

2006-11-28

Electrochemical Behavior of TanshinoneIIA and its Determination

Guang-wen LI

Xin-hua LIN

College of Pharmacy, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, Fujian, China; xinhua63@163.com

Xiao-yan LIN

Recommended Citation

Guang-wen LI, Xin-hua LIN, Xiao-yan LIN. Electrochemical Behavior of TanshinoneIIA and its Determination[J]. *Journal of Electrochemistry*, 2006 , 12(4): 449-452.

DOI: 10.61558/2993-074X.1771

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol12/iss4/20>

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.

丹参酮 A 的电化学行为及其测定

李光文, 林新华*, 林小燕

(福建医科大学药学院, 福建 福州 350004)

摘要: 应用循环伏安法研究丹参酮 A 在玻碳电极上的电化学行为并建立差示脉冲伏安法测定含量. 在 pH 4.0 醋酸盐缓冲液中, 差示脉冲伏安氧化峰电流与丹参酮 A 浓度 ($3.0 \times 10^{-7} \sim 2.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 呈良好的线性关系, 检测限为 $2.0 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. 玻碳电极可有效消除样品中其它组分对丹参酮 A 测定的干扰, 已成功用于实际样品中丹参酮 A 含量的直接测定. 该方法灵敏度高、检测范围宽, 结果令人满意.

关键词: 丹参酮 A; 玻碳电极; 差示脉冲伏安法

中图分类号: TG 179

文献标识码: A

丹参酮 A (Tanshinone A) 是从药用鼠尾草植物丹参 (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) 分离提取的二萜醌类化合物^[1]. 关于它的抗肿瘤活性和作用机制的体外试验正在深入研究^[2]. 丹参酮 A 的分析测定已见报道的有高效液相色谱法^[3]、荧光光度法^[4]、高效液相层析法等^[5]. 但都存在仪器昂贵, 操作复杂, 检测限高诸多问题. 由于丹参酮 A 分子中含有醌型结构 (见图 1), 易被氧化还原, 可望

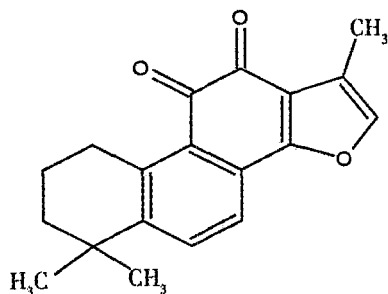


图 1 丹参酮 A 的分子结构式

Fig 1 The molecular structure of Tanshinone A

应用电分析方法检测其药物含量. 本文探讨了丹参酮 A 的电化学行为, 并采用差示脉冲伏安法直接测定复方丹参片的丹参酮 A 含量, 灵敏度及准确度均明显提高, 结果令人满意.

1 实验部分

1.1 仪器

CHI660B 电化学分析仪 (上海辰华), 三电极体系, 工作电极为玻碳电极, 对电极为铂丝电极, Ag-AgCl 电极为参比电极; pH S-3B 型精密酸度计 (上海雷磁); KQ-250DE 型医用数控超声波清洗器 (昆山超声仪器有限公司); JB-1 型搅拌器 (上海雷磁新泾仪器有限公司); BS110S 电子分析天平 (Sartorius 公司).

1.2 试剂

$1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 丹参酮 A 标准溶液: 准确称取丹参酮 A 标准品 (中国药品生物制品检定所) 7.4 mg, 用无水乙醇溶解并定容至 25 mL, 摇匀即得. 实验前再用蒸馏水稀释至所需浓度.

pH 4.0 醋酸盐缓冲液: 取冰醋酸 28.6 mL 与 50% 氢氧化钠溶液 0.1 mL, 置于 100 mL 容量瓶, 加蒸馏水至 90 mL, 振摇, 用冰醋酸或 50% 氢氧化钠调节 pH 值至 4.0, 再用蒸馏水稀释至刻度. 以上试剂均为分析纯, 实验用水为二次蒸馏水.

1.3 测定方法

将玻碳电极依次用金相砂纸和 $0.05 \mu\text{m}$ 氧化铝和水的混合物抛光, 经蒸馏水超声清洗, 备用.

