

2008-02-28

Interfacial Electrochemical Behavior of Fibrinogen on Pt Electrode

Song-mei CHEN

Jian-zhang ZHOU

Zhong-hua LIN

Dong-mei ZENG

Nan HUANG

Guo-jiang WAN

Recommended Citation

Song-mei CHEN, Jian-zhang ZHOU, Zhong-hua LIN, Dong-mei ZENG, Nan HUANG, Guo-jiang WAN. Interfacial Electrochemical Behavior of Fibrinogen on Pt Electrode[J]. *Journal of Electrochemistry*, 2008 , 14(1): 56-60.

DOI: 10.61558/2993-074X.1863

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol14/iss1/12>

This Article is brought to you for free and open access by Journal of Electrochemistry. It has been accepted for inclusion in Journal of Electrochemistry by an authorized editor of Journal of Electrochemistry.

文章编号: 1006-3471(2008)01-0056-05

纤维蛋白原在 Pt 电极上的界面电化学研究

陈松妹^{1,2}, 周剑章², 林仲华², 曾冬梅², 黄楠¹, 万国江^{1,2*}

(1. 西南交通大学 材料学院, 材料先进技术教育部重点实验室, 四川 成都 610031;

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

摘要: 应用电化学方法和电化学原位红外反射光谱 (electrochemical in-situ FTIR) 等研究了纤维蛋白原在 Pt 电极上的界面电化学行为. 结果表明: 纤维蛋白原在 Pt 电极上的吸附使电极的析氢与氧脱附过程减弱, 影响程度随扫速的增加而增强; 同样纤维蛋白原的吸附会降低亚铁氰化钾/铁氰化钾电对的氧化还原反应可逆性和电流; 在 $-0.1 \sim 0.6$ V (vs. SCE) 扫描范围内没有出现纤维蛋白原的特征“氧化还原”峰. 电化学原位红外反射光谱测试表明纤维蛋白原在 $0.3 \sim 0.5$ V (vs. SCE) 间发生化学反应, 有新的产物生成.

关键词: 纤维蛋白原; 电化学原位红外反射光谱; 吸附; 凝血

中国分类号: O 646

文献标识码: A

生物材料表面形成血栓是现今心血管植入材料应用中面临的首要问题. 材料触发凝血的过程非常复杂, 其机制目前仍不很清楚. 但普遍认为, 该过程的本质是材料与其表面吸附的血液凝血因子蛋白之相互作用, 引起了黏附血小板激活, 从而导致血栓^[1]. 其中纤维蛋白原作为第一凝血因子, 在凝血和血栓的形成过程中扮演着重要的角色. 许多研究报道了纤维蛋白原在聚合物和一些金属表面的吸附和变形^[2-8], 并从吸附动力学及纤维蛋白原二次构象变化等解释了材料的凝血行为, 但对不同材料表面的凝血行为仍然难以形成一致的结论. 有研究认为, 纤维蛋白原的激活可能伴随有界面的电荷转移的电化学反应^[9]. 本文应用循环伏安法和电化学原位红外反射光谱研究含纤维蛋白原模拟人体液在 Pt 电极界面的电化学行为及其界面电化学和化学反应信息.

1 实验部分

1.1 电极制备

工作电极为 Pt 电极 ($\varphi = 5.0$ mm), 经聚四氟乙烯封装制成, 表面用 6 号金相砂纸和 $5 \sim 0.3 \mu\text{m}$ Al_2O_3 粉抛光, 超声波水浴清洗, 然后在 0.1 mol/L

H_2SO_4 溶液中连续循环伏安扫描 20 次以进一步清洁活化表面, 辅助电极为铂片电极, 参比电极为饱和甘汞电极 (SCE). 将活化后的 Pt 电极浸泡于 4 mg/mL 纤维蛋白原溶液中 60 min 修饰.

1.2 试剂配制

牛纤维蛋白原 (美国 Sigma 公司), 其他试剂皆为分析纯, 溶液用超纯水配制.

