

# 以机油为分散剂高温热解人发合成新型碳点及其生物效应研究

赵玉升<sup>1</sup>, 侯婷婷<sup>1#</sup>, 赵金莉<sup>2</sup>, 刘楚好<sup>2</sup>, 李伟洋<sup>2</sup>, 孔慧<sup>2</sup>, 赵琰<sup>2\*</sup>, 屈会化<sup>3\*</sup>

1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029

2. 北京中医药大学中医学院, 北京 100029

3. 北京中医药大学中医药研究院, 北京 100029

**摘要:** **目的** 以机油为分散剂高温热解人发后发现新型纳米碳点, 通过动物实验评价了该碳点的生物效应。 **方法** 利用高温热解法对人发和机油进行炭化, 对炭化产物进行萃取、过滤分离和透析得到一种具有水溶性的新型物质碳点, 并命名为 JYRF-CDs。利用透射电子显微镜 (TEM)、高分辨透射电子显微镜 (HR-TEM)、紫外-可见分光光谱、傅里叶变换红外光谱、荧光光谱、X 射线光电子能谱分析 (XPS) 等多种方法对 JYRF-CDs 进行表征, 利用小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 细胞进行 CCK-8 毒性实验来评价 JYRF-CDs 的安全性, 并通过小鼠耳肿胀实验和小鼠醋酸扭体实验对 JYRF-CDs 的生物效应进行评价。 **结果** JYRF-CDs 外形为类球形, 粒径均匀分布在 1.8~3.6 nm, 晶格间距为 0.219 7 nm。细胞毒性实验结果显示, JYRF-CDs 具有低毒性, 动物实验结果表明 JYRF-CDs 具有良好的抗炎和镇痛作用。 **结论** 首次以机油为分散剂高温热解人发后发现一种全新的碳点 JYRF-CDs, 以 JYRF-CDs 为突破口, 更加明确阐释以机油为分散剂高温热解人发后炭化产物具有生物效应的物质基础, 为纳米类成分的研究提供了一种新方法。

**关键词:** 碳点; 表征; 镇痛; 抗炎; JYRF-CDs; 生物效应; 高温热解法; RAW264.7 细胞; CCK-8 毒性实验

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)14-3663-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.14.008

## Synthesis of a new type of carbon dots by pyrolysis of human hair using motor oil as a dispersant and their biological effects

ZHAO Yu-sheng<sup>1</sup>, HOU Ting-ting<sup>1</sup>, ZHAO Jin-li<sup>2</sup>, LIU Chu-yu<sup>2</sup>, LI Wei-yang<sup>2</sup>, KONG Hui<sup>2</sup>, ZHAO Yan<sup>2</sup>, QU Hui-hua<sup>3</sup>

1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

2. School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

3. Beijing Institute of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

**Abstract: Objective** New type of nano-carbon dots were found after pyrolysis of human hair using motor oil as a dispersant and the biological effect of these carbon dots was evaluated by animal experiments. **Methods** High-temperature pyrolysis was used to carbonize human hair and motor oil, and the carbonized products were extracted, filtered, and dialyzed to obtain a new type of water-soluble substance, carbon dots, named JYRF-CDs. JYRF-CDs were characterized using transmission electron microscopy (TEM) and high-resolution TEM, as well as ultraviolet-visible, fourier transform infrared, fluorescence spectroscopy and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). CCK-8 toxicity test using RAW264.7 cells was used to evaluate the safety of JYRF-CDs and the biological effects of the JYRF-CDs were evaluated by mouse ear swelling experiments and mouse acetate writhing experiments. **Results** These JYRF-CDs were nearly spherical and well separated from each other, with a size distribution range of 1.8—3.6 nm, the CDs had a lattice spacing of 0.219 7 nm. The results of cytotoxicity experiments showed that JYRF-CDs had low toxicity, and the

收稿日期: 2020-01-06

基金项目: 第四批全国中医 (临床、基础) 优秀人才研修项目 (国中医药人教发 [2017] 24 号); 经典方剂的应用基础研究创新团队 (2019-JYB-TD-001)

作者简介: 赵玉升, 男, 2018 级在读硕士研究生, 研究方向为中药炭药物质基础研究。E-mail: 16688091339@163.com

\*通信作者 赵琰 (1973—), 女, 博士研究生导师, 教授, 研究方向为经典方剂的配伍与应用及炭药的物质基础研究。

Tel: (010)64286705 E-mail: zhaoyandr@bucm.edu.cn

屈会化 (1966—), 男, 博士生导师, 教授, 研究方向为中药炭药物质基础研究。Tel: (010)64286705 E-mail: quhuihuadr@163.com

#并列第一作者, 侯婷婷, 女, 2017 级在读硕士研究生, 研究方向为中药炭药物质基础研究。E-mail: 756531918@qq.com

results of animal experiments showed that JYRF-CDs had good anti-inflammatory and analgesic effects. **Conclusion** In this study, new type of carbon dots, JYRF-CDs, were discovered after pyrolyzing human hair with motor oil as a dispersant for the first time. Taking JYRF-CDs as a breakthrough, the material base of carbonization products after pyrolysis of human hair by high-temperature pyrolysis using motor oil as a dispersant was more clearly explained, providing a new method for the research of nano compounds.