实验之前,先将玻碳电极于醋酸盐缓冲溶液 (pH 4.0) 中循环伏安扫描至伏安曲线稳定,然后向电解池加入一定体积的丹参酮 A 标准溶液,通氮气 5 min,除去溶解氧,开路搅拌富集 2 min,静置 10 s,记录从 $-0.8 \sim -0.4$ V 电位区间内的丹参酮 A 的循环伏安曲线和差示脉冲伏安曲线,并以空白溶液测定曲线作背景校正,量取丹参酮 A 的氧化峰电流。

2 结果与讨论

2.1 丹参酮 A 的循环伏安曲线

图 2 示出丹参酮 A 在 pH 4.0 醋酸盐缓冲溶液中的循环伏安曲线,图中,出现一对氧化/还原峰,其峰电位各在 -0.238 V 和 -0.273 V 处, $E_p = 35$ mV. 氧化/还原峰电流比 $I_{pa}/I_{pc} = 1.596/1.765 = 0.91$,表明该电极反应为可逆过程. 据 $E_p = 57.5/n$,可得该电极过程的电子转移数 $n = 1.65$. 又从氧化峰的半峰宽 114 mV,及关系式 $W_{1/2} = 62.5/(1 -)n$,算得该体系的电子转移系数 $= 0.726^{[6]}$.

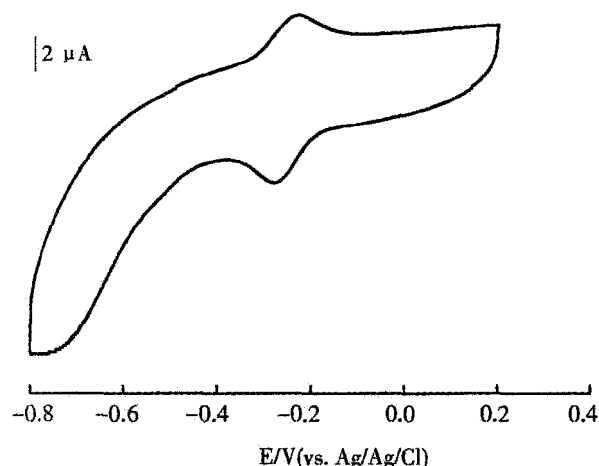


图 2 $2.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 丹参酮 A 在 pH 4.0 的醋酸盐缓冲液中的循环伏安曲线

Fig 2 Cyclic voltammograms of the tanshinone A in pH 4.0 acetic acid buffer solution at GC electrode scan rate: 100 mV/s

实验表明,在玻碳电极上丹参酮 A 的氧化峰和还原峰电流随着扫描速率的增加而明显增加. 图 3 给出,在 $20 \sim 200$ mV/s 扫速范围内峰电流 I_p 与扫速 v 呈良好的线性关系, $I_p = 0.0107 v + 0.2003$, $r = 0.9970$. 可见丹参酮 A 在玻碳电极上的氧化

还原是受表面吸附控制的电极过程. 但在过高扫速下,因充电电流之增大而不利于峰电流的测定. 对此,本文设定适宜的扫速为 $50 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$.

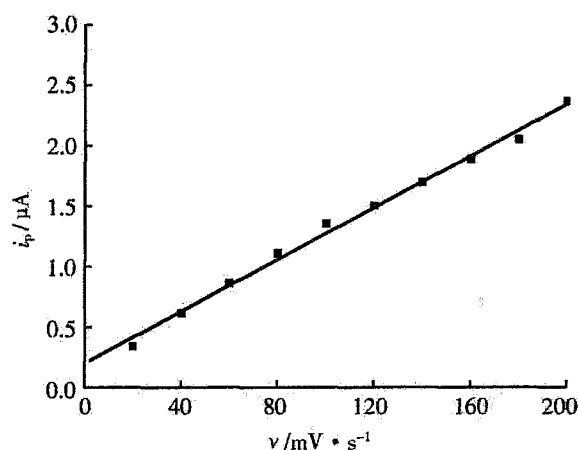
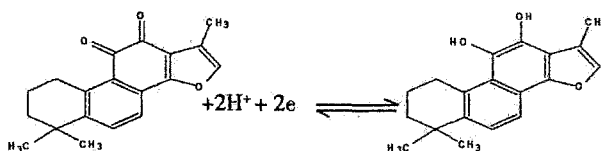


图 3 图 2 循环伏安扫描峰电流随扫描速率变化关系

Fig 3 Variation of the peak current with scan rate in the cyclic voltamogram measurement as fig 2

