

研究论文

对苯二酚在 DMPC 仿生膜上的电化学反应

邱 瑾, 陈声培, 田 利, 曾冬梅, 甄春花, 孙世刚

(厦门大学固体表面物理化学国家重点实验室, 化学化工学院化学系, 福建 厦门 361005)

摘要: 在金电极上构筑一种双肉豆蔻磷脂酰胆碱 (DMPC) 仿生浇铸膜。经椭圆偏振仪和电化学方法测量证实, DMPC 仿生膜是较为致密的多层膜, 同时对苯二酚能够透过 DMPC 仿生膜到达金电极表面进行氧化反应。结果表明, 对苯二酚不仅可在脂质膜中进行电子转移, 而且是一种重要的生物分子。反应在仿生环境内进行, 也为研究生物小分子在真正的生物体内的反应提供有益的帮助。本文探讨对苯二酚在仿生膜修饰电极上的电化学反应, 为生物膜中的电子转移过程提供了十分重要的信息。

关键词: 对苯二酚; DMPC; Au 电极**中图分类号:** O 064**文献标识码:** A**文章编号:** 0438-1157 (2008) S1-038-05

Electrochemical behavior of *p*-dihydroxybenzene in DMPC biomimetic membrane

QIU Jin, CHEN Shengpei, TIAN Li, ZENG Dongmei, ZHEN Chunhua, SUN Shigang

*(State Key Laboratory for Physical Chemistry of Solid Surfaces, College of Chemistry and
Chemical Engineering, Department of Chemistry, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China)*

Abstract: The casting method to form dimyristoyl phosphatidyl choline (DMPC) mimetic biomembrane on an Au electrode is proposed. The results of ellipsometer and electrochemical methods confirmed that the film is a compact membrane that can block the electron transferring process. *p*-Dihydroxybenzene can reach the electrode surface and occur redox reactions by passing through transient defects in individual bilayers. Such defects occur in biomembranes and are accentuated by relatively small electric fields. The electrochemical behavior of *p*-dihydroxybenzene in this membrane was also investigated. *p*-Dihydroxybenzene is biologically important molecule because of its function of transferring electrons in lipid layers. This reaction occur in the bionic environment, which provide the useful help to study the real reaction of small molecules in the biological organisms. Studies on the electrochemical behavior of *p*-dihydroxybenzene in the DMPC biomimetic membrane provide useful information for elucidating biological electron transfer processes concerning lipid layers.

Key words: *p*-dihydroxybenzene; dimyristoyl phosphatidyl choline; Au electrode

引 言

生物膜特有的双层脂膜结构是属于生命的一种基本结构, 它维持细胞各部位的结构有序性, 具有

物质输送、能量转换、代谢调控、信息传递以及分子或细胞识别功能^[1]。Kunitake 等^[2]发现, 将不溶于水的表面活性剂从有机溶剂中浇铸到固体表面, 待有机溶剂挥发后, 固体表面可自发形成一种

2008-11-14 收到初稿, 2008-11-24 收到修改稿。

联系人: 陈声培。第一作者: 邱瑾 (1983-), 女, 硕士研究生。**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (20833005, 20873116)。**Received date:** 2008-11-14.**Corresponding author:** CHEN Shengpei, associate professor.**E-mail:** shpchen@xmu.edu.cn**Foundation item:** supported by the National Natural Science Foundation of China (20833005, 20873116).

有序膜，这种有序膜可以看作双层膜的堆积体。若在固体表面浇铸的表面活性剂为磷脂，由于双层磷脂膜是生物膜的一个基本结构单元，则该磷脂浇铸膜应具有类似于生物膜的性质，也可看作一种生物膜的模型^[2-4]。

在 20 世纪 90 年代初，Rusling 等^[5-7] 和 Nakashima 等^[8-9] 就开始研究嵌入浇铸膜中的小分子的电化学反应，结果发现浇铸膜具有良好的电荷传输功能。随后，Rusling 等又研究了多种蛋白质，如肌红蛋白^[10]、细胞色素 P450cam^[11] 等在浇铸膜内的电化学反应，均已取得良好的实验结果。汪尔康等^[12-14] 在玻碳 (GC) 电极表面制备磷脂浇铸膜，研究仿生膜内固定的多巴胺对抗坏血酸的氧化作用以及多巴胺对 NADH 的催化氧化，研究磷脂浇铸膜内固定的二茂铁对抗坏血酸的催化氧化行为以及膜内固定的二茂铁对多巴胺的催化氧化行为等。目前，关于浇铸膜的研究已引起人们越来越多的关注。

