

2007-05-28

Electrochemical Behavior and Determination of β,β -dimethyl-acrylalkannin

Li-qing LIN

Jing-hua CHEN

Hong-yan WAN

Xin-hua LIN

Recommended Citation

Li-qing LIN, Jing-hua CHEN, Hong-yan WAN, Xin-hua LIN. Electrochemical Behavior and Determination of β,β -dimethyl-acrylalkannin[J]. *Journal of Electrochemistry*, 2007 , 13(2): 220-223.

DOI: 10.61558/2993-074X.1812

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol13/iss2/22>

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.

β, β -二甲基丙烯酰阿卡宁的电化学行为及其测定

林丽清, 陈敬华, 万红艳, 林新华*

(福建医科大学药学院药物分析系 福建 福州 350004)

摘要: 研究 β, β -二甲基丙烯酰阿卡宁(β, β -dimethyl-acry-lalkannin, 简称 β, β -DAL)的电化学行为并由差示脉冲伏安法测定其含量. 实验表明: β, β -DAL在玻碳电极上具有明显的吸附性,其电极反应是一可逆的双电子双质子过程. 在pH 4.6的磷酸盐缓冲溶液中, +0.8 ~ -0.4 V 电位区间内, β, β -DAL的差示脉冲还原峰电流(I_p)与其浓度(C)呈良好的线性关系,浓度范围 $1.3 \times 10^{-7} \sim 1.7 \times 10^{-6}$ mol/L($r=0.9996$),检出限 4.0×10^{-8} mol/L. 本方法灵敏度高、重现性好,用于中药紫草中 β, β -DAL的含量测定,结果满意.

关键词: β, β -二甲基丙烯酰阿卡宁; 电化学行为; 循环伏安

中图分类号: O 657.1

文献标识码: A

β, β -二甲基丙烯酰阿卡宁是从紫草中提取的天然活性小分子,具有抗肿瘤、抗炎、抗免疫缺陷、抗凝血、保肝护肝、抗前列腺素生物合成等药理作用^[1-3],尤其是抗肿瘤作用已成为人们的研究热点. Plyta等^[4]报道,阿卡宁也是拓扑异构酶I潜在的抑制剂. Huang等^[5]又从 β, β -二甲基丙烯酰阿卡宁合成一系列阿卡宁衍生物,并分别测定它们的细胞毒副作用.

关于 β, β -DAL的测定至今仅有色谱法^[6]报道,涉及它的电化学行为尚未见诸文献. 本文研究了 β, β -DAL在玻碳电极上的电化学性能及其电极反应机理,并应用差示脉冲伏安法测定中药紫草的 β, β -DAL含量,获得较满意的实验结果.

1 实验

1.1 仪器与试剂

CHI660B 电化学分析仪(上海辰华);三电极系统,工作电极为玻碳电极,对电极为铂丝电极,Ag/AgCl 为参比电极.

干燥紫草(福建同春药业有限公司),经福建医科大学药学院鉴定.

磷酸缓冲液(PBS):由50 mmol·L⁻¹ NaH₂PO₄·Na₂HPO₄和20 mmol·L⁻¹ NaCl 配制,用50 mmol·L⁻¹ H₃PO₄和NaOH 溶液调至所需pH值.

2.66×10^{-4} mol·L⁻¹ β, β -DAL 标准溶液配制:准确称取 β, β -DAL 标准品(中国药品生物制品检定所)49.3 mg,用甲醇溶解并定容至500 mL,摇匀即得. 其他试剂均为分析纯,实验用水为双蒸水. 室温下实验.

1.2 实验步骤

1) 电极预处理:玻碳电极用金相砂纸和0.05 μ m 氧化铝与水的混合物抛光至镜面,然后依次经乙醇、双蒸水超声清洗.

2) 循环伏安法:取10 mL PBS 缓冲液盛于电解池,再加入一定体积的 β, β -DAL 稀释液,将玻碳电极浸入上述溶液,搅拌富集2 min后,取出,淋洗10 s,然后以PBS 缓冲液(pH 4.6)作电解质,于+0.8 ~ -0.4 V 电位区间内测其循环伏安曲线,扫描速率100 mV/s.

