



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108467028 B

(45) 授权公告日 2021.10.12

(21) 申请号 201810388032.1

A61K 47/04 (2006.01)

(22) 申请日 2018.04.26

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 108467028 A

CN 105646906 A, 2016.06.08

CN 106966844 A, 2017.07.21

CN 105641710 A, 2016.06.08

(43) 申请公布日 2018.08.31

CN 102807209 A, 2012.12.05

CN 102690648 A, 2012.09.26

(73) 专利权人 上海大学  
地址 200444 上海市宝山区上大路99号

CN 102727901 A, 2012.10.17

US 2012190139 A1, 2012.07.26

(72) 发明人 邓小勇 付朝 段俊红 孙美  
沈宁

Yongqiang Dong et al..

(74) 专利代理机构 上海上大专利事务所(普通  
合伙) 31205

“Photoluminescence, chemiluminescence and anodic electrochemiluminescence of hydrazide-modified graphene quantum dots”.《Nanoscale》.2014,第6卷(第19期),第11240-11245页.

代理人 顾勇华

审查员 陈鑫

(51) Int. Cl.

C01B 32/184 (2017.01)

C01B 32/194 (2017.01)

A61K 9/51 (2006.01)

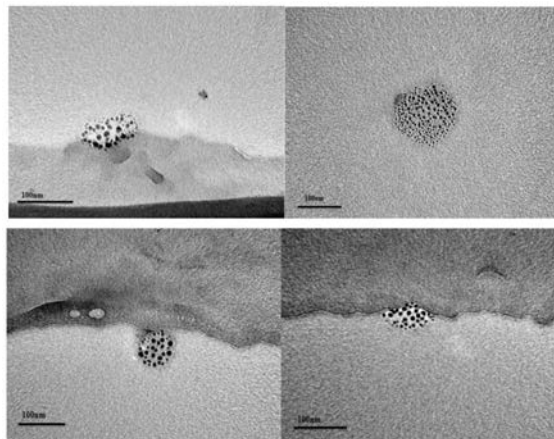
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54) 发明名称

智能石墨烯量子点团簇的制备方法及应用

(57) 摘要

本发明公开了一种智能石墨烯量子点团簇的制备方法及应用,利用浓硫酸和浓硝酸加热回流处理碳纤维,得到石墨烯量子点粉末;将GQDs粉末溶于二甲基亚砜中,再与一定比例的HBTU、HOBT、脲基甲酸叔丁酯和DIPEA在氮气保护下进行反应,透析后得到GQDs酰肼溶液;再加入GQDs粉末到GQDs酰肼溶液中,同时加入三氟乙酸,反应后得到智能GQDs团簇,在去离子水中透析后得到智能GQDs团簇的水溶液。本发明方法新颖,在控制实验条件的情况下,产率高,得到的含有脲键的智能GQDs团簇可以在不同pH条件下实现GQDs控制释放,具有更好的生物应用前景。



1. 一种智能石墨烯量子点团簇的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

a. 首先称取4.0g碳纤维加入250mL的反应容器中,加入135mL的质量百分比浓度不低于95wt.%的浓硫酸与45mL的质量百分比浓度不低于65wt.%的浓硝酸混合物,在常温水浴条件下超声处理至少1h,然后在不低于80℃的油浴条件下,加热回流反应至少24h,然后将反应后的混合液冷却到室温,并用至少800mL去离子水进行稀释,然后用离心机以不低于6000rpm的转速离心至少30min,分离去除下层沉淀物,收集上层黑色液体,使用真空抽滤的方法处理黑色液体,通过孔隙尺寸不大于0.22 $\mu$ m的抽滤膜,进一步去除较大颗粒的物质,最后得到石墨烯量子点的酸溶液,随后在去离子水中用分子量3500Da的透析袋进行多次透析分离纯化,直到透析后的透析袋外的渗出液变为中性,然后将透析袋内透析过的保留液用旋转蒸发仪在不低于60℃进行蒸干,再进行研磨,即得到干燥的石墨烯量子点粉末;

