

4 前景与展望

微纳米溶胶-凝胶生物活性玻璃由于其独特的微纳米结构而使其具有不同于传统生物活性玻璃的独特性质:较快的磷灰石形成能力,较高的降解速度,更加优良的细胞相容性等。但目前微纳米生物活性玻璃的研究仍存在一些迫切需要解决的问题,如生物玻璃微纳米形态与尺寸对其分子生物学性质影响的机理,微纳米生物玻璃的基因激活作用及机制等,目前正在致力于解决这些方面的关键科学问题。

[参考文献]

- [1] HASIRCI V. Nanobiomaterials: a review of the existing science and technology, and new approaches[J]. J Biomater Sci Polym Ed, 2006, 17(11): 1241-1268.
- [2] WILKINSON C D W. The use of materials patterned on a nano- and micro-metric scale in cellular engineering[J]. Mater Sci Eng, 2002, 19C(2-6): 263-269.
- [3] MISRA S K, MOHN D, BRUNNER T J. Comparison of nanoscale and microscale bioactive glass on the properties of P (3HB)/Bioglass (R) composites[J]. Biomaterials, 2008, 29(12): 1750-1761.
- [4] HENCH L L, XYNOS I, EDGAR A, et al. 激活基因的玻璃[J]. 无机材料学报, 2002, 17(5): 807-909.
- [5] 赵秀峰. 有机添加剂辅助无机材料形貌控制合成[D]. 武汉: 武汉理工大学, 2007.
- [6] 杜昶, 王迎军. 骨与牙釉质组织的生物矿化及磷酸钙材料仿生合成研究进展[J]. 无机材料学报, 2009, 24(5): 882-888.
- [7] 杨宇霞, 王迎军, 陈晓峰. CaO-P₂O₅-SiO₂ 系统生物活性纳米粒子形貌和粒径分布影响因素探讨[J]. 硅酸盐通报, 2004, 6: 93-105.
- [8] 郭常亮, 陈晓峰, 赵娜如, 等. 生物活性玻璃超细粉体的硬脂酸表面修饰研究[J]. 硅酸盐通报, 2008, 27(2): 207-212.
- [9] CHEN X, LEI B, WANG Y, et al. Morphological control and *in vitro* bioactivity of nanoscale bioactive glasses[J]. Journal of Non-Crystalline Solids, 2009, 355(13): 791.
- [10] LEI B, CHEN X, WANG Y, et al. Surface nanoscale patterning of bioactive glass to support cellular growth and differentiation[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2010, 94A(4): 1091-1099.
- [11] LEI B, CHEN X, WANG Y, et al. Acetic acid derived mesoporous bioactive glasses with an enhanced *in vitro* bioactivity[J]. Journal of Non-Crystalline Solids, 2009, 355(52): 2583.
- [12] LEI B, CHEN X, WANG Y, et al. Synthesis and *in vitro* bioactivity of novel mesoporous hollow bioactive glass microspheres[J]. Materials Letters, 2009, 63(20): 1719.
- [13] LEI B, CHEN X, WANG Y, et al. Fabrication of porous bioactive glass by one step sintering[J]. Materials Letters, 2010, 64(21): 2293-2295.
- [14] 张娟娟, 陈晓峰, 林才, 等. 聚乙二醇为分散剂制备纳米生物活性玻璃粉体[J]. 硅酸盐通报, 2010, 29(2): 257-261.

(本文编辑:何彦梅)

• 综 述

石墨烯在生物医学领域的应用

沈贺, 张立明, 张智军

(中国科学院苏州纳米技术与纳米仿生研究所, 纳米生物医学与安全研究部, 江苏苏州 215123)

[摘要] 作为 sp² 碳原子组成的一种新型二维纳米材料, 石墨烯独特优良的电学、光学和力学性质, 以及由此产生的广泛应用前景, 已成为备受瞩目的研究热点。目前有关石墨烯及其衍生物的研究, 主要集中在其物理学研究领域, 石墨烯的化学和材料学研究也发展迅速, 而石墨烯在生物医学领域的研究工作才刚刚开始。本文简述石墨烯尤其是氧化石墨烯, 在生物和医学领域, 包括靶向药物运输、细胞成像、生物检测、肿瘤治疗以

