

学校编码: 10384 分类号密级

学号: 31420131150135

UDC

厦门大学

硕士学位论文

聚多巴胺修饰的碳量子点：一种具有光热 治疗作用的新型荧光碳点

**Polydopamine–Carbon Dots Conjugate: A New
Kind of Fluorescent Carbon Dots with Photothermal
Conversion Property**

张白

指导教师姓名: 孙亚楠 副教授

专业名称: 生物医学工程

论文提交日期: 2016 年 月

论文答辩时间: 2016 年 月

学位授予日期: 2016 年 月

答辩委员会主席:

评阅人:

2016 年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下，独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果，均在文中以适当方式明确标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范（试行）》。

另外，该学位论文为（ ）课题（组）的研究成果，获得（ ）课题（组）经费或实验室的资助，在（ ）实验室完成。（请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不作特别声明。）

声明人（签名）：

年月日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

() 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

() 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年月日

摘要

荧光碳点 (Carbon Dots), 即碳点, 粒径约在 2-8nm 范围内, 具有光致发光性能的一类球形碳骨架材料, 碳点具有较高的化学稳定性和荧光稳定性, 大部分碳点均有典型的多色荧光性, 即发射波长可随激发波长的调节而调节, 且无明显生物毒性。此外, 碳点由于自身表面缺陷 (Surface Energy Traps) 作用, 氨基的引入可以对碳点荧光强度起增强的作用。不同于传统半导体量子点大多含有有毒的金属元素, 碳点的低毒性和良好的生物相容性使其替代传统半导体量子点得到更广泛的应用。

聚多巴胺 (Polydopamine) 是仿天然黑色素(真黑素)的一种, 通过多巴胺氧化自聚而成。聚多巴胺在分子结构、光学以及生物相容性等性质方面呈现出类似于黑色素的性质。聚多巴胺分子中富含的邻苯二酚和氨基等基团赋予其极强的黏附性质, 能与多种基底表层形成共价键与非共价键, 从而能够黏附在多种及几乎全部基体材料表面。聚多巴胺在近红外 (NIR) 区有很强的光吸收能力, 具有优异光热性能, 在肿瘤治疗与光热治疗领域具有很大应用意义。

本篇文章首次运用一步微波法制备了具有光致发光特性的聚多巴胺修饰的碳纳米颗粒 (CD-PDA)。通过傅里叶变换红外光谱考察红外特征峰、透射电镜观察形貌与粒径、紫外-可见光吸收光谱测其全波长特征吸收、荧光光谱检测荧光性能等手段, 对所制备的 CD-PDA 进行了检测与表征。最终合成平均直径为 22nm 的具有优异光致发光、光稳定性强的纳米颗粒, 聚多巴胺自身带来的 N 原子也对 CD 荧光性能起到增强作用, 提高了 CD-PDA 的荧光量子产率。此外, CD-PDA 还具有优异的光热性能和较低的生物毒性, 以上多种优点使 CD-PDA 呈现出优异的肿瘤杀伤效果。这种集合了光致发光性能与优秀的光热性能的新型纳米材料, 对于进一步研究生物成像及癌症治疗有重要意义。

关键词: 碳点; 聚多巴胺; 荧光; 光热治疗

Abstract

Carbon dots (C-dots), have drawn tremendous attention in nanotechnology field, with high chemical stability, remarkable advantage in stable photoluminescence and special optical properties. Fluorescent carbon dots based on carbon skeletons synthesized into spherical nanoparticles, with diameter lower than 10nm, broad excitation wavelength spectra, tunable emission wavelength and superior biocompatibility. Compared to the traditional organic dyes, because of the surface defects, the introduction of amino on carbon quantum dots has the effect to enhance fluorescence.

Polydopamine, the melanin-like nanoparticles could be self-polymerized by dopamine monomer (DA), processes excellent biocompatibility. Another valuable feature of polydopamine lies in its chemical structure that incorporates many functional groups such as catechol and amine. Farther more, Polydopamine shows excellent biocompatibility and photothermal performance, which makes Polydopamine widely used in photothermal therapy.

