

基于 Mn 掺杂 ZnS 量子点的 室温磷光法检测顺铂

武宇霞, 苗艳明, 杨茂青, 李 艳, 闫桂琴*

(山西师范大学生命学院, 山西 临汾 041000)

摘要:以 3-巯基丙酸(MPA)为稳定剂,利用水相合成法合成具有独特光学性质的 Mn 掺杂 ZnS 量子点(QDs),基于该量子点的室温磷光性质建立了一种高效、灵敏的检测抗癌药物顺铂(cisplatin, DDP)的新方法。该量子点在室温不除氧的条件下即可发射较强的磷光信号。在 pH = 7.4 的磷酸盐缓冲液中,顺铂作为良好的电子受体,能够通过光诱导电子转移(PIET)原理猝灭 Mn 掺杂 ZnS 量子点的室温磷光(RTP)。在最优实验条件下,该方法的线性范围为 2.5 ~ 50 $\mu\text{mol/L}$,相关系数 $R = 0.99$,检出限为 0.85 $\mu\text{mol/L}$ 。

关键词: Mn 掺杂 ZnS 量子点; 室温磷光猝灭; 顺铂

中图分类号: O657.3

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2016)08-0200-04

DOI: 10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2016.08.049

Detection of cisplatin by room temperature phosphorescence method based on Mn-doped ZnS quantum dots

WU Yu-xia, MIAO Yan-ming, YANG Mao-qing, LI Yan, YAN Gui-qin*

(College of Life Science, Shanxi Normal University, Linfen 041000, China)

Abstract: Using 3-mercaptopropionic acid (MPA) as the stabilizer, MPA-capped Mn-doped ZnS QDs are synthesized *via* water phase method. Based on the room temperature phosphorescence properties of quantum dots, a high-performance and high-sensitivity method is established for detection of anti-cancer drugs cisplatin (DDP). A strong room-temperature phosphorescence emission of the Mn-doped ZnS QDs is observed without existence of deoxidants and other inducers. In the phosphate buffer of pH 7.4, the room temperature phosphorescence (RTP) of Mn-doped quantum dots are quenched through photoinduced electron transfer principle with DDP as the good electron acceptor. Under the optimal conditions, this method has a DDP detection limit of 0.85 $\mu\text{mol/L}$ and linear range from 2.5 to 50 $\mu\text{mol/L}$ (correlation coefficient $R = 0.99$).

Key words: Mn-doped ZnS QDs; room-temperature phosphorescence quenching; cisplatin

近年来,量子点作为一种特殊的纳米发光粒子,因其独特的优良特性已被广泛应用于生物传感、分析化学及光学材料等领域^[1-2]。传统荧光量子点在检测时通常会受到自体荧光和基质散射光的干扰,而磷光量子点的寿命较长,因此其在检测时能够有效地避免这些干扰^[3-4]。Mn 掺杂 ZnS 量子点是磷光量子点的典型代表,该量子点由于 Mn^{2+} 的掺杂而具有室温磷光性质,且量子点表面的羧基等功能基团能够赋予其更好的水溶性。加入稳定剂 MPA 后,通过水相合成 Mn 掺杂 ZnS 量子点方法,无需进一步处理就能够得到粒径相对均匀的水溶性量子点^[5]。因此,合成水溶性良好的 Mn 掺杂 ZnS 量子点已成为当前各领域的研究热点。

顺铂(cisplatin, DDP)是目前临床上应用的一种金属铂类抗癌药物,广泛应用于鼻咽癌^[6]、卵巢癌^[7]、肺癌^[8]等各种癌症的治疗。虽然 DDP 对各种癌症的治疗均具有良好的疗效,但是其非特异性能够引起许多毒副作用,进而导致恶心、呕吐等不良反

应^[9],这些因素都限制了其进一步的临床应用。在癌症临床治疗过程中,通过对 DDP 进行剂量控制不仅能够提高该药物的治疗效果,减轻毒性作用,而且还能为临床合理用药提供一定的理论依据。