b. 取100mg在所述步骤a中制备的石墨烯量子点粉末溶于至少8mL去离子水中,然后用分子量为1000Da的再生纤维素透析袋中,在二甲基亚砜中溶剂中进行透析至少4次,每4h更换一次透析液,得到石墨烯量子点的DMSO溶液;然后取含50mg的石墨烯量子点的DMSO溶液转移到单口烧瓶中,采用HBTU作为偶联剂,并将735.3mg的HBTU和261.48mg的HOBT加入单口烧瓶中进行混合,然后加入383.58mg的胍基甲酸叔丁酯,在常温下搅拌至少30分钟后,再加入400 $\mu$ L的N,N-二异丙基乙胺,得到反应物混合体系溶液;然后在室温和氮气保护气体的条件下进行反应至少48h,然后将反应后的产物溶液装入分子量为3500Da的再生纤维素透析袋中,在DMSO溶液中进行透析至少两天,每8h更换一次透析液,得到GQDs酰肼溶液;

c. 取50mg在所述步骤b中制备的GQDs酰肼溶液,然后加入相当于所取用的GQDs酰肼溶液至少10倍质量的GQDs粉末,同时加入0.5mL的三氟乙酸形成反应物混合液体系,在室温下搅拌至少24h,然后升温到不低于50℃下搅拌至少48h进行反应,得到含有智能GQDs团簇产物的混合液,然后将反应后的混合液装入分子量为8000-10000Da的透析袋中,在去离子水中反复透析三天到四天,每8h更换一次透析液,最后得到智能GQDs团簇的水溶液。

2. 一种权利要求1所述智能石墨烯量子点团簇的制备方法制备的智能石墨烯量子点团簇的应用,其特征在于:智能石墨烯量子点团簇在不同pH条件下能解离成分散的GQDs纳米颗粒,用于pH控制释放。

3. 根据权利要求2所述智能石墨烯量子点团簇的应用,其特征在于:通过智能石墨烯量子点团簇进行pH控制释放,使智能石墨烯量子点团簇载带的治疗药物进入肿瘤细胞进行药物释放。

4. 根据权利要求2或3所述智能石墨烯量子点团簇的应用,其特征在于:智能石墨烯量子点团簇在pH为5.0~7.4的环境下能解离成分散的GQDs纳米颗粒。

## 智能石墨烯量子点团簇的制备方法及应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种石墨烯量子点的制备方法及应用,特别是涉及一种石墨烯量子点团簇的制备方法及应用,应用于纳米材料制备工艺和应用技术领域。

### 背景技术

[0002] 石墨烯量子点(GQDs)是小于100nm的石墨烯单层薄片,相比于石墨烯材料,其具有边缘效应和量子效应的特点,这些特点使其在电子及光电子方面比石墨烯具有更好的发展潜力,可应用于光催化剂、电化学传感器等方面。同时,石墨烯量子点还具有低毒性、荧光稳定性、生物相容性和细胞渗透率等特性,所以其在药物/基因载带、荧光探针和生物成像领域同样具有广泛的发展前景。

[0003] 现有的纳米载体在运输过程中存在过早释放、释放缓慢和到达肿瘤部位难以调控等问题。而现有方法的制备的石墨烯量子点材料的载带药物的能力有限,还不能有效实现载带药物的精准释放,生物毒性、环境友好性和智能性还不够理想。

### 发明内容

[0004] 为了解决现有技术问题,本发明的目的在于克服已有技术存在的不足,提供一种智能石墨烯量子点团簇的制备方法及应用,利用浓硫酸与浓硝酸的混酸制备得到的GQDs,含有大量的羧基和羰基,然后通过偶联剂的作用,合成了GQDs酰肼;然后将GQDs的羰基与GQDs酰肼反应合成具有pH敏感型的脲键,制备智能GQDs团簇,该团簇在不同pH条件下能解离成分散的GQDs纳米颗粒,使载带的治疗药物能更精确的进入肿瘤细胞并有效释放药物,减少对非肿瘤细胞的副作用。

[0005] 为达到上述目的,本发明采用如下技术方案:

[0006] 一种智能石墨烯量子点团簇的制备方法,包括如下步骤:

