

银电极上 4-氨基安替比林原位表面增强拉曼光谱电化学

张丽君, 宋 巍, 陈 玲, 章宗穰, 杨海峰*

(上海师范大学化学系, 上海 200234)

摘要: 在银电极表面 4-氨基安替比林(4-AAP)分子自组装,形成单分子膜层. 应用表面增强拉曼散射(SERS)光谱原位考察不同电位下 4-AAP 在电极表面的吸附机理及其组装液 pH 值对组装分子与银作用方式的影响. 依据密度泛函(DFT)理论预测 4-AAP 分子振动模式及其 SERS 光谱归属. 结果表明:在开路电位下,组装层中的 4-AAP 分子以 N^{15} 和 O^3 为位点,由苯环倾斜和比林环垂直的方式吸附在银表面;但随着外加电位负移,4-AAP 分子的苯环趋于垂直吸附而比林环则逐渐以平行方式靠近银表面. 在 -0.8 V 电位下,4-AAP 分子从银表面脱附. 酸性溶液中组装,形成的 4-AAP 膜层以 N^{15} 和 O^3 为位点吸附于银表面,比林环倾斜而苯环直立;碱性条件下,分子的吸附位点不变,比林环呈平行取向,而苯环倾斜于银表面.

关键词: 表面增强拉曼散射; 4-氨基安替比林; 原位; 电化学; 银

中图分类号: O433. 5⁺4

文献标识码: A

安替比林类化合物作为一种重要的解热镇痛类原料药^[1],是近年药物开发的热点. 4-氨基安替比林(4-AAP)又称 1,5-二甲基-2-苯基-4-氨基-3-吡唑酮,其分子式为 $C_{11}H_{13}N_3O$,药理上是安乃近的代谢产物^[2]. 此外 4-AAP 也是分光光度法的显色剂,可用于测定肉制品中亚硝酸根的含量^[3],以及快速测定炼油废水中的挥发酚^[4]. 4-AAP 的分子结构如图 1 所示,分子中含有羰基、氨基以及苯环和含 2 个 N 原子的比林环,极易与金属发生多种作用. 因此,系统研究 4-AAP 在金属表面的吸附方式,有助于加深理解其代谢机理和可能的生化机制. 目前,尚未见利用表面增强拉曼散射(SERS)光谱技术研究该分子在金属表面的吸附方式的相关报道.

表面增强拉曼光谱^[5-7]是上世纪 70 年代中期发展起来的一门表面分析技术,凭借其超高的灵敏度可以探测吸附在特定金属表面的单层分子^[8-9],已经成为一种非常有效的探测界面特性和分子间相互作用、表征表面分子吸附行为和分子结构的工具,广泛地应用于研究吸附界面表面状

态、生物大分子的界面取向以及构型、构象和结构分析等领域^[10].

本文应用自组装技术,在银表面形成有序稳定的 4-AAP 自组装层. 利用表面增强拉曼光谱和原位光谱电化学的方法研究 4-AAP 在银表面的吸附构型研究,同时考察组装液酸碱性环境对 4-AAP 自组装层结构的影响.

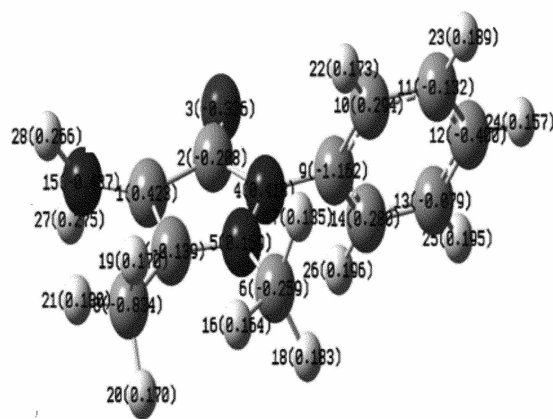


图 1 4-AAP 分子的最优化构型

Fig. 1 Optimized molecular structure of the 4-AAP

1 实 验

1.1 试剂与仪器

4-氨基安替比林(分析纯,国药集团化学试剂有限公司),氯化钾、乙醇、盐酸、氢氧化钠均为国产分析纯.实验溶液均用高纯水配制.