[收稿日期] 2010-10-30 [修回日期] 2010-11-29

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(21073224)

[作者简介] 沈贺(1987-), 女, 江苏苏州人, 硕博连读研究生。E-mail: hshen2009@sinano.ac.cn

[通信作者] 张智军 E-mail: zjzhang2007@sinano.ac.cn

及石墨烯生物安全性研究的最新进展。

[关键词] 石墨烯; 氧化石墨烯; 药物运输; 生物检测; 生物成像; 生物效应; 文献综述

[中图分类号] R331; R73-3 [文献标识码] A [文章编号] 1671-6264(2011)01-0218-06

doi:10.3969/j.issn.1671-6264.2011.01.035

2004年,英国 Manchester 大学 Geim 等人通过微机械力剥离高取向热解石墨(HOPG)成功制备并观察到了由一层密集的、处于蜂窝状晶体点阵上的碳原子以 sp^2 杂化连接形成的单原子层二维原子晶体——石墨烯(Graphene)^[1]。它是世界上最薄的新型二维纳米材料,其厚度仅为 0.35 nm^[2]。石墨烯优异的电学、力学和热学性质^[3]使其在复合材料、传感器、能源等领域具有重要的应用前景^[4-7],成为近年来纳米领域研究的热点,石墨烯的发现者 Geim 和 Novoselov 也因此而获得了 2010 年诺贝尔物理学奖。石墨烯发现 6 年来,其相关研究工作主要集中在其独特物理学性质及相关应用方面,石墨烯的化学和材料学研究也愈来愈受到重视。而石墨烯在生物医学领域的研究是近两年才开始的^[8],目前相关工作报道还比较少,但是发展很迅速。

在生物医学领域应用较多的石墨烯衍生物主要是功能化的氧化石墨烯(或称石墨烯氧化物)。氧化石墨烯通常是由石墨经化学氧化、超声制备获得^[9]。因氧化条件不同,所获得的氧化石墨烯尺寸一般在十纳米到几百纳米乃至微米之间。氧化石墨烯含有大量的含氧活性基团,如羰基、羧基、羟基与环氧基等。环氧基与羟基主要位于氧化石墨烯的基面上,而羰基、羧基则通常分布于氧化石墨烯的边缘处^[10-11]。由于氧化石墨烯上含有大量的含氧活性基团,因此具有良好的生物相容性和水溶液稳定性,同时有利于化学功能化修饰,以达到在不同领域应用的目的。利用含氧活性基团化学反应性不同,可以与多种有特定化学和生物性能的化学基团和功能分子进行共价反应,其中常见的共价修饰方法是通过酰化反应和酯化反应将生物分子或化学基团修饰在石墨烯上。除了共价键功能化外,还可以用 π - π 相互作用、离子键和氢键等非共价键作用,对石墨烯进行表面功能化修饰。

近年来,石墨烯衍生物在生物医学,包括生物元件、微生物检测、疾病诊断和药物运输系统等的应用前景,使其成为纳米生物医学领域研究的热点^[6,12]。本文将介绍石墨烯及氧化石墨烯用于载药体系、生物检测、生物成像、肿瘤治疗以及它们的生物安全性研究进展,并就该领域未来的发展进行展望。

1 基于氧化石墨烯的纳米载药体系

2008年 Dai Hongjie 课题组^[13]首次报道了利用

PEG(聚乙二醇)修饰的氧化石墨烯作为难溶性含芳香结构的抗癌药物载体。他们首先将石墨氧化,获得了尺寸小于 50 nm 的纳米氧化石墨烯(nanoscale graphene oxide, NGO),再将生物相容的 PEG 接枝到 NGO 上(图 1)。这种石墨烯材料在生理条件下包括在血清中具有有良好的生物相容性和稳定性。然后通过 π - π 堆垛等物理作用将抗癌药物 SN38(喜树碱衍生物)吸附在 PEG 化的 NGO 表面,形成石墨烯-药物复合物。石墨烯具有单原子层厚度,其两个基面都可以吸附药物,所以具有其他纳米材料无可比拟的超高载药率。研究发现,NGO-SN38 复合物有良好的水溶性,表明其作为药物载体可以用于难溶性药物的增溶,且复合物中 SN38 仍高度保持活性。体外实验发现,NGO-SN38 可以有效地杀伤结肠肿瘤细胞 HCT-116,其杀伤效果是 CPT-11(依立替康, FDA 通过用于治疗结肠癌的 SN38 药物前体)的近 1 000 倍。更重要的是,NGO-PEG 作为药物载体没有明显的细胞毒性,具有良好的生物安全性。

