

ابداع روشی جدید برای اندازه‌گیری غیرمستقیم دی‌مرکاپرول با خاموش و روشن شدن نشر فلورسانس نقاط کوانتومی گرافنی عامل‌دار شده

محمدحسن امینی*

استادیار پژوهشکده فناوری‌های پاک، پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران، تهران، ایران.

دریافت: بهمن ۹۹ بازنگری: اسفند ۱۴۰۰ پذیرش: فروردین ۱۴۰۰



10.30495/JACR.2022.687815



20.1001.1.17359937.1400.15.4.3.4

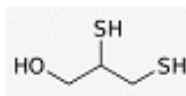
چکیده

دی‌مرکاپرول با ساختار مولکولی حاوی دو گروه تیول، یک داروی مناسب در درمان مسمومیت فلزهای سنگین است. به‌کارگیری نقاط کوانتومی گرافنی در زمینه‌های متفاوت مانند ساخت حسگرهای شیمیایی به‌دلیل قیمت ارزان و در دسترس بودن واکنشگرها، غیرسمی بودن و روش ساده تهیه آن‌ها، به‌شدت موردتوجه پژوهشگران قرار گرفته است. در این پژوهش، نشر فلورسانس نقاط کوانتومی گرافنی که سطح آن‌ها با مونواتانول‌آمین عامل‌دار شده بود، به‌منظور تدوین روشی جدید برای اندازه‌گیری غیرمستقیم غلظت دی‌مرکاپرول به‌کار گرفته شد. ابتدا نشر نقاط کوانتومی در حضور یون جیوه، به‌علت تشکیل کمپلکس یون جیوه با گروه‌های عاملی نقاط کربنی، خاموش شد. سپس، با افزایش دی‌مرکاپرول و تشکیل کمپلکس قوی آن با جیوه، نقاط کوانتومی آزاد و نشر فلورسانس آن‌ها بازیابی شد. بنابراین، در روش ابداع شده، با تشخیص رابطه خطی بین بازیابی نشر نقاط کوانتومی و غلظت دی‌مرکاپرول، در شرایط بهینه، غلظت دی‌مرکاپرول در گستره ۰/۱ تا ۵ میکرومولار و با حد تشخیص ۵۰ نانومولار در محلول‌های آبی اندازه‌گیری شد.

واژه‌های کلیدی: نقاط کوانتومی گرافنی، دی‌مرکاپرول، نشر فلورسانس، اندازه‌گیری

مقدمه

ترکیب در شکل ۱ نشان داده شده است [۱۵ تا ۱۷]. این دارو به صورت آمپول در بازار وجود دارد و روش معمول اندازه‌گیری آن به روش تیتراژ یدسنجی و با حد تشخیص ۰/۳ میلی مولار گزارش شده است [۱۸].



شکل ۱ ساختار شیمیایی دی‌مرکاپرول

توسعه روش‌های حساس و دقیق برای شناسایی و اندازه‌گیری کمی داروها همیشه از موضوع‌های جذاب برای پژوهشگران است. با توجه به ویژگی تشکیل کمپلکس قوی بین مولکول دی‌مرکاپرول و فلزهایی مانند مس و جیوه، فکر ساخت نانوحسگر مناسب برای تعیین غلظت دی‌مرکاپرول شکل گرفت.

در این پژوهش، ابتدا نقاط کوانتومی گرافنی از راه برق‌کافت گرمایی سیتربیک اسید تهیه شد. این نوع نقاط کربنی به‌طور معمول بازده کوانتومی و حساسیت شیمیایی پایینی دارند. بنابراین، برای بهبود این ویژگی از روش عامل‌دار کردن سطح نقاط کوانتومی با مونواتانول‌آمین^۵ که پیش از این در آزمایشگاه گروه پژوهشی حاضر انجام شده بود، استفاده شد [۱۹]. نقاط کوانتومی گرافنی به‌دست آمده بازده کوانتومی ۲۳/۷٪ داشتند و با موفقیت به‌عنوان یک حسگر جدید برای اندازه‌گیری غیرمستقیم غلظت داروی مرکاپرول در محلول‌های آبی برای نخستین بار مورد استفاده قرار گرفت.