[0007] a. 首先称取4.0g碳纤维加入250mL的反应容器中,加入135mL的质量百分比浓度不低于95wt.%的浓硫酸与45mL的质量百分比浓度不低于65wt.%的浓硝酸混合物,在常温水浴条件下超声处理至少1h,然后在不低于80℃的油浴条件下,加热回流反应至少24h,然后将反应后的混合液冷却到室温,并用至少800mL去离子水进行稀释,然后用离心机以不低于6000rpm的转速离心至少30min,分离去除下层沉淀物,收集上层黑色液体,使用真空抽滤的方法处理黑色液体,通过孔隙尺寸不大于0.22μm的抽滤膜,进一步去除较大颗粒的物质,最后得到石墨烯量子点的酸溶液,随后在去离子水中用分子量3500Da的透析袋进行多次透析分离纯化,直到透析后的透析袋外的渗出液变为中性,然后将透析袋内透析过的保留液用旋转蒸发仪在不低于60℃进行蒸干,再进行研磨,即得到干燥的石墨烯量子点粉末;

[0008] b. 取100mg在所述步骤a中制备的石墨烯量子点粉末溶于至少8mL去离子水中,然后用分子量为1000Da的再生纤维素透析袋中,在二甲基亚砷中溶剂中进行透析至少4次,每4h更换一次透析液,得到石墨烯量子点的DMSO溶液;然后取含50mg的石墨烯量子点的DMSO溶液转移到单口烧瓶中,采用HBTU作为偶联剂,并将735.3mg的HBTU和261.48mg的HOBT加入

单口烧瓶中进行混合,然后加入383.58mg的胍基甲酸叔丁酯,在常温下搅拌至少30分钟后,再加入400 $\mu$ L的N,N-二异丙基乙胺,得到反应物混合体系溶液;然后在室温和氮气保护气体的条件下进行反应至少48h,然后将反应后的产物溶液装入分子量为3500Da的再生纤维素透析袋中,在DMSO溶液中进行透析至少两天,每8h更换一次透析液,得到GQDs酰肼溶液;

[0009] c.取50mg在所述步骤b中制备的GQDs酰肼溶液,然后加入相当于所取用的GQDs酰肼溶液至少10倍质量的GQDs粉末,同时加入0.5mL的三氟乙酸形成反应物混合液体系,在室温下搅拌至少24h,然后升温到不低于50 $^{\circ}$ C下搅拌至少48h进行反应,得到含有智能GQDs团簇产物的混合液,然后将反应后的混合液装入分子量为8000-10000Da的透析袋中,在去离子水中反复透析三天到四天,每8h更换一次透析液,最后得到智能GQDs团簇的水溶液。

[0010] 一种本发明智能石墨烯量子点团簇的制备方法制备的智能石墨烯量子点团簇的应用,智能石墨烯量子点团簇在不同pH条件下能解离成分散的GQDs纳米颗粒,用于pH控制释放。

[0011] 上述智能石墨烯量子点团簇的应用,优选通过智能石墨烯量子点团簇进行pH控制释放,使智能石墨烯量子点团簇载带的治疗药物进入肿瘤细胞进行药物释放。

[0012] 上述智能石墨烯量子点团簇的应用,优选智能石墨烯量子点团簇在pH为5.0~7.4的环境下能解离成分散的GQDs纳米颗粒。

[0013] 本发明与现有技术相比较,具有如下显而易见的突出实质性特点和显著优点:

[0014] 1.本发明方法新颖独特,在控制实验条件的情况下,环境友好,产率高,得到的含有对酸敏感的胍键的智能GQDs团簇,可以在不同pH条件下实现GQDs控制释放,可以使载带的治疗药物能更精确的进入肿瘤细胞并有效释放药物,减少对非肿瘤细胞的副作用,具有更好的生物应用前景;

[0015] 2.本发明方法制备的智能GQDs团簇水溶性良好,颗粒尺寸均匀,质量高,纯度易于控制和调控;

[0016] 3.本发明所制备的整个体系具有更低的生物毒性,并且操作简单,易于合成。

## 附图说明

[0017] 图1为本发明实施例一方法制备的含有胍键的智能GQDs团簇的透射电子显微镜照片。

## 具体实施方式

[0018] 以下结合具体的实施例子对上述方案做进一步说明,本发明的优选实施例详述如下:

[0019] 实施例一

[0020] 在本实施例中,参见图1,一种智能石墨烯量子点团簇的制备方法,包括如下步骤:

[0021] a.首先用电子天平称取4.0g碳纤维加入250mL的圆底烧瓶中,加入135mL的质量百分比浓度为95wt.%的浓硫酸与45mL的质量百分比浓度为65wt.%的浓硝酸混合物,在常温水浴条件下超声处理1h,然后在80 $^{\circ}$ C的油浴条件下,加热回流反应24h,然后将反应后的混合液冷却到室温,并用800mL去离子水进行稀释,然后用离心机以6000rpm的转速离心30min,分离去除下层沉淀物,收集上层黑色液体,使用真空抽滤的方法处理黑色液体,通过

孔隙尺寸为0.22 $\mu\text{m}$ 的抽滤膜,进一步去除较大颗粒的物质,最后得到石墨烯量子点(GQDs)的酸溶液,随后在去离子水中用分子量3500Da的透析袋进行多次透析分离纯化,直到透析后的透析袋外的渗出液变为中性,然后将透析袋内透析过的保留液用旋转蒸发仪在60 $^{\circ}\text{C}$ 进行蒸干,再进行研磨,即得到干燥的石墨烯量子点粉末;

[0022] b.取100mg在所述步骤a中制备的石墨烯量子点粉末溶于8mL去离子水中,然后用分子量为1000Da的再生纤维素透析袋中,在二甲基亚砜(DMSO)中溶剂中进行透析4次,每4h更换一次透析液,得到石墨烯量子点的DMSO溶液;然后取含50mg的石墨烯量子点的DMSO溶液转移到单口烧瓶中,采用HBTU作为偶联剂,并将735.3mg的HBTU和261.48mg的HOBT加入单口烧瓶中进行混合,然后加入383.58mg的胍基甲酸叔丁酯,在常温下搅拌30分钟后,再加入400 $\mu\text{L}$ 的N,N-二异丙基乙胺(DIPEA),得到反应物混合体系溶液;然后在室温和氮气保护气体的条件下进行反应48h,然后将反应后的产物溶液装入分子量为3500Da的再生纤维素透析袋中,在DMSO溶液中进行透析两天,每8h更换一次透析液,得到GQDs酰肼溶液;

[0023] c.取50mg在所述步骤b中制备的GQDs酰肼溶液,然后加入相当于所取用的GQDs酰肼溶液10倍质量的GQDs粉末,同时加入0.5mL的三氟乙酸(TFA)形成反应物混合液体系,在室温下搅拌24h,然后升温到50 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌48h进行反应,得到含有智能GQDs团簇产物的混合液,然后将反应后的混合液装入分子量为8000-10000Da的透析袋中,在去离子水中反复透析三天到四天,每8h更换一次透析液,最后得到智能GQDs团簇的水溶液。

[0024] 本发明制备的智能GQDs团簇进行微观实验观察,参见图1,通过含有胍键的智能GQDs团簇的透射电子显微镜照片可知,其呈现出许多单个GQDs聚集的状态,通过软件测得聚集成团的单个GQDs的平均粒径为4.19nm,其中最大28.57nm,最小1.56nm。

[0025] 本实施例利用浓硫酸( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )和浓硝酸( $\text{HNO}_3$ )加热回流处理碳纤维(CF),经处理后得到石墨烯量子点(GQDs)粉末;将GQDs粉末溶于二甲基亚砜(DMSO)中,再与一定比例的多肽偶联剂O-苯并三氮唑-四甲基脒六氟磷酸盐(HBTU)、缩合剂1-羟基苯并三唑(HOBT)、胍基甲酸叔丁酯和N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)在氮气保护下进行反应,透析后得到GQDs酰肼溶液;再加入10倍质量的GQDs粉末到GQDs酰肼溶液中,同时加入三氟乙酸(TFA),通过GQDs酰肼和GQDs相反应后得到智能GQDs团簇,在去离子水中透析后得到智能GQDs团簇的水溶液。本实施例方法新颖,环境友好,在控制实验条件的情况下,产率高,所制备的整个体系具有更低的生物毒性,得到的智能GQDs团簇水溶性良好,颗粒尺寸均匀。

[0026] 实施例二

[0027] 本实施例与实施例一基本相同,特别之处在于:

[0028] 在本实施例中,一种利用实施例一智能石墨烯量子点团簇的制备方法制备的智能石墨烯量子点团簇的应用,智能石墨烯量子点团簇在不同pH条件下能解离成分散的GQDs纳米颗粒,用于pH控制释放。通过智能石墨烯量子点团簇进行pH控制释放,使智能石墨烯量子点团簇载带的治疗药物进入肿瘤细胞进行药物释放。

