自组装单分子膜表面分子间氢键的电化学研究

陈静超, 郑青, 黄曦明, 邵会波*

北京理工大学化学与化工学院, 北京 102488

*通讯作者, E-mail: hbs@bit.edu.cn

收稿日期: 2020-05-13; 接受日期: 2020-07-02; 网络版发表日期: 2020-08-17

国家自然科学基金(编号: 21872006)和国家重点研发计划(编号: 2017YFB1104300)资助项目

摘要 分子间氢键是普遍存在于分子间的一种弱相互作用, 在细胞膜表面的分子识别过程中起着基础且重要的作用. 为简化细胞膜的复杂性, 利用结构明确的自组装单分子膜构建模拟细胞膜体系, 在分子水平上对自组装单分子膜表面的分子间氢键进行探究, 为细胞膜表面分子识别的研究提供了新的视角. 本文从电化学角度, 结合扫描电化学显微镜方法的优势, 介绍了关于自组装单分子膜表面分子间氢键的研究进展.

关键词 自组装单分子膜, 分子间氢键, 扫描电化学显微镜方法

1 引言

氢键作为一种弱相互作用力, 广泛存在于生命体包括蛋白质和核酸等中, 参与分子识别、物质转运和酶催化等基础的生理过程. 早在1953年Watson和Crick发现DNA双螺旋结构时, 就提出可通过氢键作用进行识别和配对, 用来传递和表达生物体信息. 对细胞膜表面的分子识别而言, 分子间氢键是其重要动力之一, 通过识别并固定氨基酸和酶等重要物质, 使这些重要物质进入细胞发挥生理功能^[1,2]. 因此, 分析膜表面分子间氢键可深入探究分子识别的机制, 并为分子识别的调控提供新的视角^[3,4].

目前虽有多种方法可以分析固/液相体系中氢键的特征, 如X射线和中子衍射、固体核磁共振、拉曼和红外光谱等实验方法以及从头计算等理论方法^[5-8]. 但是, 由于分子间氢键具有动态可逆、随外部环境易

变等特点, 且这种氢键强度比化学键强度小许多, 致使液相中膜表面分子间氢键的定量研究具有挑战性^[9]. 基于氢键作用本质上是弱电作用, 这种微观的弱相互作用可以通过电化学技术体现为电流或电子转移速率等可定量比较的物理参数, 氢键电化学就此提出. Kai-fer等^[10,11]报道了二茂铁氢键聚集体中的电子交换作用以及活性中心被氢键聚集体包裹后的电子转移行为, 成功通过电化学反应过程阐述了分子间氢键作用. Cooke和Rotello等^[12]基于氢键作用制备了二元主客体复合物, 在非极性或极性有机溶剂中, 通过电化学的氧化/还原成功驱动了两种组分以不同状态结合形成三种复合物, 并对结合效率即氢键作用进行了分析. Smith^[13]通过氧化/还原产生更强的氢键供体/受体, 成功采用电化学技术实现了对氢键的调控并将其应用于超分子的可控组装. 至此, 通过电化学方法成功地对氢键进行了研究和调控. 然而, 对于膜表面的分子间氢

引用格式: Chen J, Zheng Q, Huang X, Shao H. Electrochemical investigation of the intermolecular hydrogen bond on the surface of self-assembled monolayer. *Sci Sin Chim*, 2020, 50: 1107–1117, doi: 10.1360/SSC-2020-0064

键, 因表面可能存在的缺陷和结构不均一等情况, 只用电化学方法进行研究略显不足. 扫描探针技术利用微米或纳米级的尺寸针尖接近基底, 以较高的分辨率获取基底微区信息, 在膜表面的探究上展现出独特优势, 已被广泛用于材料和微电子等表面科学的分析. 因此, 我们选择了以电化学原理为基础的、电化学方法与扫描探针技术相结合的扫描探针显微镜技术——扫描电化学显微镜技术(scanning electrochemical microscopy, SECM)^[14], 将其用于对膜表面分子间氢键的探究. 相比于传统的三电极电化学方法, 具有超微探针电极的SECM“双”工作电极体系能够使电子转移和氢键作用分别在两个电极上发生, 避免互相干扰, 体现出本征的氢键作用, 同时, 基底电极的开路状态可避免基底电场对氢键作用的干扰. 此外, 超微电极的尺寸效应使SECM具有较高的检测灵敏度(电流检测可达皮安以下)^[15,16].

自组装单分子膜(self-assembled monolayer, SAM)作为细胞膜的理想简化模型^[17,18], 其形成机理和界面电子转移过程的动力学过程已通过SECM进行了研究^[19,20]. SECM减弱了双电层电流和电势降的影响, 提高了对SAM膜探究的准确性. 此外, 利用SECM不仅可得到膜表面微区不均匀表面的电化学信号, 而且能够得到不同区域的形貌^[21]. 因此, 对于膜表面分子间氢键的探究, SAM和SECM分别提供了理想的实验模型和重要的研究手段.

本文介绍了本课题组在微结构可控的、末端为羧基基团的SAM表面与作为电化学探针的带有羟基基团的二茂铁甲醇之间分子间氢键体系的构筑, 并利用具有双工作电极及液相原位等优点的SECM, 探究了SAM表面分子间氢键的工作.