目前,常用的 DDP 检测方法主要有高效液相色谱法(HPLC)^[10]、电化学方法^[11]、荧光法^[12]及其他分析方法等。虽然这些方法为 DDP 的检测提供了途径,但也存在着各种不足,如 HPLC 法需要低温和预处理过程,电化学方法容易被生物介质干扰,荧光法容易受基质自体荧光和散射光的干扰。因此,基于 MPA 包裹的 Mn 掺杂 ZnS 量子点的室温磷光特性及 DDP 对其磷光的猝灭效应,对抗癌药物 DDP 进行了定量分析检测。

1 实验部分

1.1 实验试剂

乙酸锌 $[\text{Zn}(\text{Ac})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ 、乙酸锰 $[\text{Mn}(\text{Ac})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ 、硫化钠 $(\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O})$,天津市科密欧化学试

收稿日期: 2016-03-25

基金项目: 山西省重点化学优势学科建设项目(912019); 国家教育部博士点联合基金项目(20111404110002)

作者简介: 武宇霞(1990-),女,硕士生,主要从事植物分子生物学及生物分子化学方面的研究,13453491653@163.com; 闫桂琴(1956-),女,博士,教授,主要从事植物分子生物学及生物分子化学等方面的研究,通讯联系人,ggqyan2013@163.com。

剂有限公司生产;3-巯基丙酸(MPA),百灵威科技有限公司生产;氢氧化钠(NaOH),天津市风船化学试剂科技有限公司生产;超纯水(电阻率为 18.2 MΩ·cm),利用 WaterPro 水纯化系统(美国 Labconco 公司)制作;顺铂(cisplatin),通化茂祥制药有限公司生产,所有试剂都是分析纯。

1.2 实验仪器

磷光由 Cary Eclipse 荧光分光光度计(美国,瓦里安有限公司生产)测定,设置为磷光模式,激发和发射的狭缝宽度分别为 10 nm 和 20 nm;共振光散射(RLS)信号在 Cary Eclipse 荧光分光光度计(美国,瓦里安有限公司生产)上测定, ($\Delta\lambda = 0$),扫描波长为 200 ~ 700 nm;紫外/可见吸收光谱(UV/Vis)由 UV-29100 UV/Vis 分光光度计(日本,岛津公司生产)测定;pH 由 pH 计(上海,金鹏分析仪器有限公司生产)测量;XRD 分析采用的是 Bruker-AXS (D8)X 射线衍射仪(德国)。

1.3 实验方法

1.3.1 MPA 包裹的 Mn 掺杂 ZnS 量子点的合成

将 10 mL 0.1 mol/L 的 $Zn(Ac)_2$ 、4 mL 0.01 mol/L 的 $Mn(Ac)_2$ 和 100 mL 0.04 mol/L 的 MPA 的水溶液依次加入到 1 个 250 mL 的三颈瓶中,室温下磁力搅拌,用 1 mol/L 的 NaOH 溶液将混合溶液的 pH 调节至 11,通氩气饱和 30 min,以确保 MPA 与 Zn^{2+} 和 Mn^{2+} 的充分络合。之后用注射器在隔绝空气的条件下将 10 mL 0.1 mol/L 的 Na_2S 加入到混合液中,在室温条件下继续搅拌反应 20 min。将得到的量子点溶液在空气中陈化 2 h,温度控制在 50℃ 左右,即可得到具有室温磷光性质的 MPA 包裹的 Mn 掺杂的 ZnS 量子点。待溶液冷却后加入相同体积的无水乙醇,高速离心后将上清液倾倒,这样重复用乙醇洗涤 3 次,离心收集沉淀。将所得沉淀在真空干燥箱中干燥 24 h,即可得到实验所需的 MPA 包裹的 Mn 掺杂的 ZnS 量子点粉末。