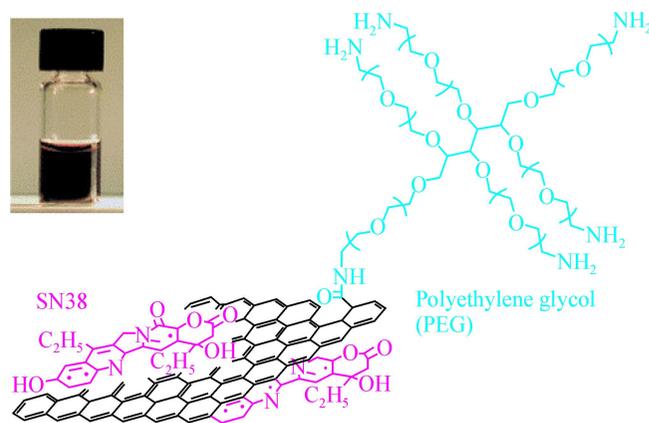


图 1 SN38 负载在 PEG-NGO 上的示意图及 SN38-PEG-NGO 水溶液^[13]

Dai 和他的同事^[12]还研究了 PEG 修饰的 NGO 用于抗癌药物阿霉素(DOX)的生物靶向运输。他们将 PEG 与 B 细胞单克隆抗体(anti-CD20, Rituxan)化学交联,使 NGO-DOX 复合物对肿瘤细胞 Raji B-细胞淋巴瘤(表达 CD20)具有特定的靶向性。实验结果表明,DOX 与 NGO-PEG-anti-CD20 的复合物对淋巴瘤细胞具有特异性的杀伤作用,大量细胞失活,且高浓度的 DOX($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)比低浓度的 DOX($2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的细胞毒作用有明显增强。

在此基础上,南开大学陈永胜课题组研究了 DOX 在 NGO 上高效负载及可控释放^[14]。他们的工作发现,NGO 具有高比表面积,对药物的装载可以达到 238%,远远超过普通载药材料^[15]。他们还发现,NGO 在不同 pH 下药物释放动力学行为不同,为石墨烯载药的控释提供了重要依据。

最近,我们课题组^[16]在 NGO 的可控联合载药和靶向输运研究方面取得新进展。研究表明,NGO 可被细胞吸收但没有明显的细胞毒性,对一些芳香类的小分子药物具有超强的吸附能力,DOX 在石墨烯上的载药率高达 400%,远高于一般纳米材料载体,非常适合作为靶向药物输运的载体。运用化学法制备的 NGO 化学偶联生物分子叶酸后,实现了抗癌药物阿霉素和喜树碱的可控联合载药和生物靶向输运(图 2),并且在体外试验中表现出比单一载药更高的抗肿瘤效应。

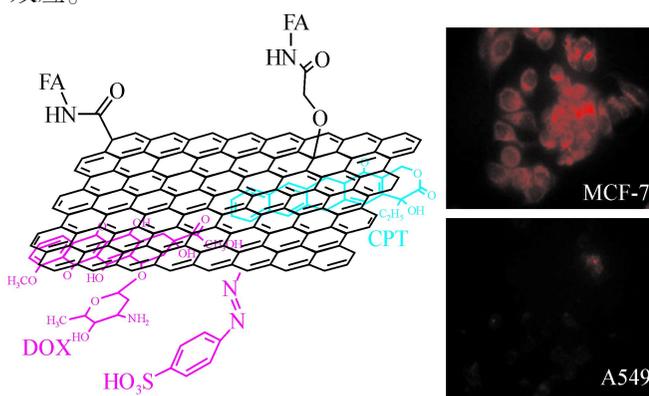


图 2 纳米氧化石墨烯联合载药示意图及 RhoB 标记的 FA-NGO 经由受体介导的内吞进入乳腺癌细胞 MCF-7^[16]