对苯二酚极具电活性、易氧化，是化学和生物过程中的重要物质，且与生理、医学 and 环境保护密切相关，因此被广泛研究。本文将双肉豆蔻磷脂酰胆碱 (DMPC) 浇铸到金电极表面，构筑一种磷脂浇铸膜，以此作为一种模拟生物膜，对其模型结构以及电学性质进行探索。同时，在仿生的环境内研究对苯二酚在该仿生膜上的电化学反应。

1 实验材料和方法

1.1 实验气体和试剂

高纯氮气 (N_2)、 H_2SO_4 、 $K_3Fe(CN)_6$ 、 $K_4Fe(CN)_6$ 、 $CHCl_3$ 、 KH_2PO_4 、 $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 、对苯二酚 ($C_6H_6O_2$) 购自国药集团化学试剂有限公司；双肉豆蔻酰磷脂酰胆碱 (phospholipid-DMPC, $C_{36}H_{72}NO_7P$) (Sigma 公司)，溶液均用 Milli-Q 超纯水 ($18 M\Omega \cdot cm$) 配制。

1.2 实验仪器

采用法国 Jobin Yvon 的 Uvisel FUV 椭圆偏振仪测量 DMPC 膜厚度。电化学仪器为 CHI660A 型电化学工作站 (上海辰华公司)。

1.3 DMPC 仿生膜制备

金电极先用 1、0.3、0.05 μm Al_2O_3 粉抛光，超声清洗后用超纯水冲洗干净，置入 $0.1 mol \cdot L^{-1}$ 硫酸中进行循环伏安扫描清洗电极，取出后用超纯

水冲洗，再用氮气吹干。将 DMPC 溶于氯仿中，使其浓度为 $1 mg \cdot ml^{-1}$ ，用微量进样器抽取 $20 \mu l$ 该溶液，浇铸到金电极表面上，用烧杯罩住电极，放置约 30 min 使氯仿挥发，即可在电极表面获得稳定的 DMPC 浇铸膜^[13]。

2 实验结果与讨论

2.1 DMPC 仿生膜表征

2.1.1 DMPC 仿生膜的可能构型 浇铸膜被认为是可自发形成的有序的双层膜堆积体，其基本结构单元是磷脂双层膜。双肉豆蔻磷脂酰胆碱 (DMPC) 分子包含一个极性头基 (一个带负电的磷酸盐和一个带正电的胺基)，两个疏水的碳氢链通过酯的酰基和这个支柱连接。图 1 是文献报道的 DMPC 单分子吸附在电极表面的示意图^[15-16]，DMPC 单层膜的厚度约为 $2.4 nm$ ^[17-18]，极性头基的一端吸附在电极表面上，疏水的酰基链以一定的角度向外倾斜。在相变温度下，脂肪酰链排列紧密。

图 2 为 DMPC 仿生膜的可能构型图。本文采

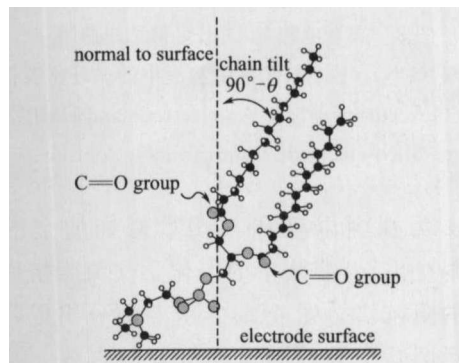


图 1 DMPC 单分子吸附在电极表面的示意图
Fig. 1 Schematic illustration of DMPC molecule adsorbed on electrode surface

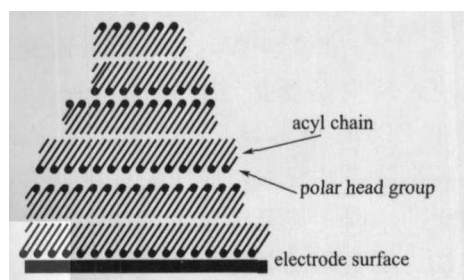


图 2 多层 DMPC 仿生膜构型示意图
Fig. 2 Schematic presentation of proposed model diagram of DMPC casting film adsorbed on electrode surface