**Key words:** carbon dots; characterization; analgesia; anti-inflammation; JYRF-CDs; biological effect; pyrolysis; RAW264.7 cells; CCK-8 toxicity test

血余炭, 始载于《五十二病方》<sup>[1]</sup>, 是人发高温炭化后的产物, 具有收敛止血、化瘀、利尿的功效, 主要用于吐血、咯血、衄血、血淋、尿血、便血、崩漏、外伤出血、小便不利等。血余炭已有 2 000 多年的应用历史, 现已被收入到国家药品标准《中国药典》2020 年版中。

《金匱要略》<sup>[2]</sup>中记载:“诸黄, 猪膏发煎主之。”可见古籍中就早有猪膏与人发合煎的记载, 但是受限于古代的生产水平, 并没有更好的分散剂作为选择。机油虽不能食用, 但本身含碳量高, 高温环境下更有利于碳点的合成, 本研究就是以机油为分散剂高温热解人发来进行血余炭的研究。血余炭的功效与其炮制加工过程密不可分, 现代医学实验<sup>[3-4]</sup>也已经证明了通过高温炭化的方法能赋予许多中药抗炎镇痛的效果。但是, 高温炭化后的药效物质基础并没有一个标准化的研究。

碳点作为一种新兴的纳米材料, 是直径通常为 1~10 nm 类球型纳米颗粒。与传统的半导体量子点相比, 碳点具有高水溶性、易功能化、耐光漂白、低毒、性能优良等优点<sup>[5-7]</sup>。它们广泛应用于生物医学领域, 如药物递送<sup>[8]</sup>、生物成像<sup>[9]</sup>、癌症治疗<sup>[10]</sup>。特别是纳米药物在疾病治疗中的应用吸引了相当多的关注, 显示出巨大的临床应用潜力。近年来, 众多学者也已经对碳点的合成、性质及其应用进行了广泛的研究<sup>[11]</sup>。然而, 碳点的内在生物活性和潜在药理作用尚未引起人们足够的重视, 这一科学领域的研究也是十分必要的。

本研究中, 以机油为分散剂高温热解人发后发现并分离出了碳点, 利用低分辨透射电镜 (TEM) 与高分辨透射电镜 (HR-TEM) 获取其形态大小、粒径分布及晶格间距等特征; 利用紫外光谱 (UV-Vis) 与荧光光谱 (FL) 等光学方法来分析该量子点的光学特征; 利用红外光谱 (FTIR) 来解析该碳点的表面化学基团信息; 利用 X 射线光电子能谱 (XPS) 分析获得碳量子点所含元素和原子连接方式。利用这些方法充分表征了新型纳米碳点, 并最终确定以机油为分散剂高温热解人发后存在碳量子

点, 将其命名为 JYRF-CDs。利用 CCK-8 细胞毒性实验来探索 JYRF-CDs 的安全性, 并利用小鼠耳肿胀模型和小鼠醋酸扭体模型评价其生物效应。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

PXR-9 马弗炉, 北京中科澳博科技股份有限公司; TecnaiG220 透射电子显微镜, 美国 FEI 公司; JEN-1230 高分辨透射电子显微镜, 日本 Electron Optics Laboratory Co., Ltd.; CECIL 紫外分光光度计, 英国 Cambridge 公司; F-4500 荧光分光光度计, 日本 Hitachi 公司; Escalab 250Xi X 射线光电子能谱分析仪, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; D8-Advanced X 射线衍射仪, 德国 Bruker AXS 公司。

### 1.2 药品和试剂

机油购买于北京中科旭龙润滑油技术有限公司; 阿司匹林肠溶片, 规格 100 mg/片, 批号 J20130078, 购于东北制药集团沈阳第一制药有限公司; 人发购于北京中医药大学理发店; 二甲苯购于北京虹湖联合化工产品有限公司; 相对分子质量 1000 透析膜购于北京瑞达恒辉科技发展有限公司; 戊巴比妥钠, 规格 50 mg/片, 批号 P3761, 购于美国 Sigma 公司; 乙醇和其他分析级化学试剂均购于北京化学试剂公司。所有实验用水均为去离子水。

### 1.3 动物

本实验所有小鼠购于北京金牧阳实验动物养殖有限责任公司, 质量合格证编号为 1103221911017504。SPF 级雄性昆明小鼠 40 只, 体重 (30.0±2.0) g。实验环境为北京中医药大学西校区动物房屏障系统, 保持室温 (24.0±1.0) °C, 相对湿度 55%~65%, 12 h 明暗交替, 通风良好, 饲养期间内自由进水、进食, 实验前 12 h 小鼠禁食不禁水。

## 2 方法

### 2.1 JYRF-CDs 的制备

首先将 50 g 机油与 6.5 g 洗净人发放入坩埚中, 铝箔纸密封并加盖于马弗炉中烧制。马弗炉程序升温: 第一阶段 5 min 升温至 70 °C, 保持 30 min;