SuperLabram II 型共焦显微激光拉曼系统(法国 Dilor). He-Ne 激光器为激发光源,波长 632.8 nm,液氮冷却型 CCD 检测器(1024 × 256 pixels),Olympus 50 倍长焦距物镜,1800 线/mm 光栅,光栅前置狭缝(Slit)100 μm,针孔光阑孔径(hole)1000 μm,陷波滤波片.

CHI 750 型电化学分析仪(美国 CHI 公司,上海辰华组装).

1.2 实 验

1) 溶液配制

用超纯水配制 1×10^{-4} mol/L 4-AAP 溶液,0.1 mol/L KCl 溶液.

2) 电极处理

工作电极为多晶银棒(面积 0.025 cm²,纯度 99.99%),参比电极和对电极分别是饱和甘汞电极(SCE)和铂电极.

银棒依次用金相砂纸,1.0 μm 和 0.3 μm 的 Al₂O₃ 粉末在麂皮上打磨成镜面,然后分别用超纯水和乙醇超声清洗以除去残留的 Al₂O₃ 粉末和打磨过程中产生的碳化物,得到零价态的银电极表面.在三电极电解池于 0.1 mol/L KCl 溶液中,用 ORC 法处理银表面^[11].粗糙后的银电极经超声清洗 10 s,晾干.浸入 1×10^{-4} mol/L 的 4-AAP 溶液中进行自组装,时间 20 h 左右.

3) 拉曼信号采集

完成自组装的银电极用超纯水冲洗干净,晾干,装入光谱原位池(本实验室自制)作拉曼光谱测试.光谱积分时间 15 s,累积 5 次.

4) 分子振动量子化计算

应用 B3LYP/6-311++G 算法(Gaussian 03 软件包)优化 4-AAP 分子结构及其振动模计算.

2 结果与讨论

2.1 4-AAP 粉末的拉曼光谱和 DFT 计算

经 DFT 量化计算,4-AAP 分子优化后的结构式以及分子中各原子的电负性如图 1 所示.

图 2 给出实验测得的 4-AAP 粉末的拉曼光

谱,表 1 同时列出各振动峰值及其由 B3LYP/6-311G 法计算的结果归属.可以看出实验值和理论计算值基本符合,但也稍有差异.这些差异可能是因为理论模型计算存在着过拟合或欠拟合^[12].

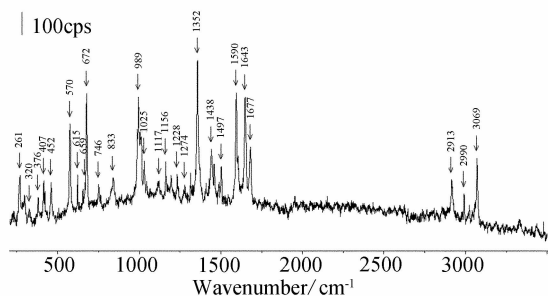


图 2 4-AAP 固体粉末的拉曼光谱

Fig. 2 Normal Raman spectrum of the 4-AAP in powders

图 2 中 1274 cm⁻¹ 处的峰归属于苯环上 C¹⁰—H, C¹²—H, C¹⁴—H 的面内摇摆; 1025 和 1117 cm⁻¹ 处的峰来自苯环上氢面内振动的贡献; 苯环上氢面外摇摆振动出现在 452, 746 和 989 cm⁻¹ 处; 而苯环的呼吸振动峰处在 615 cm⁻¹ 处; 376, 659, 672 和 1590 cm⁻¹ 处的峰均来自 N¹⁵—H 的面外摇摆; N¹⁵—H 的面内摇摆出现在 320, 407 和 1643 cm⁻¹ 处; 570, 833 和 1228 cm⁻¹ 的峰由比林环的面内变形振动引起; 比林环上 C⁶—H, C⁸—H 的面外摇摆对 407, 1438 和 1156 cm⁻¹ 处的峰有贡献; 此外, 1352 cm⁻¹ 处的峰来自 N⁴—N⁵, C⁷—C⁸ 的伸缩振动; 1677 cm⁻¹ 处的峰归属于 C²=O³ 的伸缩振动; CH₃ 伸缩振动峰在 2931 cm⁻¹ 处; 2990 和 3069 cm⁻¹ 处的峰分别对应于 C⁸—H 的伸缩振动和 C¹¹—H, C¹¹—H, C¹³—H 的伸缩振动.