用椭圆偏振仪对浇铸膜进行多次测量，其最大厚度约为 13 nm，相当于 5~6 个单层。但膜表面存在不同厚度，表明膜本身还不是非常均匀。

2.1.2 DMPC 仿生膜组装前后电化学性质的比较
图 3 给出裸金电极与 DMPC 膜修饰电极在 $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 溶液中的循环伏安图对比。裸金电极的循环伏安图中出现一对可逆的氧化还原峰，但在修饰后的电极上无论是峰电位还是峰强度均已发生了显著的变化，即铁氰化钾的一对特征峰电流明显下降，表明 DMPC 已经修饰到金电极上。

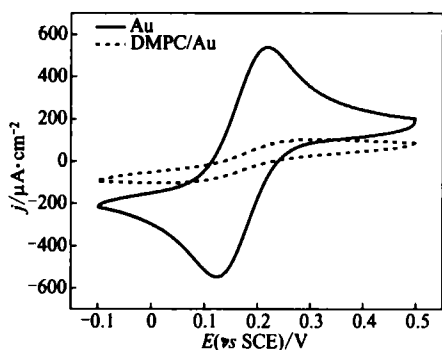


图 3 裸金电极与 DMPC 修饰电极在 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 溶液中的循环伏安图
Fig. 3 CV curve of bare Au electrode and DMPC/Au modified electrode in ferricyanide solutions

图 4 为裸金电极和 DMPC 修饰的金电极在 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/-3-}$ 溶液中的电化学交流阻抗图。裸金电极的阻抗谱 [图 4(a)] 由 3 部分组成，高频区域的半圆，中频的圆弧和低频的直线。其中高频区域的半圆可指认为金电极和溶液的界面阻抗，中频区域的圆弧为金电极的电荷传递阻抗，低频为表示扩散过程的直线。图 4(a) 中高频半圆和中频圆弧都很小，说明在此情况下， $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/-3-}$ 非常容易到达电极表面发生氧化还原反应，反应是受扩散控制的过程。图 4(b) 是组装上 DMPC 修饰膜后的阻抗谱，从图中可见，高频半圆明显变大，而中频区域变大为一个半径很大的半圆，甚至抑制了高频半圆和低频的扩散直线。说明此时电极上具有阻碍电子转移的物质，界面阻抗增大，电荷传递电阻急剧增大，其电子传输能力明显下降，进而证明电极上已经充分组装上一层致密的 DMPC 膜。

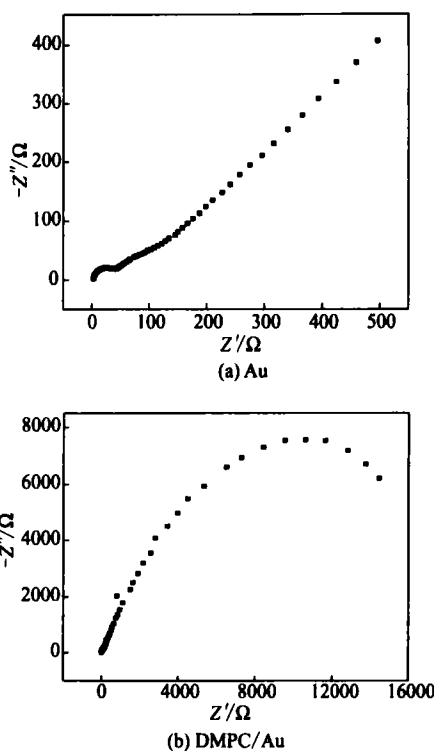


图 4 裸金电极和 DMPC 修饰电极阻抗图
Fig. 4 EIS of bare Au electrode and DMPC/Au modified electrode in ferricyanide solutions

2.2 对苯二酚在金电极和 DMPC 修饰电极上的电化学反应

图 5 是 DMPC 修饰电极与裸金电极在含有 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 对苯二酚的 PBS 缓冲溶液 (pH6.7) 中的循环伏安图，插图是放大的 DMPC 修饰电极与裸 Au 电极在 PBS 缓冲溶液中的 CV 曲线。从图中可以观察到，DMPC 修饰后对苯二酚的起始氧化电位推迟，同时氧化峰电流较裸金电极小了很

