

碳纳米管为基体的多功能性药物载体研究进展*

王宗花** 毕利顺 夏建飞 张菲菲 夏延致** 李延辉

(青岛大学纤维新材料与现代纺织实验室,国家重点实验室培育基地,化学化工与环境学院,青岛 266071)

摘要 综述了近几年国内外关于碳纳米管(CNTs)在药物运输方面的研究进展,重点围绕生物相容性、纳米材料在细胞中的进出机制、药物运输的应用等方面进行了阐述。

关键词 碳纳米管 载体 药物运输 功能化

碳纳米管(CNTs)作为新型的一维碳纳米材料,于1991年发现以来,因其独特的结构及优异的理化性质而备受关注。随着科研人员深入的研究,其在力学、电学、磁学、热学等相关领域显现出了非常好的应用潜力。CNTs是由单独碳元素组成的管状结构,可以形象地看作是石墨片卷曲而成。根据管壁的多少将CNTs分为单壁碳纳米管(SWNTs)和多壁碳纳米管(MWNTs)。CNTs的直径有几个或几十个纳米,长度在几个或几十个微米之间,具有较大的长径比和比表面积。CNTs表面具有大量的由单独碳原子组成的苯环结构,有丰富的离域能。其表面碳原子 sp^2 杂化,可以共价或非共价作用连接多种无机、有机分子等,为CNTs的改性及拓展应用提供了有效途径。

随着纳米材料的深入研究,它们独特的生物医学效应逐渐被重视,吸引了研究者的极大兴趣^[1]。探索研究纳米材料的生物学应用迅速增多,并成为一个新的研究热点^[2-3]。CNTs在生物医学领域的应用研究也取得了骄人的研究成果。最初研究是将其与生物蛋白质相互作用,期望能成功地开发制备出高效生物传感器^[4-5]。后来的研究应用中逐步发现CNTs可以有效地结合生物蛋白质、核酸和药物等活性分子,且能将这些活性分子载运到特定的细胞内部,为其在药物载运系统的应用研究开辟了道路^[6]。此外,为了更好地应用于生物医学领域,还需提高CNTs的水溶性及生物相容性。近期研究表明,有效利用共价键或非共价键方式对CNTs表面进行改性修饰,能够提高分散性,降低其在生物体系中的细胞毒性,为下一步应用于药物载体的研究提供了有利的理论支持。

基于近几年国内外的相关研究成果,笔者分别从CNTs的生物相容性、在细胞中的进出机制、在药物运输的应用等方面,综述了CNTs在药物运输领域中的应用进展。

1 CNTs生物相容性

CNTs容易发生团聚而沉降,难溶于水溶液及其它任何溶剂。为了更好地应用于生物医学系统的研究,必须要提高CNTs的水溶性及生物相容性。目前较成熟的改性方法主要

为非共价功能化和共价功能化。研究的方向也从开始的有机相容性、水溶性发展到最后的血液相容性。

1.1 非共价功能化

非共价功能化是利用非共价键合的方式在CNTs表面位置结合一些水溶性及生物相容性高的物质(表面活性剂、聚合物及生物高聚物等)以达到提高水溶性的目的。其特点是能够有效地保留CNTs表面的芳香电子结构,有利于电子传输,比较适合生物传感器领域。非共价功能化的作用机理包括离域的 $\pi-\pi$ 相互作用、疏水相互作用及静电作用等。分散过程比较快捷有效且实际操作简便。

