基于MoS₂量子点类过氧化物酶活性调控比色检测地中海贫血症治疗药物去铁酮

谭娟[†], 夏万强[†], 付文升, 王焱^{*}

活性物质生物技术教育部工程研究中心, 绿色合成与应用重庆市重点实验室, 重庆师范大学化学学院, 重庆 401331

[†]同等贡献

^{*}通讯作者, E-mail: ywang@cqnu.edu.cn

收稿日期: 2021-02-16; 接受日期: 2021-05-07; 网络版发表日期: 2021-08-31

国家自然科学基金(编号: 21775014)和重庆市教委重点项目(编号: KJZD-K201900503)资助

摘要 纳米酶催化活性的精准调控对其在传感和生物学等领域的应用具有重要意义. 本文以MoS₂量子点为研究对象, 通过控制其在水溶液中的聚集或分散状态实现了类过氧化物酶活性的可控调节. 研究发现, 单分散的MoS₂量子点表现出十分微弱的类过氧化物酶活性, Fe³⁺可诱导其发生聚集使粒径增大, 导致类过氧化物酶活性显著增强; 而地中海贫血症的治疗药物去铁酮能选择性与Fe³⁺配位, 从而抑制MoS₂量子点的聚集行为和类酶活性增强, 且这种抑制作用与去铁酮的浓度在一定范围内呈比例关系. 基于该原理, 本文构建了一种比色检测去铁酮的新方法并成功应用于药品中去铁酮的质量控制. 借助智能手机的拍照和色度分析功能, 本文还开发了利用智能手机作为检测器的便携式分析方法用于去铁酮含量的测定, 该方法有望进一步扩展到床边检测与诊断.

关键词 二硫化钼, 纳米酶, 地中海贫血, 智能手机, 比色分析

1 引言

与天然酶相比, 纳米酶具有成本低、结构可设计、容易宏量制备、耐高温和酸碱环境等优点, 已广泛应用于生物传感、体外诊断、病原微生物抑制、环境污染检测与治理等领域^[1-6]. 研究发现, 纳米酶的催化反应类型、催化活性高低、催化特异性都与自身的理化性质和所处的环境息息相关, 如纳米酶的化学组成、形貌结构、尺寸、表面修饰分子等^[7-9]. 例如, Ghosh等^[10]发现V₂O₅纳米材料具有类似谷胱甘肽过氧化物酶样活性, 其催化活性高低不仅依赖于材料的尺

寸和形貌, 还与表面暴露的晶面类型息息相关. Ge等^[11]对比研究了不同形貌Pd纳米晶的类过氧化氢酶和超氧化物歧化酶样活性, 发现相比具有较高表面能的立方体结构, 低表面能的八面体结构反而表现出更高的催化活性. 胡连哲课题组^[12,13]通过对比研究一系列不同的氧化物纳米材料, 发现只有纳米氧化铈和氧化锆表现出明显的类碱性磷酸酶样活性. 因此, 在纳米酶的化学合成中可通过调控这些参数来设计获得具有高特异性和催化活性的纳米酶. 曲晓刚课题组^[14]通过在纳米Fe₃O₄表面修饰接枝手性氨基酸的聚合物, 构建了一种具有手性的新型纳米酶, 大大提高了对底物

引用格式: Tan J, Xia W, Fu W, Wang Y. Colorimetric detection of thalassaemia therapeutic drug deferiprone through tuning the peroxidase-like activity of MoS₂ quantum dots. *Sci Sin Chim*, 2021, 51: 1530–1538, doi: 10.1360/SSC-2021-0036

催化的对映选择性. 刘珏文课题组^[15]通过氟离子取代 CeO_2 纳米酶表面的羟基与Ce形成配位键, 从而改变界面微环境使其类氧化酶催化活性提高近100倍. 他们还通过构建增强型光激活纳米酶体系和在纳米材料表面修饰带负电的脂质体等途径, 突破了纳米酶催化反应需在弱酸性条件下进行的限制, 在中性甚至碱性条件下实现了高效催化^[16,17].

通过有效设计获得高催化活性和特异性是纳米酶生物传感应用的基础. 高的催化活性有利于提升基于纳米酶的检测灵敏度, 而纳米酶与催化底物之间的特异性有利于实现传感方法的高选择性. 此外, 还可通过单一-纳米材料的双/多模拟酶活性或与天然酶偶联构建复杂的级联酶催化反应系统^[18,19], 提高反应效率并进一步拓展纳米酶传感方法的应用范围. 目前, 基于纳米酶的传感方法已广泛应用于免疫分析^[20,21]、核酸检测^[22]、重金属离子检测^[23]、农药残留检测^[24]、食品安全监测^[25]和药品质量控制^[26]等.