3) 差示脉冲伏安法:玻碳电极富集 β, β -DAL 过程步骤同上,之后置于pH 4.6的PBS 缓冲液,在+0.8 ~ 0.0 V 电位区间内测其差示脉冲伏安曲

线,扫速 4 mV/s, 脉冲幅度 50 mV/s, 脉冲宽度 0.05 s.

2 结果与讨论

2.1 β, β -DAL 的电化学性质

图 1 为 β, β -DAL 在 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液中的循环伏安曲线. 如图, 在扫描的电位区间内, β, β -DAL 显示两对氧化/还原峰, 峰 I 的峰电位分别为 $E_{pa} = 0.629$ V 和 $E_{pc} = 0.600$ V, 峰形良好, $\Delta E = 29$ mV, 峰电流比 $I_{pa} : I_{pc} = 1.12 : 1 \approx 1$, 可见该电极反应当为可逆过程. 据可逆过程的判据: $\Delta E = 57.5 / n^{[7]}$, 得电子转移数 $n = 2$. 峰 I 的还原峰半峰宽为 70 mV, 据 $W_{1/2} = 62.5 / (1 - \alpha)n$, 可得电子转移系数 $\alpha \approx 0.45$. 峰 II 可指认为羟基转化为羰基的氧化/还原峰.