In this work, strong photoluminescent PDA-functionalized CD (CD-PDA) was produced directly via microwave pyrolysis by glycerol in the presence of passivation agent, polydopamine, FTIR, TEM, and UV-Vis were used to confirm the synthesis of CD and to illuminate its mechanism of photoluminescence (PL). The introduction of Natoms by polydopamine onto the skeleton of carbon nanoparticles directly increases its fluorescence intensity. CD-PDA nanocomposite with the diameter of 22nm exhibits excellent photothermal performance, good biocompatibility, outstanding photoluminescence. These features mentioned above make the CD-PDA nanocomposite will perform excellent in bioimaging and in vitro antitumor effect. Our work encourages further exploration of versatile nanoplatform for cancer therapy.

Keywords: carbon dot; polydopamine; photothermal therapy

厦门大学博硕士学位论文摘要库

目录

摘要.....	I
Abstract.....	II
第一章绪论	1
1.1 前言	1
1.2 光热治疗在肿瘤治疗中的应用	1
1.2.1 光热治疗简介.....	1
1.2.2 光热纳米材料的分类.....	2
1.3 聚多巴胺概述	3
1.3.1 多巴胺仿生聚合.....	3
1.3.2 聚多巴胺的性质.....	9
1.3.3 聚多巴胺的应用.....	14
1.4 荧光碳点概述	16
1.4.1 碳点的合成.....	17
1.4.2 碳点的性质.....	21
1.4.3 碳点的应用.....	25
1.5 本文的提出及研究内容	27
第二章一步微波法荧光碳点的制备与表征	29
2.1 引言	29
2.2 实验部分	30
2.2.1 实验试剂与仪器.....	30
2.2.2 聚多巴胺荧光碳点的制备.....	31
2.2.3 测试与表征手段.....	33
2.3 结果与讨论	33
2.3.1 CD-PDA 的合成.....	33
2.3.2 CD-PDA、CD-DA 和 CD 的荧光对比	34
2.3.3 形貌及尺寸分析.....	36
2.3.4 傅里叶变换红外光谱.....	37
2.3.5 紫外-可见吸收光谱分析	38
2.4 本章小结	39
第三章荧光特性分析	41
3.1 引言.....	41

3.2 实验部分	41
3.2.1 实验试剂与仪器.....	41
3.2.2 聚多巴胺荧光碳点的制备.....	42
3.2.3 测试与表征手段.....	43
3.3 结果与讨论	45
3.3.1 CD-PDA 荧光性能的影响因素.....	45
3.3.2 CD-PDA 的荧光量子产率.....	48
3.3.3 CD-PDA 的多荧光性.....	49
3.3.4 CD-PDA 的荧光稳定性.....	51
3.4 本章小结	52
第四章 CD-PDA 的应用及体外细胞实验	54
4.1 引言	54
4.2 实验部分	54
4.2.1 实验试剂与仪器.....	54
4.2.2 测试与表征手段.....	55
4.3 结果与讨论	57
4.3.1 CD-PDA 的光热性能分析.....	57
4.3.2 CD-PDA 的细胞毒性.....	58
4.3.3 CD-PDA 的细胞光热杀伤效果.....	59
4.4 本章小结	60
第五章主要结论和研究展望	61
5.1 结论	61
5.2 展望	62
参考文献	63
致谢	72
硕士期间发表论文	74

Contents

Abstract in Chinese.....	I
Abstract in English	II
Chapter 1 Introduction.....	1
1.1 Introduction.....	1
1.2 Application of photothermal therapy in cancer therapy.....	1
1.2.1 Introduction of photothermal therapy	1
1.2.2 Nanomaterials applied in photothermal therapy	2
1.3 Overview of polydopamine	3
1.3.1 Overview of dopamine.....	3
1.3.3 Properties of polydopamine	9
1.3.4 Application of polydopamine.....	14
1.4 Overview of Carbon dots	16
1.4.1 The way of Carbon dots Preparation.....	17
1.4.2 Properties of Carbon dots.....	21
1.4.3 Application of Carbon dots	25
1.5 Propose and contents	27
Chapter 2 One-step synthesis of C-dots and Analysis.....	29
2.1 Introduction.....	29
2.2 Experiments.....	30
2.2.1 Reagents and instruments	30
2.2.2 Preparation of CD-PDA	31
2.2.3 Characteration of CD-PDA.....	33
2.3 Results and Discussion.....	33
2.3.1 One-step route to synthesize CD-PDA	33
2.3.2 Flourence analysis.....	34
2.3.4 Fourier transform infrared spectrum analysis	37
2.3.5 UV-vis absorption spectrum analysis.....	38
2.4 Summary.....	39
Chapter3 The fluorescence property of CD-PDA.....	41
3.1 Introduction.....	41
3.2 Experiments.....	41
3.2.1 Reagents and instruments	41