本文以 MoS_2 量子点(MoS_2 QDs)为研究对象, 通过一种简单的策略控制其聚集或分散状态实现了纳米酶催化活性的可逆调节(图1). 研究发现, 在水溶液中单分散的 MoS_2 QDs仅表现出非常微弱的类似辣根过氧化物酶样活性, Fe^{3+} 可诱导量子点发生一定程度的团聚使粒径增大, 导致其类过氧化物酶活性显著增强. 然而, 小分子螯合剂去铁酮(deferiprone, DFP)能选择性与 Fe^{3+} 配位, 从而高效地抑制 MoS_2 QDs的聚集行为和类酶活性增强, 且这种抑制作用与DFP的浓度在一定范围内呈比例关系. 基于该原理, 本文进一步构建了一种比色检测DFP的新方法. DFP是第一种广泛用

于治疗先天性血液系统疾病(如重型地中海贫血)的口服药物, 具有给药容易、不良反应小、血脑屏障通透性高、价格低廉以及患者依从性高等优点^[27,28]. 相比当前定量检测DFP的主要方法如荧光法^[29,30]、电化学法^[31]、高效液相色谱法^[32]、液相色谱-串联质谱法^[33]等, 本文所构建的基于纳米酶活性可逆调节的DFP比色检测方法具有简单、快速、选择性高、成本低等优点, 已成功应用于药品中DFP的质量控制. 借助于色度信号的规律变化, 本文还以智能手机为检测器构建了一种便携式DFP检测方法.

2 实验部分

2.1 试剂与仪器

四硫代钼酸铵购自西亚化学试剂有限公司(山东, 中国), 去铁酮(DFP)和3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)购自阿拉丁化学试剂有限公司(上海, 中国), 葡萄糖、硫酸铁、过氧化氢、乙酸、乙酸钠均购自科龙化工试剂厂(成都, 中国). 所有实验试剂均为分析纯级别, 实验用水为18.2 mΩ超纯水.

实验仪器: UV-2550紫外可见分光光度计(日本Shimadzu公司); Bruker Dimension Icon原子力显微镜(美国Bruker公司); Tecnai G2 F20透射电子显微镜(美国FEI公司); Omni多角度粒度及高灵敏度Zeta电位分析仪(美国Brookhaven公司); LC-20A液相色谱仪(日本Shimadzu公司); Honor 6X智能手机(中国华为公司).

2.2 实验方法

2.2.1 MoS_2 QDs的制备

准确称取0.05 g四硫代钼酸铵和0.4 g葡萄糖加入10 mL超纯水中, 超声10 min使其充分溶解. 将该溶液转移至50 mL反应釜, 200℃下反应8 h. 反应产物自然冷却至室温, 以12000 r/min离心15 min, 所得黄色上清液即为 MoS_2 QDs, 存储于4℃冰箱备用.

2.2.2 MoS_2 QDs- Fe^{3+} 的过氧化物模拟酶性质

取100 μL MoS_2 QDs先后加入 Fe^{3+} (10 μM)、TMB (0.1 mM)、 H_2O_2 (10 mM), 随后用乙酸-乙酸钠缓冲液(pH=4)将反应体积补充至3 mL, 充分混匀后室温反应15 min, 测量紫外可见吸收光谱, 记录波长652 nm处的吸光度值.

图1 可逆调节 MoS_2 QDs类过氧化物酶活性比色检测DFP的示意图(网络版彩图)

Figure 1 Schematic illustration of the reversible regulating peroxidase-like activity of MoS_2 QDs for colorimetric detection of DFP (color online).

2.2.3 DFP的检测

将不同浓度DFP标准溶液(0~70 μ M)分别加入含有MoS₂ QDs (100 μ L)、Fe³⁺ (10 μ M)、TMB (0.1 mM)、H₂O₂ (10 mM)的混合溶液中, 随后用乙酸-乙酸钠缓冲液(pH=4)将反应体积补充至3 mL, 充分混匀后室温反应15 min, 测量紫外可见吸收光谱, 记录波长652 nm处的吸光度值. 同时, 利用智能手机在灯箱内拍摄溶液照片, 手机与样品的距离固定为5 cm, 并通过Color Grab手机开源APP分析拍摄照片中各溶液的RGB值.

2.2.4 药品和生物样品中DFP的含量测定

市售药品去铁酮片购买于加拿大奥贝泰克制药有限公司. 样品含量测定前, 先对去铁酮片进行研磨、溶解和过滤等预处理, 并根据说明书的标示量稀释至适当浓度备用. 人血清和尿样通过离心和稀释适当倍数进行预处理. 将上述样品分别加入含有MoS₂ QDs (100 μ L)、Fe³⁺ (10 μ M)、TMB (0.1 mM)、H₂O₂ (10 mM)的混合溶液中, 随后用乙酸-乙酸钠缓冲液(pH=4)将反应体积补充至3 mL, 充分混匀后室温反应15 min, 测量紫外可见吸收光谱, 记录波长652 nm处的吸光度值.

