔抗菌中的应用前景作一综述。

1 QDs的合成方法

一般而言,可以将QDs的合成分为两类:“自上而下”法和“自下而上”法。“自上而下”法是用化学、电化学、物理学等方法对片层石墨烯进行切割从而制备QDs,包括化学分解^[4]、水热还原法^[5]、电化学剥离法^[6]、微波或超声辅助法^[7-8]等。“自下而上”法是指以小分子化合物为原料,通过对碳原子的重新排列组合制备QDs,包括热解法^[9]、溶液化学法^[10]、富勒烯开笼法^[11]等。

“自上而下”法具有低成本、高产率、便捷等优势,同时在合成时可以将含氧官能团附着在QDs的边缘,提高了QDs的溶解率、且便于其功能化和钝化。然而,较高的实验设备要求,破坏碳原子构架,特别是对原材料的非选择性切割都在某些程度上限制了其应用。

“自下而上”法则在一定程度上弥补了前者的不足,如能精准控制QDs的大小、形状、性质等,同时,合成过程中释放出较高的活性氧,破坏细菌细胞被膜,在抗菌领域有着潜在的应用优势;尽管其存在合成步骤复杂、原材料特殊、低溶解性等缺陷,仍被广泛应用于研究生物成像和生物传感器。

2 QDs的一般特性

①尺寸:QDs是一种零维的石墨烯,平均水平直径为10 nm,高度在几个纳米以内^[4]。②形状:至今已经合成的形状包括:椭圆形、三角形、方形、六边形。其中椭圆形应用最广泛^[12]。③比表面积:QDs期较高的比表面积,可以与多种分子结合,利于QDs表面修饰和功能性^[13-14]。④细胞毒性:QDs的主干由碳原子构成,分子量极小且氧含量高,低浓度时在体内体外试验中表现为良好的生物相容性^[15]。⑤光敏性:在光的作用下可以表现出特殊的物理、化学变化。如特殊可调节的光致发光、上转换发光、高光漂白阈值等^[16]。

3 QDs在口腔医学的应用前景

3.1 抗菌性

口腔的细菌感染常为需氧菌与厌氧菌的混合感染,其中金黄色葡萄球菌是口腔临床感染的常见病原菌^[17]。富勒烯来源的石墨烯量子点(C₆₀-QDs)展现了对金黄色葡萄球菌特异的抗菌性,同

时利用其窄谱抗菌性,可在“精准医疗”时代扮演重要的角色^[3]。而受一定波长光激发后,QDs可以通过释放较高的活性氧自由基,抑制细菌细胞膜上的脂质,从而抑制细菌生长,此时抑菌具有广谱性,可以有效抑制金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的生长繁殖^[18]。

3.2 催化性能

Sun等^[19]利用QDs的催化性能探索新型抗菌材料,将QDs和口腔常用的抑菌剂过氧化氢(H₂O₂)结合,当H₂O₂从100 mM降低到1 mM时,依然保持良好的抑菌效果。这是由于QDs分解催化H₂O₂,并产生具有高抗菌活性的羟基自由基,从而在低H₂O₂浓度时(H₂O₂浓度为1 mM时)依然能有较高的抗菌能力,且避免了高浓度H₂O₂的细胞毒性。研究者还构建了QDs和低浓度的H₂O₂创口贴模型,在小鼠背部伤口上起到了明显的抑菌作用。

3.3 生物探测器

因QDs优异的光学和电化学性能,研究者们尝试构建了多种生物传感器,用于对不同细菌的检测。Ryu等^[20]利用镧系金属铕(Eu)修饰两种粒径的QDs(3 nm、10 nm)形成Eu-QD复合体,并以此构建双荧光发射峰传感器,提高了对炭疽芽胞杆菌的检测灵敏度,检测限达到10 pM,远远小于60 μm的感染阈值。Ye等^[1]构建了基于QDs、沙门氏菌抗体和氧化铝的纳米多孔膜的电化学探测器,当沙门氏菌通过该膜时,与经过QDs修饰的沙门氏菌抗体反应,同时输出电阻信号至探测器。研究表明,当抗生素的检测限(检测限指某一分析方法在给定的可靠程度内可以从样品中检测待测物质的最小浓度或最小量)在皮米水平时,细菌与抗生素的反应时间缩短至在30 min内,提供了一种快速、灵敏、方便的细菌与抗生素检测的方法。除此之外,根据QDs与待测物相互作用后产生的荧光性能的变化,如荧光增强、荧光熄灭等,实现对目标检测的荧光探测器也受到了国内外研究者的重视。Jurado-Sánchez及其合作者^[21]将对氨基苯甲酸(para-aminobenzoic acid, PABA)与QDs结合于磁动力微型电动机上,来研究对细菌内毒素的检测。PABA能对内毒素中脂多糖进行特异性的识别,利用QDs-PABA与脂多糖接触时荧光熄灭变化的特征性改变,探索了一种特异性和可操作性的细菌检测方法,有望在口腔耐药细菌的监测中发挥作用。