早期应用研究中,CNTs的非共价功能化常采用系列的表面活性剂:阳离子表面活性剂、阴离子表面活性剂以及非离子型表面活性剂,并取得了很好的分散效果。但是由于表面活性剂能够透过细胞膜,对生物活性细胞有一定毒性,限制了其在生物学系统中的应用^[7]。随后,研究者尝试利用一些聚合物对CNTs进行非共价修饰,以期达到提高水溶性的目的,但是结果并不理想^[8]。近期研究表明,有效利用一些蛋白质、核苷酸和肽类等生物高聚物,可以很好地非共价修饰CNTs,分散结果近似或优于表面活性剂、聚合物。随着生物大分子的引入,CNTs的生物相容性得到明显的改善,有利于其在生物学系统的应用。将纯化后的CNTs分散于巨噬细胞培养液中,巨噬细胞可与CNTs发生相互作用,非共价作用的生物大分子包覆在CNTs表面,得到高分散性的稳定溶液^[9];同样地,利用蚕丝蛋白非共价作用包覆在CNTs的表面,也可得到稳定的CNTs复合物^[10]。

1.2 共价功能化

共价功能化是指通过共价键作用修饰CNTs以增加其

* 国家自然科学基金项目(20975056,50802045,81102411);青岛市科技计划基础研究项目(091330jch);NSFC-JSPS中日合作与交流项目(21111140014);山东省自然科学基金项目(ZR2011BZ004,ZR2011BQ005);山东省泰山学者项目(TS20070711)

** 通讯作者

收稿日期:2011-09-12

分散性的方法。一般多采用自由基加成或聚合物接枝等反应方式实现,直接或间接地与 CNTs 表面原子共价键合,键合方式多样且键合牢固,是调控 CNTs 性能、提高可控性的有效手段,极大地扩展了其应用范围。目前较为成熟的共价修饰方法为:

(1) CNTs 表面的直接加成反应。此类反应不需要对 CNTs 进行预先的化学处理,直接在其表面的碳六元环上利用共价键合连接活性分子或基团等。CNTs 具有石墨碳状结构,外壁的芳环可以俘获各种各样的自由基,通常可利用自由基加成、脉冲电子流放电和等离子体活化等方式实现直接加成。丙烯酸单体在偶氮二异丁腈(AIBN)的引发下发生聚合形成聚丙烯酸(PAA),能在 SWNTs 表面通过 PAA 的链自由基加成反应,制备出的复合物 PAA-SWNTs,其具有很好的分散性^[11];另外,引发剂 $K_2S_2O_8$ 促进水溶性氧化还原自由基的聚合,在 SWNTs 存在的条件下,能原位引发乙烯基对苯磺酸钠的聚合形成聚苯乙烯硫酸盐(PSS),该聚合物的链自由基可接枝 SWNTs 形成水溶性较好的 PSS-SWNTs^[12]。

(2) CNTs 表面缺陷位点的多步功能化。经强氧化性酸处理后, CNTs 外壁与端口的表面缺陷位点可有效链接羧酸、羟基等基团。然后通过进一步功能化连接水溶性的基团、单体、聚合物及天然生物分子等,制备出高分散性的 CNTs。将 CNTs 氧化处理后,再对其表面引入的羧基进行酰氯化提高反应活性,可以进一步引入大分子或生物活性分子^[13];利用聚乙二醇(PEG)的端基氨基,可通过酰氯反应键合在 CNTs 表面实现功能化修饰的目的。或 PEG 在碳二亚胺[如 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐]的催化下直接与管壁上的羧基反应修饰 CNTs,其中后者反应条件较温和,较为适于 CNTs 生物功能分子等基团的修饰^[14]。

2 CNTs 进出细胞机制

CNTs 能有效进入生物细胞,且具有较大的比表面积。在管壁及两端能容纳及承载药物和生物特异性分子等,是一种潜在的应用载体。通过表面吸附或偶联作用, CNTs 能有效承载一些细胞穿透性较差的生物大分子(蛋白、核酸等)及药物到达细胞内部^[15-16]。对于 CNTs 进出细胞的机理,目前普遍存在的观点有与能量无关的主动插入扩散过程、与能量有关的细胞内吞过程等。

