

烟酰胺在玻碳及聚吡咯修饰电极上的电化学反应

程发良*, 洪 茜¹, 莫金垣², 戴晓云³

(东莞理工学院应用化学系, 东莞 511700; ¹ 东莞市莞城医院, 东莞 511700;

² 中山大学化学系, 广州 510275; ³ 香港科技大学生化系)

摘要 目的: 研究烟酰胺在玻碳电极及聚吡咯电极上的电化学反应, 有助于了解其在人体内的代谢情况。方法: 在不同酸度的支持电解质溶液中, 分别研究了烟酰胺在玻碳电极和聚吡咯修饰电极上的电化学信息, 测试了不同电位范围内烟酰胺的循环伏安电化学信号和电化学反应产物的红外、紫外光谱。结果: 在玻碳电极表面, 烟酰胺可被分两步电化学还原为二氢吡啶和四氢吡啶结构。四氢吡啶结构的电化学还原产物有电活性, 可被分步氧化为环内共轭双键结构和烟酰胺。结论: 支持电解质的酸度对氧化还原峰的电流影响较大; 聚吡咯(PPy)膜对烟酰胺的还原反应有电化学催化作用。提出了烟酰胺电化学反应的机理。

关键词 烟酰胺; 循环伏安法; 聚吡咯; 化学修饰电极; 光谱电化学

烟酰胺是辅酶 I 和辅酶 II 的组成部分。这两种酶是在人体生物氧化还原反应过程中起递氢作用的脱氢酶的辅酶。在人体内可促进糖酵解、脂肪分解、丙酮酸代谢和高能磷酸键的生成等。临床主要用于防治烟酸缺乏症。研究烟酰胺的电化学行为有助于了解其在人体内的代谢情况。烟酰胺含量的测定方法目前主要有紫外分光光度法^[1]、色谱法^[2]、毛细管色谱法^[3]等, Bunting^[4]对烟酰胺辅酶催化还原反应的机理进行了研究。本文根据聚吡咯膜对烟酰胺的催化还原性质, 提出了烟酰胺含量的电化学催化分析方法。方法的线性范围为 $1.0 \times 10^{-2} \sim 1.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。用于注射液中烟酰胺含量的测定, 结果良好。

材 料 与 方 法

仪器与试剂 XJP-821(B)型新极谱仪(江苏电分析仪器厂), 3083 型 X-Y 记录仪(四川仪表四厂), Nicolet 205 型 FT-IR 红外光谱仪, Shimadzu-240 型紫外光谱仪, 三电极系统: 玻碳电极(GCE)或聚吡咯(PPy)修饰玻碳电极为工作电极(玻碳电极每次使用前需经 1 200 目金相砂纸和 $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ 抛光成镜面并用双蒸水冲洗干净, 在支持电解质空白溶液中循环

伏安扫描处理), Pt 柱电极为对电极, 饱和甘汞电极(SCE)为参比电极。

烟酰胺(nicotinamide, NA), 生化试剂, 上海生化试剂二厂; 吡咯(Py), 化学纯, 在氮气保护下减压蒸馏成无色液体; $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ (色谱用); KBr(光谱纯); 其余试剂为分析纯, 实验用水为二次石英蒸馏水。

聚吡咯修饰电极的制备 将处理好的玻碳电极浸入含有 $0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Py 的磷酸盐缓冲溶液(pH 3.0)中, 在 -0.1 V 到 0.7 V 之间循环伏安扫描约 20 次, 在玻碳电极表面明显可见一层浅紫色的聚吡咯膜, 此即 PPy 修饰的玻碳电极。

循环伏安实验 将三电极系统插入烟酰胺的磷酸盐缓冲溶液中, 充分通氮气除氧后, 在氮气气氛保护下, 于选定的电位区间循环伏安扫描, 同时在记录仪上记录电流-电位(CV)曲线。

光谱鉴定 红外光谱实验是用大面积的玻碳电极在恒定电位下氧化或还原高浓度的烟酰胺溶液后, 将电极表面上的氧化还原产物和 KBr 研磨后压片制成样品。

紫外光谱实验是在恒电位下氧化或还原低浓度的烟酰胺溶液足够长时间后, 取一定量的溶液测试产物的紫外光谱变化情况。

结 果 与 讨 论

1 烟酰胺的电化学行为

以 pH 10.0 的磷酸盐缓冲溶液作为支持电解

收稿日期: 1999-02-20

* Tel: (0769)2252396, Fax: (0769)2262024.