2 SAM表面分子间氢键的定性调控和定量研究

将结构简单和明确、末端为羧基的3-巯基丙酸自组装膜(MPA SAM)作为模拟细胞膜(具有良好电化学可逆性), 带有羟基官能团的二茂铁甲醇作为氧化还原电对, 构建了SAM表面羧基与二茂铁甲醇的羟基之间分子间氢键的模拟体系. 通过循环伏安法研究了SAM表面分子间氢键的可逆调控, 并对分子间氢键进行了电化学的定量分析.

2.1 SAM表面分子间氢键组装的可逆调控

为探究SAM表面分子间氢键, 在探针电极上修饰MPA形成MPA SAM, 选用二茂铁甲醇作为氧化还原探针分子构建了研究体系. 通过调节pH实现对SAM表面分子间氢键的可逆组装和解组装的调控^[22].

探针上SAM表面分子间氢键可逆调控的示意图见图1, 通过改变电解液的pH对MPA SAM末端羧基的解离平衡进行调控, 进而实现了分子间氢键的组装与解组装. MPA SAM表面的羧基与二茂铁甲醇的羟基之间的分子间氢键会预先键合部分二茂铁甲醇分子在SAM表面. 由于MPA SAM表面的羧基本身存在着解离平衡, 增大溶液pH (加入KOH), 解离平衡则会正向移动, 导致上述分子间氢键发生“解组装”, 键合的二茂铁甲醇释放到探针电极表面形成内层扩散, 引起扩散流量的增量, 体现为探针极限扩散电流的增加, 故极限扩散电流的增加可作为氢键“解组装”的识别手段, 即示意图1中从左到右的“解组装”过程. 反之, 降低溶液pH (加入HCl), 解离平衡反向移动导致MPA SAM表面羧基数量增加, 更多的自由二茂铁甲醇分子因分子间氢键键合到SAM表面, 探针表面处自由二茂铁甲醇分子的减少, 导致极限扩散电流降低, 体现氢键的“组装”, 即示意图1中从右到左的过程. 图2是在固定的探针/基底距离下(探针半径的50倍), 电解液pH变化时二茂铁甲醇的稳态伏安图, 实验结果符合上述结论, 即通过改变电解液pH调控SAM末端羧基的解离平衡, 实现分子间氢键的“组装”与“解组装”.

2.2 SAM表面分子间氢键的定量研究

前面介绍了探针电极上MPA与二茂铁甲醇之间

图1 在MPA SAM电极上的分子间氢键可逆组装与解组装过程示意图^[22](网络版彩图)

Figure 1 Schematic representation of the reversible assembly and disassembly of intermolecular hydrogen bonding on the MPA modified tip electrode [22] (color online).

图2 二茂铁甲醇在pH依次降低(a)和pH依次升高(b)的条件下,在MPA SAM探针电极上的稳态伏安图. 探针/基底距离: 50 d/a; 扫描速度: 5 mV s^{-1} [22] (网络版彩图)

Figure 2 The steady-state voltammograms of FcCH_2OH at the MPA SAM modified tip electrode under the condition of decreasing pH (a) and increasing pH (b), respectively. Tip/substrate distance: 50 d/a. Scan rate: 5 mV s^{-1} [22] (color online).

的分子间氢键行为. 接下来将MPA组装在常规的基底电极上, 仍选择带羟基的二茂铁为电化学探针分子, 对分子间氢键进行定量研究. 基于循环伏安, 图中峰面积与电化学过程中探针分子反应的数目存在定量关系, 因此, 通过峰面积的变化对SAM表面的分子间氢键进行了定量研究, 并通过有限元分析模拟验证结果 [23].

二茂铁甲醇与MPA之间存在的分子间氢键, 使得二茂铁甲醇吸附在被修饰的基底电极表面. 在扩散控制的二茂铁甲醇循环伏安图中, 峰面积是氢键键合和非氢键键合(主要是自由状态)的两种不同状态的二茂铁甲醇电化学反应共同贡献的. 氢键作用力弱, 因而两种状态的电化学反应能垒差异小, 键合态的电化学反应不会在循环伏安图中呈现独立峰, 而是体现在循环伏安图峰面积的增加, 可简化管理为峰电流的增加 [24].

图3为存在分子间氢键的基底电极上二茂铁甲醇电化学氧化过程的示意图. 氧化电位的施加使得二茂铁甲醇被氧化, 电极界面处存在的二茂铁甲醇的吸附力(分子间氢键)被打破, 键合的二茂铁甲醇与SAM修饰的基底之间的氢键发生解组装, 转变为非氢键键合的二茂铁甲醇, 这部分二茂铁甲醇被氧化使氧化电流有了增量. 此外, 通过改变扫描速率, 分别探究了键合态和非氢键键合二茂铁甲醇与扫描速度的关系, 分析结果得知, 随着扫描速度的增加, 键合的二茂铁甲醇引起的电流增量在总电流中的占比在增加. 该结果与Wopschall等 [25] 提出的理论相符, 氧化峰电流的增量是分子间氢键键合的二茂铁甲醇贡献的. 因此, 基于氧化峰电流的增量对MPA SAM表面分子间氢键实现了电化学的定量.