2.2 4-AAP 组装层在银电极表面的原位光谱电化学

图 3 为开路电位下, 0.1 mol/L KCl 介质中, 4-AAP 分子组装层在银电极表面的 SERS 光谱图(归属见表 1). 图中, 435 cm⁻¹ 处的峰归属为 C⁶—H 和苯环上 C¹⁰—H, C¹¹—H, C¹³—H, C¹⁴—H 的面外摇摆振动; 932 cm⁻¹ 处的峰为苯环上 C¹⁰—H, C¹²—H, C¹⁴—H 的面外摇摆振动; 999 cm⁻¹ 的峰由苯环氢的面外摇摆引起; C⁸—H, C⁶—H 的面外摇摆振动峰出现在 1071 和 1451 cm⁻¹ 处; 1146 cm⁻¹ 处的峰归属为苯环上 C¹¹—H, C¹³—H 以及 C⁸—H, C⁶—H 的面内摇摆振动; 1271, 1385 和 1518 cm⁻¹ 的峰

表 1 4-AAP 拉曼及表面增强拉曼的振动归属

Tab. 1 Experimental and theoretical assignment of the Raman and SERS spectra of 4-AAP according to B3LYP/6-311G calculated frequencies ^a						
DFT	NRS/ cm ⁻¹	SERS/ cm ⁻¹ OP	pH = 1	pH = 7	pH = 13	Assignment
269	261					$\rho C^{12}-H + \rho C^{10}-H + \rho C^{14}-H + N^{15}H$
325	320					$\rho N^{15}H$
347	376					$\omega N^{15}H + C^9-N^4$
392	407					$\rho N^{15}H + \omega C^8H + C^6H$
441		435				$\omega C^6H + C^{10}-H + \omega C^{11}-H + \omega C^{13}-H + \omega C^{14}-H$
450	452					$\omega C^6H + C^{10}-H + \omega C^{11}-H + \omega C^{13}-H + \omega C^{14}-H$
559	570	559				τ ring of pyrine + $\omega C^8H + N^{15}H$
603	615		615	600		breath of benzene
636	659	654		631		$\omega N^{15}H + C^7-C^8 + C^6H$
670	672		663	665		$\omega N^{15}H + \rho C^6-N^5$
702			701			$\omega N^{15}H + \omega C^{10}-H + \omega C^{12}-H + \omega C^{14}-H$
758	746		763			ωH of Benzene + $\rho C^1-N^{15} + C^2=O^3$
850	833	831	839	839		τ ring of pyrine + $\omega C^{11}-H + C^{12}-H + \omega C^{13}-H$
868		858	860			$\omega C^{10}-H + \omega C^{11}-H + C^{13}-H + C^{14}-H$
936		932				$\omega C^{10}-H + \omega C^{12}-H + \omega C^{14}-H$
996	989	999				ωH of Benzene
1006			998	998	998	$\rho C^6H + \rho C^8H + \rho H$ of Benzene
1030	1025		1026	1026	1026	ρH of Benzene
1057		1074			1070	$\omega C^8H + \nu C^1-N^{15} + \omega C^6H$
1096			1079			$\omega C^8H + \omega C^{11}-H + \omega C^{12}-H + \omega C^{13}-H + \omega C^{14}-H$
1101	1117		1122			$\omega C^8H + \rho H$ of Benzene + νC^9-N^4