E-mail: C-fl@263.net

质,烟酰胺在 GCE 表面的循环伏安曲线如图 1 所示:在 +0.50 V 至 -1.70 V 之间,当先从 +0.50 V 向负电位方向扫描时, CV 图在 -0.70 V (a) 和 -1.51 V (b) 处分别有两个还原峰出现;反向扫描时,在 -0.36 V (c) 和 0.13 V (d) 处分别有两个氧化峰出现;重复循环扫描得到图 1 所示的稳定的循环伏安图。当先从 -0.5 V 向正电位方向扫描时,无氧化峰出现,反向扫描时, -0.70 V (a) 和 -1.51 V (b) 处的两个还原峰出现,再正向扫描, -0.36 V (c) 和 0.13 V (d) 处的两个氧化峰出现,继续循环伏安扫描得到稳定的 CV 图(图 1)。

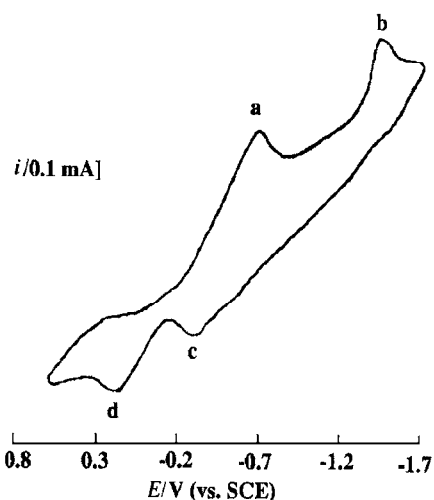


Fig 1 Cyclic voltammogram of nicotinamide on glass carbon electrode. Solution: $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ nicotinamide in $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ phosphate buffer solution. Potential range: $-1.7 \sim 0.5 \text{ V}$; Scan rate: $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$.

固定循环伏安扫描电位的上限为 0.51 V, 改变扫描下限电位, 当下限电位为 -0.90 V 到 -1.55 V 之间时, 循环伏安图上只出现 -0.70 V 处的还原峰; 当扫描下限电位负于 -1.65 V 时, CV 图上出现两对还原、氧化峰; 在 -1.65 V 和 -2.20 V 之间, 随扫描下限电位的负移, -0.70 V 处的还原峰电流逐渐降低, -1.51 V 处的还原峰和两个氧化峰电流逐渐增大。据此可以推断: 在 GCE 表面, 烟酰胺可被分步电化学还原, 但不能被直接电化学氧化, 当还原电位比 -1.55 V 正时, 烟酰胺被还原为物质 a, 还原产物 a 不能被可逆氧化, 当还原电位足够负时, 烟酰胺主要被还原为物质 b, b 可被分步氧化为物质 c 和 d。

改变扫描速度发现: 峰电流(-0.36 V 处) i_p 与扫描速度 v 呈直线关系; 同时, 随扫描速度的加快,

氧化峰电位正移, 还原峰电位负移; 将在烟酰胺试液中循环伏安扫描过的 GCE 浸入空白缓冲溶液中扫描, 有烟酰胺的氧化还原峰, 只是随着扫描次数的增加, 各峰电流有所下降, 循环扫描数次后, 电流趋于稳定。因而, 烟酰胺在玻碳电极表面的电化学反应是受吸附控制的不可逆电极过程。

改变支持电解质的 pH 值发现: 当支持电解质溶液 $\text{pH} < 10$ 时, pH 的改变对峰电流影响不明显, 但 $\text{pH} < 10$ 时, 随着溶液酸度的增加, 各氧化还原峰电流有所降低。

2 光谱鉴定

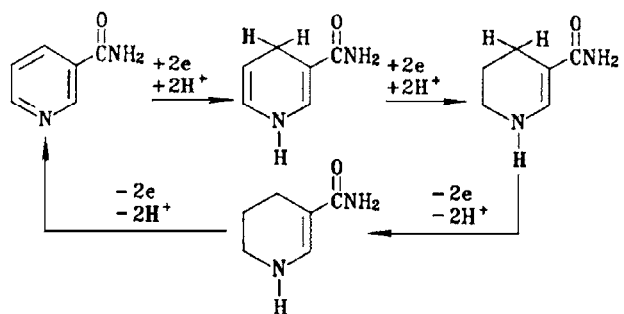
烟酰胺的红外光谱图 3366 cm^{-1} 处的尖锐峰为酰胺基的 N-H 伸缩振动吸收, 1681 cm^{-1} 处的强峰为酰胺基的 C=O 伸缩振动吸收, 1642 cm^{-1} 处的强峰为烟酰胺分子吡啶环上的 C=N 伸缩振动吸收, 1620 cm^{-1} 处的强峰为环上的 C=C 伸缩振动吸收, $1203 \sim 1029 \text{ cm}^{-1}$ 为环的中部吸收带。