1.3.2 室温磷光(RTP)的测定

取一系列 10 mL 的比色管,在每个比色管中依次加入 500 μ L 浓度为 0.02 mol/L 的磷酸盐缓冲液(PBS)和 100 μ L 质量浓度为 2 mg/mL 的 Mn 掺杂 ZnS 量子点水溶液。接着依次在每个比色管中添加不同体积的浓度为 25×10^{-5} mol/L 的 DDP 溶液,从而制备出一系列不同浓度的样品溶液,用超纯水定容至 5 mL,摇匀并待其反应完全后即可进行室温磷光的检测。荧光分光光度计选取磷光模式,激发波长为 295 nm,检测范围为 500 ~ 700 nm。

1.3.3 实际样品分析

人体血清和尿液来自健康的志愿者,将其稀释 100 倍后即可用于分析检测,样品加标量为 2.0 mol/L 和 3.0 mol/L 的 DDP。样品不需要进一步预处理。

2 结果与讨论

2.1 MPA 包裹的 Mn 掺杂 ZnS 量子点的表征

MPA 包裹的 Mn 掺杂 ZnS 量子点的透射电镜和 X 射线衍射光谱图如图 1 所示。

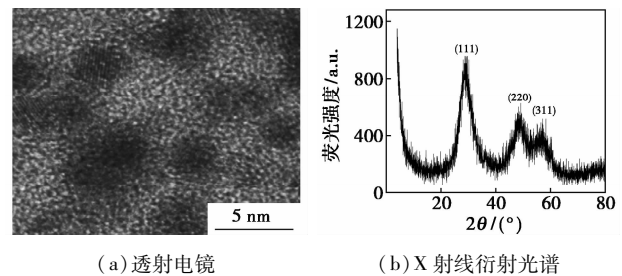
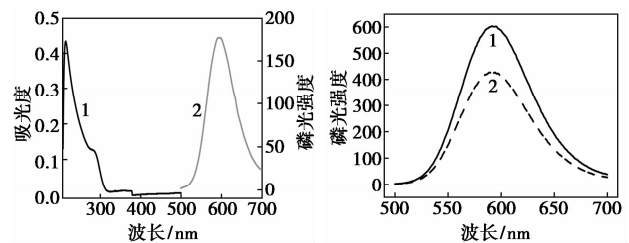


图 1 Mn 掺杂的 ZnS 量子点的透射电镜和 X 射线衍射光谱

由图 1(a)可知,所合成的量子点分布均匀且接近球形,粒径约为 3.5 nm。由图 1(b)可知,该量子点的 3 个衍射峰分别对应于立方型闪锌矿结构的(111)、(220)和(311)3 个晶面的衍射,说明所制备的量子点为立方型结构,晶化程度较好。

2.2 MPA 包裹的 Mn 掺杂 ZnS 量子点的光谱性质

MPA 包裹的 Mn 掺杂的 ZnS 量子点的紫外吸收光谱和磷光光谱及 Mn 掺杂 ZnS 量子点在与 DDP 作用前后的磷光光谱图如图 2 所示。



1—紫外吸收光谱;2—磷光光谱
(a) MPA 包裹的 Mn 掺杂的 ZnS 量子点的紫外吸收光谱和磷光光谱
1—作用前;2—作用后
(b) Mn 掺杂 ZnS 量子点在与 DDP 作用前后的磷光光谱图

图 2 MPA 包裹的 Mn 掺杂 ZnS 量子点的光谱性质

由图 2(a)可知,该量子点在波长为 200 ~ 300 nm 的范围内显示 1 条宽的紫外吸收光谱,且最大值分别在 208 nm 和 289 nm 处。由图 2(a)的谱

线 2 可知,该量子点的最大发射峰在 590 nm 处,是 Mn^{2+} 从三重态 (4T_1) 跃迁到基态 (6A_1) 而产生的特征发射带。由于传统的量子点不具有室温磷光性质,只有 Mn 掺杂 ZnS 量子点才具有 RTP 性质,因此在该量子点的磷光光谱中,只有在 590 nm 处才出现峰值。由图 2(b)可知,当加入 DDP 后,DDP 与量子点发生相互作用,只对其发光强度有影响,并不会改变量子点的发射波长,因此峰形几乎不变。