研究显示,将荧光标记的胺基化 CNTs 与人体早幼粒白血病细胞(HL60)共培养,利用荧光显微镜观察细胞内部,发现有荧光标记物,证明功能化 CNTs 能够进入细胞内部^[17]。另外,将带有绿色荧光标记物的胺基化 SWNTs 与 HL60 共培育,并用红色荧光标记物对内含体进行特异性染色,显微镜表征结果显示,细胞内有黄色荧光标记物,即红、绿两种颜色标记物叠加产生。这表示功能化 SWNTs 是通过细胞内吞

作用进入细胞的。为验证这一结论,在 4℃ 下低温共培养,由于低温能抑制细胞内吞作用,荧光显微镜观察细胞内没有荧光标记物,证实 SWNTs 载体生物分子进入细胞的机制是细胞内吞作用,与细胞膜内陷途径无关^[18]。

另有不同的研究人员将 SWNTs 胺基化再与子宫腺瘤细胞(HeLa)共培养,然后用环氧树脂包埋制成超薄切片。通过对连续切片的细致观察得出结论,即功能化 SWNTs 能像针一样主动地刺穿细胞膜,且对细胞没有损伤作用^[19]。研究发现,通过抑制细胞内吞作用,如在 4℃ 下低温培养或用叠氮化钠、2,4-二硝基酚处理,其结果显示功能化 SWNTs 同样能有效进入细胞的内部,进而排除细胞内吞作用,证明功能化 SWNTs 是以主动插入的方式进入细胞^[20]。

为了对 CNTs 进出细胞的机制做出定论,利用电子能量损失谱成像技术、能量过滤透射电子显微镜及共聚焦显微镜多重技术手段,对功能化 SWNTs 在细胞内的定位进行了分析^[21]。分析结果指出,以上描述的功能化 CNTs 进入细胞的两种方式都有可能存在,其产生差异的原因是 CNTs 的功能化方式、表面的修饰基团或者在细胞内部的分布等因素不同造成。

3 CNTs 运载药物

目前,用于癌症治疗的药物存在较大的毒性或成瘾性,长期服用会对机体产生伤害,阻碍了机体的有效康复。为了改善药物治疗效果,降低药物在体内的毒性,需要开发新型的载运体系。CNTs 作为新型的药物载运系统主要包括三个部分:功能化碳纳米管、肿瘤靶向配体和抗癌药物^[22]。其独特的结构特性在药物载体方面有着较可喜的研究进展^[23]。为癌症的有效治疗提供了新的方法和前景。

研究表明, CNTs 具有类似于毛细血管的结构,是一种具有很好特征的容器材料。通过化学方法将抗癌药物卡铂引入管腔,成功制备载药 CNTs。检测证明,药物卡铂能够保留自己的结构,并且在随后的体外实验中表现出很好的药物控释效果^[24]。生物相容性方面,制备了聚柠檬酸-聚乙烯醇-聚柠檬酸(PCA-PEG-PCA)线状-树状共聚物,该共聚物具有较好的水溶性、生物相容性并且通过聚乙烯长链和两个树状共聚物基团高度作用 MWNTs,提高其溶解性且成功应用于药物顺铂的运载^[25]。载药量方面,与传统药物载体脂质体相比较, SWNTs 功能化后负载的抗癌药物阿霉素(DOX)更多,并有更高的药物负载率,在酸性环境下可以实现 DOX 的有效释放^[26]。药物释放和治疗效果方面,研究制备了一种基于应激释放功能的凝胶包覆单根 CNTs 的分子容器,并且成功实现了抗癌药物 DOX 的运载及 pH、光应激条件下的释放研究^[27]。在抗癌药物运载中,由于癌变细胞的内环境 pH 值较低,而四价铂能够在较低 pH 值时被

还原,释放出抗癌药物顺铂。因此可利用四价铂配合物键合在 SWNTs 表面,成功地运输到细胞内,实现药物的定向释放,避免了对机体健康细胞的伤害,其药物传递和治疗效率是单独使用顺铂的 6~8 倍^[28]。随后,研究利用肽链将顺铂的前体铂(IV)复合物连接到胺基化 SWNTs 表面,并有效运送到睾丸癌细胞,其结果证明铂(IV)复合物连接在功能化 SWNTs 表面后对癌细胞的毒性是游离复合物的 100 多倍,有更加优异的治疗效果^[29]。