3.2.2 Preparation of PDA.....	42
3.2.3 Characteration of CD-PDA.....	43
3.3 Results and Discussion.....	45
3.3.1 Fluorescence influence effectors.....	45
3.3.2 Quantum yield of CD-PDA.....	48
3.3.3 Multicolor propertyof CD-PDA.....	49
3.3.4 Photostability of CD-PDA.....	51
3.4 Summary.....	52
Chapter 4 Cytological studies in vitro	54
4.1 Introduction.....	54
4.2 Experiments.....	54
4.2.1 Reagents and instruments.....	54
4.2.2 Characteration of CD-PDA.....	55
4.3 Results and Discussion.....	57
4.3.1 Photothermal performance analysis.....	57
4.3.2 In vivo treatments.....	58
4.3.3 In vivo treatments with NIR laser irradiation.....	59
4.4 Summary.....	60
Chapter 5 Conclusions and expectations.....	61
5.1 Summary.....	61
5.2 Expectations.....	62
References.....	63
Acknowledgements.....	72
Publications.....	74

第一章绪论

1.1 前言

据统计，癌症是当今世界范围内超越心脏病成为导致人类死亡的主要原因。据世界卫生组织（World Health Organization, WHO）报道：由 2012 年的 1400 万人死于癌症，至 2025 年将有 1900 万人死于癌症。亚洲癌症的新增病例数目占一半，其中，中国的新增数量高居排位第一^[1]。

手术治疗、化学治疗（化疗）、免疫疗法和放射治疗（放疗）等治疗方法是目前临床癌症治疗主要采用的疗法，这些治疗方法在治疗肿瘤的同时会杀死正常细胞、破坏免疫系统以及使病患面临罹患二次癌症的风险。如，手术治疗和放疗仅适用于患者的局部治疗，存在着一定的局限性，而化学药物治疗存在着较大的药物毒副作用^[2]。

科学技术日新月异的进步与创新，一些新兴癌症诊治方法兴起，比如利用光热转换的光热治疗。而大量的研究实验表明，这些新型的治疗手段不仅可作为主要的治疗手段，得到更优异的抗肿瘤效果，而且由于光热治疗有高效选择性、侵入性低、复原时间快以及引起并发症的概率小，逐渐被更广泛的应用于肿瘤治疗^[3-5]。

1.2 光热治疗在肿瘤治疗中的应用

1.2.1 光热治疗简介

热疗（Photo-thermal Therapy, PTT）是通过物理加热方式加热人体全部或肿瘤的局部部位并维持一定时间，利用肿瘤组织在温度升高至 48℃ 即可起到杀死肿瘤细胞效果，而对肿瘤周围的正常组织无明显致死效果^[6]，由此兴起了一种新型的热疗疗法——光热治疗。该疗法的主要原理是利用透过能力强且光稳定的近红外光照射，利用光热试剂的强吸收作用，将光能转换为热能或声子，从而产生局部高温，致使生物膜的通透性发生改变，阻碍了纳、钾、钙离子和三磷酸腺苷

等物质的细胞内流，从而导致肿瘤细胞凋亡。

影响光热治疗效果有两个重要因素：第一，光源。波长范围为 700-1400nm 的近红外光能够更有效的穿透生物组织，且光频衰减幅度小，可以有效到达并作用到肿瘤部位，正常组织则不受其影响。因此，光源选择为近红外光是光热治疗的基本保证。第二，光热试剂。效果优异的光热试剂应有具备以下特点：（1）高的光热转换效率；（2）强的近红外光吸收能力；（3）优异的生物相容性。

1.2.2 光热纳米材料的分类

目前，拥有巨大生物学和医学应用前景的纳米生物学学科得到越来越广泛的关注，而纳米材料的研究创新，为各种重大疾病如癌症的治疗指出了新的研究方向。其中，具有光热性能的新材料逐渐发展为肿瘤治疗新技术的研发热门。