实验发现,当电解质的 pH 值从 2.0 逐渐增加到 6.0,丹参酮 A 在电极上的氧化/还原峰电流也逐渐增加. 但如 pH 值超过 6.0 之后,氧化/还原峰电流反随 pH 值的增加而下降. 另一方面氧化/还原峰电位随溶液的 pH 的值增加而负移. 在 pH 2.0 ~ 11.5 范围内,式量电位 E^0 与 pH 呈良好的线性关系,回归方程为 $E^0 (\text{V}) = -0.0520\text{pH} + 0.7586$,相关系数为 0.9988. 此处,斜率 $0.0520 = 0.059 m/n$ (m 为电子转移数),由 $n = 2$,从而有 $m = 1.76$. 进一步证实丹参酮 A 在电极上的反应为两质子、两电子的可逆过程,即:



2.2 差示脉冲伏安法测定条件选择

1) pH 值,富集时间和起扫电位的选择

差示脉冲伏安法测试表明,丹参酮 A 的峰电位随 pH 值增大而负移. 在碱性条件下,峰电流变小. 在酸性条件下,峰电流明显升高,且波形较好,灵敏度高. 据此,实验中选择 pH 4.0 的醋酸盐缓冲液作为支持电解质.

按照 1.3 实验方法,比较开路静止富集和开路

搅拌富集对差示脉冲伏安扫描峰电流的影响. 结果表明,开路搅拌富集 3min 之后,测定的峰电流最大且保持恒定,说明丹参酮 A 在电极表面的吸附达到饱和. 故本试验选择这一测定条件.

实验同时表明峰电流随着起扫电位的负移而增大. 意味着起扫电位越负越有利于丹参酮 A 在电极表面的吸附. 这里选择起扫电位为 -0.8V 作为测定条件.

2) 稳定性,精密度和回收率

对新配制的溶液,其实验测定氧化峰电位和峰电流至少在 4h 内无明显变化.

对 $2.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的丹参酮 A 溶液,按照 1.3 实验方法,连续测定 10 次,峰电流的相对标准偏差为 2.6%.

如于样品溶液中分别加入一定量的丹参酮 A 标准溶液,按照 1.3 实验方法测定并计算回收率,结果表明回收率为 96.8% ~ 107.8%,平均回收率 101.6%,RSD = 1.4%.

3) 线性范围及检出限

图 4 示出,按照 1.3 实验方法,测定一系列不同浓度丹参酮 A 标准溶液的差示脉冲伏安曲线 (A); 在 $3.0 \times 10^{-7} \sim 2.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内,丹参酮 A 的氧化峰电流与其浓度呈良好的线性关系 (B),线性回归方程为 $i_p (\mu\text{A}) = 1.4089 C (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) + 0.1606$,相关系数 $R = 0.9994$,检出限为 $2.0 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

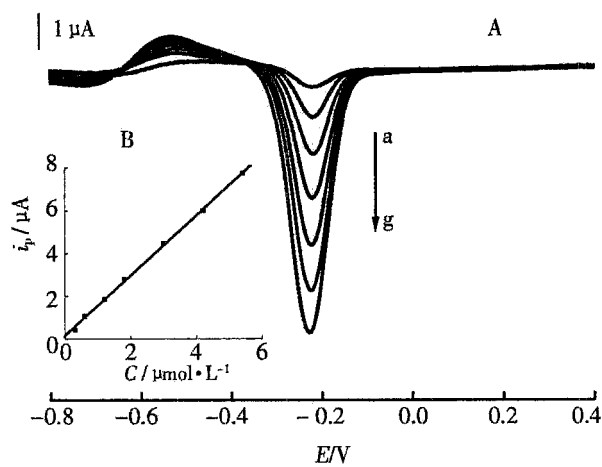


图 4 不同浓度丹参酮 A 标准溶液的差示脉冲伏安曲线
Fig 4 Dependence of differential pulse voltammetric peak currents on the concentrations of tanshinone A (C)
C/μmol·L⁻¹: a) 0.3, b) 0.6, c) 0.9, d) 1.2, e) 1.5, f) 1.8, g) 2.0

4) 表面活性剂对峰电流的影响

若于测定体系分别加入 0.5 mL 浓度均为 1% (V/V) 的阳离子型表面活性剂 CTMAB,非离子型表面活性剂 Tween80,OP 和阴离子型表面活性剂 SDS,则丹参酮 A 的差示脉冲伏安氧化峰电流均明显下降,其中,以加入阴离子型表面活性剂的下降最为明显. 但如于底液 (缓冲溶液, pH 4.0) 中加入微量的 NaCl (浓度 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 同法测定, 则丹参酮 A 的氧化峰电流、峰电位及峰型均不受到明显影响,表明离子强度对它在玻碳电极上的电化学反应的影响甚小.