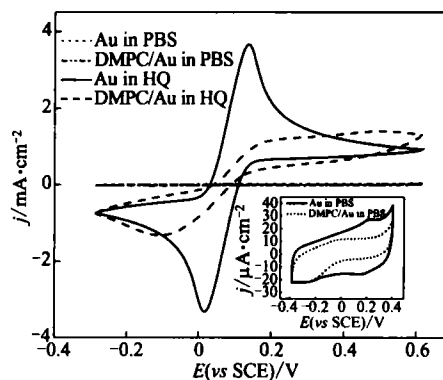


图 5 DMPC 修饰电极与裸金电极在 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 对苯二酚的 PBS 缓冲溶液中的循环伏安图
Fig. 5 CV curve of bare Au electrode and DMPC/Au modified electrode in PBS and PBS + $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HQ

多, 且还原峰电位比裸金电极更负。可见修饰电极对对苯二酚在金电极上的响应具有很大的影响。Rusling 等^[10]认为, 只要在一个微弱电场的作用下, 浇铸膜便会在每个双层单元结构中产生微小的缺陷, 这样的缺陷可使小分子穿过膜。因此 CV 结果可以说明, 对苯二酚分子能够穿过 DMPC 仿生膜到达电极表面。

图 6 是修饰电极在对苯二酚溶液中的循环伏安氧化峰电流与扫描速率之间的关系, 扫描速率范围为 $50 \sim 300 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 。实验结果表明, 峰电流与扫描速率的平方根呈正比, 即对苯二酚在 DMPC 膜中的电子传输过程是受扩散控制的。根据 Randles-Sevcik 公式, 在 25°C 时的简化扩散方程为

$$j_p = -2.69 \times 10^5 n^{3/2} c_0^0 D^{1/2} v^{1/2}$$

可知 $j_p/v^{1/2} = 0.0188361$, 对苯二酚初始浓度 $c_0^0 = 1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-3}$, 反应的电子传递数 $n=2$, 从而计算出扩散系数 $D=6.13 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ 。

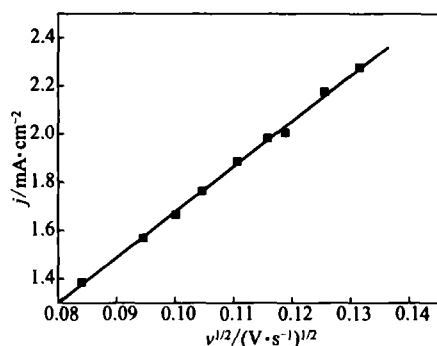


图 6 修饰电极在对苯二酚溶液中的循环伏安氧化峰电流与扫描速率的关系

Fig. 6 Relationship between peak current measured in CV recorded in PBS+10 mmol · L⁻¹ HQ on DMPC/Au modified electrode and square root of scan rate

3 结 论

本文运用椭圆偏振光谱、电化学循环伏安和电化学交流阻抗等方法, 制备和探索了 DMPC 仿生膜及其性质, 同时还对对苯二酚在该仿生膜上的电化学生行为进行了研究, 得到以下结论。

(1) 在金电极上构筑一种双肉豆蔻磷脂酰胆碱 (DMPC) 仿生浇铸膜。经椭圆偏振仪和电化学方法测量证实, DMPC 仿生膜是较为致密的多层膜, 但其厚度不太均匀。测得 DMPC 仿生膜的厚度大约为 13 nm, 即 5~6 个单层。

(2) 对苯二酚分子可以穿过 DMPC 仿生膜到

达电极表面发生电氧化生成苯醌。相对裸金电极, 对苯二酚的起始氧化电位较正, 氧化峰电流显著减小。表明对苯二酚在 DMPC 仿生膜中的电子传输过程为受扩散控制的过程, 测得扩散系数 $D=6.13 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ 。

(3) 对苯二酚不仅可在脂质膜中进行电子转移, 而且是一种重要的生物分子。反应在仿生环境内进行, 也为研究生物小分子在真正的生物体内的反应提供有益的帮助。本文探讨对苯二酚在仿生膜修饰电极上的电化学生行为, 为生物膜中的电子转移过程提供了十分重要的信息。