بخش تجربی

مواد و دستگاه‌ها

همه مواد شیمیایی مورد مصرف در این پژوهش با خلوص تجزیه‌ای بودند و هیچ خلوص‌سازی خاصی روی آن‌ها

نقاط کوانتومی گرافنی^۱ نانومواد کربنی مسطحی هستند که به‌طور معمول به‌صورت چندلایه کربنی بوده و ضخامت آن‌ها کمتر از ۱۰ نانومتر است. این نقاط کربنی دارای گروه‌های عاملی شامل هیدروکسیل، کربونیل و اپوکسید در لبه‌های خود هستند و به این دلیل در آب محلول هستند [۱]. نقاط کوانتومی گرافنی ویژگی نشر نور فلورسانس دارند. به دلیل ویژگی‌های بی‌همتایشان شامل بازده کوانتومی خوب، پایداری نوری عالی، روش تهیه ساده، ارزان بودن واکنشگرها در سنتز آن‌ها، حلالیت در آب و سمیت پایین، توجه پژوهشگران زیادی را به خود جلب کرده و در زمینه‌های متفاوتی از جمله ساخت حسگرهای شیمیایی، تصویربرداری پزشکی و تحویل دارو مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۲ تا ۷].

نقاط کوانتومی گرافنی مانند بقیه نانومواد با دو روش از پایین به بالا و بالا به پایین تهیه می‌شوند. روش بالا به پایین شامل برش مواد گرافنی با اندازه بزرگ‌تر است اما روش پایین به بالا تهیه با استفاده از مولکول‌های شیمیایی آلی به‌عنوان منابع کربن است. به‌طور معمول، روش عامل‌دار کردن گروه‌های عاملی لبه نقاط کربنی گرافنی یا دوپه کردن اتم‌های غیرکربن مانند نیتروژن و گوگرد برای تقویت ویژگی فلورسانسی و بالا بردن حساسیت انتخابی آن به‌کارگرفته می‌شود [۸ تا ۱۳].

دی‌مرکاپرول^۲ نخستین بار در طی جنگ جهانی دوم به‌عنوان پادزهر گاز سمی لوئیزیته^۳ معرفی شد [۱۴]. دی‌مرکاپرول به‌عنوان یکی از داروهای ضروری در فهرست سازمان بهداشت جهانی قرار دارد و در درمان مسمومیت فلزهای سنگین شامل آرسنیک، جیوه و سرب و همچنین، در درمان بیماری ویلسون^۴ به‌کار می‌رود. ساختار شیمیایی این

1. Graphene quantum dots (GQDs)
5. Monoethanolamine

2. Dimercaprol
4. Wilson's disease

3. Lewisite

به‌طوری‌که غلظت نهایی جیوه درون سل ۵ میکرومولار شد. این مقدار بهینه یون جیوه از محاسبه‌های موجود در گزارش پیشین این گروه به‌دست آمده است [۱۹]. سپس، این محلول به مدت ۲ دقیقه با همزن مغناطیسی هم‌زده شد. برای بررسی اثر بازگشت فلورسانس نقاط کوانتومی در حضور دی‌مرکاپرول، مقادیر معینی از این دارو با غلظت نهایی ۰ تا ۹ میکرو مولار به سل فلورسانس افزوده شد. پس از ۲ دقیقه هم‌زدن، شدت فلورسانس در طول موج ۴۴۵ نانومتر و تحت تابش نور با طول موج ۳۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. پهنای نوار تهیج و نشر فلورسانس به ترتیب ۱۰ و ۱۵ نانومتر تنظیم شد. همه اندازه‌گیری‌ها ۳ بار تکرار شد.

نتیجه‌ها و بحث

شناسایی نقاط کوانتومی

مطالعه طیف‌سنجی FTIR نقاط کوانتومی تهیه‌شده و تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) و اندازه‌گیری بازده کوانتومی در گزارش پیشین این گروه پژوهشی ارائه شده است [۱۹]. در این مقاله تصویر TEM و AFM و تجزیه ارتفاع نقاط کوانتومی تهیه‌شده در شکل ۲ نشان داده شده است.