现在,在癌症和各种感染性疾病的治疗中,致力于寻求能够负载一种或多种具有特异性基团的载体,期望运载过程中产生适宜的成像信号,或具有特殊的寻靶作用,用来实现多功能化运载。CNTs 在二甘醇溶液中,能够与氯化铁发生水热反应制备出 Fe_3O_4 修饰的 CNTs,由于纳米粒子 Fe_3O_4 具备超顺磁性,所制备的复合材料在肿瘤的治疗中可以实现药物的定向运载^[30]。又如, MWNTs 表面羧基化后,与表面氨基化的 CdSe/ZnS 量子点(QD)偶联作用,能够生成 MWNTs-QD 纳米药物载体。该新型载体用于裸鼠背部和腹部皮下注射,通过活体荧光监测系统可检测到明显的荧光信号^[31]。该实验小组进一步选择发射波长更长的近红外量子点 CdTe/ZnS,以相同的手段标记功能化的 MWNTs,并将制备出的新型药物载体应用于抗肿瘤药物紫杉醇的载运实验。结果表明,经过静脉注射载药载体的裸鼠,其体内的肝、肾、胃和小肠部位有显示荧光现象。证明功能化 CNTs 能有效载运药物到达这些脏器^[32]。另外,将生物亲和性探针叶酸(FA)和磁性探针 Fe 有效键合在 CNTs 表面,能够制备出 FA-MWCNTs@Fe 双重靶向药物载体系统,并在磁场条件下成功用于药物 DOX 对 HeLa 癌细胞靶向运载,该纳米药物载体在近红外波长激发下能够实现药物的控制释放,有极好的药物运输效率^[33],同时也可以利用 CNTs 近红外光条件下的光热效应,作为生物体系中肿瘤细胞光热消融治疗的热源。将人血清蛋白(HSA)功能化 MWNTs,通过肝细胞癌变细胞(HepG2)的特异性受体 Gp60,实现对 HepG2 的靶向光热消融治疗^[34]。将具有肿瘤特异性的单克隆抗体吸附在 CNTs 表面,成功制备出具备主动寻靶的功能碳纳米管(f-CNTs),并用于胸腺癌细胞的光热消融治疗^[35]。

4 CNTs 运载药物的毒性

由于纳米材料具有独特的结构与优异的理化性质,纳米尺度及纳米结构的新型材料、新型器件已逐渐走出实验室,进入人们的生活。其应用过程中对人体健康及环境将带来潜在影响,目前已经引起科学界^[36],乃至政府部门的广泛关注^[37]。目前,对 CNTs 的安全性研究取得了相应的进展^[38]。理论上, CNTs 的生物毒性主要来自两方面^[39]: 其一是制备过程中残留的金属催化剂的毒性,另一方面是由其自身的不

溶性造成的。

针对小鼠的蛋白组学和肺部组织,研究了 SWNTs、青石棉(CA)及炭黑粉末(UFCB)的毒性,结果显示 SWNTs 处理的小鼠,其组织炎症与纤维化症状的发生率和严重性都较高。考察组织蛋白的损害程度(SWNTs [376]>AB [231]>UFCB [184])显示 SWNTs 的毒性最强^[40]。另外,对大鼠静脉注射 MWNTs 溶液培养 90 d,然后对它们的肺和其它器官进行组织病理学研究。结果显示,在静脉注射条件下仍然会造成大鼠的肺部组织毒性^[41]。为了考证降低 CNTs 毒性的方法,利用工业生产 MWNTs 分别做以下处理,未包覆、包覆叶酸(质量比为 50/50)和聚苯乙烯聚合物包覆,然后与小鼠巨噬细胞或器官进行体内、体外培养。结果显示,随着降低酸基和聚苯乙烯聚合物的包覆, MWNTs 产生的细胞毒性、氧化应激和炎症症状会增强^[42]。利用含有亲水基团的三种类型化合物: 卵磷脂(PC)、PEG 和 PC-PEG 分别修饰 MWNTs,并将制备复合物的高浓度溶液,通过静脉注射注入大鼠体内。分析病理结果表明,修饰得到的复合物均表现出低毒性,除 MWNTs-PC 的生物分散性最好外,其余两种在大鼠肺部均有大量聚集^[43]。