3 结果与讨论

3.1 MoS₂ QDs类过氧化物酶活性可逆调节

以四硫代钼酸铵和葡萄糖为原料, 通过水热法制得的MoS₂ QDs在水溶液中具有良好的分散性. 本文以TMB和H₂O₂为底物, 研究了MoS₂ QDs在不同条件下的类过氧化物酶活性. 如图2所示, 当TMB-H₂O₂体系中只存在MoS₂ QDs时, 其在500~800 nm没有明显的吸收峰(曲线a), 说明MoS₂ QDs的类过氧化物酶活性非常微弱. 当加入Fe³⁺后, 溶液由浅黄色变为蓝绿色(图2插图), 并在652 nm处出现一个显著的吸收峰(曲线b). 该现象说明Fe³⁺大大增强了MoS₂ QDs的类过氧化物酶活性, 催化H₂O₂产生 $\cdot$ OH, 进而将TMB转变为蓝色的氧化态TMB (oxTMB). 然而, 当Fe³⁺和DFP都加入该体系, 溶液的颜色变浅, 652 nm处的吸光度明显降低(曲线c), 说明DFP对Fe³⁺增强MoS₂ QDs类过氧化物酶活性有较强的抑制作用. 图S1 (网络版补充材料)进一

图2 TMB-H₂O₂体系在不同条件下的紫外可见吸收光谱图. (a) MoS₂ QDs; (b) MoS₂ QDs+Fe³⁺; (c) MoS₂ QDs+Fe³⁺+DFP. 插图为对应的溶液照片(网络版彩图)

Figure 2 Ultraviolet-visible (UV-Vis) absorption spectra of TMB-H₂O₂ system under different conditions. (a) MoS₂ QDs; (b) MoS₂ QDs+Fe³⁺; (c) MoS₂ QDs+Fe³⁺+DFP. Inset is the corresponding digital image of the solution (color online).

步展示了底物TMB-H₂O₂在加入不同催化剂后652 nm处的吸光度值随时间的变化情况. 结果表明, Fe³⁺增强的MoS₂ QDs类过氧化物酶活性可在10 min达到最大值, 而加入抑制剂DFP可使其催化速率大大降低. 以单独的Fe³⁺作为催化剂的对照实验表明, 虽然在本文使用的浓度(10 μ M)下Fe³⁺自身也具备一定的催化能力, 但相比同时加入Fe³⁺和MoS₂ QDs的样品其催化活性较弱且催化速率很慢(图S2), 充分说明该体系的催化活性主要来自Fe³⁺和MoS₂ QDs共同作用后的产物而并非Fe³⁺的催化作用. 此外, 对照实验表明, 无论是不同浓度的DFP (图S3), 还是DFP和Fe³⁺的混合物(图S4), 或是MoS₂ QDs和DFP的混合物(图S5), 它们对TMB-H₂O₂底物都只有十分微弱或几乎没有催化作用, 进一步证明了该体系类酶活性的增强是基于Fe³⁺对MoS₂ QDs活性的增敏作用而不是Fe³⁺自身发挥催化作用, 也不是DFP对吸收信号的影响. 上述结果说明该策略可以实现MoS₂ QDs类过氧化物酶活性的可逆调节.

为了量化Fe³⁺/DFP对MoS₂ QDs类过氧化物酶活性的调控, 本文分别测定了三种不同条件下的催化反应动力学(表1). 如图S6所示, 三种条件下的催化反应动力学均遵循典型的Michaelis-Menten模型. 通过绘制相应的Lineweaver-Burk双倒数曲线和表观动力学参数计算公式分别得到米氏常数(K_m)及最大反应速度(V_{max}). K_m 为酶的特征物理量, K_m 值越小表示酶对底物的亲和力和力越高. 实验结果表明, 当以TMB为底物时,

表1 不同条件下的催化反应动力学参数

Table 1 Kinetic parameters of the catalytic system under different conditions

催化剂	酶底物	K_m (mM)	V_{max} (M/s)
MoS ₂ QDs	H ₂ O ₂	23.5	9.9×10^{-10}
MoS ₂ QDs+Fe ³⁺	H ₂ O ₂	7.5	3.6×10^{-7}
MoS ₂ QDs+Fe ³⁺ +DFP	H ₂ O ₂	18.6	3.7×10^{-9}
MoS ₂ QDs	TMB	4.8	8.9×10^{-9}
MoS ₂ QDs+Fe ³⁺	TMB	0.4	1.7×10^{-7}
MoS ₂ QDs+Fe ³⁺ +DFP	TMB	1.0	9.7×10^{-8}

MoS₂ QDs-Fe³⁺的 K_m 值是MoS₂ QDs的1/12, 而当15 μ M DFP与Fe³⁺共存时, 相比MoS₂ QDs-Fe³⁺其 K_m 值又增大2.5倍. 同样, 当以H₂O₂为底物时, Fe³⁺使MoS₂ QDs的 K_m 由23.5降低至7.5, 而加入抑制剂DFP后 K_m 又恢复至18.6. 此外, 无论以TMB还是H₂O₂为底物, Fe³⁺的增敏作用都使体系 V_{max} 明显增大, DFP与Fe³⁺的共存又使 V_{max} 减小. 上述结果说明通过简单改变Fe³⁺或DFP在体系中的浓度就可以实现MoS₂ QDs类过氧化物酶活性的定量调节.