在此基础上,近期我们课题组^[17]进行了 NGO 用于序贯递送 siRNA 和 DOX 的研究。我们首先在 NGO 上接枝阳离子聚合物聚乙烯亚胺(PEI),赋予其装载 siRNA 的能力。然后分别将具有靶向肿瘤抗凋亡蛋白 Bcl-2 的 siRNA 和 DOX 分别通过静电作用和 π - π 相互作用装载到 NGO 上。我们研究发现,PEI 修饰的 NGO 转染 siRNA 进入细胞后,能显著地抑制 Bcl-2 蛋白的表达,序贯递送 siRNA 和阿霉素表现出显著的协同增强抗肿瘤效果。

总之,基于石墨烯的药物载体由于其超高的载药量、靶向输送和药物的可控释放,有望在临床上实现实际应用^[18]。

2 石墨烯用于生物检测

最近,研究人员报道了功能化的石墨烯在生物检测方面的一些进展,例如以石墨烯为基底的生物装置

或生物传感器可以用于细菌分析,DNA 和蛋白质检测^[6,20]。值得一提的是,与碳纳米管相比,石墨烯制备成本很低,且易于大规模生产,有望在生物检测方面实现实际应用。

2.1 氧化石墨烯对 DNA/基因/蛋白的选择性检测

Tang 等^[20]首先研究了 DNA 和功能化石墨烯之间的相互作用。他们发现,将 ssDNA 固定在功能化的石墨烯上可有效地避免酶的剪切,而且对靶序列的特异性识别效果显著增强,可识别出 1 个错配的位点。当带有荧光染料 FAM 的 ssDNA 固定在石墨烯上时,由于石墨烯和染料之间的电子转移使得荧光淬灭。但是,当有靶 DNA 序列存在时,探针从石墨烯上脱离下来,荧光恢复[图 3(a)]。虽然单碱基错配的 DNA 序列存在时,荧光也会有微弱的恢复,但是在浓度为 200 nM 时,完全互补 DNA 链的荧光强度是单碱基错配 DNA 链的 2.1 倍以上,比传统的线性 DNA 探针的特异性有显著提高。由于具有制备方便、灵敏度高、特异性强、生物稳定性好等特点,该工作为研制新型高效 DNA-石墨烯纳米生物传感器提供了一种新思路。

Lu 等^[21]研究发现,功能化的纳米氧化石墨烯非共价吸附分子信标(MB)后,空间位阻效应导致 DNase I 不能结合到 MB 上,可以避免 DNase I 对 ss-DNA 和 ds-DNA 非特异剪切。同时,该复合物在高温下也有良好的热稳定性,表明 MB 和 NGO 之间的相互作用紧密,可以使其在细胞转运过程中保持复合物的稳定并防止在细胞转染过程中 DNA 的释放,因此可用于特异性 DNA/基因的高灵敏度检测等,也可以作为输运用于治疗寡核苷酸的转运体[图 3(b)]。NGO 可以通过细胞膜并将 MB 运送到细胞中,可用于活细胞中 mRNA 表达量的形象化检测,从而估算细胞中蛋白的表达量。

Lu 等^[19]通过用染料标记 FAM 的 ss-DNA 与 NGO 形成复合物前后荧光变化进行生物检测。染料标记 FAM 的 ss-DNA 与 NGO 形成复合物后,由于 π - π 堆叠作用导致电子转移,使得染料的荧光完全淬灭。当靶 sDNA 存在时,与结合在 NGO 上的染料标记的 DNA 杂交,使染料标记的 DNA 从 NGO 上释放出来,从而使染料的荧光恢复甚至增强。研究还发现,在室温条件下 ssDNA 可以迅速、有效地吸附在 NGO 上,但是杂交后的 dsDNA 的形成和释放则是一个相对缓慢的过程。上述工作有望发展成为一种高灵敏度、高特异性的 DNA 和蛋白检测新技术。