电化学过程中电子转移的量与循环伏安图的峰面

图3 存在分子间氢键情况下二茂铁甲醇的电化学氧化过程示意图(红色峰: 氢键键合二茂铁甲醇的峰; 蓝色峰: 非氢键键合二茂铁甲醇的峰) [23] (网络版彩图)

Figure 3 Schematic representation of the FcCH_2OH electrochemical oxidation process complicated by intermolecular hydrogen bonding (red peak: contributed by hydrogen bonded FcCH_2OH ; blue peak: contributed by non-hydrogen bonded FcCH_2OH) [23] (color online).

积相对应。前面的键合二茂铁甲醇引起的氧化峰电流的增加, 应导致电极表面的氧化产物会增加, 相应的还原峰电流也会增加。但由于键合的二茂铁甲醇在氧化过程中对本体浓度的改变很小, 且氧化产物二茂铁甲醇阳离子不吸附, 导致还原峰电流的增量远小于氧化峰电流的增加, 故而忽略不计。因此, 循环伏安图(两个线性扫描伏安图组合而得)中仅氧化过程包含键合的贡献。所以, 可由循环伏安图中的氧化峰和还原峰的差异电化学定量膜表面的分子间氢键。图4是在包含氢键键合二茂铁甲醇的体系中的循环伏安图。氢键键合二茂铁甲醇引起氧化峰面积的增加, 因此由氧化峰和还原峰面积之差异来确定氢键键合二茂铁甲醇的覆盖度(Γ)。根据式(1):

$$\Gamma = (Q_{pa} - Q_{pc}) / nFA \quad (1)$$

其中 Q_{pa} 和 Q_{pc} 分别是氧化峰和还原峰面积所对应的电量, n 为氧化还原反应的电子转移数, F 为法拉第常数, A 为电极面积。结合图4的数据, 计算得氢键键合的二茂铁甲醇表面覆盖度为 $6.89 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$ 。

Unwin等^[26]曾提出表面物理吸附的定量方法, 并对二茂铁衍生物在碳基电极表面的物理吸附进行了测试。该工作启发我们导出以峰电流为因变量的定量方法, 这是基于分子间氢键是一种弱相互作用力, 氢键键合可视为弱吸附。基于峰电流的衍生公式:

$$\Delta i_p = \frac{n^2 F^2 \Gamma}{4RT} v \quad (2)$$

其中 Δi_p 为氧化峰电流 i_{pa} 与还原峰电流 i_{pc} 之差。同样结

图4 二茂铁甲醇在MPA SAM电极上的循环伏安图^[23]

Figure 4 Experimental CV of FcCH₂OH at MPA SAM modified gold electrode [23].

合图4的数据, 得到氢键键合的二茂铁甲醇表面覆盖度为 $6.57 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$ 。此结果与基于峰面积的结果相近且在误差范围之内(小于5%), 两种方法各有优势, 前者更全面, 后者更精确。

有限元分析方法构建了氢键键合二茂铁甲醇的模型用于考察分子间氢键对氧化还原过程的影响。图5是在不同扫描速率下, 二茂铁甲醇在MPA SAM电极上的拟合循环伏安图, 内插图是 I_{pa}/I_{pc} 与 $v^{1/2}$ 的关系。拟合结果同循环伏安法的实验结果, I_{pa}/I_{pc} 与 $v^{1/2}$ 呈线性递增关系。有限元分析的拟合结果进一步验证了二茂铁甲醇和MPA之间的分子间氢键。

3 SAM表面分子间氢键的功能性

SAM表面分子间氢键作为一种基本的弱相互作用, 其具有的功能性体现在以下两个方面。

3.1 电子转移的增强作用

近年来, 科研人员从理论计算的角度提出了分子间氢键具有增强电子转移的功能性^[27,28], 但始终缺乏实验数据的证实。因此, 我们设计了两种仅末端基团不同的SAM: 3-巯基丙酸SAM和3-巯基丙酸甲酯SAM, 分别表示为MPA SAM和MPME SAM。前者末端的羧基与二茂铁甲醇的羟基能够形成氢键, 而后者末端的酯基与二茂铁甲醇较难形成氢键。基于这两种SAM, 实验对比探究了分子间氢键起到的增强电子转移的作

图5 不同扫描速度时拟合的存在吸附时二茂铁甲醇的循环伏安图, 插图为 I_{pa}/I_{pc} 与 $v^{1/2}$ 的关系图^[23](网络版彩图)

Figure 5 Simulated CV of FcCH₂OH (with the adsorption) at an increasing scan rate. The inset is the I_{pa}/I_{pc} plotted vs. $v^{1/2}$ [23] (color online).

用^[29], 为其功能性提供有力的支撑.