3.4 药物载体

口腔颌面部腔隙众多,交织复杂,常常多间隙合并感染,导致深部的间隙感染难以早期发现和治疗。随着抗生素的广泛使用,细菌一方面改变细胞膜的通透性,抵抗药物的进入,另一方面改变自身蛋白质结构,阻止药物的结合,从而产生了耐药性。新型纳米药物优势逐渐显现:提高药物溶解度,延长循环周期,针对性地释放药物,多功能载药实现联合治疗等^[22]。GQDs拥有纳米级尺寸、高比表面积、低毒性,作为纳米药物载体有着得天独厚的优势。

但目前对于GQDs载药作用主要集中与抗肿瘤药物结合上,包括阿霉素^[23]、黄连素^[24]、顺铂^[25]、姜黄素^[26]等。Sui等^[25]研究表明,纳米抗癌药物可以增强药物渗透肿瘤细胞的能力,促进药物与DNA的黏附,提高药物的摄取率。同时利用GQDs的“开和关”荧光特性和荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)方法,可以调控药物的释放,减少对非肿瘤细胞的损害^[27]。尽管GQDs抗菌药物的研究还在初始阶段,但是鉴于GQDs在肿瘤药物运输上的巨大优势,可以预测GQDs作为纳米药物载体,在减少抗菌药物耐药性、有效抑制耐药细菌以及治疗深部细菌感染方面有潜在的价值。

3.5 光敏材料

光动力治疗是一种基于活性氧、光敏剂、可见光的光动力学治疗方法。当可见光(常为激光)与组织吸收的光敏剂结合后,光敏剂受到激发而产生活性很强的单态氧,单态氧与细胞发生氧化反应,进而导致细胞的损伤甚至死亡^[28]。相比于传统的治疗方法,光动力治疗具有微创性,可以尽可能少破坏口腔颌面部的组织和器官,维持面部的美观和完整;利用光敏材料的选择性积聚,可以精确治疗靶向组织和细胞;同时有效减少耐药细菌的产生。因为这些特点,光动力治疗被广泛应用于牙周炎^[29-30],种植体周围炎^[31-32]的治疗,并取得了良好的疗效,研究者们也在对光动力治疗应用于龋病^[33]、根管治疗^[34-35]抑菌等方面进行探索。光敏材料是推动光动力治疗应用于临床的关键,具有上转换发光和本征光动力性质的GQDs使其可以成为良好的光敏材料。

上转换发光是指当GQDs受到低能量的光激发,能发射出高能量的光,即从波长长、频率低的光激发出波长短、频率高的光^[36]。Shen等^[36]通过

用980 nm照射GQDs发出绿光,说明其具有上转换发光特性。激发波长从600 nm增加到800 nm的同时,上转换发射峰分别从390 nm到469 nm,激发光和上转换发光两者的能量差值基本不变,约为1.1 eV。原因可能是由于多轨道碳原子基态决定了 π 轨道和 σ 轨道能级。利用这种特性可以改变传统光敏剂的可见光入射范围,提高其在近红外光区的光吸收,进而提高光敏剂效能。

Ristic等^[17]利用GQDs本征光动力性能,用波长470 nm的激发光处理GQDs和细菌混合悬液,相比于单独光处理和单独GQDs处理组,前者的金黄色葡萄球菌和大肠杆菌显著减少。机制可能是激发态的GQDs产生了光动力效应,破坏了细菌细胞壁,进入细胞后进一步产生大量活性氧。而研究者们同时探究了光动力治疗的细胞毒性,结果表明,200 mg/mL的激发态GQDs处理细菌和小鼠脾细胞,前者全部死亡,后者只有少于50%的死亡率。基于GQDs光动力效应对正常组织的低毒性也为GQDs作为光敏材料应用于临床创造了条件。