3.2 MoS₂ QDs类酶活性调控的机理研究

为了探究Fe³⁺/DFP对MoS₂ QDs类过氧化物酶活性的调控机制, 本文分别用原子力显微镜(AFM)、丁达尔效应以及动态光散射(DLS)对不同条件下的MoS₂ QDs进行了表征. AFM成像显示, 溶液中分散的MoS₂ QDs的平均高度为5.2 nm (图3a); 当加入10 μ M的Fe³⁺后, 样品中产生了较多的聚集体, 其平均高度增大至64.3 nm (图3b); 而当14 μ M DFP与Fe³⁺共存时, MoS₂ QDs的平均高度又降低至11.4 nm (图3c), 这说明Fe³⁺诱导MoS₂ QDs发生聚集导致其类过氧化物酶活性增强, 而这种聚集现象和类酶活性增强作用又可被DFP抑制. DLS测试结果得到的水合粒径变化与AFM结果一致(图S7). 上述三种条件下MoS₂ QDs的丁达尔效应也充分证明了Fe³⁺诱导MoS₂ QDs在水溶液中发生聚集以及DFP对该聚集的抑制作用(图3d).

为了进一步说明Fe³⁺诱导MoS₂ QDs聚集具有高度选择性, 首先通过TEM成像观察MoS₂ QDs在加入Fe³⁺前后的变化. 结果显示, MoS₂ QDs的平均粒径仅为1.3 nm且呈高度单分散态(图4a); 加入Fe³⁺后MoS₂ QDs平均粒径增大至3.2 nm (图S8), 而且有聚集成团

图3 MoS₂ QDs在不同条件下的AFM图(a~c)及丁达尔现象照片(d). (a) MoS₂ QDs; (b) MoS₂ QDs+Fe³⁺; (c) MoS₂ QDs+Fe³⁺+DFP (网络版彩图)

Figure 3 Atomic force microscopy (AFM) images (a~c) and Tyndall effect (d) of MoS₂ QDs under different conditions. (a) MoS₂ QDs; (b) MoS₂ QDs+Fe³⁺; (c) MoS₂ QDs+Fe³⁺+DFP (color online).

簇的趋势(图4b), 这可能也是AFM和DLS测试中粒子尺寸略大于TEM粒径的原因. 当MoS₂ QDs溶液中加入不同金属离子后, 在激光笔照射下只有加入Fe³⁺的样品能够观察到明显的丁达尔现象(图4c), 也只有加入Fe³⁺的样品能快速催化底物TMB-H₂O₂在652 nm处产生明显吸收峰(图4d), 充分证明了Fe³⁺诱导MoS₂ QDs团聚并增强其类过氧化物酶活性的高度选择性.

基于MoS₂ QDs的合成路线及上述实验结果, 可推测Fe³⁺/DFP对MoS₂ QDs类过氧化物酶活性的调控机理: (1) 通过葡萄糖还原四硫代钼酸铵得到MoS₂ QDs, 同时葡萄糖被氧化为葡萄糖酸使QDs表面带有大量羧基. (2) Fe³⁺容易与MoS₂ QDs表面的羧基进行配位, 诱导其在溶液中发生聚集. 众所周知, 纳米材料的催化活性不仅与其比表面积大小有关, 还与材料表面与催化底物之间的相互作用有关^[34]. 与单分散的MoS₂ QDs相比, 加入Fe³⁺后聚集态的QDs虽然比表面积有所减小, 但与底物TMB和H₂O₂具有更强的亲和力, 从而能够加速H₂O₂的分解, 在材料表面产生大量 $\cdot$ OH并加快TMB向oxTMB的转化^[35], 表现出聚集诱导类过氧化物酶活性增强效应^[36,37]. (3) 由于DFP与Fe³⁺具有更强的配合作用, 能以3:1的配比形成一种更稳定的配合

图4 Fe³⁺选择性诱导MoS₂ QDs聚集佐证实验结果. (a) MoS₂ QDs的TEM图; (b) MoS₂ QDs与Fe³⁺反应后的TEM图; (c) MoS₂ QDs与不同金属离子反应后的丁达尔现象照片; (d) MoS₂ QDs与不同金属离子反应后对TMB-H₂O₂体系的催化活性比较(网络版彩图)

Figure 4 Results showing the selectivity of Fe³⁺-mediated aggregation of MoS₂ QDs. (a) TEM image of MoS₂ QDs; (b) TEM image of the MoS₂ QDs-Fe³⁺ mixture; (c) Tyndall effect of MoS₂ QDs after mixing with different metal ions; (d) UV-Vis spectra showing the catalytic activity of MoS₂ QDs toward TMB-H₂O₂ system after mixing with different metal ions (color online).