通过控制组装时间, 经过能谱比对、脱附计算和缺陷分析等表征, 得到相同覆盖度、相近缺陷百分比的具有相同链长和不同末端基团的MPA SAM和MPME SAM. 循环伏安图中氧化还原峰电位差的大小可衡量电极反应速率的快慢. 图6是二茂铁甲醇分别在MPA SAM和MPME SAM电极上的循环伏安图. 如图6(a)所示, 二茂铁甲醇在两种电极上均呈现较好的可逆行为, 但峰电位差却有所不同. 在较难形成氢键的MPME SAM表面, 呈现较大的峰电位差(87 mV), 代表了较慢的电子转移速率, 而在MPA SAM表面, 63 mV峰电位差体现了在此表面发生的较快的电子转移. 通过Nicholson的方法计算标准电子转移速率常数:

$$k^0 = \varphi \left[\frac{\pi D n F v}{RT} \right]^{1/2} \quad (3)$$

其中 φ 是无量纲常数, D 是扩散系数, n 是电子转移数, F 是法拉第常数以及 v 是扫描速率. 结合图6的数据, 二茂铁甲醇的电子转移速率在MPA SAM和MPME SAM上分别为 $(22.90 \pm 1.69) \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ 和 $(3.19 \pm 0.17) \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$. 在有分子间氢键存在的表面电子转移较快, 同峰电位差的结果. 原因可能是分子间氢键作为电子桥更利于传导电子, 降低了电子转移需要的能垒, 起到电子转移的增强作用. 将铁氰化钾作为对照电对分别在两种膜电极上进行了循环伏安测试如图6(b)所示. 由图可知, 在两种SAM表面上铁氰化钾的氧化还原峰电位差一致, 均为89 mV, 这意味着铁氰化钾在这两种

SAM上的电子转移速率相同. 此对照结果辅证了分子间氢键对电子转移的增强作用.

为了更准确地分析氢键在电子转移中的作用, 选用SECM的渐近曲线深入探究. 图7是实验所得渐近曲线与理论拟合渐近曲线图, 通过计算可得到电子转移速率常数. 从图中看到, 三种不同基底: 裸金、MPA SAM和MPME SAM电极对探针均呈现正反馈. 渐近曲线的陡峭程度越大反映出基底上电子转移速率越快, 因此对裸金基底电极的渐近, 曲线最陡峭, 对SAM的基底渐近则较平缓, 是因为SAM的修饰阻碍了二茂铁甲醇与基底电极的电子交换. 对比两种SAM上的渐近曲线, 可知二茂铁甲醇在MPA SAM上的电子转移速率较快, 与之前的结果一致.

根据Pust等^[30]的报道, 结合渐近曲线的数据, 得出归一化的速率常数 k . 将其转化成有效电子转移速率常数 k_{eff} 后, 通过Butler-Volmer公式计算得到标准电子转移速率常数 k^0 , 并拟合得到与实验相符的理论渐近曲线, 如图7所示. 根据Bard等^[31,32]的报道, k^0 由电子隧穿和电子缺陷转移两种速率得到. 根据公式:

$$k^0 = k_{\text{tunneling}}^0 + k_{\text{defect}}^0 \times \theta_{\text{defect}} \quad (4)$$

其中 k_{defect}^0 是在缺陷部位发生电子转移的速率, 等于裸金电极上的电子转移速率, θ_{defect} 为缺陷部位百分比, 计算得到MPA SAM表面二茂铁甲醇电子隧穿的速率常数 $k_{\text{tunneling}}^0$ 为 $2.7 \times 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$, MPME SAM表面二茂铁甲醇的电子隧穿的速率常数 $k_{\text{tunneling}}^0$ 为 $4.5 \times$

图6 二茂铁甲醇(a)和铁氰化钾(b)分别在MPA SAM(红)和MPME SAM(黑)的修饰电极上的循环伏安图^[29](网络版彩图)

Figure 6 Cyclic voltammograms of (a) FcCH_2OH and (b) $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ on MPA SAM (red solid line) electrodes and MPME SAM (black solid line), respectively ^[29] (color online).

图7 二茂铁甲醇分别在裸金电极(黄色虚线)、MPA SAM(红色虚线)和MPME SAM(黑色虚线)上的实验所得渐近曲线图, 基底电位为0.14 V, 探针电位为0.45 V. 实线为在不同的速率常数(k^0)下拟合的渐近曲线^[29](网络版彩图)

Figure 7 The experimental approaching curves of FcCH_2OH towards bare gold (yellow dot), MPA SAM (red dot) and MPME SAM (black dot) at pH 4.81, respectively. (E_T : 0.45 V; E_S : 0.14 V vs. Ag/AgCl); the solid lines show the simulated approaching curves for different k^0 [29] (color online).

$10^{-5} \text{ cm s}^{-1}$. 显然, 二茂铁甲醇在MPA SAM表面的电子隧穿速率常数大于在MPME SAM表面. 因此, SAM表面电子转移速率的增加其实是氢键增强的电子隧穿作用. 需要说明的是, 虽然通过选择相同碳链长度和调控组装时间, 尽可能使两种SAM的区别只是氢键的存在, 但因末端基团不同, SAM自身结构会影响电子转移速率, 因此研究结果可能存在一定的误差.

SAM表面分子间氢键增强电子转移速率为电催化方向的应用提供了新的思路和支撑. 基于此功能, 我们通过MPA SAM与部分氧化石墨烯形成的分子间氢键固定了石墨烯, 此方法固定的石墨烯电极表面电子转移明显加快, 可成功用于葡萄糖传感器^[33].