第二阶段 25 min 升温至 350 °C, 保持 1 h。在冷却到室温后用 1 000 mL 去离子水对炭化产物进行萃取, 重复 3 次。用滤纸粗过滤残渣, 再使用 0.22 μm 的微孔滤膜过滤残渣, 合并 3 次滤液, 浓缩滤液。将浓缩液透析 7 d, 所用透析膜相对分子质量 1 000, 透析液为去离子水。将获取的 JYRF-CDs 于 4 °C 保存, 留置待用。

## 2.2 JYRF-CDs 的表征

利用 TEM 观察 JYRF-CDs 的形貌、粒径分布和微观结构特征; 利用 HR-TEM 观察其晶格间距等内部结构详细特征。利用紫外分光光度计和荧光分光光度计分析 JYRF-CDs 的光学特征和结构特征; 利用红外分光光度计分析 JYRF-CDs 表面的官能团信息。利用 X 射线光电子能谱分析仪分析 JYRF-CDs 中所含有元素及其可能连接方式。利用 X 射线衍射仪 (XRD) 分析并获取 JYRF-CDs 的晶格间距信息。

## 2.3 荧光量子产率 (fluorescence quantum yield, FQY)

荧光物质经过吸光后发射荧光的光子数与其所吸收的激发光光子数的比值即为 FQY<sup>[12]</sup>。本实验中测定的结果为 JYRF-CDs 的相对 FQY, 参比物质选择硫酸奎宁<sup>[13]</sup>。荧光光谱扫描时激发波长 ( $\lambda_x$ ) 与发射波长 ( $\lambda_m$ ) 的狭缝宽度皆为 10 nm。根据以下公式  $FQY_{CDs} = FQY_R I_{CDs} A_R \eta_{CDs}^2 / (I_R A_{CDs} \eta_R^2)$  对 JYRF-CDs 的 FQY 进行计算, 公式中 “I” 为发射光谱下的峰面积, “A” 为 365 nm 时的吸收值, “ $\eta$ ” 为溶剂的折射率, 下标 “CDs” 和 “R” 代表 JYRF-CDs 和标准品。为了使重吸收效应最小化,  $A_R$  和  $A_{CDs}$  应该保证在 0.05 以下。

## 2.4 细胞毒性测定

安全性是临床应用首先要考虑的因素之一, 由于药物毒性多与诱发机体炎症、氧化应激等相关, 机体中的巨噬细胞在免疫炎症反应的各种过程皆发挥着重要作用, 是目前评判药物毒性常用的细胞株之一<sup>[14-15]</sup>。本实验将利用小鼠单核巨噬细胞 (RAW264.7) 进行 CCK-8 细胞毒性试验, 评价 JYRF-CDs 的细胞毒性。将培养良好的 RAW264.7 细胞悬液稀释至  $1 \times 10^5$  细胞/mL, 置于 96 孔板上。四周加入磷酸盐缓冲液 (PBS), 置于 CO<sub>2</sub> 培养箱 (37 °C、5% CO<sub>2</sub>) 中孵育 24 h, 弃去 96 孔板中的上清液。对照组中加入 DMEM, 给药组分别加入配制的不同质量浓度的 JYRF-CDs 溶液 (1 000、500、250、125、

62.5 μg/mL), 每孔 100 μL, 置于 CO<sub>2</sub> 培养箱中孵育 24 h。加入 CCK-8 试剂 (10 μL/孔) 再放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 3 h 后取出。使用酶标仪读取吸光度 (A) 值, 检测波长为 450 nm。所得数据按公式计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = (A_c - A_b) / (A_c - A_b)$$

$A_c$ 、 $A_b$ 、 $A_0$  分别表示给药组、对照组、空白组在 450 nm 处的 A 值

JYRF-CDs 倍比稀释液的配制: 以 DMEM 作为溶剂加入到 JYRF-CDs 粉末中, 于涡旋混合器上震荡使粉末完全溶解, 最终配制成 1 mg/mL 的 JYRF-CDs 溶液, 将该溶液用 0.22 μm 的微孔滤膜滤过后作为母液。以 DMEM 为溶剂将母液以 2 倍浓度倍比稀释得到 6 个质量浓度的溶液, 备用。

## 2.5 动物实验

### 2.5.1 药品配制

(1) 样品的制备: JYRF-CDs 溶液精密称取 JYRF-CDs 粉末, 加入去离子水制备成质量浓度为 240 mg/mL 的 JYRF-CDs 溶液, 备用。

(2) 阳性药的配制: 取阿司匹林肠溶片粉末 72 mg, 加入 6 mL 去离子水, 震荡摇匀, 使其完全溶解, 制得质量浓度为 12 mg/mL 的阳性药溶液, 避光保存, 备用。

(3) 麻醉剂: 精密称量 4.0 g 水合氯醛粉末, 倒入磨口具塞三角瓶中, 加入 100 mL 去离子水配制成 4% 的水合氯醛溶液, 震荡使完全溶解, 备用。