تصویر TEM (شکل ۲-الف) نشان می‌دهد که نقاط کوانتومی به‌خوبی در محلول پخش شده و اندازه قطر آن‌ها بین ۱ تا ۶ نانومتر است. همچنین، تصویر AFM و تجزیه ارتفاع (شکل ۲-ب و پ) تصویر سه بعدی نقاط کوانتومی را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود ارتفاع نقاط بین ۰/۵ تا ۲ نانومتر است و بدین ترتیب عمده نقاط کوانتومی گرافنی تهیه‌شده به‌صورت یک تا پنج لایه گرافنی وجود دارند [۲۰].

انجام نگرفت. برخی از این مواد شامل دی‌مرکاپرول، سیتریک اسید بی‌آب، مونواتانول‌آمین، جیوه اکسید و مواد شیمیایی دیگر از شرکت مرک خریداری شدند. از آب مقطر یون‌زدوده نیز استفاده شد. بافر فسفات با استفاده از ترکیب سدیم دی‌هیدروژن فسفات و دی‌سدیم هیدروژن فسفات تهیه شد. طیف جذبی نمونه با یک دستگاه طیف‌سنج (Agilent 8453 E) ثبت شد. مطالعه‌های فلورسانس با یک دستگاه فلوریمتری (JASCO fp-6500) انجام شد. تمام اندازه‌گیری‌ها در شرایط بهنجار^۱ آزمایشگاه و دمای محیط انجام گرفت.

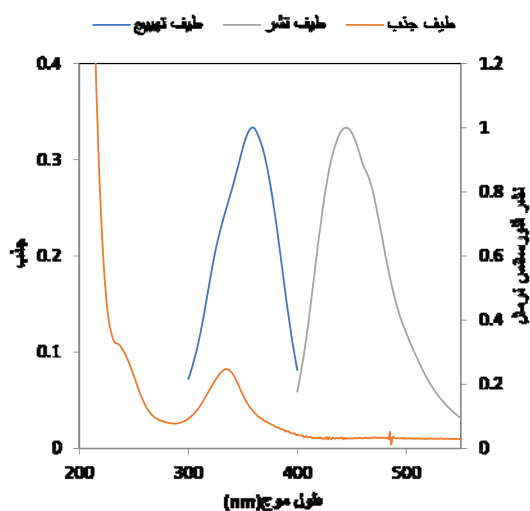
تهیه نقاط کوانتومی

نقاط کوانتومی گرافنی با روش شکست گرمایی سیتریک اسید و در ادامه عامل‌دار کردن با مونواتانول‌آمین به روشی که پیش‌ازین در آزمایشگاه خودمان توسعه داده شده بود، تهیه شد [۱۹]. بدین ترتیب که ابتدا ۲ گرم سیتریک اسید بی‌آب را داخل یک بشر و درون حمام روغن با دمای 190°C و به مدت ۲۵ دقیقه قرار داده شد. سپس سرد کرده و مقدار مناسب از این فراورده را با مقدار معینی از مونواتانول‌آمین (که از راه تیتراژ کردن به‌دست می‌آید) در آون با دمای 120°C به مدت ۶۰ دقیقه قرار داده شد. در پایان خمیر قهوه‌ای سوخته به‌دست‌آمده در آب مقطر یون‌زدوده حل شد و پس از تنظیم pH در ۷/۴ (با حجمی از محلول سود یا کلریدریک اسید)، به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد.