续上表						
1141		1146				$\rho\text{C}^{11}\text{—H}, \text{C}^{13}\text{—H} + \rho\text{C}^8\text{H} + \rho\text{C}^6\text{H} + \tau$ ring of pyrine
1156	1156		1157	1157		$\omega\text{C}^6\text{H}$
1182			1177	1177		$\omega\text{N}^{15}\text{H}$
1233	1228	1237		1235	1237	$\rho\text{C}^6\text{H}_3 + \tau$ ring of pyrine + $\omega\text{N}^{15}\text{H}$
1247			1245	1254		$\rho\text{C}^6\text{H}_3 + \nu\text{C}^7\text{—N}^{15} + \rho\text{C}^8\text{H} + \omega\text{N}^{15}\text{H}$
1294	1274	1271				$\rho\text{C}^{10}\text{—H} + \rho\text{C}^{14}\text{—H} + \rho\text{C}^{12}\text{—H}$
1361	1352		1337			$\nu\text{N}^4\text{—N}^5 + \nu\text{C}^7\text{—C}^8 + \rho\text{C}^6\text{H} + \rho\text{C}^8\text{H}$
1370			1367			$\nu\text{C}^7\text{—C}^8$
1396		1385	1382	1379	1391	$\rho\text{C}^{11}\text{—H} + \rho\text{C}^{12}\text{—H} + \rho\text{C}^{13}\text{—H}$
1436	1438					$\omega\text{C}^8\text{H} + \text{C}^6\text{H}$
1453		1449				$\omega\text{C}^6\text{H} + \text{C}^8\text{H}$
1490	1497	1518	1492	1492		$\sigma\text{C}^{10}\text{—H} + \sigma\text{C}^{11}\text{—H} + \sigma\text{C}^{13}\text{—H} + \sigma\text{C}^{14}\text{—H}$
1587	1590		1594	1594	1573	$\omega\text{N}^{15}\text{H}$
1654	1643			1630	1594	$\rho\text{N}^{15}\text{H}^*$
1702	1677					$\nu\text{C}^2\text{=O}^3$
2910	2913					$\nu\text{C}^6\text{—H} + \nu\text{C}^8\text{—H}$
2987	2990					$\nu\text{C}^8\text{—H}$
3099	3069					$\nu\text{C}^{11}\text{—H} + \nu\text{C}^{12}\text{—H} + \nu\text{C}^{13}\text{—H}$

OP:Open potential;ν:Stretching vibration;ρ:Pock;ω:Wag;τ:Twisting;σ:Scissoring

都和苯环上 $\text{C}^{10}\text{—H}$, $\text{C}^{11}\text{—H}$, $\text{C}^{12}\text{—H}$, $\text{C}^{13}\text{—H}$, $\text{C}^{14}\text{—H}$ 的面内振动相关. 由 SERS 表面选律^[13-15]可知,当分子振动方向与表面垂直时,该振动的 SERS 信号得到增强;当分子的振动与表面平行时,其 SERS 信号将减弱或消失. 据此推断,苯环乃倾斜吸附在银表面. 而 559 和 831 cm^{-1} 处的峰则是比林环的面内变形振动;1237 cm^{-1} 处的峰当由比林环上 $\text{C}^6\text{—H}$ 面内摇摆及其面内变形振动引起. 同理可推断,此时比林环垂直吸附于银表面.

因此,在开路电位下,4-AAP 组装层以 N^{15} 和 O^3 作为吸附位点,苯环倾斜,比林环以垂直方式与银电极表面作用,其构型示意如图 5(a)所示. 量子化学计算结果也显示 N^{15} 和 O^3 具有最大的荷负电,分别为 -0.487 和 -0.326,易与金属发生作用.