[0029] 在本实施例中,智能石墨烯量子点团簇在pH为5.0的酸性环境下能分别解离成分散的GQDs纳米颗粒。此智能石墨烯量子点团簇在pH为7.4,6.5,5.0的条件下,GQDs纳米颗粒的尺寸逐渐减小,说明随着环境逐渐向酸性条件变化,纳米复合粒子开始解离,因此尺寸逐渐变小,其可控性良好。

[0030] 在本实施例中,实施例一制备的基于酸敏感的胍键介导GQDs酰肼修饰的GQDs能用

于pH控制释放,使得制备的智能GQDs团簇在不同pH条件下实现GQDs控制释放,可以实现在不同酸性PH下解离。可以使载带的治疗药物能更精确的进入肿瘤细胞并有效释放药物,减少对非肿瘤细胞的副作用。实施例一所制备的整个体系具有更低的生物毒性,且可以实现载带药物的精准释放,具有较好的应用前景,有效解决纳米载体在运输过程中存在过早释放、释放缓慢和到达肿瘤部位难以调控等问题。

[0031] 本发明上述实施例利用浓硫酸与浓硝酸的混酸制备得到的GQDs,含有大量的羧基和羰基,通过偶联剂的作用,在DMSO溶液中成功合成了GQDs酰肼;接着,将GQDs的羰基与GQDs酰肼反应合成具有pH敏感型的腙键,成功制备了智能GQDs团簇,该团簇在对应的pH条件下可以解离成分散的GQDs纳米颗粒。

[0032] 上面结合附图对本发明实施例进行了说明,但本发明不限于上述实施例,还可以根据本发明的发明创造的目的做出多种变化,凡依据本发明技术方案的精神实质和原理下做的改变、修饰、替代、组合或简化,均应为等效的置换方式,只要符合本发明的发明目的,只要不背离本发明智能石墨烯量子点团簇的制备方法及应用的技术原理和发明构思,都属于本发明的保护范围。

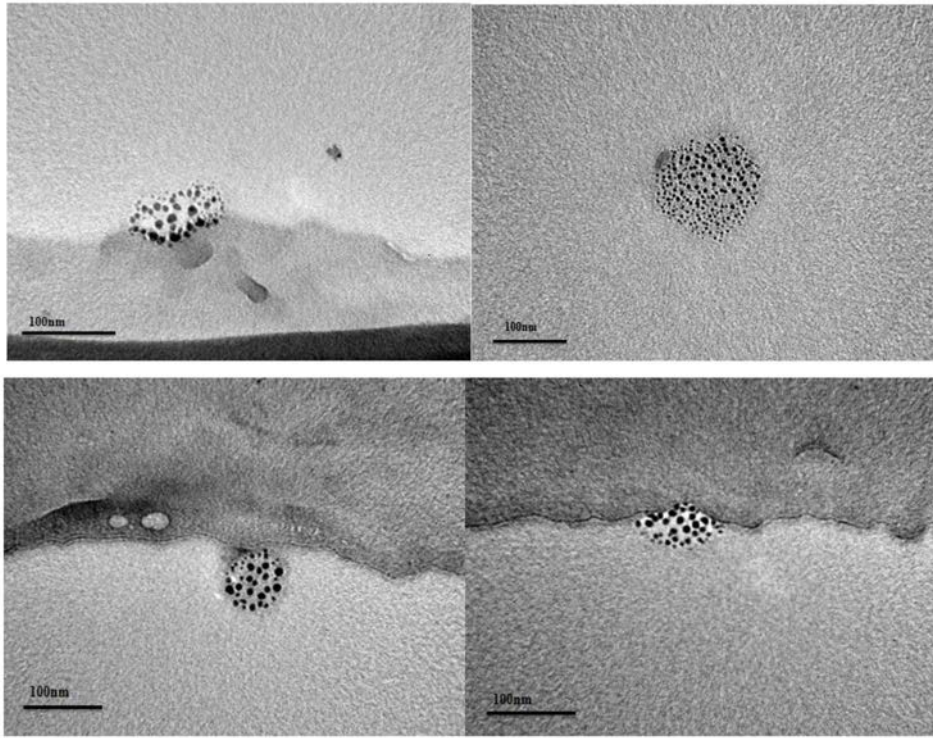


图1