روش اندازه‌گیری دی‌مرکاپرول

اندازه‌گیری‌ها در دمای محیط و محلول بافر فسفات با غلظت ۰/۱ مولار و pH برابر با ۷/۴ انجام گرفت. ابتدا ۲ میلی‌لیتر از محلول نقاط کوانتومی با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر در بافر فسفات درون سل کوارتز دستگاه فلورسانس قرار گرفت. برای خاموش کردن فلورسانس نقاط کوانتومی، مقداری از محلول یون جیوه به این سل افزوده شد

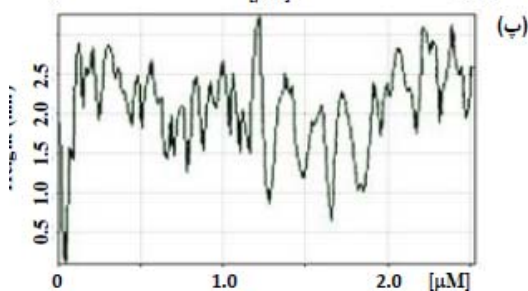
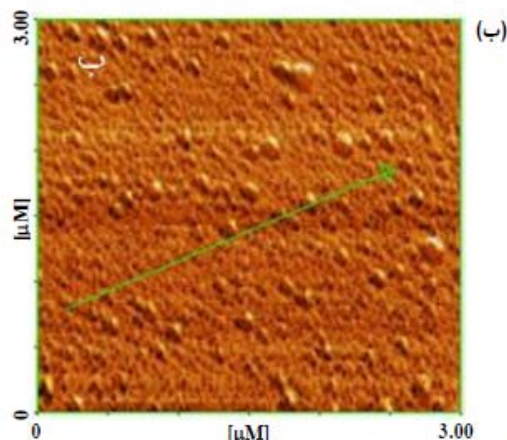
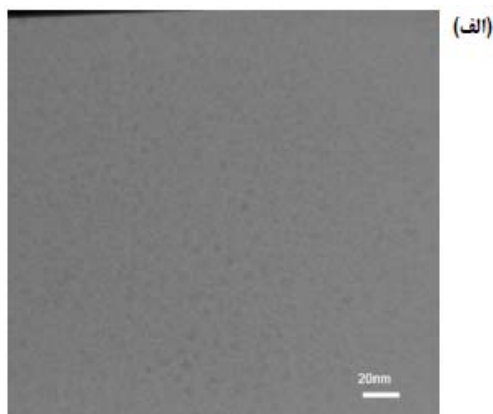
رنگ فلورسانس دارد. منحنی نشر و جذب این نقاط در شکل ۳ نشان داده شده است. همان طور که در شکل مشاهده می شود نقاط، دو پیک جذبی مشخص در طول موج های ۲۳۵ و ۳۳۵ نانومتر دارند. همچنین، نقاط کوانتومی گرافنی تهیه شده، می توانند با نور با طول موج بیشینه ۳۶۰ نانومتر تهییج شوند و نوری با طول موج بیشینه ۴۴۵ نانومتر نشر کنند. پهنای پیک نشری به نسبت باریک و نشان دهنده اندازه ذره های یکنواخت نقاط کوانتومی تهیه شده است.



شکل ۳ طیف جذبی (سمت چپ) و طیف بهنجار شده فلورسانس تهییج و نشر (سمت راست) محلول آبی نقاط کوانتومی گرافنی عامل دار شده

بررسی ها نشان داد که نشر فلورسانس نقاط کوانتومی تهیه شده در حضور یون جیوه خاموش می شوند و در صورتی که بتوان جیوه را از سطح آن جدا کرد به احتمال می شود فلورسانس نقاط را بازیابی کرد. بنابراین، از این ویژگی استفاده شد و یک روش جدید برای شناسایی و اندازه گیری داروی دی مرکاپرول طراحی شد. همچنین، مطالعه ها نشان داد که تشکیل کمپلکس جیوه با نقاط کوانتومی عامل دار و جداسازی جیوه از آن در یک فرایند سریع اتفاق می افتد