2.2 金纳米颗粒-氧化石墨烯复合体系的构筑及其在表面增强拉曼散射(SERS)中的应用

我们课题组^[22]通过 π - π 堆垛等物理吸附方式制

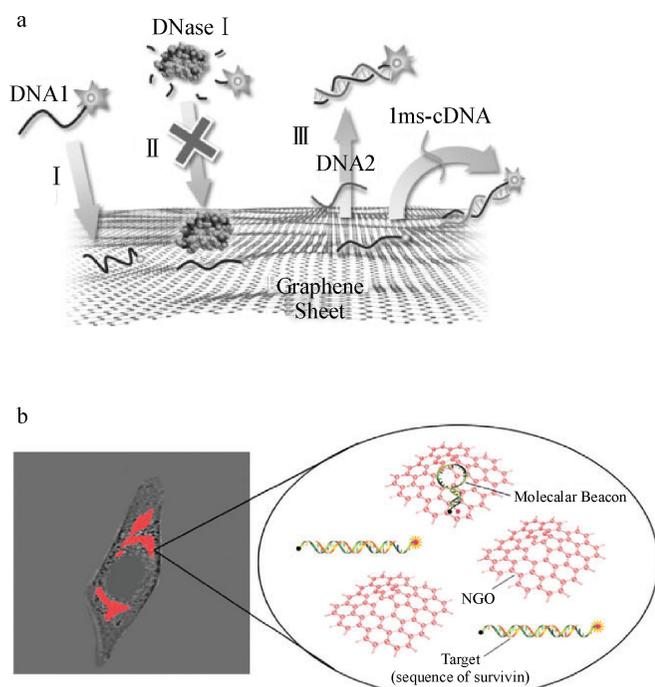


图3 a. 固定在 NGO 上的 DNA 及于靶 DNA 介导的荧光恢复示意图^[20]; b. NGO 运输 MB 检测 HeLa 细胞中表达生存素 mRNA 示意图^[21]

备了金纳米颗粒-氧化石墨烯复合体系,研究了其作为 SERS 基底的应用。首先我们合成了不同粒径的金纳米粒子,分别用 2-巯基吡啶进行修饰,然后将金纳米粒子通过 π - π 堆垛物理吸附方式吸附到 NGO 表面,形成金纳米颗粒-氧化石墨烯复合体系(Au-NGO)。我们选用对巯基苯胺(PATP)作为探针分子,研究了 PATP 在 Au 纳米颗粒和 Au-NGO 基底上的 SERS 光谱。结果表明,PATP 在 Au-NGO 上的 SERS 信号明显强于在 Au-NPs 上的 SERS 信号。其主要原因是由于金纳米粒子是以分散的状态存在于硅片表面的,粒子与粒子之间不能够产生足够多的“热点”,而金纳米粒子聚集在氧化石墨烯表面,导致了电磁场增强效应,从而出现了更强的 SERS 效应。目前我们正在发展一种基于纳米颗粒-石墨烯复合体系的生物相容性 SERS 基底,用于细胞内生物分子的检测。

3 氧化石墨烯用于生物成像

Peng 等^[23]通过用 PEG 连接荧光染料与 NGO 来进行细胞内成像。其中 PEG 分子起到一个桥梁作用,可以防止 NGO 导致染料的荧光淬灭,有效地提高 NGO 的生物相容性以及稳定性,以及增强细胞对材料的吸收。研究表明,荧光素-PEG-NGO(Fluo-G)结构展现了优良的 pH 调节的荧光特性。更重要的是,复合物可被细胞高效吸收并在细胞成像中作为荧光探

针使用——当用蓝色光激发时 Fluo-G 发射绿色荧光。同时在 pH 4.6 ~ 8.0 时,Fluo-G 荧光密度伴随 pH 值升高而升高。研究发现,与主动吸收相比,Fluo-G 可能更依赖于直接穿过细胞膜被细胞吸收。鉴于 NGO 的高生物相容性和承载能力,合成容易,期望将之用于细胞成像。

另一方面,Dai 等研究组^[12]除了发现 NGO 可作为良好的药物载体之外,还探讨了 NGO 在生物成像方面的应用。他们通过 PEG 化学修饰 NGO,使其在生物条件下具有良好的稳定性和相容性,并通过密度梯度离心,得到在缓冲液和血清中无凝结的尺寸分离的 PEG 化的 NGO 片层结构。这些 NGO 在可见光到红外光区可以受激发射荧光。NGO 的这种固有的自发荧光可以用于低背景的近红外光活细胞成像。在近红外光区 NIR,NGO-PEG 可以用来进行细胞自发荧光成像。将 PEG 与 B 细胞单克隆抗体(anti-CD20, Rituxan) 共轭结合的方法制备得到 NGO-PEG-anti-CD20 可以特异性地结合目的细胞 Raji B-细胞淋巴瘤(表达 CD20),增加了靶向性,即达到靶向成像的作用。