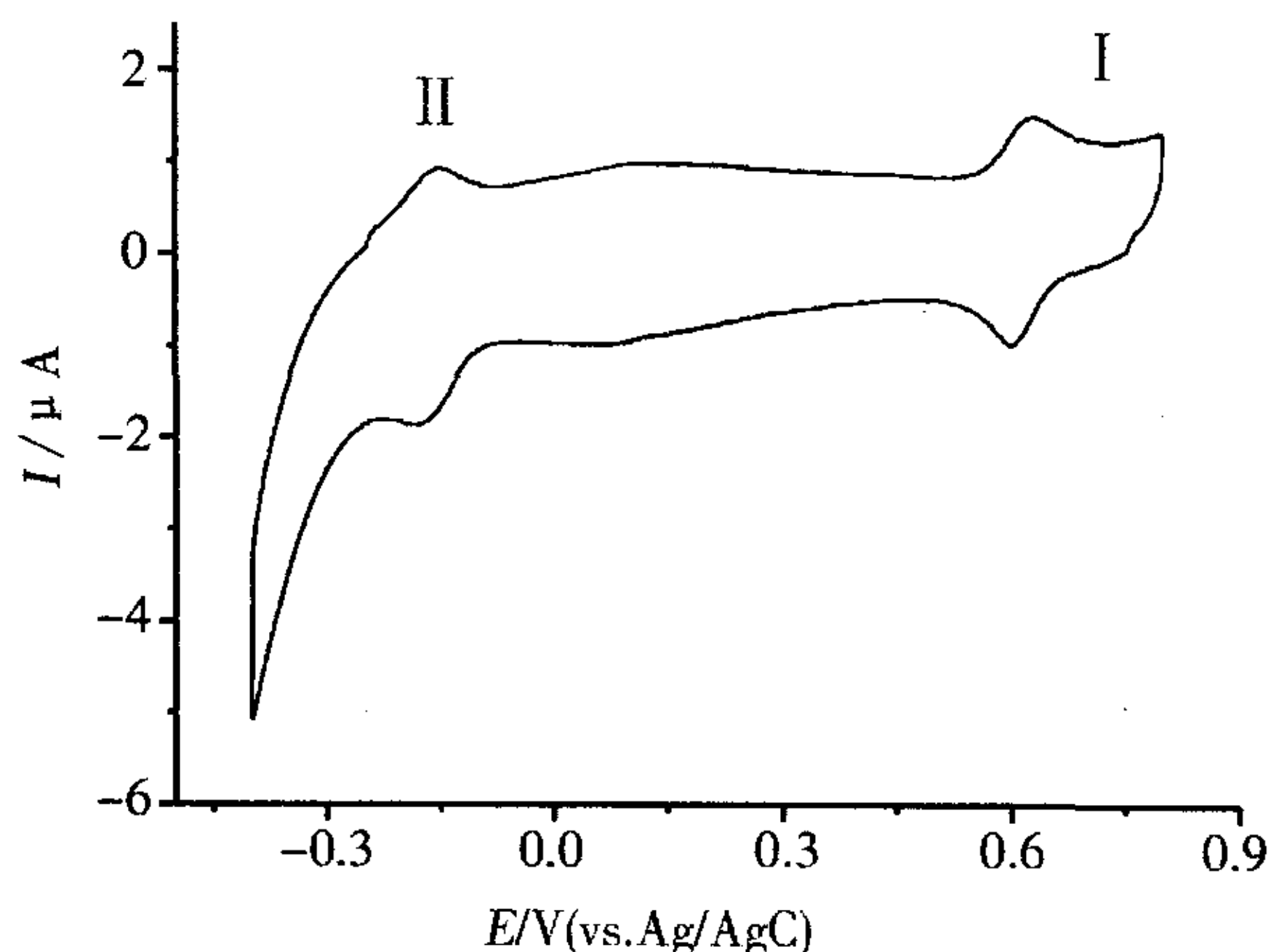


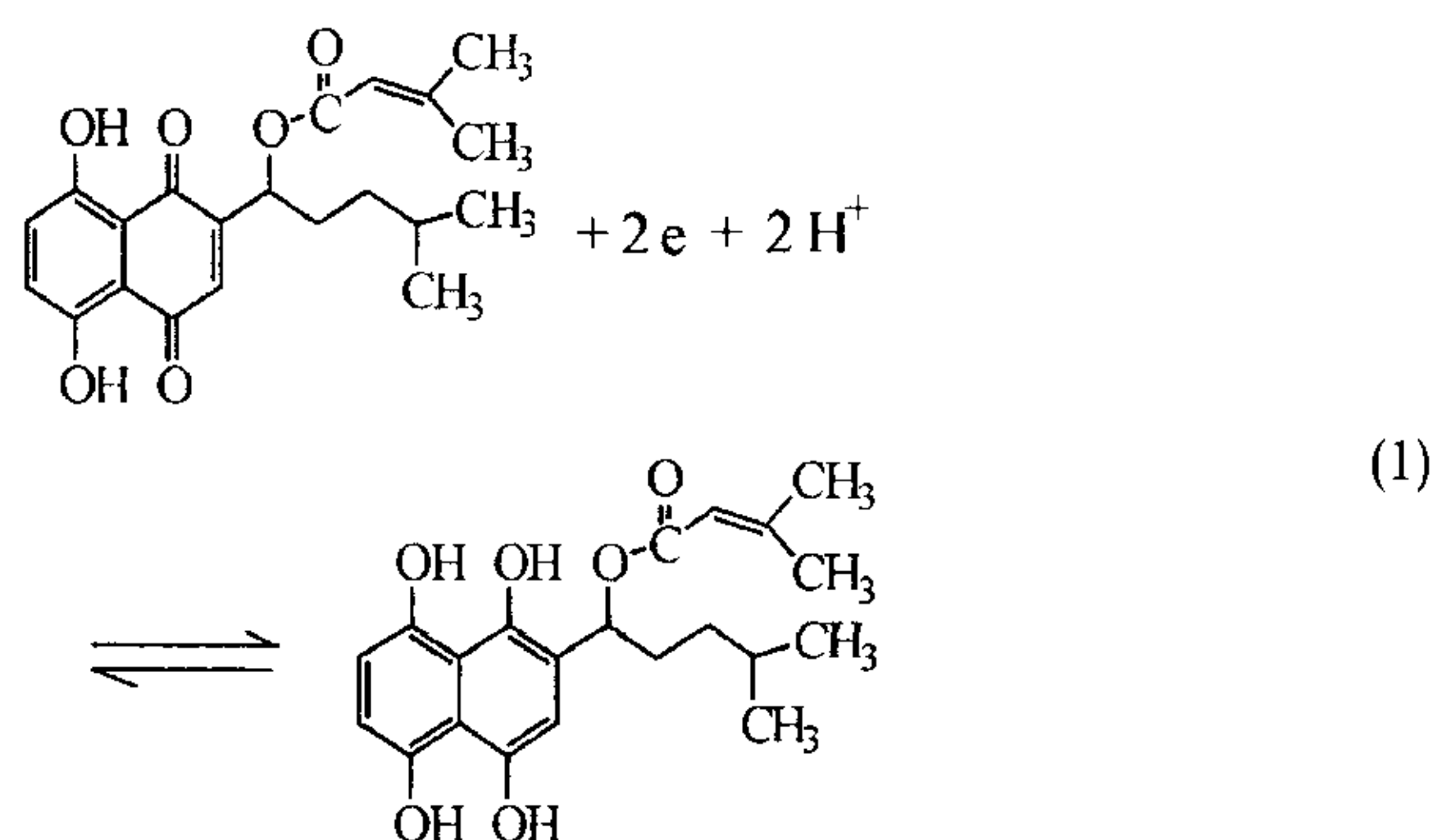
图 1 β, β -DAL 在 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 4.6) 中于玻碳电极上的循环伏安曲线