سال پانزدهم، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰

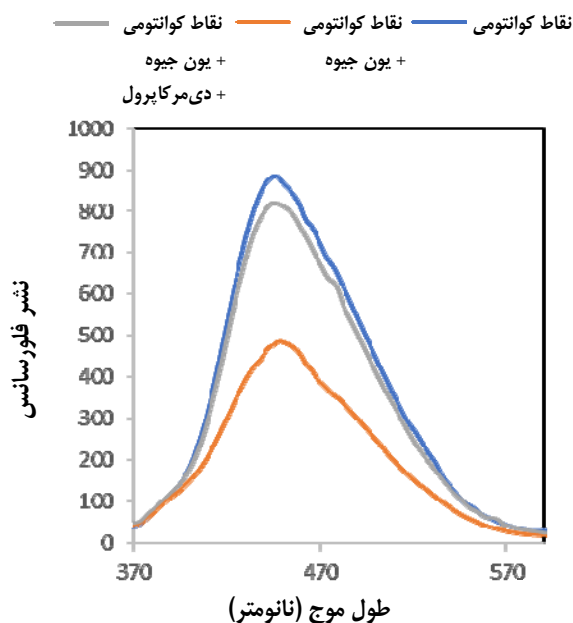


شکل ۲ تصویر TEM (الف)، تصویر AFM (ب) و آنالیز ارتفاع نقاط کوانتومی گرافنی (پ)

نشر فلورسانس نقاط کوانتومی و اثر یون جیوه و دی مرکاپرول بر نشر

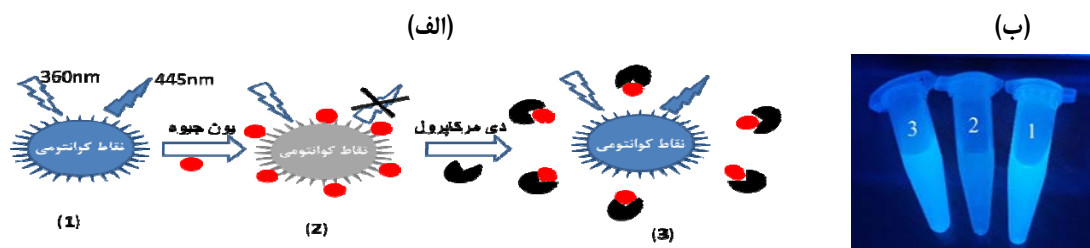
محلول آبی نقاط کوانتومی گرافنی تهیه شده رنگ سبز کم رنگ و تحت نور لامپ UV در ۳۶۰ نانومتر نشر آبی

نشریه پژوهش های کاربردی در شیمی (JARC)



شکل ۴ اثر یون جیوه و دی‌مرکاپرول بر نشر نقاط کوانتومی (غلظت نقاط کوانتومی: ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، غلظت یون جیوه: ۵ میکرومولار و غلظت دی‌مرکاپرول: ۱۰ میکرومولار)

به‌طوری که پس از گذشت یک دقیقه این فرایندها کامل می‌شوند. در شکل ۴ اثرهای حضور یون جیوه و دی‌مرکاپرول بر روی فلورسانس نقاط نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود نقاط کوانتومی یک پیک نشری قوی در طول موج ۴۴۵ نانومتر دارند که در حضور یون جیوه به‌طور قابل توجهی کم می‌شود. این اثر خاموشی مربوط به تشکیل کمپلکس یون جیوه با گروه‌های عاملی حاضر در سطح نقاط کوانتومی است که راه آسایش غیرتابشی گونه برانگیخته نقاط کوانتومی را از راه انتقال الکترون تقویت می‌کند. نشر فلورسانس در حضور دی‌مرکاپرول که کمپلکس قوی‌تری از راه گروه تیول با یون جیوه می‌دهد، بازیابی و موجب می‌شود که خاموشی فلورسانس به‌تقریب به‌صورت کامل باز شود. سازوکار این فرایند به صورت طرحواره در شکل ۵-الف ارایه و تصویر نقاط در حضور یون جیوه و دی‌مرکاپرول در زیر لامپ UV در شکل ۵-ب نشان داده شده است.