4 石墨烯在肿瘤治疗方面的应用

刘庄课题组^[24]第一次研究了使用 PEG 包被荧光标签的纳米石墨烯片(nanographene sheets, NGS)在体内的作用。在活体内异种皮肤肿瘤移植荧光成像中 NGS 表现出了高肿瘤细胞摄取率。PEG 功能化的 NGS 展现了在生物溶剂中的高溶解性和稳定性,同时被应用到体外药物承载和成像。在这些基础上,他们第一次研究了 PEG 化 NGS 在小鼠体内荧光成像,同时在几种不同的异种皮肤移植肿瘤模型中观察到令人惊喜的肿瘤堆积变化,比如增强癌性肿瘤的通透性和记忆性效应(EPR)。相比于碳纳米管,PEG 化的 NGS 展现了一些有趣的体内表征现象,包括高效率肿瘤被动靶向识别以及在材料网状内皮组织中相对较低残留。之后利用体内光热疗法中 NGS 在 NIR 光区的高光吸收,在静脉注射 NGS 并在肿瘤移植部位用低强度 NIR 激光照射后得到了极为高效的肿瘤消除(图4)。此外,在毒性研究中,PEG 化 NGS 注射小鼠后组织学、血液化学和全血分析结果表明没有产生明显的副作用。尽管对这种新型碳纳米材料在体内表现还需要更多的认知以及长期的毒性研究,但是使用碳纳米材料有效地用于通过静脉处理的体内光热疗法,提供了石墨烯在诸如肿瘤治疗的生物医学领域应用的更大潜力。

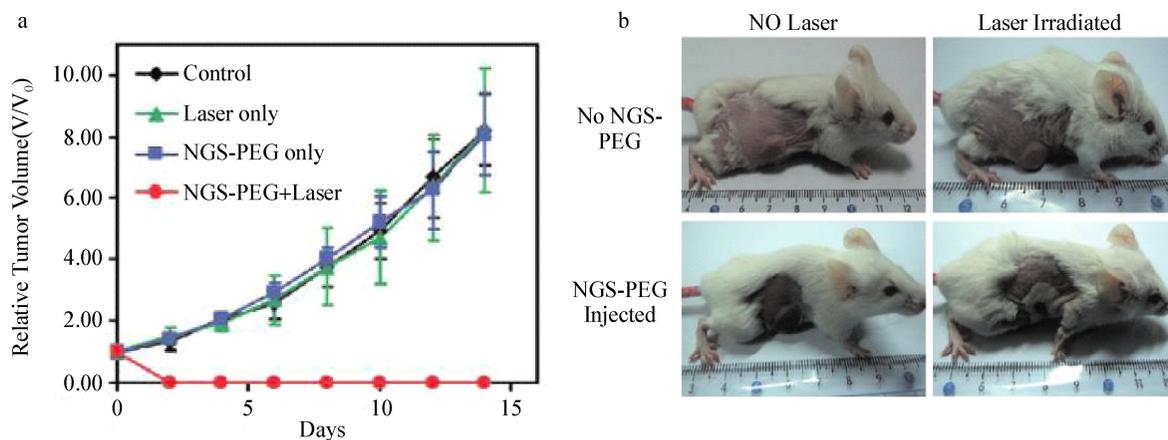


图4 体内静脉注射 PEG-纳米石墨烯用于肿瘤的光热疗法^[24]

5 石墨烯生物安全性

以上介绍表明,石墨烯及其衍生物在纳米药物输运系统、生物检测、生物成像、治疗等在生物医学领域具有广泛应用前景,而石墨烯及其生物效应和安全性数据目前还很缺乏,对其可能存在的健康和环境风险尚不清楚。