4 展望

GQDs作为一种新型纳米材料,在抑制口腔细菌感染领域有着巨大的应用前景。但是,GQDs的抗菌机制和信号通路尚未完全理解;GQDs的载药还集中在肿瘤药物上,对抗菌药物的载药应用还有待进一步探索;对于GQDs应用于光动力抗菌的光敏特性,尚未有清晰的认识,以上诸多问题有待进一步解决。

参考文献

- [1] Ye W, Guo J, Bao X, et al. Rapid and sensitive detection of bacteria response to antibiotics using nanoporous membrane and graphene quantum dot (GQDs)-based electrochemical biosensors[J]. *Materials (Basel)*, 2017, 10(6): E603.
- [2] Jijie R, Barras A, Teodorescu F, et al. Advancements on the molecular design of nanoantibiotics: current level of development and future challenges[J]. *Mol Syst Des Eng*, 2017, 2(4): 349-369.
- [3] Hui L, Huang J, Chen G, et al. Antibacterial property of graphene quantum dots (both source material and bacterial shape matter)[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8(1): 20-25.
- [4] Jiang D, Chen Y, Li N, et al. Synthesis of luminescent graphene quantum dots with high quantum yield and their toxicity study[J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0144906.
- [5] Pan D, Zhang J, Li Z, et al. Hydrothermal route for cutting graphene sheets into blue-luminescent graphene quantum dots[J]. *Adv Mater*, 2010, 22(6): 734-738.