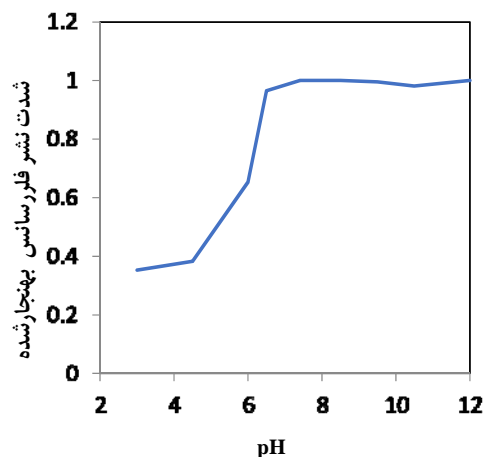
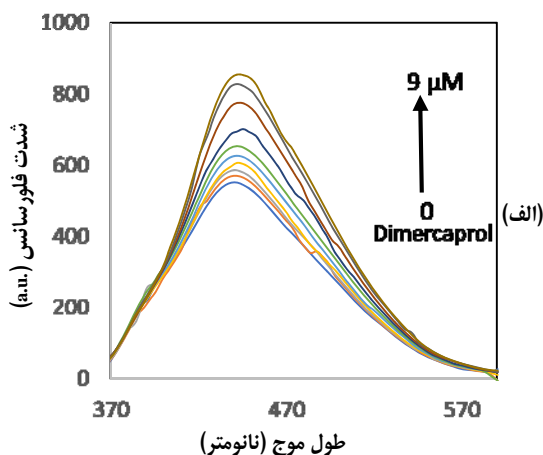


شکل ۵ طرحواره سازوکار خاموش و روشن‌شدن نقاط در حضور یون جیوه و دی‌مرکاپرول (الف) و تصویر نقاط در مراحل متفاوت زیر لامپ UV (ب)

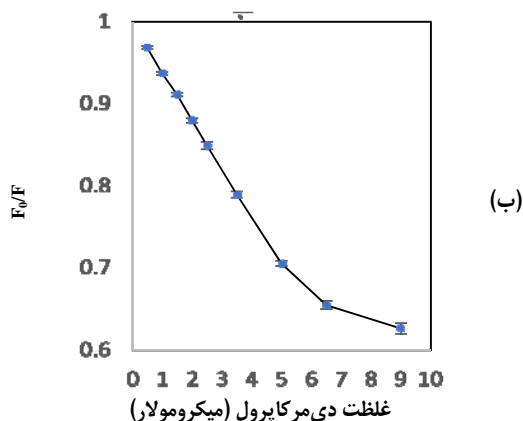
در نهایت از ۷ تا ۱۲ به‌تقریب ثابت می‌ماند. این رفتار را می‌توان به پروتون‌دار شدن یا پروتون‌زدایی گروه‌های عاملی آمینو بر سطح نقاط نسبت داد [۲۱ و ۲۲]. حضور بافر برای به‌دست‌آوردن نتیجه‌های تجزیه‌ای پایدار و ثبات قدرت یونی حین تجزیه‌ها لازم است، بنابراین، محلول بافر فسفات با غلظت ۰/۱ مولار و pH برابر با ۷/۴ در تمام اندازه‌گیری‌های این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت.

مطالعه اثر pH

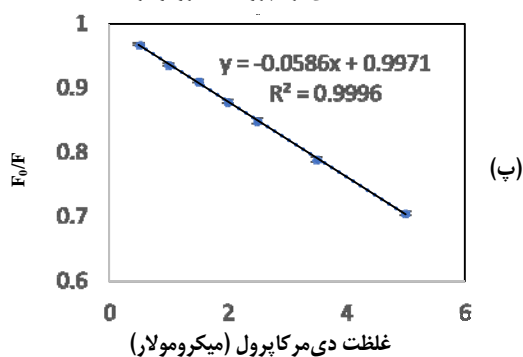
تأثیر pH بر ویژگی نوری نقاط کوانتومی در گستره pH ۳ تا ۱۲ بررسی شد. از محلول‌های ۰/۱ مولار NaOH و HCl برای تنظیم pH استفاده شد. همان‌طور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، شدت فلورسانس نقاط کوانتومی عامل‌دار شده با افزایش pH از ۳ تا ۵ با شیب ملایمی افزایش می‌یابد. سپس، از pH ۵ تا ۷ با شیب تندی افزایش می‌یابد و