Zhang 等^[25]通过将石墨烯作用于嗜铬细胞瘤-衍生 PC12 细胞 (phaeochromocytoma-derived PC12 cells), 对其体外细胞毒性进行评估。实验结果发现,石墨烯对 PC12 的代谢活性的影响是浓度依赖性的。由于石墨烯与单壁碳纳米管结构不同,与细胞的相互作用和作用靶点不同,因此石墨烯介导的毒性反应不同于单壁碳纳米管。且石墨烯的平面结构使其对细胞膜有更强的相互作用,导致其在膜上的聚集/沉积也表现出一定的毒性。高浓度石墨烯存在时,细胞毒性效应主要是通过细胞坏死机制产生作用的。细胞毒性作用还包括受 caspase 3-介导的细胞凋亡机制。最后,检测到细胞中有时间和浓度依赖的活性氧的产生,表明细胞毒性作用还来自氧化应激机制即自由基损伤。石墨烯能引起浓度依赖性的细胞毒性作用,其中材料形状和聚集状态是重要的影响因素,此外,存在氧化应激和凋亡两种主要机制介导细胞毒性效应。研究发现,低浓度的石墨烯 ($<0.01 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) 具有较低的生物毒性(细胞活性基本没有降低),可以用在载药、生物检测和治疗中。

Lu 等^[21]也对 NGO 的细胞毒性进行了研究。实验发现,当 NGO 浓度达到 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,细胞的相对存活率仍接近 100%,说明 NGO 细胞毒性较低。我们课题组^[16]研究发现,叶酸修饰的 NGO 在浓度高达 $100 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 仍没有明显的细胞毒性。Peng 等^[23]研究了用于作为荧光探针进行细胞成像的氧化石墨烯复合

材料的生物安全性,结果表明该复合材料未表现出严重的细胞毒性,浓度为 $40 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 时仅使细胞新陈代谢活性略有下降。他们还发现,这种中度的细胞毒作用是可以逆转的,其代谢活性可以恢复。

6 总结与展望

氧化石墨烯在生物医学领域的相关研究已经取得了一些进展,但目前大都处于起步阶段,还不够深入、系统。要实现其实际应用,还面临着很多困难和挑战。如 NGO 在水中稳定性很好,但在生理条件下容易聚集;氧化石墨烯的尺寸、形貌等可控制备方面还缺乏有效手段。同时,氧化石墨烯的共价修饰往往需要通过多步化学反应,因反应引入各种化学试剂,会在一定程度上影响生物分子的活性。虽然 NGO 的非共价修饰可以避免这一点,但是不同于共价修饰,非共价功能化石墨烯还只能局限于特定结构的化学或生物分子。

目前 NGO 作为载药系统主要集中在小分子药物输运研究方面,有可能推广到基因和蛋白药物靶向输运、治疗方面。在生物检测、生物成像、治疗等方面的工作还比较少,有待于更进一步的研究。氧化石墨烯的生物效应及其安全性方面目前研究的很少。如果石墨烯进入生物体内,它对 DNA、蛋白质等生物分子的强烈吸附会不会以及如何影响这些生物体系的生理功能,是必须考虑的重要问题。总之,需要在分子、细胞及器官乃至整体动物层次上,深入研究石墨烯及其衍生物与生物体系的相互作用机制,为将来石墨烯在生物医学以及其他领域的广泛应用提供健康和安全方面的依据。

[参考文献]

- [1] NOVOSELOV K S, GEIM A K, MOROZOV S V, et al. Electric field effect in atomically thin carbon films[J]. Science, 2004,306:666-669.