Fig. 1 Cyclic voltammograms of the β, β -DAL in 0.05 mol/L PBS (pH 4.6) at GC electrode scan rate: 100 mv/s

2.2 溶液 pH 值的影响

实验表明, 在玻碳电极上, 上述峰 I 的峰电位随溶液的 pH 值增加而负移 (图略), 说明该电极过程有质子参与. 但如 pH 小于 3.6, 峰形不好, 7.4 时, 该氧化/还原峰消失. 这是因为 pH 值增大不利于氢醌向醌式转化^[8]. 如取峰 I 氧化/还原峰的平均峰电位作其式量电位 (E^0), 以 E^0 对 pH 作图, 可得一直线, 在 pH 4.6 ~ 6.7 范围内, 线性回归方程为: $E^0 = -0.065 \text{ pH} + 0.8667$. 据斜率 $0.065 = 0.059 m/n$ ($n = 2$, m 为质子转移数), 可得 $m = 2.20 \approx 2$, 据此可说明, 在 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲

液 (pH 4.6) 中, β, β -DAL 于玻碳电极上的电化学反应是一个双电子双质子的可逆过程, 反应式如下:



2.3 扫描速率的影响

图 2 给出, 在玻碳电极上 β, β -DAL 于 0.6V 附近出现的氧化峰电流和还原峰电流均随着扫速的增加而明显增大 (A). 在 40 ~ 160 mV/s 扫速范围内, 峰电流与扫速呈良好的线性关系, 相关系数 $r = 0.9993$ (B), 这说明该电极过程为吸附控制的可逆过程.