CNTs 对环境及生物体系存在着一定的毒性影响。针对其毒性产生的原因,可通过纯化、酸化等功能化手段很好地解决毒性问题。合理的功能化的 CNTs,水溶性、生物相容性得到极大提高,在生物体系内表现低毒性,对免疫细胞功能影响较低,且可排除体外。

5 结语

CNTs 作为新兴的碳纳米材料,具备独特的一维结构及高的比表面积,在其表面可共价或非共价修饰多种分子及化学基团实现增溶、示踪和靶向。其内部可以实现包埋离子及小分子,且细胞毒性低可主动穿透细胞膜,无伤害地进入细胞的内部,在药物的运载中有独特的应用价值。

目前, CNTs 运载系统的研究大部分集中于传送荧光试剂、治疗药物及生物活性分子等,或利用 CNTs 吸收近红外波长放出热量的特点,从多方面治疗肿瘤细胞。后续的研究则应集中在多功能性的开发,即制备出兼具载药功能、示踪功能及寻靶功能的新型肿瘤药物载体。这种多功能性药物载体可以保证药物治疗过程中的实时性与准确性,将治疗药物运送到生物体内的指定位置,实现可控治疗之目的,这也是未来疾病治疗发展的总趋势。同时还需深入研究 CNTs 进入细胞及动物内部后的动态分布可药理性质。

CNTs 药物载体的研究为肿瘤细胞的快速诊断和有效治疗提供了新的发展机遇。但是,作为新型纳米材料的一员,其环境、生物安全性仍需高度重视,如何安全有效地合理运用该材料是研究者面临的新挑战。