物^[29-31], 因此大大抑制Fe³⁺对MoS₂ QDs的聚集效应并使其类酶活性降低. 综上所述, Fe³⁺通过选择性诱导MoS₂ QDs聚集使其类酶活性显著增强, 而DFP通过与Fe³⁺更强的竞争络合能力抑制了该聚集增强的类酶催化活性, 从而实现MoS₂ QDs类过氧化物酶活性的有效调节.

3.3 基于MoS₂ QDs-Fe³⁺纳米探针比色检测DFP

基于DFP对Fe³⁺诱导MoS₂ QDs类酶催化活性增强的抑制作用, 可构建一种比色检测DFP的新方法. 本文首先系统考察了可能影响检测结果的各项实验条件. 如图S1所示的反应动力学曲线, Fe³⁺增强的MoS₂ QDs类过氧化物酶活性可在10 min达到最大值, 而后基本保持不变, 而加入DFP后催化速率大大降低且一直保持缓慢增长, 故选择15 min作为最佳反应时间. 此外, MoS₂ QDs类过氧化物酶活性的增强依赖于Fe³⁺的浓度. 如图5a, b所示, 当Fe³⁺浓度达到10 μM时, 底物的吸光度不再随着Fe³⁺浓度的增大而变化, 同时溶液颜色也不再继续由浅变深. 因此, 实验中固定Fe³⁺的浓度

图5 不同浓度Fe³⁺和DFP分别对MoS₂ QDs类过氧化物酶活性的增强和抑制作用. (a) 加入0~11 μM的Fe³⁺体系的紫外可见吸收光谱; (b) 652 nm处吸光度增加(ΔA)与Fe³⁺浓度的关系曲线(插图为相应的溶液照片); (c) 加入0~22 μM的DFP体系的紫外可见吸收光谱; (d) 652 nm处吸光度减小(ΔA)与DFP浓度的关系曲线(插图为检测DFP的标准工作曲线)(网络版彩图)

Figure 5 Peroxidase-like activity enhancement/inhibition of MoS₂ QDs by different concentrations of Fe³⁺ or DFP. (a) UV-Vis spectra in the presence of 0–11 μM Fe³⁺; (b) absorbance increase at 652 nm (ΔA) as a function of Fe³⁺ concentration (inset is the corresponding solution); (c) UV-Vis spectra in the presence of 0–22 μM DFP; (d) absorbance decrease at 652 nm (ΔA) as a function of DFP concentration (inset is calibration curve for DFP assay) (color online).

为10 μM.

图5c为MoS₂ QDs-Fe³⁺纳米探针在最优实验条件下检测DFP时体系的吸收光谱图. 随着DFP浓度逐渐增加, 溶液652 nm处的吸光度逐渐降低. 由图5d可知, 吸光度的减小值(ΔA)与DFP浓度在2~20 μM浓度范围呈良好的线性关系(ΔA=0.0324c-0.0172, r=0.9983). 在没有催化剂存在的情况下, DFP也能与Fe³⁺直接反应生成一种粉红色的络合物, 因此本文进一步考察了不同浓度DFP与Fe³⁺二者之间的反应. 当Fe³⁺浓度固定为10 μM时, 随着DFP浓度不断增加(0~1000 μM), 配合物的吸光度也不断增大(图S9). 但是, 即使DFP浓度增大至1000 μM, 相同仪器条件下测得的吸光度值也低于0.1, 且吸收峰随DFP浓度的增加还发生了明显的蓝移(从~540 nm移至~450 nm). 上述对比实验证实了单纯依靠DFP-Fe³⁺配合产物的吸收信号无法实现对DFP的高灵敏定量检测, 充分体现了基于MoS₂ QDs-Fe³⁺纳米探针类过氧化物酶活性调控检测DFP这一策略的优势.

为了降低该方法对检测仪器的要求, 我们进一步搭建了基于智能手机终端的便携式DFP检测平台. 如

图6所示, 随着DFP浓度逐渐增大, 反应溶液的颜色逐渐变浅. 利用智能手机对标准溶液和未知浓度样品同时进行拍照, 并通过灯箱固定背景光强以及拍照距离以减小误差(图S10). 利用手机上装载的开源色度分析APP对每份溶液的RGB值进行读取和分析. 以空白(未加入DFP)的RGB值作为基准, 以RGB值的变化(ΔV)对DFP浓度作图, 即可建立二者之间的相关性. 结果显示, $\Delta V_{(G)}$ 与DFP浓度呈良好的线性关系, 其线性回归方程为 $\Delta V_{(G)} = 2.0404c - 7.2116$ ($r = 0.9862$), 检测范围为6~20 μM . $\Delta V_{(R)}$ 和 $\Delta V_{(B)}$ 与DFP浓度的关系如图S11和S12所示.