2.5.2 小鼠耳肿胀实验<sup>[16]</sup> 本实验分组分别为对照组、阳性药 (阿司匹林肠溶片) 组及 JYRF-CDs 高、中、低剂量给药组, 共 5 组。昆明雄性小鼠, 体质量 ( $30.0 \pm 2.0$ ) g, 共 40 只, 每组 8 只, 通过 ig 给药方式进行实验。阳性药给药剂量为 200 mg/kg; 给药组的高、中、低剂量分别为 120、60、30 mg/kg。对照组给予生理盐水溶液 20 mL/kg。连续给药 3 d, 第 3 天给药 2 h 后, 在小鼠右耳上涂抹二甲苯, 剂量为 20 μL。涂抹二甲苯 40 min 后, 用打孔器在左右耳同一位置剪取一部分, 分别称取质量, 并统计得到结果, 肿胀度为右耳和左耳的质量差。耳肿胀率计算公式为耳肿胀率 = (左耳部分质量 - 右耳部分质量) / 右耳部分质量。

2.5.3 小鼠醋酸扭体实验<sup>[17]</sup> 本实验分组分别为对照组、阳性药 (阿司匹林肠溶片) 组及 JYRF-CDs 高、中、低剂量给药组, 共 5 组。昆明雄性小鼠 SPF 级, 体质 ( $30.0 \pm 2.0$ ) g, 共 40 只, 每组 8 只, 通

过 ig 给药方式进行实验。阳性药给药剂量为 200 mg/kg; 给药组(已配好)的高、中、低剂量分别为 120、60、30 mg/kg; 上述 5 组分别给药 0.5 mL。对照组给予生理盐水溶液 20 mL/kg。连续给药 3 d, 第 3 天给药 2 h 后, 小鼠 ip 0.7% 冰醋酸, 剂量为 0.01 mL/g, 给完冰醋酸后立即计时 15 min, 通过观察小鼠 15 min 内扭体次数, 记录数据, 并分析得到结果。

## 2.6 统计方法

采用 SPSS 25.0 统计软件, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 统计学处理采用方差分析。单因素 ANOVA 分析方法用于实验数据服从正态分布, 同时方差齐。组间差异则运用 LSD 方法统计。

## 3 结果

### 3.1 JYRF-CDs 制备和表征结果

JYRF-CDs 溶液通过高温炭化、萃取分离、过滤、浓缩、透析等一系列步骤制备完成。

利用透射电镜观察 JYRF-CDs 的形态大小和微观结构, TEM 观察结果(图 1-a)表明机油与人发炭化产物中的纳米类成分粒径分布(图 1-b)在 1.8~3.6 nm, 分布均一, 主要集中在 2.5 nm 左右; 图中可以看出纳米类成分分布符合正态分布特征, JYRF-CDs 的粒径具有良好均一性。HR-TEM 结果见图 1-d, JYRF-CDs 粒径形状为类球形结构, 晶格大小分布清晰可见, 晶格间距为 0.219 7 nm。利用

X 射线衍射仪分析 JYRF-CDs 内部原子在空间分布的状态。JYRF-CDs 的 XRD 谱图(图 1-c)显示 JYRF-CDs 的衍射角度  $2\theta=21.665^\circ$ , 可以观察出衍射峰, 据此可推测出 JYRF-CDs 是由高度无定形的碳结构所构成的<sup>[18]</sup>。经文献查阅, 其对应的晶格间距约为 0.2156 nm, 与 HR-TEM 的测试结果基本吻合。

JYRF-CDs 的紫外光谱图(图 1-e)表明该量子点在 260 nm 左右有极其微弱的吸收峰, 这可能是由于 C=O 双键引起的  $n-\pi^*$  跃迁所导致。从 JYRF-CDs 的荧光光谱图(图 1-f)中可以看出, 该量子点的最大激发波长在 365 nm 左右, 最大发射波长在 441 nm 左右。以硫酸奎宁作为参照物, 计算出 JYRF-CDs 的量子产率为 4.15%。JYRF-CDs 的红外光谱(图 1-g)显示吸收峰为 3 423、2 920、2 831、1 635、1 384、1 033、599  $\text{cm}^{-1}$ , 其中 3 423  $\text{cm}^{-1}$  出峰提示-O-H 键的存在, 2 920、2 831  $\text{cm}^{-1}$  可能含有-C-H 键, 1 635  $\text{cm}^{-1}$  的吸收峰提示可能含有-C=O 键, 1 384  $\text{cm}^{-1}$  的强吸收反映出-C-N 键, 1 033  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰提示可能含有-C-O-C-键。可以得出 JYRF-CDs 表面含有羟基、羰基和氨基等官能团。