模拟人体体液 (PBS): 取 0.14 mol NaCl , 3 mmol KCl , $0.024 \text{ mol Na}_2\text{HPO}_4$, $7 \text{ mmol KH}_2\text{PO}_4$, 定容于 1000 mL 的容量瓶, 用 NaOH 调节 $\text{pH} = 7.4$.

纤维蛋白原溶液: 用上述 PBS 配成浓度 4 mg/mL 的溶液.

亚铁氰化钾/铁氰化钾电对: 取 $0.1648 \text{ g K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, $0.2112 \text{ g K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 及 0.5 mol/L KCl 定容于 250 mL 容量瓶配成 $2 \text{ mmol/L} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ 溶液.

1.3 实验条件

电化学实验测试使用 CHI-630 电化学工作站 (上海辰华), 三电极体系, 工作电极为 Pt 电极, 辅助电极是铂片电极, 参比电极为饱和甘汞电极 (SCE). 电化学原位红外光谱实验使用配备液氮冷

0.113V),可逆性下降,氧化峰 I_{pa}电流也降低了大约 50% (由 8.071 A/cm² 降至 0.402 mA/cm²).

2.2 电化学原位红外反射光谱

图 3 示出 Pt 电极在 4 mg/mL 纤维蛋白原溶液中的电化学原位红外光谱,参考电位 (E_r) 设定为 -0.75 V, 研究电位 E_s 从 -0.70 V (或 -0.75 V) 逐步改变到 1.1 V. 其中, b, c, d 分别是 a 在不同的波数段的精细谱图. 各图中正向谱峰均表征纤维蛋白原的消耗, 负向谱峰则表征产物的生成.

图 3b 示明当电位的正向移动至 0.3~0.5V (vs SCE) 时, 990 cm⁻¹ 附近出现了一个较宽的正向峰, 对应于 C=S, S=O, S=S 的双键伸缩振动, 表征纤维蛋白原二硫键的消耗, 纤维蛋白原的二硫键结构来自于 29 条 3 聚合 (Aα, Bβ, Cγ) 多肽链的连接^[8]; 1060~1090 cm⁻¹ 波段范围也在 0.3~0.5V (vs SCE) 区间出现两个正向峰, 对应于纤维蛋白原 C-O 和 C-N 伸缩振动峰的消耗, 其

C-N 键主要形成在脂肪族氨基化合物中^[12]; 在 0.7V~1.1V (vs SCE) 电位区间, 1161 cm⁻¹ 附近出现一个较宽的负向峰, 对应于 C-O 的伸缩振动峰, 该 C-O 键是由纤维蛋白原的反应产物形成的, 又从图 3c 可见, 在 1500~1700 cm⁻¹ 范围内分别出现两个微弱峰 (即 1573 cm⁻¹ 和 1635 cm⁻¹), 参照文献 [3, 8], 指认该二微弱峰当分别对应于氨基 II 的 C-H 伸缩振动峰 (1550 cm⁻¹ 附近) 和纤维蛋白原的特征 β-sheet 峰 (1633±2 cm⁻¹) 附近. 由于 C-H 伸缩振动峰强度的变化是由纤维蛋白原结构变化引起的, 图 5 中显示的峰强度较弱可能是因为本文采用单程的红外反射而非衰减全反射方式 (ATR-FTIR) 之故, 此外也可能与纤维蛋白原浓度较低有关. 另者, 红外光谱图中还在 2337 cm⁻¹ 和 2364 cm⁻¹ 处出现了峰位十分接近的较弱双峰 (见图 3d), 它可能对应于纤维蛋白原链中胺类 N-H⁺ 的伸缩振动, 并随着电位的变化而出现交