2.3 MPA 包裹的 Mn 掺杂 ZnS 量子点的发光机理图

Mn 掺杂 ZnS 量子点的发光机理如图 3 所示。

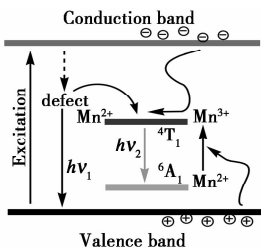


图 3 MPA 包裹的 Mn 掺杂的 ZnS 量子点的发光示意图

由图 3 可知,该量子点的发光形式有 2 种:一种是源于量子点表面缺陷而以荧光形式发生的辐射 ($h\nu_1$);另一种则是源于 Mn^{2+} 从 4T_1 跃迁到 6A_1 而产生的磷光 ($h\nu_2$)。当能量从 ZnS 的带隙转移到掺杂物 Mn^{2+} 后,就会从三重态 (4T_1) 过渡到 Mn^{2+} 的基态 (6A_1),并纳入 ZnS 的主晶格中,发出 1 条最大发射峰在 590 nm 处的特征发射带。

2.4 实验条件的优化

由于 MPA 包裹的 Mn 掺杂 ZnS 量子点的稳定性与溶液的 pH 及反应时间相关,因此分别对这些因素进行了优化,结果如图 4、图 5 所示。

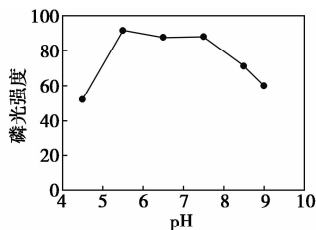


图 4 pH 对 MPA 包裹的 Mn 掺杂 ZnS 量子点磷光强度的影响

由图 4 可知,当 pH 在 6.5 ~ 7.5 范围内时,该量子点的磷光强度相对稳定,鉴于生理体系的酸碱度,选择最佳 pH 为 7.4。反应时间对该量子点的磷光强度的影响如图 5 所示。由图 5 可知,当时间在

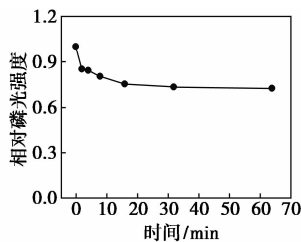
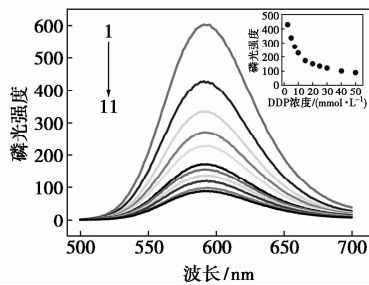


图 5 时间对 MPA 包裹的 Mn 掺杂 ZnS 量子点磷光强度的影响

0 ~ 20 min 时,该量子点的室温磷光强度微弱降低,20 min 后曲线逐渐趋于平缓。因此,需将量子点在 37℃ 恒温预热 20 min 后再进行测量,并在 30 min 内完成。

2.5 MPA 包裹的 Mn 掺杂 ZnS 量子点对 DDP 的检测

量子点的 RTP 强度随着 DDP 浓度变化的磷光光谱如图 6 所示。



1—0 $\mu\text{mol/L}$; 2—2.5 $\mu\text{mol/L}$; 3—5 $\mu\text{mol/L}$; 4—7.5 $\mu\text{mol/L}$; 5—10 $\mu\text{mol/L}$; 6—15 $\mu\text{mol/L}$; 7—20 $\mu\text{mol/L}$; 8—25 $\mu\text{mol/L}$; 9—30 $\mu\text{mol/L}$; 10—40 $\mu\text{mol/L}$; 11—50 $\mu\text{mol/L}$