烟酰胺经 -0.7 V 还原后, 产物的红外光谱图 1642 cm^{-1} 处的吸收峰消失, 同时中部吸收带发生了很大的变化, 3366 cm^{-1} 和 1681 cm^{-1} 处的吸收峰不变, 说明烟酰胺在电化学还原反应过程中, 酰胺基未参与反应, 而是吡啶环上的 C=N 双键被还原; 经 -1.5 V 还原后, 产物的 C=N 吸收峰亦消失, 且 1620 cm^{-1} 处的 C=C 双键吸收峰强度有所减弱, 同时 3366 cm^{-1} 和 1681 cm^{-1} 处的吸收峰不变, 说明在 -1.5 V 还原时, 烟酰胺分子中的酰胺基未参与反应, 环上的 C=N 和部分 C=C 双键被还原; 将还原产物在 -0.35 V 处氧化后, 1620 cm^{-1} 处的吸收峰强度有所回升, 再经 0.20 V 氧化后, 产物吸收峰与烟酰胺基本一致。

烟酰胺的紫外光谱实验亦证实: 电化学氧化还原过程中, 214.4 nm 处的酰胺基强吸收峰始终未有变化。

3 烟酰胺电化学行为的机理

根据烟酰胺的电化学实验和光谱实验的结果, 可以推断烟酰胺的电化学反应历程为: 在 -0.70 V, 烟酰胺分子的吡啶环上的 C=N 双键加氢还原, 烟酰胺被还原为二氢吡啶结构(峰 a), 由于这种结构较为稳定, 故不能被电化学氧化; 在 -1.51 V 处, 烟酰胺分子中吡啶环上的 C=N 和部分 C=C 双键加氢还原成四氢吡啶结构(峰 b); 再经 -0.35 V 处氧化, 生成环内共轭双键(峰 c), 最后是共轭双键型的烟酰胺部分还原产物经 0.20 V 氧化成烟酰胺(峰 d)。其反应式如下:



4 PPy 修饰电极对烟酰胺的电化学催化

图 2 实线(A)为烟酰胺在玻碳裸电极上的 CV 图,将制备好的导电聚吡咯修饰玻碳电极浸入 0.001 mol·L⁻¹烟酰胺溶液中(介质:pH 3.0 的磷酸盐缓冲溶液),在 +0.7 V 至 -0.7 V 之间扫描得到图虚线(B)所示的 CV 图,烟酰胺还原峰电位比在未经修饰的玻碳裸电极上正移约 150 mV,还原电流显著提高。

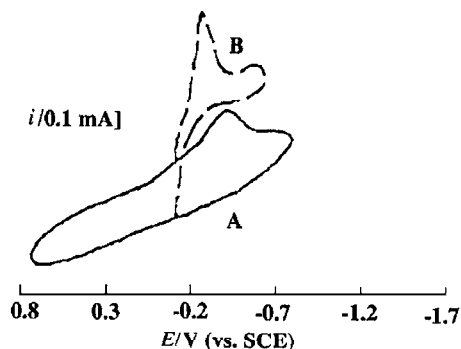
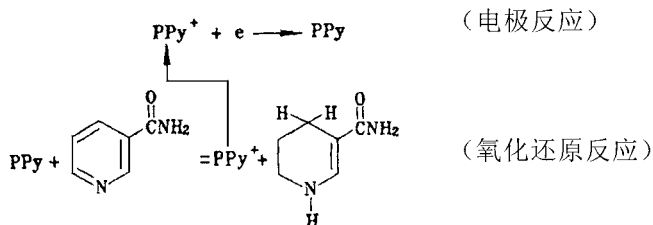


Fig 2 Cyclic voltammogram of nicotinamide on GCE (A) and polypyrrole-GCE (B). — A; - - - B. Scan rate: 100 mV·s⁻¹; Potential range: -0.7~0.7 V.