5) 干扰实验

对含有 $5.0 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 丹参酮 A 的测定溶液 (相对误差 $\pm 5\%$), 100 倍量的 L-胱氨酸、D-L-氨基丙酸, 500 倍量的草酸、酒石酸、柠檬酸、L-谷氨酸、环糊精、葡萄糖、乳糖以及饱和的淀粉水溶液均不干扰测定. 可见该体系具有较好的抗干扰能力.

6) 样品测定

取复方丹参片 (广东白云山制药股份公司,批号为 0301030、0300921、0300928) 20 片,去糖衣后,研碎,精密称取适量 (约相当于一片量) 粉末于锥形瓶中,加甲醇 25 mL,密塞,称量,超声振荡 60 min,放冷后用甲醇补足损失质量,摇匀,过滤,取续滤液过微孔滤膜 ($0.45 \mu\text{m}$) 作为供试品溶液,按 1.3 实验方法进行测定,结果如表 1 所列.

表 1 丹参片丹参酮 A 含量测定 (n=3)
Tab 1 Determination of the content for tanshinone A in salvia miltiorrhiza tablet (n=3)

Batch number	Content of tanshinone	
	A (mg/tablet)	RSD /%
0301030	0.38	1.36
0300921	0.42	1.52
0300928	0.35	1.40

3 结 论

建立丹参酮 A 含量测定的差示脉冲伏安法,并优化其测定条件. 与其他方法相比,具有样品用量少、灵敏度高、检出限较低、反应快速、稳定性好和操作简单等特点. 已成功用于实际样品的分析,结果令人满意.

参考文献 (References):

- [1] ZHANG Yu-wu(张玉五), GAO Ya-fei(高亚菲). Advances of Salvia miltiorrhiz, a drug for activating blood circulation to dissipate blood stasis HDAC inhibitor apicidin and its antitumor[J]. Journal of Xi'an Jiaotong University (Medical Sciences) (in Chinese), 1990, 11 (3): 191 ~ 195.
- [2] Chang W L, Chen C F. Cytotoxic activity of tanshinone against human carcinoma cell lines [J]. Am. J. Chin Med, 1991, 19 (3): 207 ~ 212.
- [3] YN Hua(尹华), ZOU Li(邹莉), TANG Li-shan(谭丽珊). Determination of Tanshinone A in the gujian oral liquid by RP-HPLC [J]. Chinese Traditional Patent Medicine (in Chinese), 2005, 11 (27): 10 ~ 12.
- [4] PANG Zhi-gong(庞志功), WANG Bao-qi(汪宝琪), LI Ying-qing(厉英倩). Determination of the blood-drug concentration of Tanshinone by micelle fluorometry [J]. Journal of Analytical Science, 2000, 16 (6): 488 ~ 491.
- [5] Shi Yan-ping(师彦平), Yang Xiao-pu(杨孝朴), Li Yu(李瑜). Studies on the chemical constituents of Salvia Przewalskii Maxim and HPLC determination of Tanshinone in ethanol extract [J]. Journal of Lanzhou University (Natural Sciences) (in Chinese), 1996, 32 (2): 69 ~ 72.
- [6] Wu Ping(吴萍), Chen Wei(陈伟), Zhang Ya-feng(张亚锋), et al. Electrochemical behavior and determination of curcumin [J]. Electrochemistry (in Chinese), 2005, 11 (3): 346 ~ 349.

Electrochemical Behavior of Tanshinone A and its Determination

LI Guang-wen, LI Xin-hua^{*}, LI Xiao-yan

(College of Pharmacy, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, Fujian, China)

Abstract: The electrochemical behavior of Tanshinone A was investigated by voltammetry at a glassy carbon electrode. And Differential Pulse Voltammetric method for determination of Tanshinone A was developed. In pH 4.0 acetate buffer solution, the relationship between oxidation peak current of Differential Pulse Voltammetric and the concentration of Tanshinone A was linear in the range of $3.0 \times 10^{-7} \sim 2.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. The detection limit had been estimated as $2.0 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. The interference of other components in the preparation could be efficiently eliminated by the glassy carbon electrode. This method can be used for the determination of Tanshinone A in real sample with satisfactory results.

Key words: Tanshinone A, Glassy carbon electrode, Differential pulse voltammetric method