3.4 检测方法的选择性考察

为了评价该方法的选择性, 考察了药物中常见的无机离子杂质、复合添加剂和赋形剂等对DFP检测的影响. 如图7所示, 在相同的实验条件下, 将浓度100倍于DFP的 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Na^{+} 、 K^{+} 、半胱氨酸、赖氨酸、缬氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、乳糖、 α -环糊精、 β -环糊精、葡萄糖、乙二醇、羧甲基纤维素、甘露醇, 相同浓度的 Cu^{2+} 、 Al^{3+} 和500 $\mu\text{g/mL}$ 的淀粉代替DFP加入到检测体系中时, 吸光度变化基本保持在0.05内波动, 而DFP可使体系的吸光度降低~0.45. 100倍于DFP的 Cu^{2+} 、 Al^{3+} 会一定程度影响检测信号, 可能是由于他们与DFP也能发生较弱的配位反应, 在浓度

图7 该方法检测DFP的选择性实验结果. DFP、 Cu^{2+} 和 Al^{3+} 的浓度为15 μM , 淀粉的浓度为500 $\mu\text{g/mL}$, 其余干扰物质的浓度均为1500 μM (网络版彩图)

Figure 7 Selectivity of this method for DFP assay. The concentration of DFP, Cu^{2+} and Al^{3+} is 15 μM , and concentration of starch is 500 $\mu\text{g/mL}$. Concentration of all other substances is 1500 μM (color online).

较大时与 Fe^{3+} 竞争DFP从而影响检测信号. 实验结果证明, 该方法用于药品中DFP含量的检测具有较高的选择性.

3.5 实际样品中DFP的含量测定

为验证该方法的准确性及其在实际样品中检测DFP的可行性, 分别以紫外可见吸收光谱仪和智能手机作为检测器, 采用标准加入法测定了DFP在实际药品中的回收率, 并与当前使用较广泛的高效液相色谱法(HPLC)结果进行了比较(图S13和S14). 如表2和3所示, 以 MoS_2 QDs- Fe^{3+} 为探针, 通过本文所建立的比色法测得药片中DFP的浓度(5.23 μM)与说明书标示量(5.00 μM)及HPLC法结果(4.98 μM)无显著性差异. 两种检测器测得DFP的加标回收率分别为100.0%~102.8%和93.0%~97.4%. 此外, 本文还利用标准加入法进行了人血清和尿样中DFP的回收率实验, 实验结果再次说明, 该方法对DFP的检测具有较高的准确性(表4), 证明本文所构建的基于 MoS_2 QDs- Fe^{3+} 类过氧化物酶活性调控的比色检测方法可用于药品中DFP的质量控制以及复杂生物样本中DFP的含量测定.

4 结论

本文通过一种简单的策略成功实现了 MoS_2 QDs纳米酶催化活性的可逆调节. 研究表明, Fe^{3+} 可选择性地诱导 MoS_2 QDs发生聚集, 导致其类过氧化物酶活性显著增强; 而地中海贫血症的治疗药物DFP能选择性

图6 基于智能手机终端的便携式DFP检测. (a) 不同浓度DFP存在下的溶液照片; (b) 智能手机APP分析溶液RGB的截屏; (c) $\Delta V_{(G)}$ 与DFP浓度的线性关系(网络版彩图)

Figure 6 Facile detection of DFP using a smartphone. (a) Photographs of the reaction solutions in the presence of 0–20 μM DFP; (b) captured screen of the smartphone during the RGB analysis; (c) calibration plot showing the $\Delta V_{(G)}$ as a function of DFP concentration (color online).

表 2 紫外可见吸收光谱仪和智能手机作为检测器比色法测定药片中DFP含量及回收率实验结果($n=3$)

Table 2 Recovery experimental results for DFP assay in tablets using UV-Vis spectrophotometer and smartphone as the readout ($n=3$)

编号	标示量 (μM)	测得量 (μM)	加标量 (μM)	紫外可见吸收光谱法			智能手机RGB法		
				测得总量(μM)	回收率(%)	RSD ^{a)} (%)	测得总量(μM)	回收率(%)	RSD (%)
1			3.00	8.24	100.3	4.7	8.02	93.0	2.1
2	5.00	5.23	7.00	12.23	100.0	4.0	12.05	97.4	3.9
3			11.00	16.54	102.8	0.6	15.88	96.8	1.7

a) RSD指相对标准偏差

表 3 HPLC法测定药片中DFP含量及回收率实验结果($n=3$)