利用 X 射线光电子能谱来进一步研究 JYRF-CDs 的元素组成及其配位情况。如图 2-a 所示,

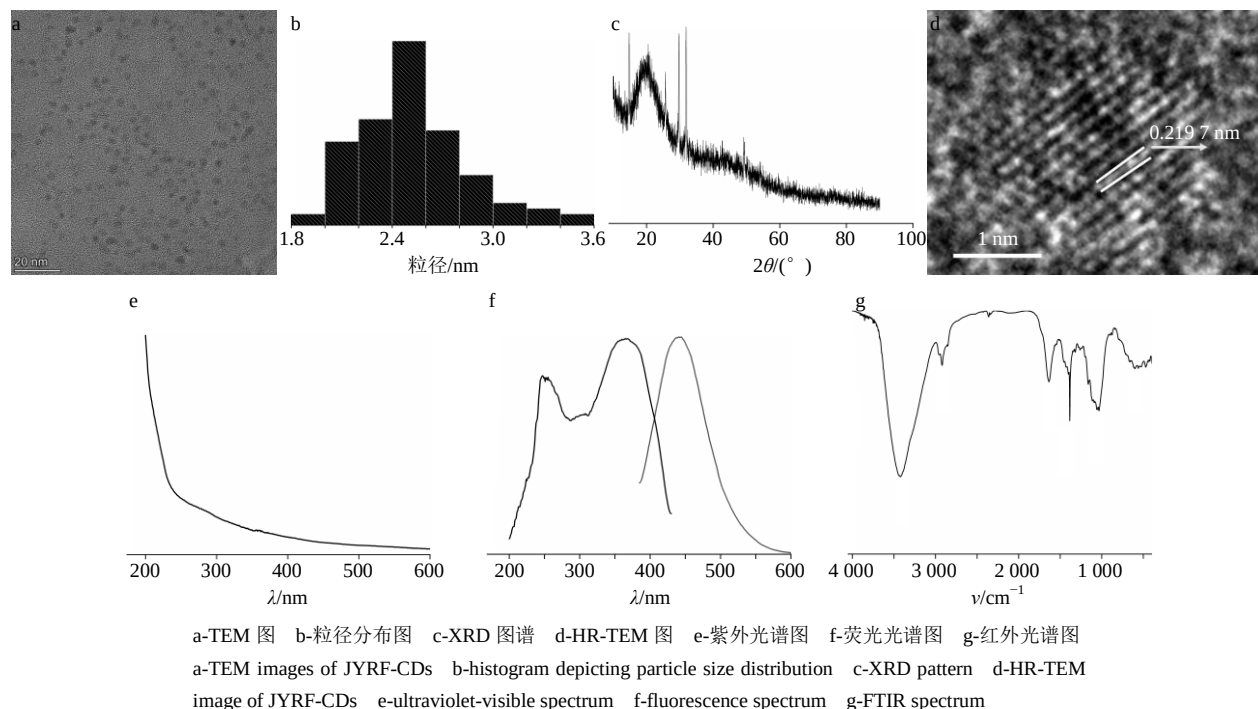


图 1 JYRF-CDs 的表征组图

Fig. 1 Characterization of JYRF-CDs

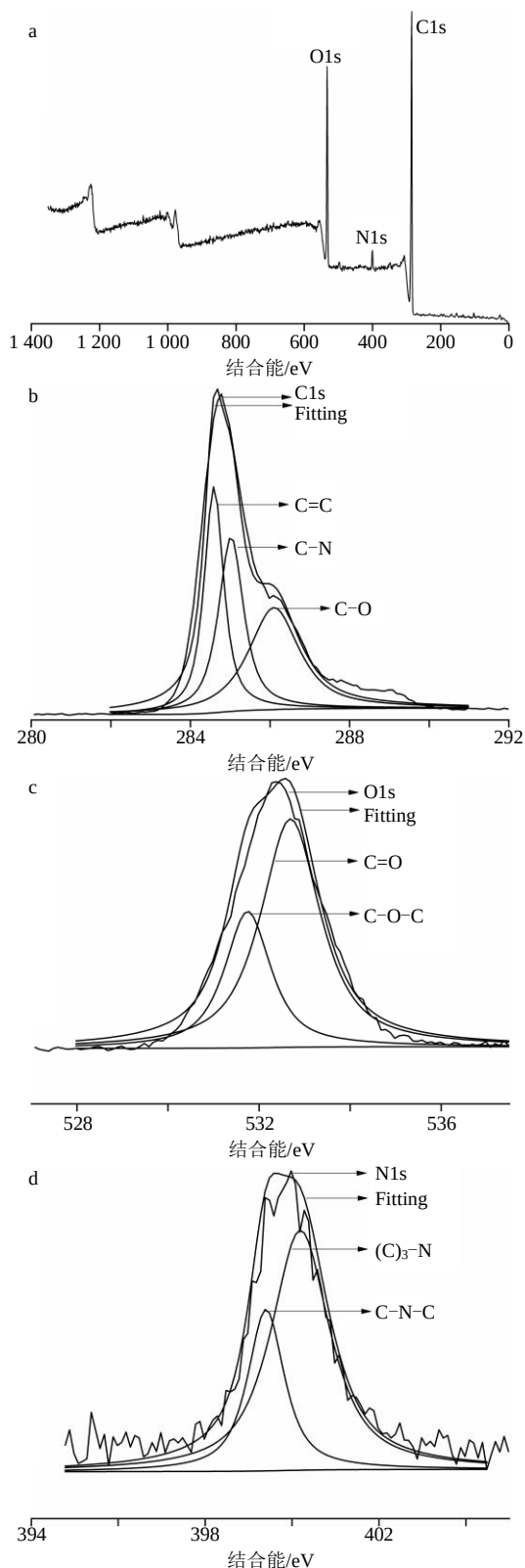


图 2 利用 X 射线光电子能谱分析技术 (XPS) 对 JYRF-CDs 的表面基团和元素组成信息进行分析

Fig. 2 Surface composition and elemental analysis of JYRF-CDs by XPS

284.78、399.85、532.40 eV 处有明显的峰, 表明该量子点主要由 C (78.9%)、O (16.4%) 以及少量的 N (4.7%) 元素组成。C1s 谱带 (图 2-b) 显示 284.59、285.02、286.1 eV 3 个峰, 与之对应为 C=C、C-N、C-O。O1s 谱带 (图 2-c) 显示 531.75、532.69 eV 2 个峰, 与之对应为 C-O-C、C=O。N1s 谱带 (图 2-d) 显示 399.40、400.19 eV 2 个峰, 与之对应为 C-N-C、(C)<sub>3</sub>-N<sup>[19-20]</sup>。