这些伏安特性符合电化学催化的特点^[5],即具有高导电性能的 PPy 膜可以作为良好的电子传递体,对烟酰胺的还原反应有催化作用。改变烟酰胺浓度发现:催化电流与烟酰胺浓度的 1/2 次方在 1.0×10⁻²~1.0×10⁻⁶ mol·L⁻¹浓度范围内成正比,因而此峰为平行催化峰,其作用过程可能为:



实验证实:PPy 只在酸性介质中对烟酰胺的还原有催化作用,在中性或碱性介质中,由于 PPy 结构发生了变化^[6],不再具备良好的电子传递能力,因而,不再对烟酰胺的电化学还原反应起催化作用。

5 PPy 修饰电极催化烟酰胺电化学还原反应的影响因素

实验表明:在 0.1 mol·L⁻¹ Py 溶液中(介质为 pH 3.0,浓度为 0.02 mol·L⁻¹的磷酸盐缓冲溶液),以 100 mV·s⁻¹的扫速循环扫描 20 次得到的修饰电极对烟酰胺的还原催化效果最好。烟酸、水杨酸等在测定电位处无干扰电流。

6 烟酰胺注射液分析

烟酰胺注射液经 pH 3.0 磷酸盐缓冲溶液稀释后测定。以工作曲线法计算含量为 48.65 mg·ml⁻¹,并与标示量(50.00 mg·ml⁻¹)及药典分析方法的结果(48.77 mg·ml⁻¹)比较,结果基本相符。

加入标准物质得回收率为 96.5%~105.0%,7 次平行测定相对标准偏差为 1.22%。

烟酰胺在玻碳电极上有良好的电化学响应,PPy 修饰电极对烟酰胺的电化学还原反应有明显的催化作用,可以大幅度地提高测试烟酰胺的灵敏度。研究烟酰胺的电化学行为有助于揭示其在生物体内的代谢过程。

参 考 文 献

- 1 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典. 1995 年版. 北京:化学工业出版社,1995
- 2 扬金宝,鄂来明. 反相高效液相色谱法测定奶粉中烟酸和烟酰胺的研究. 营养学报,1996,18:114
- 3 徐志刚,邓兆勇. 胶束动电毛细管电泳色谱法测定晶福眼药水. 药物分析杂志,1998,18:12
- 4 Bunting JW. Mergered mechanism for hydride transfer from 1,4-dihydridines. *Bioorg Chem*, 1991, 19:456
- 5 胡乃非,扬敬,刘婷. 酞箐钴-表面活性剂薄膜修饰电极及催化性能. 应用化学,1996,13:25
- 6 王美全. 功能聚吡咯膜修饰电极的制备及其应用. 分析化学,1993,21:474

ELECTROCHEMICAL BEHAVIOR OF NICOTINAMIDE ON GLASS-CARBON ELECTRODE AND POLYPYRROLE MODIFIED ELECTRODE

Cheng Faliang (Cheng FL), Hong Qian (Hong Q)¹, Mo Jinyuan (Mo JY)² and Dai Xiaoyun (Dai XY)³

(Department of Applied Chemistry, Dongguan Institute of Technology, Dongguan 511700;

¹Guancheng Hospital, Dongguan 511700; ²Department of Chemistry Zhongshan University, Guangzhou 510275; ³Department of Bio-chemistry, HongKong University of Science and Technology)

ABSTRACT AIM: To study the electrochemical behavior of nicotinamide to comprehend its metabolic process in human body. **METHODS:** At different pH of the supporting electrolyte, the electrochemical behavior of nicotinamide on glass-carbon electrode(GCE) and polypyrrole(PPy) modified GCE was studied with cyclic voltammetry. The electric reaction products of nicotinamide were identified by IR and UV spectrometry. **RESULTS:** PPy can catalyze the reduction of nicotinamide. The reduction peak potential shifts positively about 150 mV compared to GCE. The electrocatalytic reduction current of nicotinamide on PPy modified GCE is in direct proportion to the 0.5 order differential of nicotinamide concentration in the range of $1.0 \times 10^{-2} \sim 1.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. **CONCLUSION:** The acidity of the supporting electrolyte affect the current of oxido-reduction peak. The PPy film can catalyze the reduction reaction of nicotinamide.

KEY WORDS nicotinamide; cyclic voltammogram; chemical modified electrode; photoelectrochemistry