3.2 长程效应

SECM反馈模式中反馈电流产生在小于5倍归一化探针半径距离的范围内. 在我们的分子间氢键研究体系中, 观察到“长程效应”, 即在大于5倍归一化探针半径距离处有反馈电流产生的现象, 这归因于SAM表面羧基解离平衡正向移动导致预先通过分子间氢键吸附的探针分子解组装形成的扩散增量^[34]. 机理示意图见图8: 二茂铁甲醇被探针氧化成阳离子后, 被羧酸根

图8 分子间氢键诱导“长程效应”的机理示意图^[34]

Figure 8 Schematic representation of the mechanism of the long-range effect which induced by the intermolecular hydrogen bond [34].

静电吸引, 使得羧基解离平衡正向移动, 从而释放出被分子间氢键键合的二茂铁甲醇. 被释放的二茂铁甲醇遵循Fick扩散定律, 因此随着探针向基底渐近, 即探针与基底二者之间距离逐渐减小, 探针收集到的释放二茂铁甲醇增多, 从而增量逐渐变大, 呈现出“长程效应”.

图9是探针向不同基底的渐近曲线图. 未经修饰的裸金基底的渐近曲线呈现常规的正反馈(见黑线), 绝缘基底的测试呈现常规的负反馈(见红线), 即在探针远离基底时, 电流维持在稳态极限扩散电流值, 当探针靠近基底, 到探针和基底距离为5倍归一化探针半

图9 探针向不同基底的渐近曲线图. 黑线: 金基底, 含二茂铁甲醇的电解液; 红线: 绝缘基底, 含二茂铁甲醇的电解液; 蓝线: MPA SAM修饰的金基底, 含二茂铁甲醇的电解液; 绿线: MPA SAM修饰的金基底, 含亚铁氰化钾的电解液; 电解液pH均为6.4^[34] (网络版彩图)

Figure 9 Approach curves of FcCH_2OH toward gold substrate (black line), insulator (red line), MPA modified gold substrate (blue line), and approach curve of $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ towards MPA modified gold substrate in (green line), pH 6.4 [34] (color online).

径时, 电流开始增加或减小. 但当基底为MPA SAM修饰的金电极时, 在探针距离基底较远处, 探针和基底距离为60倍归一化探针半径时, 就呈现出了反馈现象(见蓝线). 此外, 选择亚铁氰化钾作为氧化还原探针分子进行了对照实验, 实验结果如图中绿线, 与常规的正反馈(黑线)几乎一致. 即氧化还原电对与SAM之间没有分子间氢键时, 未观察到有“长程效应”, 该对照实验进一步验证了分子间氢键诱导产生长程效应的结论.

为进一步验证是分子间氢键导致长程效应, 实验在破坏分子间氢键的强酸或强碱条件下进行, 即pH分别为2.0和10.0的条件下, 测试了探针向基底渐近的反饋曲线(图10). 实验结果表明, pH 10.0时(蓝线), 正反馈电流在探针与基底距离小于5倍归一化探针半径时才开始明显增大, 同常规反馈现象. 这是因为分子间氢键被抑制, 且羧基解离平衡正向移动, 不利于氢键的形成, 未观察到“长程效应”. pH 2.0时(红线), 正反馈电流在探针/基底距离小于60倍归一化探针半径时开始明显增大, 观察到“长程效应”, 但电流增加幅度明显弱于在pH 6.4时. 虽然分子间氢键被抑制, 但在强酸条件下, 羧基的解离被抑制, 利于分子间氢键的形成, 使得呈现出弱的“长程效应”. 上述现象再次对分子间氢键解组装诱导产生“长程效应”的结论进行了证实.

此外, 还考虑了探针渐近速度和SAM覆盖度的影响因素, 结果表明渐近速度对“长程效应”没有影响, 而当MPA在基底的覆盖度增加时, “长程效应”显著增强.

图 10 在含二茂铁甲醇的不同pH电解液条件下, 探针向MPA SAM基底的渐近曲线图^[34](网络版彩图)

Figure 10 Approach curves of FcCH_2OH toward MPA modified gold substrate in different pH electrolyte ^[34] (color online).

4 SAM表面分子间氢键转变为静电及其功能性

分子间氢键作为基本且重要的弱相互作用的一种, 除其自身体现的功能性外, 向另一弱相互作用——静电作用转变的行为, 近年来已被认识到并且这种转变在分子识别等生命活动中的重要性需要得到关注^[35,36]. 下面对SAM膜表面的氢键到静电的质变以及质变后带来的功能性做简单介绍.

采用SECM的基底产生/探针收集模式(SG/TC)研究SAM膜表面分子间氢键向静电的转变并揭示其机理^[37]. 在MPA SAM表面, 二茂铁甲醇与未解离的羧基形成分子间氢键, 基底施加线性扫描氧化电位将二茂铁甲醇氧化为二茂铁甲醇阳离子, 部分氧化产物阳离子与SAM表面解离的羧酸根之间产生静电吸引被吸附在基底电极表面, 未被吸附的氧化产物扩散到探针电极表面被收集还原, 结果表现为探针电极上的电流减小. 基底电极上, 二茂铁甲醇与SAM分子形成的分子间氢键, 使得部分二茂铁甲醇键合在SAM表面. 当基底施加氧化电位, 在SAM界面处除自由态二茂铁甲醇被氧化外, 键合态也会被氧化, 总体表现为基底的氧化电流增加. 过程如示意 图11所示.