图 6 DDP 浓度对 MPA 包裹的 Mn 掺杂 ZnS 量子点磷光强度的影响

由图 6 可知,在一定范围内,随着 DDP 浓度的增加,量子点的磷光光谱的形状及最大发射峰的位置虽未发生变化,但其磷光强度却呈现有规律的猝灭。因此,利用 DDP 对 MPA 包裹的 Mn 掺杂 ZnS 量子点的室温磷光猝灭效应可以实现对 DDP 的定量检测。

2.6 工作曲线

在最优实验条件下,Mn 掺杂 ZnS 量子点的相对磷光强度 (P_0/P) 与 DDP 的浓度在一定范围内呈线性关系,如图 7 所示。

标准曲线方程为 $P_0/P = 0.1157C_{\text{cisplatin}} + 1.4044$ ($R = 0.99$),线性范围为 2.5 ~ 50 $\mu\text{mol/L}$,检出限为 0.85 $\mu\text{mol/L}$ 。该室温磷光法与传统的检测方法相比不需要脱氧剂或其他诱导物,因此该方法不需要复杂的预处理过程就可以检测到生物体液中 DDP

的浓度。

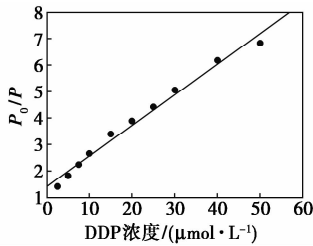


图7 P_0/P 随 DDP 浓度变化的标准曲线

2.7 机理探讨

量子点磷光对其自身的表面结构状态比较敏感,当量子点与其他物质发生作用时,可通过电子转移过程(PIET)使量子点的表面态能级发生变化,即量子点的电子与空穴的有效再结合发生变化,进而改变整个系统的发光情况^[13]。示意图如图8所示。MPA包裹的 Mn 掺杂 ZnS 量子点溶于水后,由于 MPA 中的羧基发生电离而使量子点带负电荷,而 DDP 溶于水后,2 个氯原子被解离下来形成阳离子形式,因此,他们之间可发生正负电荷的静电相互作用。量子点表面有许多缺陷,被认为是有效的非辐射中心。当 DDP 与量子点发生强烈的相互作用后,改变了量子点的能级状态,进而增加了量子点周围的极性。

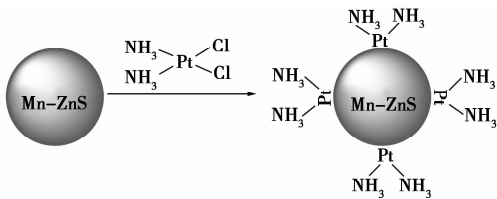
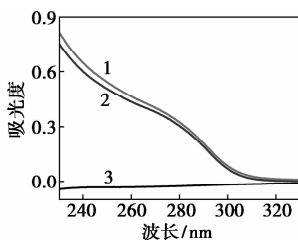


图8 MPA 包裹的 Mn 掺杂 ZnS 量子点与 DDP 相互作用示意图

DDP 作为一种电子受体,从量子点到 DDP 极快的电子转移过程阻碍了量子点的非辐射电子/空穴正常重组,导致其电子与空穴有效再结合发生变化,使量子点室温磷光降低。DDP、Mn 掺杂 ZnS 量子点



1—Mn:ZnS QDs;2—Mn:ZnS QDs + cisplatin;3—cisplatin

图9 DDP、Mn 掺杂 ZnS 量子点及其相互作用的紫外-可见吸收光谱

及其相互作用的紫外-可见吸收光谱如图9所示。由图9可知,量子点的紫外吸收峰在加入 DDP 后没有发生明显的变化,只产生了微弱的减色效应。结果表明,当向量子点中加入 DDP 后,磷光猝灭过程中没有发生量子点共轭或粒径的变化。这些结果进一步证明了量子点和 DDP 间相互作用的机理是电子转移机制。