شکل ۶ تغییرهای شدت فلورسانس نقاط کوانتومی عامل دار شده در pHهای متفاوت از ۳ تا ۱۲



(ب)



(ب)

شکل ۷ طیف فلورسانس نقاط کوانتومی در حضور مقادیر متفاوت دی‌مرکاپرول (صفر تا ۹ میکرومولار) (الف) و نمودار اشترن-ولمر در غلظت صفر تا ۹ میکرومولار (ب) و صفر تا ۵ میکرومولار (پ)

همان‌طور که از شکل ۷-ب مشاهده می‌شود، این معادله در غلظت‌های بالاتر از حدود ۶ میکرومولار از حالت خطی منحرف

در شکل ۷-الف اثر افزایش محلول داروی دی‌مرکاپرول بر شدت فلورسانس نقاط کوانتومی خاموش شده با جیوه، نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود افزایش غلظت دی‌مرکاپرول موجب بازیابی بیشتر فلورسانس می‌شود. این نتیجه به دلیل جدا شدن یون‌های جیوه از سطح نقاط و تشکیل کمپلکس پایدار با دی‌مرکاپرول است. یون‌های جیوه در ابتدا با تشکیل کمپلکس با عامل‌های شیمیایی موجود در لبه نقاط کوانتومی که شامل گروه‌های هیدروکسیل، کربوکسیل، آمینی و آمیدی هستند و از راه انتقال الکترون موجب خاموشی نقاط کوانتومی می‌شوند. بررسی‌ها نشان دادند که بازیابی فلورسانس نقاط کوانتومی برپایه رابطه اشترن - ولمر نسبت به غلظت دی‌مرکاپرول خطی است و به صورت معادله ۱ بیان می‌شود.

$$(F_0/F) = 1 + K_{SV}[Q] \quad (۱)$$

که در آن K_{SV} ثابت اشترن-ولمر، Q غلظت دی‌مرکاپرول، F_0 و F شدت فلورسانس نقاط کوانتومی پیش و پس از افزایش دی‌مرکاپرول است. در شکل ۷-ب نمودار اشترن-ولمر برای غلظت صفر تا ۹ میکرومولار دی‌مرکاپرول رسم شده است.

شده با مونواتانول‌آمین یک روش تجزیه غیرمستقیم برای داروی دی‌مرکاپرول در محیط آبی ابداع شد. این روش برای تهیه نقاط کوانتومی از واکنشگرهای ساده، ارزان قیمت و در دسترس و نیز حساسیت بسیار بالای نقاط کوانتومی نسبت به غلظت دی‌مرکاپرول (حد تشخیص ۵۰ نانومولار)، یک روش ساده، ارزان قیمت، سریع و تکرارپذیر برای اندازه‌گیری دی‌مرکاپرول است. بنابراین، این روش می‌تواند به‌عنوان روشی مطمئن برای پژوهشگران علوم پزشکی که در زمینه داروی دی‌مرکاپرول فعالیت می‌کنند و همچنین، پژوهشگران صنایع دیگر مانند استخراج فلزها برای اندازه‌گیری دی‌مرکاپرول در محیط آبی قرار گیرد.

می‌شود بنابراین، در شکل ۷-پ معادله خطی بین غلظت دی‌مرکاپرول و مقدار بازیابی فلورسانس نقاط کوانتومی در غلظت صفر تا ۵ میکرومولار رسم شده است که به‌صورت خطی و با ضریب تعیین برابر با ۰/۹۹۹ است. حد تشخیص این روش $3S_b/m$ که در آن S_b انحراف استاندارد محلول شاهد و m شیب منحنی واسنجی است، محاسبه شد و مقدار آن ۵۰ نانومولار بود. انحراف استاندارد نسبی برای شش بار اندازه‌گیری متوالی محلول ۲ میکرومولار دی‌مرکاپرول محاسبه شد که برابر با ۰/۵٪ بود.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه از ویژگی تشکیل کمپلکس قوی بین جیوه با دی‌مرکاپرول و با استفاده از نقاط کوانتومی اصلاح-