图 4 为银电极上 4-AAP 组装层随外加电位变化(-0.1 ~ -0.8 V)的原位 SERS 光谱(归属见表 1). 由图可知,随着外加电位负移,出现在 559 cm^{-1} 处的比林环面内变形振动峰逐步减弱并最终

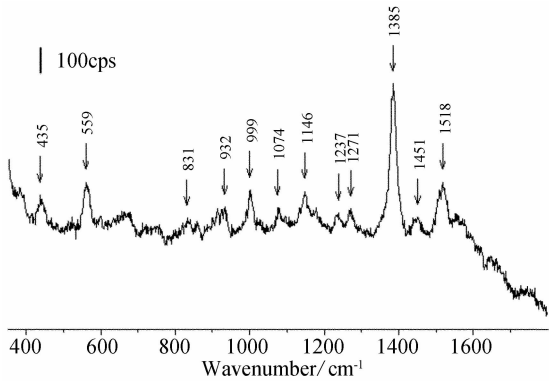


图 3 吸附在银电极表面的 4-AAP 于开路电位下 0.1 mol/L KCl 介质中的表面增强拉曼光谱

Fig. 3 SERS spectrum of the 4-AAP absorbed at Ag electrode surface in 0.1 mol/L KCl aqueous solution at open circuit potential

消失;而在 702 cm^{-1} 处出现的新峰,当归属于 $\text{N}^{15}\text{—H}$ 的面外摇摆;此外, 1074 cm^{-1} 处比林环上甲基的面外摇摆振动峰也逐渐增强. 同样,由 SERS 选律可知,此时,比林环从开路电位下的垂直吸附随外加电位负移,逐步变换成平行于表面的吸附. 对于苯环,其于 435 cm^{-1} 处的面外振动强峰,亦随着电位负移,逐步减弱至消失;而 1271 和 1385 cm^{-1} 处的 C—H 面内振动峰则逐渐增强,说明在银表面苯环逐渐呈垂直吸附. 当外加电压达 -0.8 V 时,分子完全从表面脱附. 以上变化过程即如图 5 所示.

2.3 不同 pH 环境的 4-AAP 组装层拉曼光谱

由于比林环上的 NH_2 易发生质子化和去质子化,因此,有必要进一步考察组装液的 pH 值对 4-AAP 分子吸附方式的影响. 图 6 是在组装液 pH 值分别为 1,7 和 13 条件下于银电极表面组装 4-AAP 组装膜的 SERS 谱(归属见表 1). 如图可见,酸性条件下,出现在 $998, 1026, 1382,$ 和 1492 cm^{-1} 处的苯环 CH 面内摇摆振动峰以及其 615 cm^{-1} 处的呼吸振动峰,均比中性组装液($\text{pH} = 7$)的明显增强. 根据 SERS 表面选律可知,在酸性条件下,4-AAP 分子的苯环乃以垂直的方式与银表面作用,并随组装溶液 pH 之增加,上述各峰的强度明显减弱. 在碱性($\text{pH} = 13$)条件下其组装膜于 1079 cm^{-1} 处显示的 $\text{C}^8\text{—H}$ 面外摇摆振动峰强度较之酸性或中性的强出很多. 可以认为,在酸性或中性环境

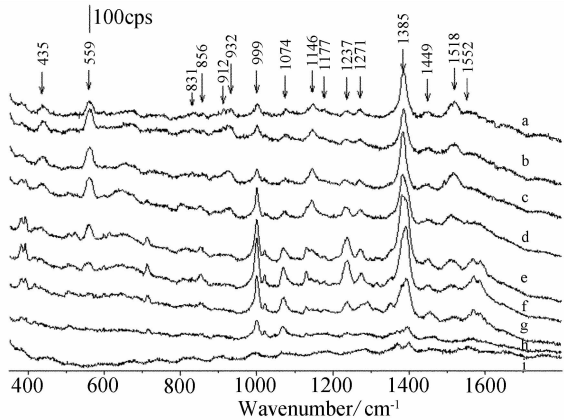


图 4 0.1 mol/L KCl 介质中在银电极表面 4-APP 的原位 SERS 光谱

Fig. 4 *In situ* SERS spectra of 4-APP absorbed at the Ag electrode surface in 0.1 mol/L KCl aqueous solution a. open circuit potential, b. -0.1 V , c. -0.2 V , d. -0.3 V , e. -0.4 V , f. -0.5 V , g. -0.6 V , h. -0.7 V , i. -0.8 V vs. SCE