### 3.2 细胞毒性实验结果

碳点的安全性一直是其生物应用中的一个重要问题。为了对 JYRF-CDs 的毒性进行研究进而探索其安全性, 本实验利用 CCK-8 实验来检测 JYRF-CDs 对 RAW264.7 的细胞毒性。如图 3 所示, 给药质量浓度从 62.5~1 000 μg/mL, 在给药质量浓度高于 500 μg/mL 时对细胞有一定的毒性作用, 给药质量浓度低于 500 μg/mL 时对细胞没有明显的毒性, 甚至在给药质量浓度为 62.5 μg/mL 时具有一定的促进增殖的作用。根据以上实验结果, 可以看出 JYRF-CDs 的毒性很低, 其安全范围为 500 μg/mL。

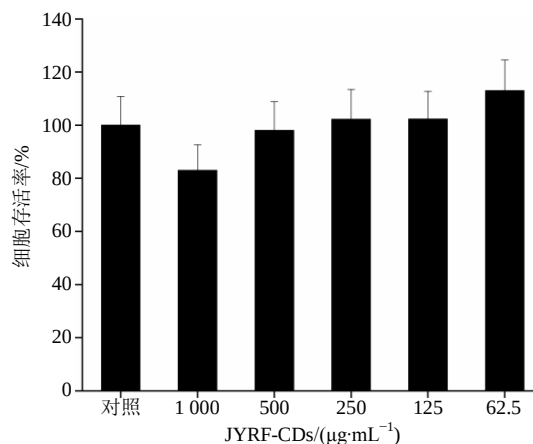
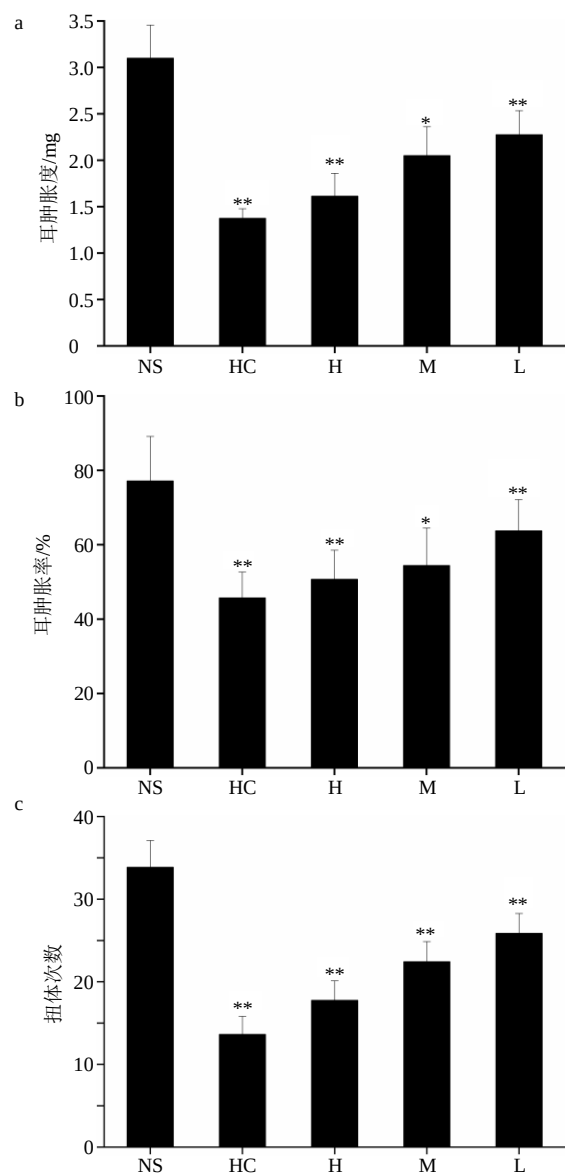


图 3 不同质量浓度的 JYRF-CDs 对 RAW264.7 细胞活力的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 3 Effect of different concentrations of JYRF-CDs on viability of RAW264.7 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