References

- [1] Wang Erkang (汪尔康), Huang Weimin (黄卫民). 分子仿生——仿生膜体系的电化学生研究. *Scientific Chinese* (科学中国人), 2004 (4): 32
- [2] Nakashima N, Ando R, Kunitake T. Casting of synthetic bilayer membranes on glass and spectral variation of membrane-bound cyanine and merocyaninedyes. *Chem. Lett.*, 1983, **12**: 1577-1580.
- [3] Kunitake T, Shimomura M, Kajiyama T, Harada A, Okuyama K, Takayanagi M. Ordered cast films of an azobenzene-containing molecular membrane. *Thin Solid Films.*, 1984, **121**: L89-L91
- [4] Kunitake T, Tsuge A, Nakashima N. Immobilization of ammonium bilayer membranes by complexation with amionic polymers. *Chem. Lett.*, 1984, **13**: 1783-1786
- [5] Rusling J F, Zhang H. Multilayer films of cationic surfactants on electrodes. Control of charge transport by phase. *Langmuir.*, 1991, **7**: 1791-1796
- [6] Hu N, Rusling J F. Surfactant-intercalated clay films for electrochemical catalysis. Reduction of trichloroacetic acid. *Anal. Chem.*, 1991, **63**: 2163-2168
- [7] Zhang H, Rusling J F. Preconcentration and catalysis in reduction of aliphatic organohalides using surfactant-casted electrodes. *Talanta.*, 1993, **40**: 741-747
- [8] Nakashima N, Masuyama M, Mochida M, Kunitake M, Manabe O. Regulation of electron transfer reaction of a flavin incorporated into synthetic lipid films on electrodes based on phase transition of molecular bilayers. *J. Electroanal. Chem.*, 1991, **319**: 355-359
- [9] Nakashima N, Wake S, Nishino T, Kunitake M, Manabe O. Phase-transition dependent electron transfer of electrodes coated with multi bilayer films of a ferrocene-carrying synthetic lipid characterized by cyclic voltammetry and chronocoulometry. *J. Electroanal. Chem.*, 1992, **333**: 345-351
- [10] Rusling J F, Nassar A E F. Enhanced electron transfer for myoglobin in surfactant films on electrodes. *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**: 11891-11897
- [11] Zhang Z, Nassar A E F, Lu Z, Schenkman J B, Rusling J F. Direct electron injection from electrodes to cytochrome

- P450cam in biomembrane-like films. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, 1997, **93** (9): 1769-1774
- [12] Wu Zhengyan (吴正岩). Electrochemistry research on mimetic biomembranes [D]. Changchun: Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, 2000
- [13] Wu Zhengyan (吴正岩), Tang Jilin (唐纪琳), Wang Erkang (汪尔康). Oxidation of ascorbic acid by dopamine incorporated in mimetic biomembrane. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* (分析化学), 2001, **29** (8): 881-884
- [14] Bin X M, Lipkowski J. Electrochemical and PM-IRRAS studies of the effect of cholesterol on the properties of the headgroup region of a DMPC bilayer supported at Au(III) electrode. *J. Phys. Chem. B*, 2006, **110**: 26430-26441
- [15] Horswell S L, Zamlyny V, Li H Q, Merrill A R, Lipkowski J. Electrochemical and PM-IRRAS studies of potential controlled transformations of phospholipid layers on Au(III) electrodes. *The Royal Society of Chemistry Faraday Discuss.*, 2002, **121**: 405-422
- [16] Snyder R G, Hsu S L, Krimm S. Vibrational spectra in the C-H stretching region and the structure of the polymethylene chain. *Spectrochim. Acta*, 1997, **34**: 395-406
- [17] Horber J K H, Lang C A, Hansch T W, Heckl W M, Mohwald H. Scanning tunneling microscopy of lipid films and embedded biomolecules. *Chem. Phys. Lett.*, 1988, **145**: 151-158
- [18] Hauser H, Pascher I, Pearson R H, Sundell S. Preferred conformation and molecular packing of phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine. *Biochim. Biophys. Acta*, 1981, **650**: 21-51