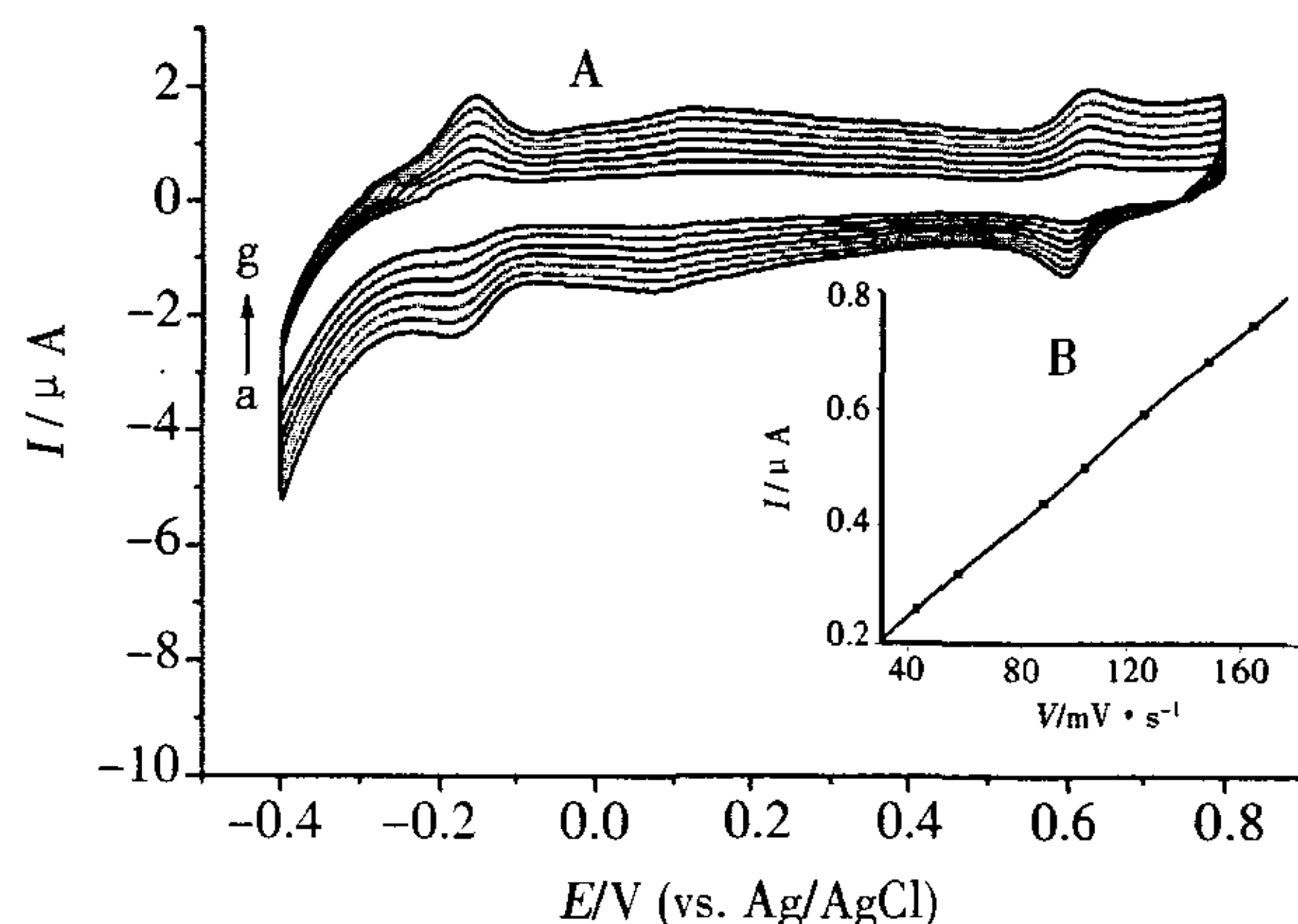


图 2 不同扫速下 β, β -DAL 在 PBS (pH 4.6) 中于玻碳电极上的循环伏安曲线

Fig. 2 Cyclic voltammograms of the β, β -DAL in PBS (pH 4.6) at GC electrode with different scan rate/mV \cdot s⁻¹: a) 40, b) 60, c) 80, d) 100, e) 120, f) 140, g) 160

2.4 表面活性剂对峰电流的影响

若在测定体系中分别加入浓度均为 1% (mL/mL) 的阳离子型表面活性剂 CTMAB, 或非离子型表面活性剂 Tween80、Op 或阴离子型表面活性剂 SDS 各 1mL, 皆使 β, β -DAL 还原峰电流明显下降,

其中,加入 CTMAB 的下降最明显,进一步表明了电极反应的吸附性质.

2.5 差示脉冲伏安法测定 β,β -DAL 条件选择

1) 测定底液的选择

差示脉冲伏安法测试显示:碱性条件下,溶液呈粉红色,峰电流变小;酸性条件下,溶液呈黄色,峰电流明显升高.其中以溶液的 pH 为 4.6 时峰形最好,峰电流最大,据此本实验选择 pH 4.6 的 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液作测定底液.

2) 富集电位的选择

经 β,β -DAL 富集后的玻碳电极,其还原峰电流明显大于无富集时的电流.且以 +0.8 V 处富集的峰电流最大,电极也比较稳定.据此本文选择 +0.8 V 电位富集 β,β -DAL,时间 2 min.