目前应用最广泛的光热纳米材料分为：（1）碳基材料，如石墨烯^[7-10]、碳纳米管^[11, 12]等，此类材料的光热转化效率即便在长时间的激光照射下仍保持在较高水平。其不足之处在于其光吸收系数较低，且材料制备不易，制备条件苛刻。2010年，刘庄课题组^[10]合成出有优异的肿瘤治疗效果 NGS-PEG 纳米颗粒，且仍保留了氧化石墨烯的良好生物相容性的性质。戴宏杰课题组^[9]制备出高分散性的还原的氧化石墨烯，其光热性能及光热治疗效果均远优于氧化石墨烯。

（2）无机纳米材料如：金纳米材料，如金纳米棒^[13]，金纳米颗粒^[14]等，其他金属纳米材料，如银、钯（Pd）^[15]、硫化铜（CuS）^[16]等；无机纳米材料的生物相容性差，且有存在严重的长期毒性。

（3）有机纳米材料，主要包括一些高分子材料，如聚吡咯纳米粒子^[17]，和近红外有机染料，如吡啶青绿^[18]等纳米颗粒等。这类有机纳米材料在生物体内可降解且生物毒性低，光学性质稳定，具有较高的光热转化效率而逐渐得到更广泛的研究。Lu^[19]等人利用多巴胺在乙醇\水\氨水体系中制备出水溶性、稳定性、可降解性和光热性能显著的聚多巴胺纳米粒子，且毒性极低，其光热转化率达 40%。

1.3 聚多巴胺概述

1.3.1 多巴胺仿生聚合

海洋贻贝类生物足丝可以分泌的黏附蛋白，这类粘附蛋白黏附性极强，且具有防水性能，分泌后可在海水中迅速固化成丝，并可黏附在几乎任何基底材料上^[20]。这种腺液主要成分贻贝足丝蛋白-5 (Mfp-5, Mytilus foot protein 5)，其具有较强的粘附性。研究发现，Mfp-5 中近 30%的 L-多巴(L-DOPA)和 15%的赖氨酸 (Lysine) 在贻贝粘附蛋白中对材料表面的黏附过程中起主要作用。这种黏附性能主要与多巴及赖氨酸中特有的共价键、邻苯二酚以及氨基官能团和其与基底材料的相互作用方式有关。多巴胺是一种多巴的衍生物，从其分子结构中可看出其不仅含有 L-多巴的邻苯二酚基团，还与赖氨酸一样含有氨基基团，且在弱碱性条件能够通过氧化自聚合形成聚多巴胺 (Polydopamine, PDA)，该聚合物可在多种有机和无机材料表面形成强粘性薄膜，从而引起广泛注意^[21, 22]。

多巴胺($C_6H_3(OH)_2-CH_2-CH_2-NH_2$, Dopamine)，简称 DA，一种生物神经递质，可传送脉冲，影响人类的情绪，多巴胺的缺失和失衡可引起帕金森病^[23]及阿尔茨海默病^[24]。Calsson^[25]研究证明了多巴胺为脑内神经细胞间递质，并于 2000 年赢得了诺贝尔奖。从多巴胺的分子式中可看出该物质最具有价值的一点在于，其包含了儿茶酚和氨基，且是相对分子质量低的儿茶酚胺。多巴胺多以多巴胺盐酸盐 (dopamine hydrochloride) 的形式存在和使用，是一种白色晶体^[26]。其结构示意图参见 1-1。