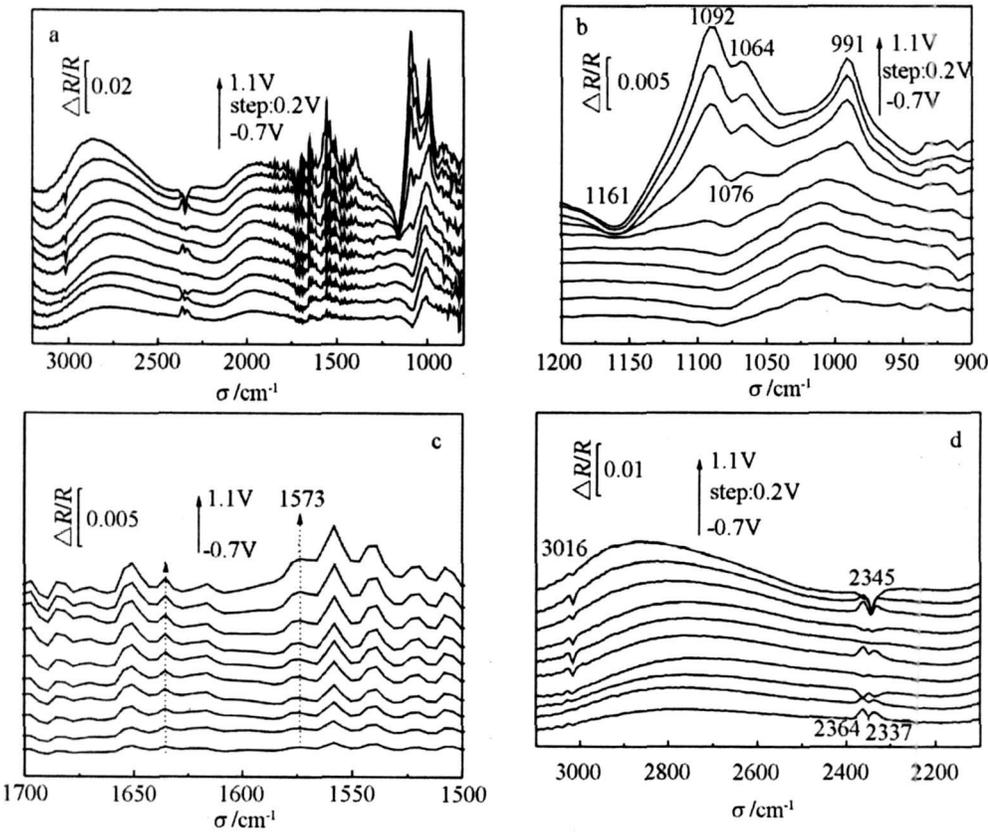


图 3 Pt 电极在 4mg/mL 纤维蛋白原 PBS 溶液中的电化学界面原位红外光谱

Fig 3 In-situ FTIR spectra recorded on the Pt electrode in PBS containing 4mg/mL bovine fibrinogen (E_r = -0.75 V) at different scan rates (100 mV/s). The potential scan range is from -0.7 V to 1.1 V with a step of 0.2 V. The wave number (cm⁻¹), a) 800~3200; b) 900~1200; c) 1500~1700; d) 2100~3100

替的正负向峰,说明该官能团在不同电位作用下的消耗与生成^[13]。3200~3000 cm^{-1} 间出现的峰是 C-H、N-H 的伸缩振动形成的^[14,8],由图 5 可以看出,电位在 0.1~0.9V 有产物生成,它可能是纤维蛋白单体^[11]。

3 结 论

1)纤维蛋白原在 Pt 电极上的吸附使电极的析氢与氧脱附过程减弱,影响程度随扫描速率的增加而增强;纤维蛋白原的吸附会降低亚铁氰化钾/铁氰化钾电对氧化还原反应电流。

2)纤维蛋白原在 0.3~0.5V (vs SCE) 电位区间开始发生化学反应,有新的产物生成,反应过程中一些氨基键发生了变化,如硫键发生断裂。以上的信息为进一步探索纤维蛋白原与材料相互作用机理,提供有益的途径。

参考文献 (References):