### 3.3 药理实验结果

小鼠耳肿胀实验中通过检测耳肿胀度和耳肿胀率来反映抗炎效果, 阳性药 (阿司匹林肠溶片) 和 JYRF-CDs 高剂量组均可显著抑制二甲苯致小鼠耳肿胀的炎症。从图 4-a 中可以看出, 与对照组比较, 阳性药组、高剂量组对耳肿胀具有显著抑制作用, 中剂量组和低剂量组也具有一定的疗效, 并且差异具有统计学意义 ( $P < 0.05, 0.01$ )。从耳肿胀率上 (图 4-b) 分析, 与对照组比较, 阳性药组、高剂量



a-耳肿胀度 ( $n=8$ ) b-耳肿胀率 ( $n=8$ ) c-扭体次数 NS-对照组 HC-阳性药组 H-JYRF-CDs 高剂量组 M-JYRF-CDs 中剂量组 L-JYRF-CDs 低剂量组 与对照组比较: \* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$   
a-ear swelling degree ( $n=8$ ) b-ear swelling rate ( $n=8$ ) c-twist frequency NS-saline group HC-positive drug group H-JYRF-CDs high-dose group M-JYRF-CDs middle-dose group L-JYRF-CDs low-dose group \* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$  vs control group

图4 小鼠耳肿胀实验和醋酸扭体实验结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

Fig. 4 Results of ear swelling experiment and acetate writhing experiment in mice ( $\bar{x} \pm s$ )

组、中剂量组具有显著抑制疗效,低剂量组也具有一定的疗效,并且差异具有统计学意义 ( $P<0.05$ 、 $0.01$ );小鼠醋酸扭体实验中通过检测扭体次数来反映镇痛效果,阳性药和 JYRF-CDs 高剂量组均可显著减少小鼠的扭体次数。与对照组比较,阳性药组、高剂量组可显著减少小鼠的扭体次数,中剂量组和

低剂量组也一定程度上能够减少小鼠的扭体次数,并且差异具有统计学意义 ( $P<0.01$ )。这些实验结果表明, JYRF-CDs 溶液抑制二甲苯导致小鼠耳肿胀程度,减少小鼠醋酸扭体次数,表现出良好的抗炎镇痛作用,该量子点发挥抗炎镇痛作用的机制也是后期将要重点研究的一个方向。

#### 4 讨论

碳点不含任何重金属,在环保生物应用方面比传统材料更安全<sup>[21]</sup>。目前,碳点内在的生物活性正逐渐受到人们的关注。Liu 等<sup>[22]</sup>利用水热炭化法从甲硝唑中制备出碳点,并发现这些碳点对 *Porphyromonas gingivalis* 具有潜在的选择性抗菌活性。Shi 等<sup>[23]</sup>使用蜡烛烟灰作为碳源制备出碳点并论证其类似过氧化物的活性。虽然碳点的生物活性已经引起了人们的关注,探索新的碳源和具有令人满意的生物活性的碳点仍然具有挑战性。以机油为分散剂高温热解人发制备出的碳点的生物活性研究甚少,这是目前值得研究的优良资源区域。本团队已成功利用荆芥炭<sup>[24]</sup>、蒲黄炭<sup>[25]</sup>和荷叶炭<sup>[26]</sup>等炭药制备出碳点,并证明了这些碳点具有良好的止血效果,并分析了其发挥止血作用的机制。基于这些研究成果,本实验从纳米材料学的角度去分析人发和机油的炭化物发挥生物效应的物质基础。

本实验通过一系列成熟的制备工艺来获取该炭化物纯化后的透析液,经 TEM、HR-TEM、FTIR、UV-Vis、FL 等仪器鉴定并命名为 JYRF-CDs,对其结构进行初步分析,并利用 CCK-8 细胞毒性实验证明了 JYRF-CDs 具有低毒性。二甲苯导致小鼠耳肿胀模型和醋酸导致小鼠扭体模型是常用的抗炎镇痛模型,通过动物模型证明了 JYRF-CDs 在小鼠耳肿胀实验和小鼠醋酸扭体实验中具有很好的抗炎镇痛效果。抗炎镇痛类药物,如阿司匹林与布洛芬等药物,作用于外周而非中枢,其对作用部位更具有选择性,对中枢的副作用较小,毒性较低,对各类炎症性疼痛皆可产生较好的效果,但长期服用会导致胃肠道的损伤<sup>[27]</sup>。这些抗炎镇痛药临床运用非常多,但也应该正视它们的毒副作用。因此,研究一种安全、毒副作用小的抗炎镇痛药物是十分有必要的。本研究首次证明了 JYRF-CDs 的抗炎镇痛活性,这使得 JYRF-CDs 成为一种抗炎镇痛药物成为可能。与蛋白质相比, JYRF-CDs 更稳定,更适合长期保存,因此在某些极端和恶劣的环境下, JYRF-CDs 有可能成为替代治疗药物。另外,这种