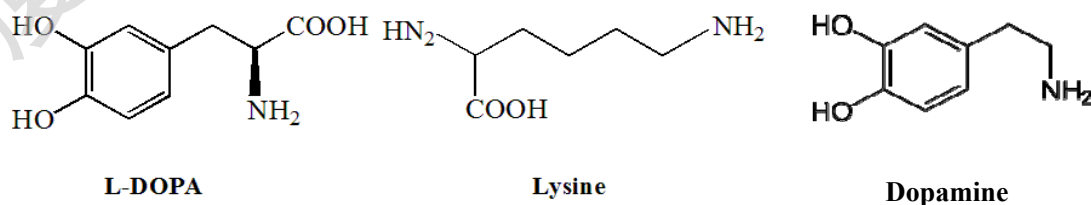
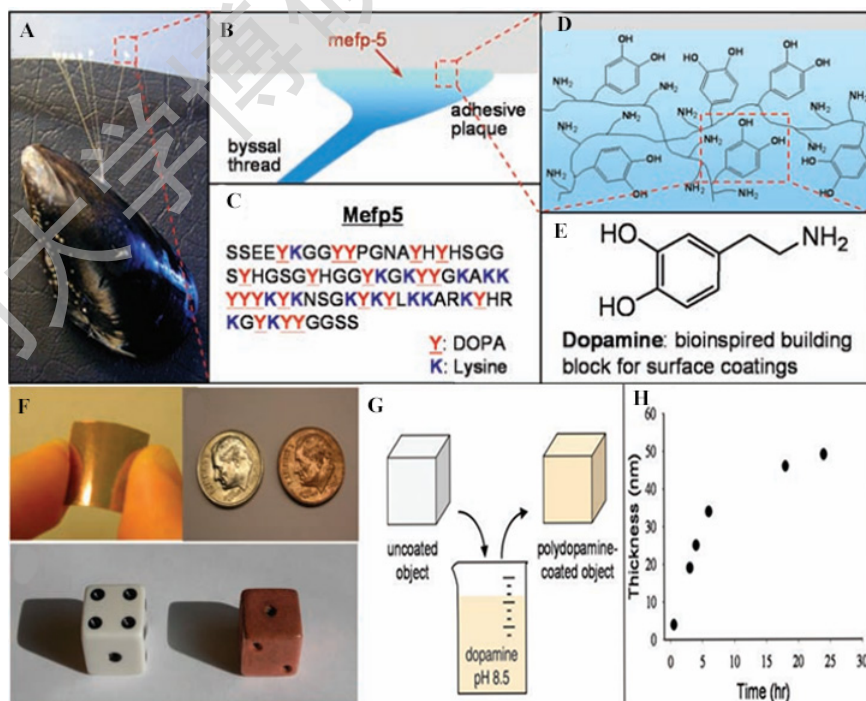


图 1-1L-DOPA、Lysine 及多巴胺单体 (DA) 的结构式

Fig.1-1 The chemical structure of L-DOPA, Lysine, Dopamine.

1.3.1.1 聚多巴胺的简介

Messersmith^[27, 28]课题组通过实验发现 DA 在碱性环境 ($\text{pH}>7.5$) 下可以自发氧化自聚, 反应随着多 DA 单体与反应溶液的混合立即发生, 随着时间的推移反应液由无色逐渐加深至深棕色, 生成一种聚集在基体表面的物质——聚多巴胺。如图 1-2 所示, 在有氧环境下, 将待修饰的固体材料浸入到多巴胺溶液中, 发生氧化自聚, 在固体材料表面形成一层聚多巴胺薄膜。这种方法反应条件温和, 对待附着物性质无明显影响, 且可以黏附在金属、无机非金属、陶瓷、半导体等几乎所有固体材料表面, 应用范围广泛, 从而得到广泛关注。研究表明, 聚多巴胺聚合层随时间增加聚合层厚度增加, 由几纳米到几十纳米不等, 其黏附层的厚度与聚合时间和多巴胺浓度有关。传统改性方式在不同环境中改性效果参差不齐, 而聚多巴胺能在除溶液 $\text{pH}>13$ 的强碱性条件下仍维持性质不变, 具有优异的稳定性^[29, 30]。聚多巴胺与固体材料较强的黏附作用力是一种介于共价键与非共价键之间的极强黏附作用力^[28]。

图 1-2 多巴胺自聚及黏附性质示意图^[30]Fig.1-2 Photograph of dopamine autopolymerizes^[30]

1.3.1.2 聚多巴胺聚合机理

迄今为止，聚多巴胺的聚合机理、共聚物分子结构及其黏附机理仍处于研究阶段，没有统一定论。聚多巴胺在光学、电磁学上都表现出与黑色素十分相近的性质，且都具有良好的生物相容性^[27, 31-36]。对于黑色素的聚合机理的研究为聚多巴胺研究指明了方向。

聚多巴胺的类黑色素聚合模型是对聚多巴胺聚合机理研究中最先提出一种模型^[32]，早期的科研成果表明，聚多巴胺的合成被认为跟生物体黑色素的合成类似，具体的聚合模型如下图 1-3 所示。