- [1] Cheng Qing (程青), Wang Guo-bin (王国斌). Blood material interaction [J]. *Shanghai Biomedical Engineering* 2001, 2(3): 33.
- [2] Peiqing Ana S Viana Luisa M Abrantes et al Adsorption of human serum albumin onto gold: a combined electrochemical and ellipsometric study [J]. *Journal of Colloid and Interfaces Science* 2004, 279: 95.
- [3] Sibel Tuno Manfred F Matiz Gerald Steiner et al In situ conformational analysis of fibrinogen adsorbed on Si surfaces [J]. *Colloids and Surfaces B* 2005, 42: 219.
- [4] Robert T Tgettens Jeremy L Gilbert Quantification of fibrinogen adsorption onto 316L stainless steel [J]. *Journal of Biomedical Materials* 2006, 11: 465.
- [5] Ramasamy LN Ranganathan M. Ducic L et al Electrochemical behavior of blood coagulation factors [J]. *J Electrochem Soc* 1973, 120: 354.
- [6] Douglas R Jackson Sasha Omanovic Sharon G Roscoe Electrochemical studies of the adsorption behavior of serum proteins on titanium [J]. *Langmuir* 2000, 16: 5449.
- [7] Wang Jie Chen Xiao-yun Matthew L Clarke, et al. Vibrational spectroscopic studies on fibrinogen adsorption at polystyrene/protein solution interfaces Hydrophobic side chain and secondary structure changes [J]. *J Phys Chem B* 2006, 110: 5017.
- [8] Matthew L Clarke Wang Jie Chen Zhan Conformational changes of fibrinogen after adsorption [J]. *J Phys Chem B* 2005, 109(46): 22027.
- [9] Sawyer P N. Significance of electrochemical phenomena in intravascular thrombosis [J]. *Nature* 1965, 206 (2): 1162.
- [10] Sun Shi-gang Gong Hui Research methods of solid catalyst [J]. *Petrochemical Industry* 2001, 30(10): 806.
- [11] Luo Guo-an (罗国安), Wang Zong-hua (王宗花), Wang Yi-ming (王义明). Applications and fabrication of the bio-compatible electrode [M]. Beijing Science Publishing House 2006. 286.
- [12] Patrick Vermette Virginie Gauvreau Michel Pezolet et al Albumin and fibrinogen adsorption onto phosphatidylcholine monolayers investigated by fourier transform infrared [J]. *Colloids and Surfaces B* 2003, 29: 285.
- [13] Xing Xu-ying (邢徐颖), Chen Shi-di (陈世娣), Shen Si-yun (沈思云). The use guide of infrared spectra [M]. Beijing Science Publishing House 1992. 198.
- [14] Stamatin L Cristescu R. Socol G, et al Laser deposition of fibrinogen blood proteins thin films by matrix assisted pulsed laser evaporation [J]. *Applied Surface Science* 2005, 248: 422.

Interfacial Electrochemical Behavior of Fibrinogen on Pt Electrode

CHEN Songmei^{1,2}, ZHOU Jian-zhang², LIN Zhong-hua²,
ZENG Dongmei², HUANG Nan¹, WAN Guo-jiang^{1,2*}

(1. Key Lab of advanced Technology of Materials of Education Ministry of China

College of Materials Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China;

2. State Key Lab of Physical Chemistry of the Solid Surface Dept. of Chemistry

Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China)

Abstract: The interfacial electrochemical behaviors of fibrinogen on Pt electrode in phosphate buffered solution (PBS) was investigated by using cyclic voltammetry and electrochemical in-situ FTIR spectroscopy. The cyclic voltammetry results demonstrated that the fibrinogen adsorb on Pt electrode and impede the interfacial charge transfer of hydrogen ion reaction process as well as of oxygen reduction process which is increased with higher scan rate. The cyclic voltammetry spectra of platinum absorbed with fibrinogen in $K_3[Fe(CN)_6]$ and $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ solutions shows that the fibrinogen can partly decrease the oxidation and reduction current peaks. There is no specific anodic and cathodic current peaks found to attributed from fibrinogen within potential scanned rang of $-0.1 \sim 0.6V$ (vs SCE). Nevertheless electrochemical in-situ FTIR spectra indicate the fibrinogen undergo chemical reaction when which anodic potential higher than $0.3 \sim 0.5V$ (vs SCE).

Key words: fibrinogen; electrochemical in-situ FTIR; interfacial electrochemical behavior; coagulation