新型的纳米类成分发现也为炭药物质基础研究提供了一种新思路和方法。

#### 参考文献

- [1] 严健民. 五十二病方注补译 [M]. 北京: 中医古籍出版社, 2005.
- [2] 汉·张仲景撰. 何任, 何若萍整理. 金匱要略 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [3] 贝宇飞, 陈钧, 代剑平, 等. 壁钱炭等六种炭药抗炎、镇痛、止血活性的比较研究 [J]. 中成药, 2009, 31(11): 1722-1724.
- [4] 熊威, 赵琰, 成金俊. 绵马贯众炭中新型碳点的发现及其止血作用研究 [J]. 中草药, 2019, 50(6): 1388-1394.
- [5] 徐源, 李春义, 赵海平. 碳点的研究进展及其在鹿茸研究中应用前景分析 [J]. 中草药, 2020, 51(9): 2580-2586.
- [6] Wang K, Gao Z C, Gao G, et al. Systematic safety evaluation on photoluminescent carbon dots [J]. *Nanoscale Res Lett*, 2013, 8(1):122-123.
- [7] Mishra V, Patil A, Thakur S, et al. Carbon dots: Emerging theranostic nanoarchitectures [J]. *Drug Discov Today*, 2018, 23(6): 1219-1232.
- [8] Hettiarachchi S D, Graham R M, Mintz K J, et al. Triple conjugated carbon dots as a nano-drug delivery model for glioblastoma brain tumors [J]. *Nanoscale*, 2019, 11(13): 6192-6205.
- [9] Sri S, Kumar R, Panda A K, et al. Highly biocompatible, fluorescence, and zwitterionic carbon dots as a novel approach for bioimaging applications in cancerous cells [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(44): 37835-37845.
- [10] Zhang F, Zhang M, Zheng X, et al. Berberine-based carbon dots for selective and safe cancer theranostics [J]. *Rsc Advances*, 2018, 8(3): 1168-1173.
- [11] 罗培辉. 碳量子点的化学修饰及功能化研究 [D]. 北京: 清华大学, 2013.
- [12] Williams A T R, Winfield S A, Miller J N. Relative fluorescence quantum yields using a computer controlled luminescence spectrometer [J]. *Analyst*, 1983, 108(1290): 1067-1071.
- [13] Yang L, Jiang W, Qiu L, et al. One pot synthesis of highly luminescent polyethylene glycol anchored carbon dots functionalized with a nuclear localization signal peptide for cell nucleus imaging [J]. *Nanoscale*, 2015, 7(14): 6104-6113.
- [14] Luo J, Zhang M L, Cheng J J, et al. Hemostatic effect of novel carbon dots derived from *Cirsium Setosum* Carbonisata [J]. *Rsc Adv*, 2018, 8(66): 37707-37714.
- [15] Jia P, Yu L, Tao C, et al. Chitosan oligosaccharides protect nucleus pulposus cells from hydrogen peroxide-induced apoptosis in a rat experimental model [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 93(6): 807-815.
- [16] 高长久, 张朝立, 李洁, 等. 大丁草 2 种提取物对二甲苯所致耳肿胀炎症模型小鼠的抗炎作用 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2019, 17(13): 114-116.
- [17] 杨红芹, 张旭强, 董寿堂, 等. 紫茎泽兰对醋酸所致腹痛的镇痛作用研究 [J]. 职业教育: 中旬刊, 2017, 16(4): 42-43.
- [18] Wei J, Zhang X, Sheng Y, et al. Simple one-step synthesis of water-soluble fluorescent carbon dots from waste paper [J]. *New J Chem*, 2014, 38(3): 906-909.
- [19] Saha A K, Sharma P, Sohn H B, et al. Fe doped CdTeS magnetic quantum dots for bioimaging [J]. *J Mater Chem B*, 2013, 1(45): 6312-6320.
- [20] Li Y, Li S, Wang Y M, et al. Electrochemical synthesis of phosphorus-doped graphene quantum dots for free radical scavenging [J]. *Phys Chem*, 2017, 19(18): 11631-11638.
- [21] Tao H, Yang K, Ma Z, et al. In vivo NIR fluorescence imaging, biodistribution, and toxicology of photoluminescent carbon dots produced from carbon nanotubes and graphite [J]. *Small*, 2012, 8(2): 281-290.
- [22] Liu J, Lu S, Tang Q, et al. One-step hydrothermal synthesis of photoluminescent carbon nanodots with selective antibacterial activity against *Porphyromonas gingivalis* [J]. *Nanoscale*, 2017, 9(21): 7135-7142.
- [23] Shi W, Wang Q, Long Y, et al. Carbon nanodots as peroxidase mimetics and their applications to glucose detection [J]. *Chem Commun*, 2011, 47(23): 6695-6697.
- [24] Zhang M, Zhao Y, Cheng J, et al. Novel carbon dots derived from *Schizonepetae Herba Carbonisata* and investigation of their haemostatic efficacy [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2017, 46(8): 1562-1571.
- [25] Yan X, Zhao Y, Luo J, et al. Hemostatic bioactivity of novel *Pollen Typhae Carbonisata*-derived carbon quantum dots [J]. *J Nanobiotechnol*, 2017, 15(1): 60-68.
- [26] 罗娟. 荷叶炭纳米颗粒的发现及其止血作用的研究 [J]. 西北药学杂志, 2019, 34(4): 499-504.
- [27] 王晓明, 许良葵, 罗佳波. 麻黄-桂枝药对抗炎、镇痛作用研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(2): 179-184.