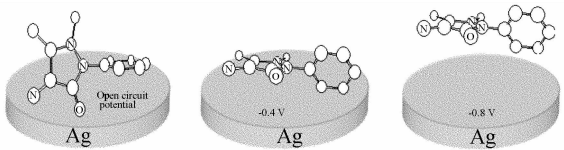


图 5 4-AAP 分子从银电极表面脱附随电位变化过程

Fig. 5 Desorption process of the 4-AAP monolayers with change of potential

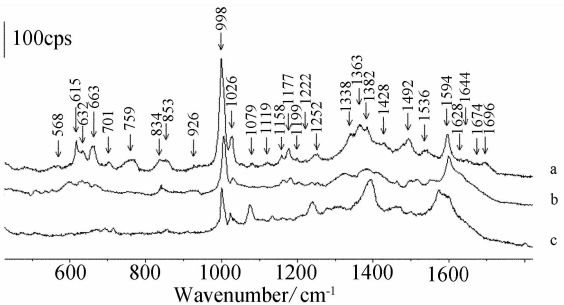


图 6 不同 pH 环境中 4-AAP 在银电极表面的原位表面增强拉曼光谱

Fig. 6 *In situ* SERS spectra of the 4-AAP absorbed at Ag electrode surface in different pH solutions a. $\text{pH} = 1$, b. $\text{pH} = 7$, c. $\text{pH} = 13$

中,比林环系以倾斜方式吸附在银表面,导致环上甲基离表面较远,相关 SERS 信号较弱;而在碱性条件下,比林环则采取平躺吸附方式,环上甲基靠近表面,相应的 SERS 信号也得到增强. 不同 pH 环境下形成的 4-AAP 分子层吸附方式如图 7 示意.

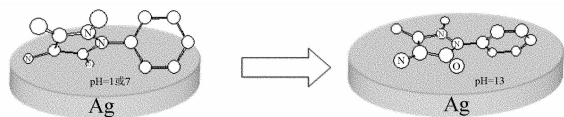


图7 不同 pH 环境中 4-AAP 膜层的吸附构型

Fig. 7 The adsorption structure of 4-AAP monolayers at silver surface formed in different pH solutions

3 结 论

原位表面增强拉曼散射(SERS)光谱显示在不同 pH 环境和不同电位下于银电极表面组装的 4-AAP 组装层其 4-AAP 的吸附方式随外加压的变化为:电位从 -0.1 V 负移到 -0.8 V,苯环趋于垂直吸附,比林环渐次以平行方式靠近银表面。 -0.8 V 时,分子从银表面完全脱附。在酸性条件下形成的 4-AAP 膜层以 N^{15} 和 O^3 为位点吸附于银表面,比林环倾斜而苯环直立;在碱性条件下,分子的吸附位点不变,比林环呈平行取向,苯环倾斜作用于银表面。

参考文献(References):

- [1] Wang Mei (王梅), Wang Jian-hua (王建华), Wang Shu-xue (王书学), et al. Determination of related substances in antipyrin by HPLC [J]. Chinese Pharmaceutical Affairs (中国药事), 2006, 20(6): 365-366.
- [2] Cui Jing-bin (崔景斌), Xi Nian-zhu (奚念朱), Jiang Xin-gu (蒋新国). Studies on HPLC method for determination of 4-methylaminoantipyrine and relative bio-availability [J]. Acta Pharmaceutica Sinica (药学学报), 1997, 32(1): 65-68.
- [3] Lin Ren-quan (林仁权), Chen Guo-liang (陈国亮), Hu Wen-Lan (胡文兰). UV spectrophotometric determination of nitrites in meat and Meat Products with 4-aminantipyrin [J]. Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis (理化检验-化学分册), 2008, 44(7): 686-688.
- [4] Liu Shu-rong (刘淑荣). Improvement on volatile phenols determination in waste water by directive light intensity method of 4-aminoantipyrine [J]. Fujian Analysis & Testing Technical Exchanging (福建分析测试技术交流), 2005, 14(1): 2128-2129.