如图12(a)所示, 在可形成氢键的MPA SAM基底表面产生的氧化电流密度大于在裸金表面产生的, 这也是我们最初发现分子间氢键的一个重要论据^[23]. 在pH为5.02 (接近MPA SAM的 pK_a)的电解液中, SAM末

图 11 SECM的SG/TC模式中MPA SAM表面氢键向静电转变过程的示意图^[37](网络版彩图)

Figure 11 Schematic representation of the qualitative transformation process from hydrogen bonding to electrostatic interaction on the SAM surface by SG/TC mode of SECM ^[37] (color online).

图 12 SG/TC模式. (a) 二茂铁甲醇分别在裸金(虚线)和MPA SAM(实线)基底电极上产生的电流密度; (b) 探针分别在两种基底上收集到的还原电流, 探针电位: 0 V (vs. Ag/AgCl)^[37]

Figure 12 SG/TC mode. (a) Substrate generation current density of FcCH₂OH on the bare gold (dash line) and MPA SAM electrodes (solid line); (b) normalized tip collection reduction currents above two substrate electrodes; E_T : 0 V (vs. Ag/AgCl) [37].

端的羧基会有部分处于解离态, 以羧酸根阴离子存在. 因此, 基底氧化产生的部分二茂铁甲醇阳离子会因与SAM的静电作用被吸附在SAM表面, 导致扩散到探针表面发生还原的二茂铁甲醇阳离子的量减少, 如图12(b)所示. 在MPA SAM基底电极上探针收集的还原电流小于不存在静电作用的裸金基底, 探针收集的还原电流的降低是转变后静电作用的体现.

通过SG/TC模式, SAM表面分子间氢键向静电作用的转变被证实并“看到”. 下面介绍基于分子间氢键向静电质变所带来的两种功能性: 阳离子开关^[38]和氨基酸选择性识别^[39].

将一定比例的混合11-巯基十一烷酸和1-十一烷硫醇组装在金电极上形成混合SAM, 该混合SAM具有阳离子开关性能. 其中1-十一烷硫醇作为稀释剂使末端带羧基的11-巯基十一烷酸在SAM内呈分散态.

通过正负反馈曲线体现了SAM表面的阳离子开关性能, 见图13. 通过改变电解液的pH调控SAM表面性能: 当电解液pH高于混合SAM的 pK_a 时, SAM表面的羧基主要以羧酸根阴离子的形式存在, 此时的SAM表面一方面因阴离子的排斥作用出现了较大间隙, 另一方面通过静电作用吸引作为氧化还原物质的二茂铁甲醇阳离子, 这两方面都促进了阳离子与电极之间的电子转移, 探针的正反馈曲线体现出这种促进作用, 将此时SAM的状态称为对阳离子的“开”(见图13中上部分); 相反, 当电解液pH低于混合SAM的 pK_a 时, SAM表面主要以羧基存在并且相邻羧基间将形成氢键, 使

图 13 SECM反馈模式探究SAM表面阳离子开关示意图^[38] (网络版彩图)

Figure 13 Schematic representation of the investigation of cation switch on SAM surface by feedback of SECM [38] (color online).

SAM更加致密, 阻碍了氧化还原物质二茂铁阳离子与电极之间的电子转移, 使探针电流呈现负反馈, 图13中向下的曲线体现了SAM对阳离子的阻碍作用, 此时SAM的状态为阳离子的“关”. 随后通过多组平行实验验证了混合SAM表面的阳离子开关的可重复性. 因此, 通过电解液pH的改变, 可实现对SAM表面的氢键和静电的调控, 构建了SAM表面的可逆阳离子开关.

另一种通过缺陷组装构建的混合SAM具有氨基酸选择性识别性能. 带有缺陷的1-十一烷硫醇SAM首先被制备, 其次选取具有氨基和羧基两种官能团的半

胱氨酸功能化1-十一烷硫醇SAM的缺陷, 构建了混合SAM. 基于半胱氨酸两性离子的特殊性, 成功构建了具有电荷翻转功能的SAM, 并用于对氨基酸的分子识别. 调节电解液pH(7.41)大于半胱氨酸的等电点(pI 5.05)时, 羧基主要解离成羧酸根阴离子而氨基无变化, 使半胱氨酸末端呈荷负电性, 吸引带正电的氧化还原物质二茂铁甲醇阳离子, 促进电子转移使得在探针上电流呈现正反馈, 见图14(a)中蓝线; 当电解液pH(3.06)小于半胱氨酸的等电点时, 氨基水解成铵根阳离子而羧基无变化, 半胱氨酸末端呈荷正电性, 与带正电的氧化还原物质二茂铁甲醇阳离子之间静电排斥, 阻碍电子转移, 使探针上电流呈现负反馈, 见图14(a)中红线. 图14(b)中的平行实验证实了此混合SAM电荷翻转的可逆性.