2.6 线性范围、检出限及重现性

图 3 示出不同浓度的 β,β -DAL 溶液于玻碳电极上的差示脉冲.实验表明,其还原峰电流(I_p)也随 β,β -DAL 浓度的增大而增大.且在 1.3×10^{-7} mol/L ~ 1.7×10^{-6} mol/L 浓度范围内, I_p 与 β,β -DAL 浓度(C)呈良好的线性关系.线性回归方程为 $I_p = -0.4853C - 0.1097$,此处 I_p 的单位为 μA , C 单位为 $\mu mol/L$,相关系数 $r = 0.9996$,检出限为 4.0×10^{-8} mol/L.重现性考察表明,对 2.66×10^{-4}

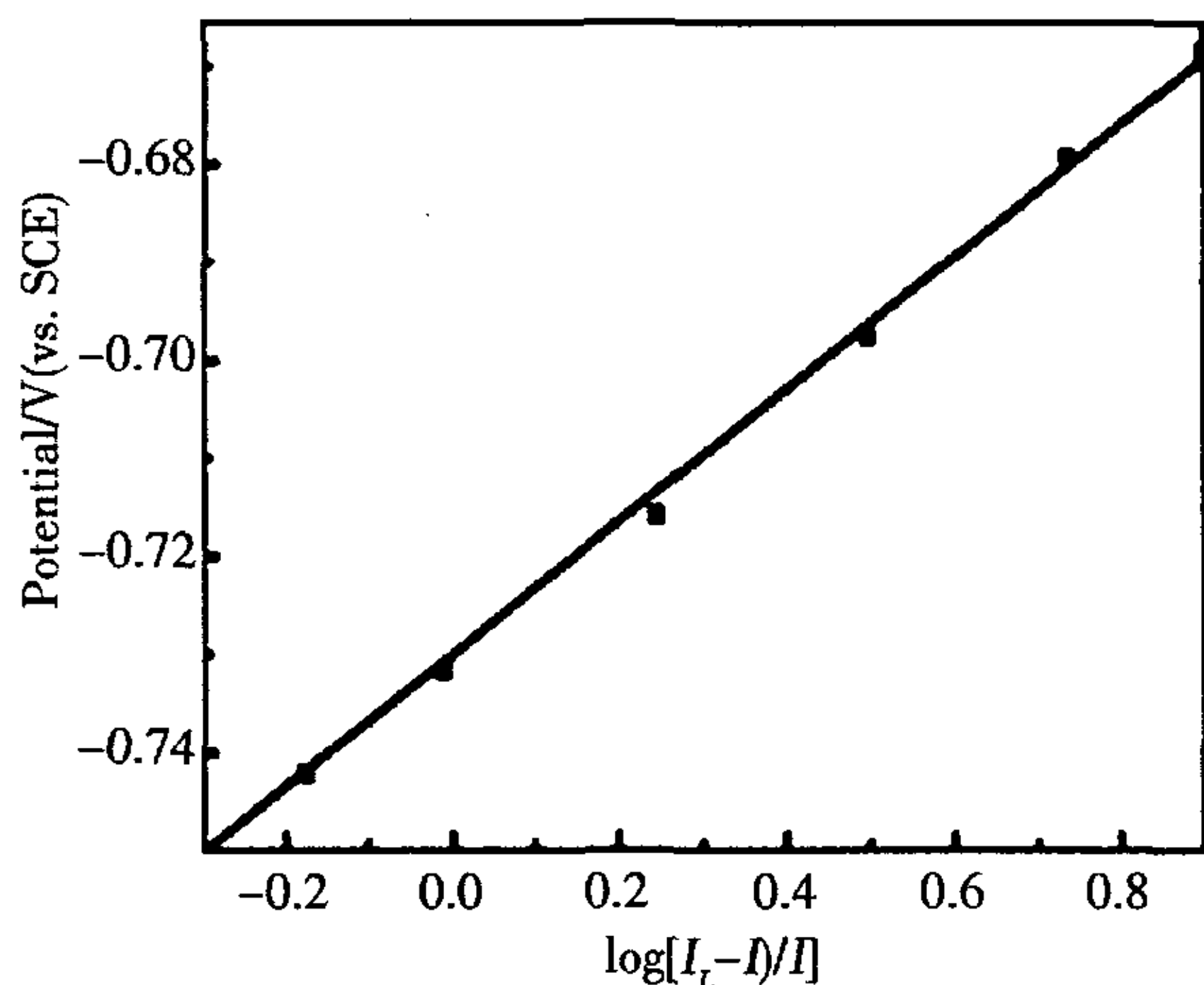


图 3 不同浓度的 β,β -DAL 于磷酸盐缓冲溶液 (pH 4.6) 中玻碳电极上的差示脉冲伏安曲线

Fig. 3 Voltammetric reduction peak currents of the β,β -DAL with different concentrations in PBS (pH 4.6) at GC electrode
 β,β -DAL concentration/ μmol : a) 0.13, b) 0.53, c) 0.93, d) 1.20, e) 1.46, f) 1.73

mol/L 的 β,β -DAL 溶液连续测定 10 次,峰电流的相对标准偏差 (RSD) 为 3.2%.