- [5] Fleischmann M, Hendra P J, McQuillan A J. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode [J]. Chem Phys Lett, 1974, 26(2): 163-165.
- [6] Jeanmaire D J, Van Duyne R P. Surface raman spectro-electro-chemistry part I heterocyclic, aromatic and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode [J]. J Electroanal Chem, 1977, 84(1): 1-4.
- [7] Albrecht M G, Creighton J A. Anomalous intense raman spectra of pyridine at a silver electrode [J]. J Am Chem Soc, 1977, 99(15): 5215-5217.
- [8] Nie S, Emory S R. Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering [J]. Science, 1997, 275(5303): 1102-1106.
- [9] Kneipp K, Wang Y, Kneipp H, et al. Single molecule detection using surface-enhanced Raman scattering (SERS) [J]. Phys Rev Lett, 1997, 78(9): 1667-1670.
- [10] Cao P G, Gu R A, Tian Z Q. Electrochemical and surface-enhanced Raman spectroscopy studies on inhibition of iron corrosion by benzotriazole [J]. Langmuir, 2002, 18(20): 7609-7615.
- [11] Taniguchi I, Umekita K, Yasukouchi K. Surface-enhanced Raman scattering of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD^+) adsorbed on silver and gold electrodes [J]. J Electroanal Chem, 1986, 202(1-2): 315-322.
- [12] Sarkar J, Chowdhury J, Talapatra G B. Adsorption of 4-methyl-4H-1, 2, 4-triazole-3-thiol molecules on silver nanocolloids: FT-IR, Raman, and surface-enhanced Raman scattering study aided by density functional theory [J]. J Phys Chem C, 2007, 111(27): 10049-10061.
- [13] Allen C S, Van Duyne R P. Orientational specificity of Raman scattering from molecules adsorbed on silver electrodes [J]. Chem Phys Lett, 1979, 63(3): 455-459.
- [14] Gao X, Davis J P, Weaver M J. Test of surface selection rules for surface-enhanced Raman scattering: the orientation of adsorbed benzene and monosubstituted benzenes on gold [J]. J Phys Chem, 1990, 94(17): 6858-6864.
- [15] Moskovitz M, Suh J S. Surface-enhanced Raman spectroscopy of bipyridines and phenyl-pyridines [J]. J Phys Chem, 1990, 94(5): 1986-1991.

***In-situ* Surface Enhanced Raman Scattering Electrochemical Investigation of 4-aminoantipyrine on Silver Electrode**

ZHANG Li-jun, SONG Wei, CHEN Ling, ZHANG Zong-rang, YANG Hai-feng*

(*Department of Chemistry, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China*)

Abstract: In this paper, 4-AAP was self-assembled on silver surface to form monolayers. Surface-enhanced Raman Spectroscopy (SERS) was used to *in-situ* investigate the adsorption mechanism of the 4-aminoantipyrine (4-AAP) on silver surface dependent on shifting potentials and the effect of solution pH. Based on density functional theory (DFT) calculation of vibration modes, approximate assignment of 4-AAP SERS spectrum was conducted. *In situ* SERS spectral electrochemical experiments indicated that the 4-AAP monolayers experience a dynamic adsorption process from a tilted fashion to a more vertical mode for benzene ring and more parallel for pyrine ring with the potential applied toward more negative voltages. The complete desorption of 4-AAP from the silver surface happened as the potentials was applied at -0.8 V. The 4-AAP SAMs formed in acid medium anchoring at the silver surface via N^{15} and O^3 atoms in a perpendicular fashion for the benzene ring and the tilted mode for pyrine ring. In case of the alkaline solution, benzene ring tended to being more perpendicular while pyrine ring parallel to the silver surface.

Key words: 4-aminoantipyrine; *in-situ* SERS; electrochemistry; silver