

文章编号: 1000-2243(1999)S0-0063-02

某些生物活性肽的电化学和电致化学发光特性研究

王建¹, 池毓务¹, 陈曦², 陈国南¹

(1. 福州大学化学系, 福建 福州 350002; 2. 厦门大学化学系, 福建 厦门 361005)

摘要: 探讨了某些生物活性肽的电化学和电致化学发光特性的联系。

关键词: 电致化学发光; 电化学; 生物活性肽

中图分类号: O657.3

文献标识码: A

研究了含有氨基酸残基的肌肽、酪甘甘肽和甘色肽的电化学行为与电致化学发光特性。有关肽的电致化学发光研究报道目前还较少^[1]。

1 电化学性质

在 pH 10.0 的饱和磷酸氢二钠缓冲液中, 于 1.2~0.0V 方向, 以 100mV/s 的扫描速度进行循环伏安扫描。肌肽、酪甘甘肽没有给出明显的氧化还原峰, 甘色肽也只是在 0.95V 处产生了一个微弱的氧化峰。于 1.3~0.0V 方向, 以 10mV/s 的扫描速度进行微分脉冲伏安扫描。肌肽仍然没有明显的氧化还原峰; 而甘色肽在 850mV 处给出了一个尖锐的, 较灵敏的氧化峰, 只是对称性较差; 酪甘甘肽则在 740mV 处给出了一个对称性和灵敏度都较好的氧化峰。实验表明, 在裸玻碳电极上, 含有酪氨酸的酪甘甘肽、含色氨酸的甘色肽有电化学活性, 而肌肽没有明显的电化学活性。另外, 实验中还发现在对小分子活性肽连续多次进行 CV 扫描或 DPV 扫描时, 肽的氧化峰电位及峰电流都有变化, 峰电位逐渐正移, 峰电流逐渐下降。说明小分子活性肽在玻碳电极上表现出强烈吸附性, 引起电极钝化。

2 电致化学发光特性

将钌联吡啶 ($\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$) 电致化学发光用于生物活性肽的分析。 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 与注入的肽同时流经电解池, 然后被电解池内的玻碳电极直接氧化为 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$, $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ 再和氧化的肽反应而发光。结果表明: 流动体系中, 钌联吡啶在大于 1300mV 的直流电压下能产生化学发光, 而在脉冲电压下无电致化学发光现象。在 1~100 $\mu\text{mol/L}$ 范围内, 肌肽或酪甘甘肽的浓度与其增强钌联吡啶化学发光的值呈线性关系, 检出限分别为 0.12nmol、81.5 pmol。在 1.0~1000 $\mu\text{mol/L}$ 范围内, 甘色肽的浓度与其抑制钌联吡啶化学发光的值呈线性关系, 检出限为 0.23nmol。

3 电致化学发光性质讨论

收稿日期: 1999-06-01

作者简介: 王建 (1973-), 男, 助教, 硕士。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (296750003); 福建省自然科学基金资助项目 (B9810006)

胺类化合物的结构和电致化学发光特性之间的联系目前尚未详细研究^[2-3]。例如:许多芳香叔胺类化合物会产生强烈的电致化学发光发射;但另一些与其结构相似的化合物,却没有电致化学发光发射。实验表明,小分子肽增强 Ru(bpy)₃²⁺ 电致化学发光的程度要明显小于氨基酸:这可能是因为肽的分子结构较大,在固体电极(玻碳电极)上易产生吸附,减小了玻碳电极的有效工作面积。对还原型谷胱甘肽(GSH)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)、肌肽(甘-组肽)、甘色肽,酪甘甘肽等的电化学活性测定结果证明:含色氨酸、酪氨酸、半胱氨酸残基的肽在较高电压下有弱的电活性,而肌肽,氧化型谷胱甘肽在电极上观察不到明显的电流。对有电活性的肽试样进行的多阶扫描结果表明:小分子肽由于分子结构较大,易吸附在电极上引起电极钝化及肽的变性。随扫描次数的增加,阴极峰电流(I_{pc})和阳极峰电流(I_{pa})均减少,当扫描至 4 至 5 次时,电流峰消失,与底液基本重迭。

笔者认为:氧化型谷胱甘肽、肌肽、酪甘甘肽会增强发光,甘色肽、还原型谷胱甘肽会抑制发光的现象,可能是由于肽分子的结构不同导致不同的吸附性,含有巯基、咪唑基团的肽吸附性较强,含有羟基、吡啶基的肽吸附性较弱,含有二硫键的 GSSG 虽然也有吸附性,但由于其分子结构较大,二硫键不易暴露,导致吸附性较小。

由于肽分子结构复杂,肽中的电致化学发光基团与电活性基团并不一致,所以其电化学活性与其电致化学发光特性并没有直接联系。而电致化学发光技术能同时获得电解电流和电致化学发光强度,这 2 个物理量为我们提供了待测分子的不同信息,这就使我们有可能只要通过简单实验,就增加检测出物的种类。例如:谷胱甘肽,在生物体内有还原型及氧化型 2 种,比例约为 500:1,氧化型谷胱甘肽有良好的电致化学发光活性,还原型谷胱甘肽则有良好的电活性,通过选择合适的色谱分离条件,就有可能进行分离测定。

参考文献:

- [1] 陈曦,佐藤昌宪. 氨基酸和肽的电致化学发光流动注射分析. 分析科学学报, 1998, 14(4): 278~281.
- [2] Knight A W, Greenway G M. Relationship between structural attributes and observed electrogenerated chemiluminescence (ECL) activity of tertiary amines as potential analytes for the tris(2,2'-bipyridine) ruthenium (II) ECL reaction. Analyst, 1996, 121: 101R.
- [3] Skotty D R, Lee W Y, Nieman T A. Determination of dansyl amino acids and oxalate by HPLC with electrogenerated chemiluminescence detection using tris(2,2'-bipyridyl) ruthenium (II) in the mobile phase. Anal Chem, 1996, 68: 1530.

A Study on Electrochemical Activity and ECL Properties of Some Bioactive Peptides

WANG Jian¹, CHI Yu-wu¹, CHEN Xi², CHEN Gou-nan¹

(1. Department of chemistry, Fuzhou University, Fujian Fuzhou 350002, China; 2. Department of Chemistry, Xiamen University, Fujian Xiamen 361005, China)

Abstract: The relativity of the peptides' electrochemistry active and chemiluminescence intensity information are investigated. The electrochemiluminescence behavior of some bioactive peptides was studied by FIA-ECL. These peptides' electrochemistry active at the glassy carbon electrode was also studied using a BAS-100 model electrochemical analyzer.

Keywords: electrochemiluminescence determination; bioactive peptides; electrochemistry.