

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

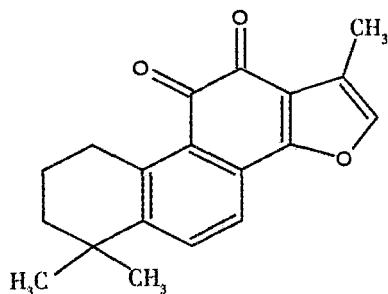


图 1 丹参酮 A 的分子结构式

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

CHI 660B 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 $= 0.726^{[6]}$ 。

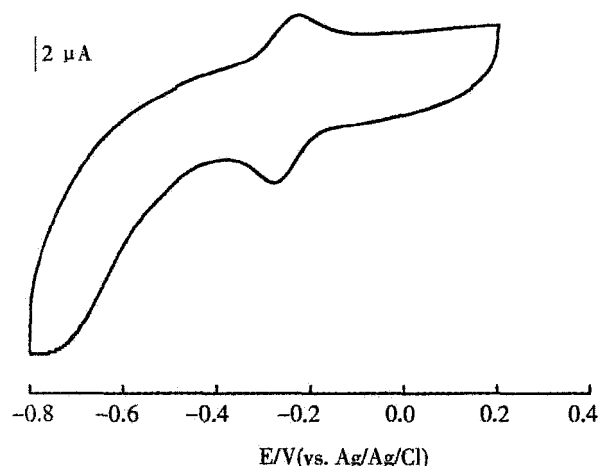


图 2 $2.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 丹参酮 A 在 pH 4.0 的醋酸盐缓冲液中的循环伏安曲线

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 $50 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

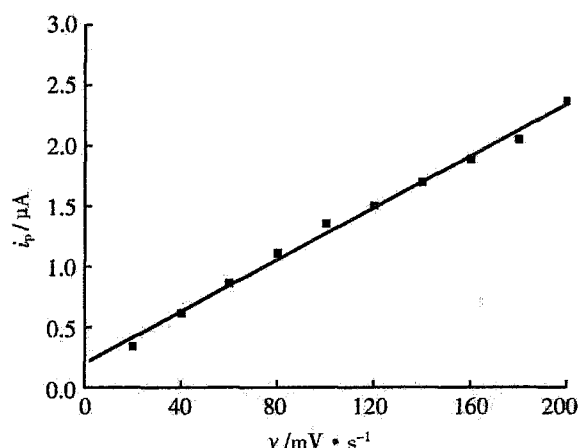
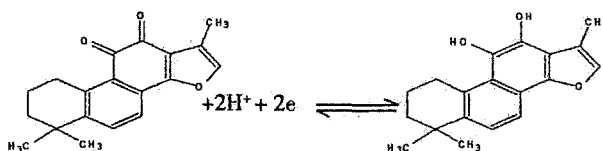


图 3 图 2 循环伏安扫描峰电流随扫描速率变化关系

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 $2.0 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

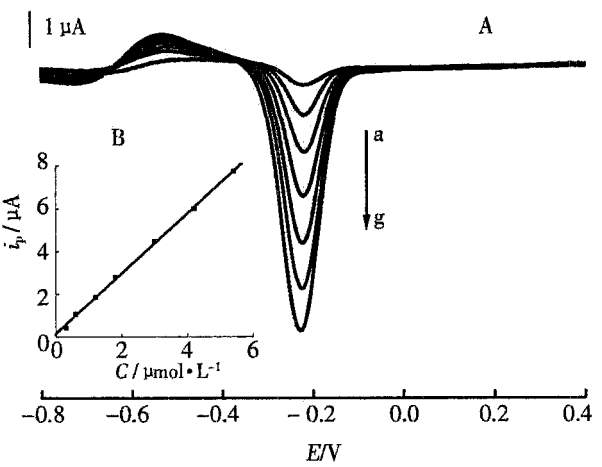


图 4 不同浓度丹参酮 A 标准溶液的差示脉冲伏安曲线
Fig 4 Dependence of differential pulse voltammetric peak currents on the concentrations of tanshinone A (C)
 $C/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$: a) 0.3, b) 0.6, c) 0.9, d) 1.2, e) 1.5, f) 1.8, g) 2.0

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行为的影响甚小。

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 miltiorrhiza, 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 carcinomacellines [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