- [2] LEE C G, WEI X D, KYSTAR J W, et al. Measurement of the elastic properties and intrinsic strength of monolayer graphene [J]. *Science*, 2008, 321:385-388.
- [3] GEIM A K, NOVOSELOV K S. The rise of graphene [J]. *Nat Mater*, 2007, 6:183-191.
- [4] EDA G, CHHOWALLA M. Graphene-based composite thin films for electronics [J]. *Nano Lett*, 2009, 9:814-818.
- [5] YOO E J, KIM J, HOSONO E, et al. Large reversible Li storage of graphene nanosheet families for use in rechargeable lithium ion batteries [J]. *Nano Lett*, 2008, 8:2277-2282.
- [6] MOHANTY N, BERRY V. Graphene-based single-bacterium resolution biodevice and DNA transistor: interfacing graphene derivatives with nanoscale and microscale biocomponents [J]. *Nano Lett*, 2008, 8:4469-4476.
- [7] SHAN C S, YANG H F, SONG J F, et al. Direct electrochemistry of glucose oxidase and biosensing for glucose based on graphene [J]. *Anal Chem*, 2009, 81:2378-2382.
- [8] 黄毅, 陈永胜. 石墨烯的功能化及其相关应用 [J]. *中国科学 B 辑: 化学*, 2009, 39:887-896.
- [9] CHEN G H, WENG W G, WU D J, et al. Preparation and characterization of graphite nanosheets from ultrasonic powdering technique [J]. *Carbon*, 2004, 42:753-759.
- [10] JEONG H K, LEE Y P, LAHAYE R, et al. Evidence of graphitic AB stacking order of graphite oxides [J]. *J Am Chem Soc*, 2008, 130:1362-1366.
- [11] BARINOV A, MALCIOGLU O B, FABRIS S, et al. Initial stages of oxidation on graphitic surfaces: Photoemission study and density functional theory calculations [J]. *J Phys Chem C*, 2009, 113:9009-9013.
- [12] SUN X, LIU Z, WELSHER K, et al. Nano-graphene oxide for cellular imaging and drug delivery [J]. *Nano Res*, 2008, 1:203-212.
- [13] LIU Z, ROBINSON J, SUN X M, et al. PEGylated nanographene oxide for delivery of water-insoluble cancer drugs [J]. *J Am Chem Soc*, 2008, 130:10876-10877.
- [14] YANG X Y, ZHANG X Y, LIU Z F, et al. High-efficiency loading and controlled release of doxorubicin hydrochloride on graphene oxide [J]. *J Phys Chem C*, 2008, 112:17554-17558.
- [15] MURAKAMI T, AJIMA K, MIYAWAKI J, et al. Drug-loaded carbon nanohorns: adsorption and release of dexamethasone *in vitro* [J]. *Mol Pharm*, 2004, 1:399-405.
- [16] ZHANG L M, XIA J G, ZHAO Q H, et al. Functional graphene oxide as a nanocarrier for controlled loading and targeted delivery of mixed anticancer drugs [J]. *Small*, 2010, 6:537-544.
- [17] ZHANG L M, LU Z X, ZHAO Q H, et al. Enhanced chemotherapy efficacy by sequential delivery of siRNA and anticancer drugs using PEI-grafted graphene oxide [J]. *Small*, accepted.
- [18] YOKOYAMA M, FUKUSHIMA S, UEHARA R, et al. Characterization of physical entrapment and chemical conjugation of adriamycin in polymeric micelles and their design for *in vivo* delivery to a solid tumor [J]. *J Control Release*, 1998, 50:79-92.
- [19] LU C H, YANG H H, ZHU C L, et al. A graphene platform for sensing biomolecules [J]. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48:1-4.
- [20] TANG Z W, WU H, CORT Z R, et al. Constraint of DNA on functionalized graphene improves its biostability and specificity [J]. *Small*, 2010, 6:1205-1209.
- [21] LU C H, ZHU C L, LI J, et al. Using graphene to protect DNA from cleavage during cellular delivery [J]. *Chem Commun*, 2010, 46:3116-3118.
- [22] HUANG J, ZHANG L M, CHEN B, et al. Nanocomposites of size-controlled gold nanoparticles and graphene oxide: formation and applications in SERS and catalysis [EB/OL]. *Nanoscale*, 2010.
- [23] PENG C, HU W B, ZHOU Y T, et al. Intracellular imaging with a graphene-based fluorescent probe [J]. *Small*, 2010, 6:1686-1692.
- [24] YANG K, ZHANG S, ZHANG G X, et al. Graphene in mice: ultrahigh *in vivo* tumor uptake and efficient photothermal therapy [J]. *Nano Lett*, 2010, 10:3318-3323.
- [25] ZHANG Y B, ALI S F, DERVISHI E, et al. Cytotoxicity effects of graphene and single-wall carbon nanotubes in neural pheochromocytoma-derived PC12 cells [J]. *ACS Nano*, 2010, 4:3181-3186.

(本文编辑:何彦梅)