混合SAM膜的电荷翻转行为对带电粒子产生的可逆响应, 可作为分子识别的基础. 此功能成功用于天冬氨酸和精氨酸分子的选择性识别, 原理示意图见图15. 氨基酸分子荷电性随溶液酸度的改变会发生变化.

在pH为3的电解液中, 半胱氨酸显正电性, 即SAM显荷正电, 此时20种氨基酸中只有天冬氨酸显负电性(等电点pI 2.77), 加入的天冬氨酸因静电作用吸附在SAM表面形成了静电屏蔽层. 因此电化学探针亚铁氰化钾与电极表面的电子交换被阻碍, 体现为亚铁氰化钾氧化峰电位发生正移同时氧化峰电流减小, 见图16(a). 相应的, 在电解液pH为10时, 可基于精氨酸与半胱氨酸之间的静电作用形成的屏蔽层, 对精氨酸分子(等电点pI 10.76)进行选择性识别. 从图16(b)可以发现, 只有当加入了精氨酸, 作为电化学探针的二茂铁甲醇氧化峰电位发生了正移, 氧化峰电流减小, 体现了基于调控pH翻转SAM表面电荷, 实现了对天冬氨酸和精氨酸分子的选择性识别.

5 总结与展望

本文主要介绍了在构建的简化模拟细胞膜-自组装膜体系中, 利用扫描电化学显微镜方法探究自组装

图14 (a) 二茂铁甲醇分别在pH 3.06, 5.05, 7.41三种电解液中, 在半胱氨酸修饰1-十一烷硫醇缺陷混合SAM表面的渐近曲线图, 探针电位为0.4 V; (b) 渐近曲线重复实验中, 探针在归一化半径为0.5时的归一化电流分别在pH 3.06和7.41溶液中的变化趋势图^[39](网络版彩图)

Figure 14 (a) Approach curves of FcCH₂OH toward UT/Cys mixed SAM modified gold substrate in pH 3.06, 5.05, 7.41 electrolytes; (b) normalized tip current in a solution of pH 3.06 and 7.41 at cyclic repeating experiments ($d/a=0.5$) [39] (color online).

图15 基于电荷翻转的天冬氨酸和精氨酸分子识别原理示意图^[39](网络版彩图)

Figure 15 Schematic representation of molecular recognition of aspartic acid and arginine based on the charge reversal [39] (color online).

图 16 电解液中分别加入精氨酸(ARG)、赖氨酸(LYS)、天冬氨酸(ASP)、苯丙氨酸(PHE)、甘氨酸(GLY)和丙氨酸(ALA)时, (a) 亚铁氰化钾在半胱氨酸修饰1-十一烷硫醇缺陷混合SAM表面的示差脉冲伏安图, 电解液pH 3.06; (b) 二茂铁甲醇在半胱氨酸修饰1-十一烷硫醇缺陷混合SAM表面的示差脉冲伏安图, 电解液pH 7.41^[39] (网络版彩图)

Figure 16 In the absence or presence of Arginine, Lysine, Aspartic acid, Phenylalanine, Glycine and Alanine, respectively, differential pulse voltammetry of (a) $K_4[Fe(CN)_6]$ on UT/Cys mixed SAM at pH 3.06 and (b) $FcCH_2OH$ on UT/Cys mixed SAM at pH 7.41^[39] (color online).

膜表面分子间氢键在分子识别过程中的作用, 以期为细胞膜功能的探究提供参考信息。

当然, 氢键在细胞膜表面分子识别的研究中仍存在一系列的困难。首先, 模拟体系的构建需要完善, 虽然通过自组装膜可以简化模拟细胞膜。但是生命体内细胞膜及其微环境远比模拟体系复杂, 本文的研究结果并不能准确地体现出细胞膜的真实行为; 其次, 电

化学测试的电流非特异性也使实验数据的解析仅具有推理性, 这要求发展与多种测试手段的联用以期使结论更明确; 最后, 分子识别过程的探究仍需细化。因此, 接下来需要深入探究分子识别的每一步, 如氢键在分子识别的固定、传输、响应和代谢过程中体现的行为机理, 为以后通过调控氢键改善生物体信息传递提供思路。

参考文献

- 1 Persch E, Dumele O, Diederich F. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54: 3290–3327
- 2 Aoyama Y, Tanaka Y, Sugahara S. *J Am Chem Soc*, 1989, 111: 5397–5404
- 3 Harmon KM. *Science*, 1992, 257: 1774–1775
- 4 Jeffrey GA. *Food Chem*, 1996, 56: 241–246
- 5 Gooding JJ, Ciampi S. *Chem Soc Rev*, 2011, 40: 2704–2718
- 6 Francesconi O, Cicero F, Nativi C, Roelens S. *ChemPhysChem*, 2020, 21: 257–262
- 7 Martinez-Felipe A, Brebner F, Zaton D, Concellon A, Ahmadi S, Piñol M, Oriol L. *Molecules*, 2018, 23: 2278
- 8 Ling Y, Xie WC, Liu GK, Yan RW, Wu DY, Tang J. *Sci Rep*, 2016, 6: 31981
- 9 Tessensohn ME, Webster RD. *Electrochem Commun*, 2016, 62: 38–43
- 10 Sun H, Steeb J, Kaifer AE. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 2820–2821
- 11 Moon K, Philip I, Sun H, Kaifer AE. *J Solid State Electrochem*, 2007, 11: 1635–1641
- 12 Cooke G, de Cremiers HA, Duclairoir FMA, Leonardi J, Rosair G, Rotello VM. *Tetrahedron*, 2003, 59: 3341–3347
- 13 Smith DK. *Curr Opin Electrochem*, 2017, 2: 76–81
- 14 Bard AJ, Denuault G, Friesner RA, Dornblaser BC, Tuckerman LS. *Anal Chem*, 1991, 63: 1282–1288
- 15 Shao YH. *Chin J Anal Chem*, 1999, 11: 1348–1355 (in Chinese) [邵元华. 分析化学, 1999, 11: 1348–1355]
- 16 Polcari D, Dauphin-Ducharme P, Mauzeroll J. *Chem Rev*, 2016, 116: 13234–13278
- 17 Zhang X, Wang C. *Chem Soc Rev*, 2011, 40: 94–101
- 18 Winter N, Vieceli J, Benjamin I. *J Phys Chem B*, 2008, 112: 227–231