Table 3 Recovery experimental results for DFP assay in tablets by HPLC method ($n=3$)

编号	标示量(μM)	测得量(μM)	加标量(μM)	测得总量(μM)	回收率(%)	RSD (%)
1			3.00	7.70	90.7	2.4
2	5.00	4.98	7.00	12.20	103.1	4.7
3			11.00	15.30	93.8	1.9

表 4 本方法测定血清和尿液中DFP的回收率实验结果($n=3$)

Table 4 Recovery experimental results for DFP assay in human serum and urine by this method ($n=3$)

样品	加标量(μM)	紫外可见吸收光谱法			智能手机RGB法		
		测得量(μM)	回收率(%)	RSD (%)	测得量(μM)	回收率(%)	RSD (%)
血清	5.00	5.33	106.6	5.7	5.00	100.0	5.7
	10.00	9.93	99.3	3.5	9.42	94.2	3.0
	15.00	15.22	101.5	4.8	15.13	100.9	3.2
尿	5.00	5.02	100.4	2.9	5.33	106.6	5.3
	10.00	10.79	107.9	1.6	9.74	97.4	2.9
	15.00	15.84	105.6	4.8	15.46	103.1	3.2

与Fe³⁺配位,从而抑制MoS₂ QDs的聚集和类过氧化物酶活性增强.聚集和解聚程度分别依赖于Fe³⁺和DFP的浓度,故MoS₂ QDs的类酶活性增强与减弱容易精准调控.在此基础上,本文进一步提出了一种简单、快速、高选择性检测DFP的催化比色传感新方法,并已成功应用于药品中DFP的质量控制,具有较高的准确度.借

助智能手机的拍照和色度分析功能,本文还构建了以智能手机作为检测器的便携式比色方法用于DFP含量的测定.结合纳米酶催化底物高灵敏显色的优势,这种智能手机检测方法有望进一步扩展到床边检测,为医疗条件落后的偏远地区在快速检测与诊断方面提供方法和技术.

补充材料

本文的补充材料见网络版chemcn.scichina.com. 补充材料为作者提供的原始数据,作者对其学术质量和内容负责.

参考文献

1 Wu J, Wang X, Wang Q, Lou Z, Li S, Zhu Y, Qin L, Wei H. *Chem Soc Rev*, 2019, 48: 1004–1076
2 Liang M, Yan X. *Acc Chem Res*, 2019, 52: 2190–2200