2.7 样品及回收率测定

将紫草粉碎,精确称取 2.0 g,置索氏提取器中,加甲醇 200 mL,加热回流至提取液无色.将提取液移置 250 mL 容量瓶中,定容、摇匀,精确量取 10 mL 置 25 mL 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得样品溶液.取一定量样品溶液,采用标准加入法测得该紫草样品的 β,β -DAL 含量为 3.16%,回收率 97% ~ 102%,平均回收率 101.1%,RSD = 1.2%,符合中国药典规定.

3 结 论

在 pH 4.6 磷酸盐缓冲液中, β,β -DAL 于玻碳电极上的电化学反应是一双电子双质子的可逆氧化还原过程, β,β -DAL 在电极上的吸附是该电极过程的控制步骤.应用差示脉冲伏安法测定样品的 β,β -DAL 含量,具有检出限低、快速、重现性好和操作简便等特点,已成功地用于实际样品分析,结果令人满意.

参考文献 (References):

- [1] Jiang Y L, Song J D. Apoptotic induction of Xinjiang shikonin on human colorectal cancer CCL229 cell [J]. Chin J Cancer, 2001, 20(12): 1355-1358.
- [2] Fukui H, Hasan A F M F, Kyo M. Formation and secretion of a unique quinone by hairy root cultures of Lithospermum erythrorhizon [J]. Phytochemistry, 1999, 51(4): 511-615.
- [3] Gao D, Kakmna M, Oka S, et al. Reaction of β -alkannin (shikonin) with reactive oxygen species: detection of β -alkannin free radicals [J]. Bioorg Wed Chem, 2000, 8(11): 2561-1569.
- [4] Plyta Z F, Li T, Papageorgiou V P, et al. Inhibition of topoisomerase I by naphthoquinone derivatives [J]. Bioorg Med Chem Lett, 1998, 8(23): 3385-3390.
- [5] Huang Z S, Wu H Q, Duan Z F, et al. Synthesis and cytotoxicity study of alkannin derivatives [J]. Eur J Med Chem, 2004, 39(9): 755-764.
- [6] ChP. 2005. Vol II: Chemical Industry Press, 2005. 1: 238-239 (in Chinese).
- [7] Bard A J, Faulkner L R. Electrochemical methods fundamentals and applications [M]. 2nd Edition. Beijing: Chemical Industry Press, 2005, 166-167.
- [8] Broadbent A D, Sommermann E F. The reversible tautomerism of 9, 10- anthraquinols [J]. Tetrahedron Lett, 1965, (30): 2649-2653.

Electrochemical Behavior and Determination of β , β -dimethyl-acry-lalkannin

LIN Li-qing, CHEN Jing-hua, WAN Hong-yan, LIN Xin-hua*

(*Department of Pharmaceutical Analysis, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, Fujian, China*)

Abstract: The electrochemical behavior of the β , β -dimethyl-acry-lalkannin and a novel differential pulse voltammetric method for the determination of the β , β -DAL content were studied. Experiments indicated that the β , β -DAL has excellent adsorbability and the electrochemical reaction is a reversible two-electro and two-proton process. In phosphate buffer solution (pH 4.6), the differential pulse voltammograms for β , β -DAL reduction signals from +0.8 ~ -0.4 V were monitored. The relationship between reduction peak current and concentration of β , β -DAL is linear in the range of $1.3 \times 10^{-7} \sim 1.7 \times 10^{-6}$ mol/L ($r = 0.9996$). The detection limit is 4.0×10^{-8} mol/L. This method is sensitive and reliable for the determination of the β , β -DAL in radix with satisfactory results.

Key words: β , β -dimethyl-acry-lalkannin; electrochemical behaviors; cyclic voltammetry