2.8 外来物质的干扰

在最佳实验条件下,考察共存物质对 DDP 浓度测定的影响。实验结果表明,当 DDP 浓度为 $30 \mu\text{mol/L}$ 时,300 倍的 K^+ 、300 倍的 Na^+ 、200 倍的 Ca^{2+} 、200 倍的 Mg^{2+} 、100 倍的 NO_3^- 、100 倍的 Cl^- 、100 倍的 NH_4^+ 、50 倍的葡萄糖、50 倍的甲硫氨酸等几乎对 DDP 的检测没有影响。因此,该室温磷光法的高效性使得他能够直接应用于 DDP 的检测而不需要其他任何分离过程。

2.9 实际样品的测定

为了验证 MPA 包裹的 Mn 掺杂 ZnS 量子点是否能够用于实际 DDP 浓度的检测,分别在血清和尿液样本中进行实际样品的检测。在优化条件下,将样本稀释 100 倍,加标测定该样品中 DDP 的浓度,结果如表1所示。由表1可以知,在实际样品中,DDP 的平均回收率为 98.7% ~ 102.3%。这些数据均表明该量子点的室温磷光法具有较高的准确性和潜在的适应性。

表1 血清和尿液中 DDP 的检测

样品	DDP 加标量/($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	回收率/%
尿样	2.0	98.7
	3.0	101.6
血清	2.0	99.8
	3.0	102.3

3 结论

以 MPA 为稳定剂合成了水溶性良好的 Mn 掺杂 ZnS 量子点,并基于 DDP 对量子点室温磷光的猝灭效应建立了一种高效、灵敏的检测 DDP 的新方法。DDP 加入量子点后,能够通过静电相互作用与量子点结合,改变量子点的能级状态,并通过电子转移过程阻碍量子点的非辐射电子/空穴正常重组,从而使其磷光猝灭。在最优实验条件下,该方法的线性范围为 $2.5 \sim 50 \mu\text{mol/L}$,相关系数为 $R = 0.99$,检出限为 $0.85 \mu\text{mol/L}$ 。该方法可以有效避免基体自发荧光和基质散射光等背景信号的干扰。

(下转第 205 页)

(2)在试件顶端下面 13 mm 处钻一直径 5 mm 的孔或螺纹孔,供螺钉连接导线。

(3)在试件顶端下面 20 mm 处钻一贯通管子两壁的直径 6 mm 的孔,其轴线垂直于连接线孔。用一直径约为 5 mm 的木定位销钉穿过销钉孔,把试件支撑在试验容器盖板上(见图 1)。

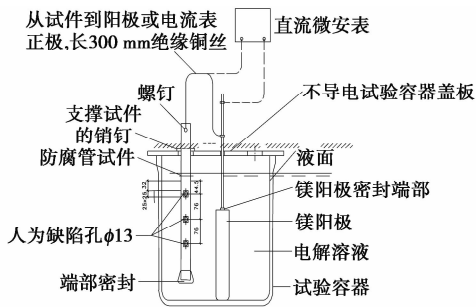


图 1 防腐层补伤材料试验装置

(4)在防腐层上制作人为缺陷孔,孔径 13 mm,并露出金属表面。1 个试件制备 3 个人为缺陷孔,并使其位于一条垂线上,钻孔位置见图 1。

(5)补伤片为 25 mm × 25 mm 的正方形。为使补伤片能均匀、对称地盖住人为缺陷孔的四周,在损伤处轻微划线,以保证补伤片与原防腐层的最小搭接宽度为 6 mm(人为缺陷孔周边到补伤片各边长中点的距离)。划线时注意使每一补伤片的上、下两边处于水平位置。