- 3 Huang Y, Ren J, Qu X. *Chem Rev*, 2019, 119: 4357–4412
- 4 Wang H, Wan K, Shi X. *Adv Mater*, 2019, 31: 1805368
- 5 Li Z, Feng K, Zhang W, Ma M, Gu N, Zhang Y. *Sci Bull*, 2018, 63: 2128–2139 (in Chinese) [李卓轩, 封开发, 张薇, 马明, 顾宁, 张宇. 科学通报, 2018, 63: 2128–2139]
- 6 Luo C, Li Y, Long J. *Sci Sin Chim*, 2015, 45: 1026–1041 (in Chinese) [罗成, 李艳, 龙建纲. 中国科学: 化学, 2015, 45: 1026–1041]
- 7 Wang Z, Zhang R, Yan X, Fan K. *Mater Today*, 2020, 41: 81–119
- 8 Liu B, Liu J. *Nano Res*, 2017, 10: 1125–1148
- 9 Li Y, Liu J. *Mater Horiz*, 2021, 8: 336–350
- 10 Ghosh S, Roy P, Karmodak N, Jemmis ED, Mugesh G. *Angew Chem Int Ed*, 2018, 57: 4510–4515
- 11 Ge C, Fang G, Shen X, Chong Y, Wamer WG, Gao X, Chai Z, Chen C, Yin JJ. *ACS Nano*, 2016, 10: 10436–10445
- 12 Hu X, Huang T, Liao H, Hu L, Wang M. *J Mater Chem B*, 2020, 8: 4428–4433
- 13 Tian X, Liao H, Wang M, Feng L, Fu W, Hu L. *Biosens Bioelectron*, 2020, 152: 112027
- 14 Zhou Y, Wei W, Cui F, Yan Z, Sun Y, Ren J, Qu X. *Chem Sci*, 2020, 11: 11344–11350
- 15 Liu B, Huang Z, Liu J. *Nanoscale*, 2016, 8: 13562–13567
- 16 Zhang J, Wu S, Lu X, Wu P, Liu J. *Nano Lett*, 2019, 19: 3214–3220
- 17 Chen Q, Liu Y, Liu J, Liu J. *Chem Eur J*, 2020, 26: 16659–16665
- 18 Wang Q, Zhang X, Huang L, Zhang Z, Dong S. *Angew Chem*, 2017, 129: 16298–16301
- 19 Wu J, Li S, Wei H. *Chem Commun*, 2018, 54: 6520–6530
- 20 Gao L, Zhuang J, Nie L, Zhang J, Zhang Y, Gu N, Wang T, Feng J, Yang D, Perrett S, Yan X. *Nat Nanotech*, 2007, 2: 577–583
- 21 Gao Z, Ye H, Tang D, Tao J, Habibi S, Minerick A, Tang D, Xia X. *Nano Lett*, 2017, 17: 5572–5579
- 22 Guo Y, Deng L, Li J, Guo S, Wang E, Dong S. *ACS Nano*, 2011, 5: 1282–1290
- 23 Gao Z, Liu GG, Ye H, Rauschendorfer R, Tang D, Xia X. *Anal Chem*, 2017, 89: 3622–3629
- 24 Zhu Y, Wu J, Han L, Wang X, Li W, Guo H, Wei H. *Anal Chem*, 2020, 92: 7444–7452
- 25 Zhang X, Wu D, Zhou X, Yu Y, Liu J, Hu N, Wang H, Li G, Wu Y. *TrAC Trends Anal Chem*, 2019, 121: 115668
- 26 Wang J, Hu Y, Zhou Q, Hu L, Fu W, Wang Y. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11: 44466–44473
- 27 Wang Y, Mao L, Liu W, Ding F, Zou P, Wang X, Zhao Q, Rao H. *Microchim Acta*, 2018, 185: 442
- 28 Chavada VD, Bhatt NM, Sanyal M, Shrivastav PS. *Microchim Acta*, 2017, 184: 4203–4208
- 29 Manzoori JL, Amjadi M, Soleymani J, Tamizi E, Rezamand A, Jouyban A. *Luminescence*, 2012, 27: 268–273
- 30 Mohamadian E, Shayanfar A, Khoubnasabjafari M, Jouyban-Gharamaleki V, Ghaffary S, Jouyban A. *Anal Methods*, 2017, 9: 5640–5645
- 31 Yadegari H, Jabbari A, Heli H, Moosavi-Movahedi AA, Karimian K, Khodadadi A. *Electrochim Acta*, 2008, 53: 2907–2916
- 32 Abbas M, Nawaz R, Iqbal T, Alim M, Asi MR. *Pak J Pharm Sci*, 2012, 25: 343–348
- 33 Song TS, Hsieh YW, Peng CT, Liu CH, Chen TL, Hour MJ. *Biomed Chromatogr*, 2012, 26: 1575–1581
- 34 Zhang ZF, Cui H, Lai CZ, Liu LJ. *Anal Chem*, 2005, 77: 3324–3329
- 35 Ni P, Dai H, Wang Y, Sun Y, Shi Y, Hu J, Li Z. *Biosens Bioelectron*, 2014, 60: 286–291
- 36 Liao H, Liu G, Liu Y, Li R, Fu W, Hu L. *Chem Commun*, 2017, 53: 10160–10163
- 37 An P, Rao H, Gao M, Xue X, Liu X, Lu X, Xue Z. *Chem Commun*, 2020, 56: 9799–9802

Colorimetric detection of thalassaemia therapeutic drug deferiprone through tuning the peroxidase-like activity of MoS₂ quantum dots

Juan Tan[†], Wanqiang Xia[†], Wensheng Fu, Yi Wang^{*}

Engineering Research Center for Biotechnology of Active Substances (Ministry of Education), Chongqing Key Laboratory of Green Synthesis and Applications, College of Chemistry, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China

[†]These authors contributed equally to this work.

^{*}Corresponding author (email: ywang@cqnu.edu.cn)

Abstract: Precisely regulating the catalytic activity of nanozymes is of great significance for their applications in sensing, biomedicine, *etc.* In this work, the peroxidase-like activity of MoS₂ quantum dots (QDs) is controlled by regulating their aggregation or disaggregation in aqueous solution. Specifically, monodispersed MoS₂ QDs show very weak peroxidase-like activity. Fe³⁺ ions can induce significant aggregation of MoS₂ QDs in aqueous solution and thus greatly enhance their activity. However, the drug deferiprone that commonly used for thalassaemia treatment can selectively bind with Fe³⁺ *via* complexation, thus inhibiting the aggregation of MoS₂ QDs and their enhancement of enzyme-like activity. Based on this mechanism, a new colorimetric method for the detection of deferiprone is developed and further successfully applied to the quality control of drug. Moreover, with the aid of photographing and chroma analysis by a smartphone, a smartphone-based analytical method for deferiprone is also established, which is expected to be extended to point-of-care testing and diagnosis.

Keywords: molybdenum disulfide, nanozymes, thalassaemia, smartphone, colorimetric analysis

doi: [10.1360/SSC-2021-0036](https://doi.org/10.1360/SSC-2021-0036)