مراجع

- [1] Lin, L.; Rong, M.; Luo, F.; Chen, D.; Wang, Y.; Chen, X.; *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 54, 83-102, 2014.
- [2] Liu, H.; Ye, T.; Mao, C.; *Angew andte Chemie International Edition* 46(34), 6473-5, 2007.
- [3] Baker, SN.; Baker, GA.; *Angew andte Chemie International Edition* 49(38), 6726-44, 2010.
- [4] Qu, Q.; Zhu, A.; Shao, X.; Shi, G.; Tian, Y.; *Chemical communications* 48(44), 5473-5, 2012.
- [5] Yuan, C.; Liu, B.; Liu, F.; Han, M-Y.; Zhang, Z.; *Analytical chemistry* 86(2), 1123-30, 2014.
- [6] Fowley, C.; McHale, AP.; McCaughan, B.; Fraix, A.; Sortino, S.; Callan, J.F.; *Chemical Communications* 51(1), 81-4, 2015.
- [7] Mewada, A.; Pandey, S.; Thakur, M.; Jadhav, D.; Sharon, M.; *Journal of Materials Chemistry B* (6)2, 705-698, 2014.
- [8] Tetsuka, H.; Asahi, R.; Nagoya, A.; Okamoto, K.; Tajima, I.; Ohta, R.; Okamoto, A.; *Advanced Materials* 24(39), 5333-8, 2012.
- [9] Luo, P.; Ji, Z.; Li, C.; Shi, G.; *Nanoscale* 5(16), 7361-7, 2013.
- [10] Shen, J.; Zhu, Y.; Chen, C.; Yang, X.; Li, C.; *Chemical Communication* 47(9), 2580- 2, 2011.
- [11] Jiang, X.; Kou, Y.; Lu, J.; Xue, Y.; Wang, M.; Tian, B.; Tan, L.; *Journal of Fluorescence* 30(2), 301-8, 2020.
- [12] Liu, Z.; Mo, Z.; Niu, X.; Yang, X.; Jiang, Y.; Zhao, P.; Liu, N.; Guo, R. *Journal of Colloid and Interface Science* 566, 357-68, 2020.
- [13] Sheng, L.; Huangfu, B.; Xu, Q.; Tian, W.; Li, Z.; Meng, A.; *Journal of Alloys and Compounds* 820, 153191, 2020.
- [14] Vilensky, J.A.; Redman, K.; *Annals of Emergency Medicine* 41(3), 378-83, 2003.
- [15] Cumings, J.; *Brain* 71(4), 410-5, 1948.
- [16] Aggarwal, A.; Bhatt, M.; "Advances in Treatment of Wilson Disease", *Tremor and Other Hyperkinetic Movements* 8, 525, 2018.
- [17] Szekeres, L.I.; Gyurcsik, B.I.; Kiss, T.S.; Kele, Z.N.; Jancsó, A.; *Inorganic Chemistry* 57(12), 7191-20, 2018.
- [18] Johnson, C.A. (Chairman of the WHO Expert Committee); "The International

- Pharmacopoeia", 3rd Edition, Vol. 1: General Methods of Analysis, World Health Organization (WHO), Geneva, 1979.
- [19] Amini, M.H.; Faribod, F.; Ganjali, M.R.; Norouzi, P.; Research on Chemical Intermediates 43(12), 7457-70, 2017.
- [20] Liu, R.; Wu, D.; Feng, X.; Muiien, K.; Journal of the American Chemical Society 133(39), 15221-3, 2011.
- [21] Guo, Y.; Wang, Z.; Shao, H.; Jiang, X.; Carbon 52, 583-9, 2013.
- [22] Li, X.; Zhang, S.; Kulinich, SA.; Liu, Y.; Zeng, H.; Scientific Reports 4(1), 1-8, 2014.