(6)试件底端采用石蜡堵塞密封,密封好的试件如图 2 所示。试件应在室温下至少进行 12 h 的状态调节,然后浸在电解质溶液中,测试端部漏失电

流,其数值应限制在 1 μ A 以内。

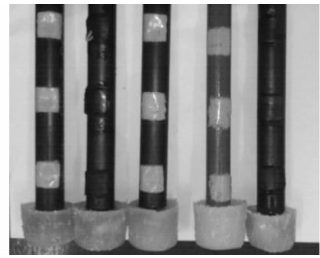


图 2 制作完成的防腐管试件

2.2 实验装置

镁阳极与试件的连接方式见图 3,试件补伤面应朝外。当所有试件都悬挂在容器中后,把室温下的电解质溶液倒入容器,直到高出最上边一个补伤片 32 mm 为止。在该液位做出标记。整个试验期间,通过添加蒸馏水维持这个液位。

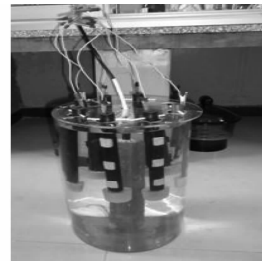


图 3 防腐层补伤材料试验照片

2.3 数据测试

密封性能检测测试的数据包括电流最小的试件与电解质溶液之间的电位(相对于饱和铜/硫酸铜参比电极),电解质溶液的 pH、温度、电阻率和补伤片电流(微安值)。

(上接第 203 页)

参考文献

- [1] Michalet X, Pinaud F F, Bentolila L A, et al. Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics [J]. Science, 2005, 307 (5709): 538 - 544.
- [2] Pathak S, Davidson M C, Silva G A. Frontiers/Characterization of the functional binding properties of antibody conjugated quantum dots [J]. Nano Letters, 2007, 7 (7): 1839 - 1845.
- [3] 陈娟, 孙洁芳, 郭磊, 等. 锰掺杂硫化镉量子点室温磷光检测铅离子 [J]. 分析化学, 2012, 40 (11): 1680 - 1685.
- [4] 杜保安, 刘澄, 曹雨虹, 等. ZnS:Mn 量子点作磷光探针定量检测微量汞 [J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34 (4): 1070 - 1074.
- [5] 任呼博, 杨成雄, 严秀平. 微波-超声波辅助合成聚乙烯胺包裹 Mn 掺杂 ZnS 量子点用于室温磷光检测三磷酸鸟苷 [J]. 分析测试学报, 2012, 31 (9): 1042 - 1050.
- [6] 崔建东, 徐子海, 张羽, 等. 奈达铂或顺铂联合氟尿嘧啶诱导化疗加同步放疗治疗局部晚期鼻咽癌近期疗效的对比研究 [J]. 重庆医学, 2013, 42 (12): 1342 - 1344.

- [7] Young R C, Von Hoff D D, Gormley P, et al. cis-Dichlorodiammine-platinum (II) for the treatment of advanced ovarian cancer [J]. Cancer Treatment Reports, 1979, 63 (9/10): 1539 - 1544.
- [8] 张冠中, 焦顺昌, 杨纪华. 培美曲塞单药或联合铂类治疗非小细胞肺癌 86 例分析 [J]. 解放军医学院学报, 2013, 34 (4): 319 - 320.
- [9] Rosenberg B. Noble metal complexes in cancer chemotherapy [J]. Advances in Experimental Medicine & Biology, 1978, 91 (91): 129 - 150.
- [10] Kizu R, Higashi S, Miyazaki M. A method for determining cis-dichlorodiammine-platinum (II) in plasma and urine by high performance liquid chromatography with direct ultraviolet detection [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 1985, 33: 4614 - 4617.
- [11] 孙舒婷, 马洪敏, 陈欣, 等. 现代分析技术在药物分析中的研究与应用 [J]. 分析测试技术与仪器, 2007, 13 (4): 229 - 235.
- [12] Dan Zhao, Jiaotian Li, Tianming Yang, et al. "Turn off-on" fluorescent sensor for platinum drugs-DNA interactions based on quantum dots [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2014, 52: 29 - 35.
- [13] 甘婷婷, 张玉钧, 赵南京, 等. 水热合成巯基乙胺稳定的 CdTe 量子点用于 Cu²⁺ 检测 [J]. 光学学报, 2013, 33 (12): 1216003 - 1 - 1216003 - 8. ■