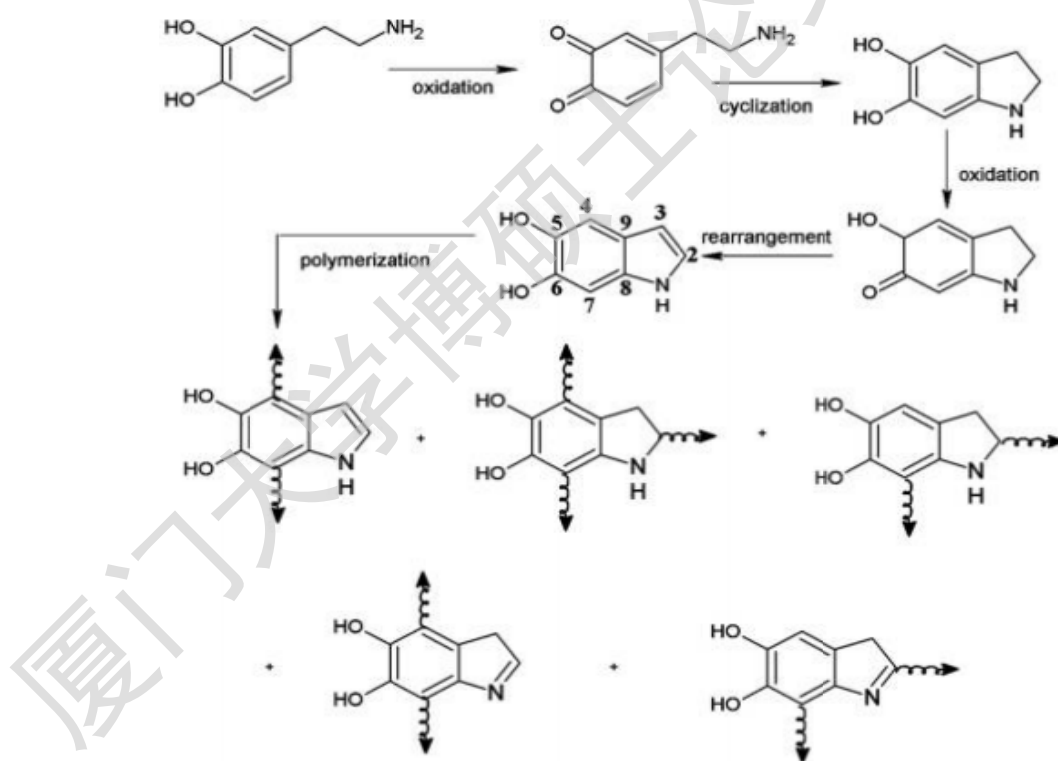


图 1-3 真黑色素聚合模型下的聚多巴胺聚合分子机制

Fig. 1-3 The schematic presentation of eumelanin model of polydopamine

如图 1-3 中所示，在碱性条件下，多巴胺单体首先被氧化成多巴醌，再由 1,4 分子内的迈克尔加成反应（Michael addition）分子内成环形成无色多巴色团

(Leucodopaminechrome)。经氧化重排，生成 5,6-二羟基吲哚 (DHI)，随即极易被氧化成 5,6-吲哚醌。这些中间产物又可以通过 2,3,4 和 7 位点发生支链反应，形成各种不同聚合程度的同分异构体和二聚物等低聚物。最终，更多的寡聚物通过儿茶酚和邻苯二醌发生的反歧化反应交联聚合形成聚多巴胺。

Bielawski^[34]课题组结合固态光谱和晶体技术提出一种新型聚多巴胺结构模型。通过 ^{15}N 核磁共振 (NMR) 他们发现了环状的含氮吲哚以及二氢吲哚类物质，与聚多巴胺真黑色素模型的预测一致。但根据一维固态 ^{13}C 核磁共振的分析，这些环状含氮物质都属于饱和的二氢吲哚结构，而不是聚多巴胺类黑色素模型认为的环状吲哚结构。并且认为聚多巴胺是靠多种中间产物之间的非共价键作用，如：氢键、 π - π 堆叠等堆叠在一起，而不会形成共价键。

不同于 Bielawski 的观点，Lee^[35]等人提出聚多巴胺的聚合是靠非共价自聚与共价聚合共同作用形成的混合结构。认为多巴胺反应生成 5,6-二羟基吲哚后，部分 5,6-二羟基吲哚继续反应，发生分子间交联重排生成高分子量的聚合物。该理论与真黑色素模型理论表明的共价自聚反应机理一致。而非共价自聚则认为在聚多巴胺的结构中还存在着大量未聚合多巴胺单体分子以及多种中间产物并依靠非共价作用堆叠在一起，这一理论模型图如下图 1-4 所示。

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.