参考文献

- [1] 周国强,等.生物化学与生物物理进展,2008,35(9):998-1006.
- [2] Cheung W, et al. Advanced Drug Delivery Reviews, 2010, 62(6): 633-649.
- [3] Tran P A, et al. Advanced Drug Delivery Reviews, 2009, 61(12): 1097-1114.
- [4] Murat A, et al. Progress in Organic Coatings, 2009, 66(4): 337-358.
- [5] Zhang Haijun, et al. Biosensors and Bioelectronics, 2011, 26(7): 3361-3368.
- [6] Liu Zhuang, et al. Nano Research, 2009, 2(2): 85-120.
- [7] Alpatova AL, et al. Water Research, 2010, 44(2): 505-520.
- [8] Shi Xiangyang, et al. Biomacromolecules, 2009, 10(7): 1744-1750.
- [9] Bussy C, et al. Nano Letters, 2008, 8(9): 2659-2663.
- [10] Kim H, et al. Biomacromolecules, 2009, 10(1): 82-86.
- [11] Kitano H, et al. Chemistry and Physics, 2006, 207(9): 812-819.
- [12] Qin Shuhui, et al. Macromolecules, 2004, 37(11): 3965-3967.
- [13] Yu Jin-gang, et al. Physica E, 2008, 40(3): 689-692.
- [14] Imasaka K, et al. Nanotechnology, 2006, 17(14): 3421-3427.
- [15] Zhang Xiaoke, et al. Biomaterials, 2009, 30(30): 6041-6047.
- [16] Liang Feng, et al. Current Medicinal Chemistry, 2010, 17(1): 10-24.
- [17] Kam N W, et al. Angewandte Chemie International Edition, 2006, 45(4): 591-595.
- [18] Kam N W, et al. American Chemical Society, 2004, 126(22): 6850-6851.
- [19] Pantarotto D, et al. Angewandte Chemie International Edition, 2004, 43(39): 5242-5246.
- [20] Bianco A, et al. Chemical Communications, 2005, 7(5): 571-577.
- [21] Porter A E, et al. Nature Nanotechnology, 2007, 2(11): 713-717.
- [22] Bhirde A A, et al. ASC Nano, 2009, 3(2): 307-316.
- [23] Heister E. et al. Carbon Nanostructures, 2011, 4: 223-245.
- [24] Haase D, et al. Carbon Nanostructures, 2011, 4: 247-258.
- [25] Adeli M, et al. Soft Matter, 2011, 7(8): 4062-4062.
- [26] Liu Zhuang, et al. ACS Nano, 2007, 1(1): 50-56.
- [27] Fujigaya T, et al. Soft Matter, 2011, 7(6): 2647-2652.
- [28] Wu Wei, et al. Angewandte Chemie International Edition, 2005, 44(39): 6358-6362.
- [29] Feazell R P, et al. Journal of the American Chemical Society, 2007, 129(27): 8438-8439.
- [30] Wang Haitao, et al. Materials Science and Engineering B, 2009, 164(3): 191-194.
- [31] Shi Donglu, et al. Advanced Materials, 2007, 19(22): 4033-4037.
- [32] Guo Yan, et al. Advanced Functional Materials, 2008, 18(17): 2489-2497.
- [33] Li Ruibin, et al. Carbon, 2011, 49(5): 1797-1805.
- [34] Lancu C, et al. Int J Nanomedicine, 2011, 6: 129-141.
- [35] Marches R, et al. Nanotechnology, 2011, 22(9): 095101-0951010.
- [36] 汪冰,等.中国科学B辑化学,2005,35(1):1-10.
- [37] 王云,等.中国科学B辑化学,2009,39(2):106-120.
- [38] Flahaut E. Carbon Nanostructure, 2011, 3: 211-219.
- [39] Constantine P, et al. Biology and Medicine, 2010, 6(2): 245-256.
- [40] Teeguarden J G, et al. Toxicological Sciences, 2010, 120(1): 123-135.
- [41] Han S G, et al. Inhal Toxicol, 2010, 22(4): 340-347.
- [42] Tabet L, et al. Part Fibre Toxicol, 2011, 8(3): 1-13.
- [43] Li Han, et al. Toxicological and Environmental Chemistry, 2011, 93(3): 603-615.

RESEARCH PROGRESS OF CARBON NANOTUBES AS MATRIX IN MULTI-FUNCTIONAL DRUG CARRIER

Wang Zonghua, Bi Lishun, Xia Jianfei, Zhang Feifei, Xia Yanzhi, Li Yanhui

(Laboratory of Fiber Materials and Modern Textile, The Growing Base for State Key Laboratory, College of Chemical and Environment Engineering, Qingdao University, Qingdao 266071, China)

ABSTRACT The research progress of carbon nanotubes(CNTs) in drug delivery aspect at home and abroad in recent years were summarized, especially the biocompatibility, mechanism of penetrate cells and the application on drug delivery of CNTs were expounded.

KEYWORDS carbon nanotubes, carrier, drug delivery, functionalize

日本最新高分子材料成为 OLED 屏幕生产商逐利新宠

日本的 Sumitomo Chemical 最近已经研发出了一种高分子材料,有可能用于生产大量的价位合理的 OLED 电视。这种高分子材料将代替现用的低分子材料(通常还更贵)作

为主要的 OEL 部件,节省成本高达 50%。Sumitomo 打算在 2012 年初开始生产,在这之前会在 Osaka 安装生产设备来迎接生产。公司预计材料年产量足够生产 400 万到 500 万台 40 英寸电视,将会向韩国,日本,中国台湾的电视生产商提供材料。
(中国色母粒网)