- [6] Tan X, Li Y, Li X, et al. Electrochemical synthesis of small-sized red fluorescent graphene quantum dots as a bioimaging platform [J]. Chem Commun (Camb), 2015, 51(13): 2544-2546.
- [7] Luo ZM, Qi GQ, Chen KY, et al. Microwave-assisted preparation of white fluorescent graphene quantum dots as a novel phosphor for enhanced white-light-emitting diodes[J]. Adv Funct Mater, 2016, 26(16): 2739-2744.
- [8] Zhuo S, Shao M, Lee ST. Upconversion and downconversion fluorescent graphene quantum dots: ultrasonic preparation and photocatalysis[J]. ACS Nano, 2012, 6(2): 1059-1064.
- [9] Li R, Liu Y, Li Z, et al. Bottom-up fabrication of single-layered nitrogen-doped graphene quantum dots through intermolecular carbonization arrayed in a 2D plane[J]. Chemistry, 2016, 22(1): 272-278.
- [10] Yan X, Cui X, Li LS. Synthesis of large, stable colloidal graphene quantum dots with tunable size[J]. J Am Chem Soc, 2010, 132(17): 5944-5945.
- [11] Chua CK, Sofer Z, Šimek P, et al. Synthesis of strongly fluorescent graphene quantum dots by cage-opening buckminsterfullerene[J]. ACS Nano, 2015, 9(3): 2548-2555.
- [12] Xin TQ. Glowing graphene quantum dots and carbon dots: properties, syntheses, and biological applications[J]. Small, 2015, 14(11): 1620-1636.
- [13] Wang X, Sun X, Lao J, et al. Multifunctional graphene quantum dots for simultaneous targeted cellular imaging and drug delivery [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2014, 122: 638-644.
- [14] Wang Z, Dai Z. Carbon nanomaterial-based electrochemical biosensors: an overview[J]. Nanoscale, 2015, 7(15): 6420-6431.
- [15] Chong Y, Ma Y, Shen H, et al. The *in vitro* and *in vivo* toxicity of graphene quantum dots[J]. Biomaterials, 2014, 35(19): 5041-5048.
- [16] Pal SK. Versatile photoluminescence from graphene and its derivatives[J]. Carbon NY, 2015, 88: 86-112.
- [17] Ristic BZ, Milenkovic MM, Dakic IR, et al. Photodynamic antibacterial effect of graphene quantum dots[J]. Biomaterials, 2014, 35(15): 4428-4435.
- [18] Constantinescu S, Plesca CE, Postolache P, et al. Antibioresistance of microbial strains implicated in the etiology of sepsis with Oro-maxillofacial portal of entry[J]. Rev Chim-Bucharest, 2018, 69(1): 236-240.
- [19] Sun H, Gao N, Dong K, et al. Graphene quantum dots-band-aids used for wound disinfection[J]. ACS Nano, 2014, 8(6): 6202-6210.
- [20] Ryu J, Lee E, Lee K, et al. A graphene quantum dots based fluorescent sensor for anthrax biomarker detection and its size dependence[J]. J Mater Chem B, 2015, 3(24): 4865-4870.
- [21] Jurado-Sánchez B, Pacheco M, Rojo J, et al. Magnetocatalytic graphene quantum dots janus micromotors for bacterial endotoxin detection[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2017, 56(24): 6957-6961.
- [22] 魏常博, 余东升. 纳米材料和纳米技术在肿瘤放疗增敏中的研究进展[J]. 口腔疾病防治, 2017, 25(11): 744-748.
- [23] Iannazzo D, Pistone A, Salamò M, et al. Graphene quantum dots for cancer targeted drug delivery[J]. Int J Pharm, 2017, 518(1/2): 185-192.
- [24] Thakur M, Mewada A, Pandey S, et al. Milk-derived multi-fluorescent graphene quantum dot-based cancer theranostic system[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2016, 67: 468-477.
- [25] Sui X, Luo C, Wang C, et al. Graphene quantum dots enhance anti-cancer activity of cisplatin *via* increasing its cellular and nuclear uptake[J]. Nanomedicine, 2016, 12(7): 1997-2006.
- [26] Some S, Gwon AR, Hwang E, et al. Cancer therapy using ultrahigh hydrophobic drug-loaded graphene derivatives[J]. Sci Rep, 2014, 4: 6314.
- [27] Zheng FF, Zhang PH, Xi Y, et al. Aptamer/graphene quantum dots nanocomposite capped fluorescent mesoporous silica nanoparticles for intracellular drug delivery and real-time monitoring of drug release[J]. Anal Chem, 2015, 87(23): 11739-11745.
- [28] Fracalossi C, Nagata JY, Pellosi DS, et al. Singlet oxygen production by combining erythrosine and halogen light for photodynamic inactivation of *Streptococcus mutans*[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2016, 15: 127-132.
- [29] Pourhajibagher M, Bahador A. Evaluation of the crystal structure of a fimbrillin (FimA) from *Porphyromonas gingivalis* as a therapeutic target for photo-activated disinfection with toluidine blue O [J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2017, 17: 98-102.
- [30] Haag PA, Steiger-Ronay V, Schmidlin PR. The *in vitro* antimicrobial efficacy of PDT against periodontopathogenic bacteria[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(11): 27327-27338.
- [31] Giannelli M, Landini G, Materassi F, et al. Effects of photodynamic laser and violet-blue led irradiation on *Staphylococcus aureus* biofilm and *Escherichia coli* lipopolysaccharide attached to moderately rough titanium surface: *in vitro* study[J]. Lasers Med Sci, 2017, 32(4): 857-864.
- [32] Mang T, Rogers S, Keinan D, et al. Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) induction of biofilm matrix architectural and bioadhesive modifications[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2016, 13: 22-28.
- [33] Santin GC, Oliveira DS, Galo R, et al. Antimicrobial photodynamic therapy and dental plaque: a systematic review of the literature [J]. Scientific World Journal, 2014, 2014: 824538.
- [34] Mielczarek ER. Effectiveness of repeated photodynamic therapy in the elimination of intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm: an *in vitro* study[J]. Lasers Medical Science, 2017, 32(3): 655-661.
- [35] Liu Q, Guo B, Rao Z, et al. Strong two-photon-induced fluorescence from photostable, biocompatible nitrogen-doped graphene quantum dots for cellular and deep-tissue imaging[J]. Nano Lett, 2013, 13(6): 2436-2441.
- [36] Shen J, Zhu Y, Chen C, et al. Facile preparation and upconversion luminescence of graphene quantum dots[J]. Chem Commun (Camb), 2011, 47(9): 2580-2582.

(编辑 张琳)