- 19 Wang Q, Zhi F, Wang W, Xia X, Liu X, Meng F, Song Y, Yang C, Lu X. *J Phys Chem C*, 2009, 113: 9359–9367
- 20 Lu X, Li M, Yang C, Zhang L, Li Y, Jiang L, Li H, Jiang L, Liu C, Hu W. *Langmuir*, 2006, 22: 3035–3039
- 21 Lu X, Wang Q, Liu X. *Anal Chim Acta*, 2007, 601: 10–25
- 22 Zheng Q, Zhang J, Yang Y, Wang X, Ding K, Shao H. *J Electrochem Soc*, 2017, 164: H97–H103
- 23 Zheng Q, Huang X, Liu Y, Fang X, Zhang J, Shao H. *J Phys Chem C*, 2017, 121: 22123–22129
- 24 Petrovic S. *Chem Educator*, 2000, 5: 231–235
- 25 Wopschall RH, Shain I. *Anal Chem*, 1967, 39: 1514–1527
- 26 Cuharuc AS, Zhang G, Unwin PR. *Phys Chem Chem Phys*, 2016, 18: 4966–4977
- 27 de la Lande A, Martí S, Parisel O, Moliner V. *J Am Chem Soc*, 2007, 129: 11700–11707
- 28 Chen X, Ma G, Sun W, Dai H, Xiao D, Zhang Y, Qin X, Liu Y, Bu Y. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 4515–4524
- 29 Huang X, Chen J, Fang X, Yan C, Shao H. *J Electroanal Chem*, 2019, 837: 143–150
- 30 Pust SE, Scharnweber D, Baunack S, Wittstock G. *J Electrochem Soc*, 2007, 154: C508
- 31 Kiani A, Alpuche-Aviles MA, Eggers PK, Jones M, Gooding JJ, Paddon-Row MN, Bard AJ. *Langmuir*, 2008, 24: 2841–2849
- 32 Liu B, Bard AJ, Mirkin MV, Creager SE. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 1485–1492
- 33 Zheng Q, Ding K, Huang X, Shao H. *Appl Surf Sci*, 2017, 425: 188–193
- 34 Zheng Q, Yang Y, Yan Y, Yu Y, Liu Y, Gao W, Ding K, Shao H. *Electrochim Acta*, 2016, 207: 135–142
- 35 Reulen SWA, Dankers PYW, Bomans PHH, Meijer EW, Merkx M. *J Am Chem Soc*, 2009, 131: 7304–7312
- 36 Shih WM. *Science*, 2015, 347: 1417–1418
- 37 Huang X, Zheng Q, Fang X, Shao H. *J Electrochem Soc*, 2018, 165: H240–H246
- 38 Huang X, Chen J, Yan C, Shao H. *Langmuir*, 2019, 35: 10772–10779
- 39 Huang X, Chen J, Yan C, Guo H, Shao H. *J Phys Chem C*, 2020, 124: 8876–8884

Electrochemical investigation of the intermolecular hydrogen bond on the surface of self-assembled monolayer

Jingchao Chen, Qing Zheng, Ximing Huang, Huibo Shao*

School of Chemistry and Chemical Engineering, Beijing Institute of Technology, Beijing 102488, China

*Corresponding author (email: hbs@bit.edu.cn)

Abstract: Intermolecular hydrogen bond, as a kind of weak interaction, plays a fundamental and important role in the molecular recognition process on cell membrane surface. Based on the complexity of the cell membrane and its microenvironment, the self-assembled monolayer with clear structure is used to simulate the cell membrane to construct the simulation system. The intermolecular hydrogen bond on the surface of the self-assembled is explored at the molecular level, which provided a new perspective for the study of molecular recognition on the cell membrane surface. In this paper, combined with the advantages of scanning electrochemical microscopy, the progress on the intermolecular hydrogen bond on the surface of self-assembled monolayer is introduced from the electrochemical viewpoint.

Keywords: self-assembled monolayer, intermolecular hydrogen bond, scanning electrochemical microscopy

doi: [10.1360/SSC-2020-0064](https://doi.org/10.1360/SSC-2020-0064)