

# 方波伏安法测定紫草素及其电化学行为的考察

周红碧, 李乐翔

(惠生工程(中国)有限公司 河南化工设计院分公司, 河南 郑州 450000)

**摘要:** 电化学伏安行为研究表明, 在 pH 3.98 的 HAc - NaAc (20% 乙醇) 缓冲溶液中, 紫草素在玻碳电极产生了一对氧化还原波, 并证实这一反应是受吸附控制为主的电极过程. 同时选用方波伏安法以氧化峰为对象考察峰电流与药物浓度的关系, 结果表明: 峰电流与紫草素浓度在  $2.08 \times 10^{-8} \sim 1.82 \times 10^{-6}$  mol/L 范围内呈较好线性关系. 方法用于中药药品紫草中紫草素及其衍生物总含量的测定, 样品不经预处理分离即可直接测定, 结果令人满意.

**关键词:** 紫草素; 电化学; 检测

中图分类号: O657.1

文献标识码: A

文章编号: 1006-3757(2011)03-0160-04

紫草素 (*shikonin*) 是传统中药紫草 (软紫草和硬紫草的根) 的主要活性成分, 为多种萘醌 (*naphthoquinone*) 类色素<sup>[1-3]</sup>, 图 1 为该紫草素的分子结构图. 现代医学研究发现, 紫草素具有抗肿瘤、抗菌、抗病毒、抗艾滋病毒、抗生育、解热、止血、降血糖等广泛的药理作用<sup>[4-6]</sup>. 又由于其提取液的颜色鲜艳、自然、柔和且食用安全, 由紫草为原料提取的紫草色素, 是世界上包括我国在内的几十个国家允许使用的食品着色剂<sup>[7]</sup>. 因此, 建立一种高灵敏度的检测紫草素的方法具有重要的药理学意义.

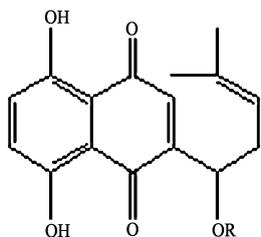


图 1 紫草素的结构

Fig. 1 The structure of shikonin

紫草中紫草素及其衍生物通常以左旋紫草素 (*shikonin*) 的含量为测定标准, 文献报道的测定紫草中左旋紫草素含量的方法有薄层扫描法<sup>[8]</sup>、高效液相色谱法<sup>[9-10]</sup>、毛细管电泳法<sup>[11]</sup>、薄层色谱 - 化学发光<sup>[12]</sup>等. 因紫草素成分复杂且有效成分含量较

低, 上述分析方法都需要耗时的预分离步骤, 而且薄层扫描法操作程序过多, 影响因素不易消除. 高效液相色谱法分析时间长、试剂成本高、样品处理较繁琐; 毛细管电泳对样品处理要求高. 电化学分析方法是一种高灵敏度、廉价和快速的分析方法, 它不仅是一个很好的检测药物含量的方法, 也是一个能揭示药物反应机理和找出药物活性部位的手段, 为设计开发更理想的新药提供依据. 袁焯斌<sup>[13]</sup>曾用单扫描极谱法研究了强碱性溶液中紫草素在悬汞电极上的电化学性质, 而紫草素在固体电极上的电化学机理研究和含量测定还未见报道. 本文采用伏安法研究紫草素在玻碳电极上的电极反应, 建立了一种新的检测紫草素的方法. 该方法具有高灵敏度、高选择性和比较宽的检测范围, 且样品不经预分离可直接测定紫草素含量.

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

CHI - 650A 电化学工作站 (上海辰华仪器公司); 玻碳电极为工作电极, 饱和甘汞电极 (SCE) 为参比电极, 铂丝为对电极; 医用超声波清洗器; pH 计, 分析天平; 左旋紫草素标准品 (中国药品生物制品检定所); 其它所用试剂均为分析纯; 实验用水为二次石英亚沸蒸馏水. 所用溶液均用二次水配制, 实验在室温下操作. 紫草素标准品在 4 °C 下存放. 实际

样品为中药紫草,购于河南省郑州市健康人大药房。

紫草素标准溶液的配制:准确称取4.8 mg的紫草素标准品,置于烧杯中,加入无水乙醇溶解,转移入10 mL容量瓶中用无水乙醇定容,配成 $1.665 \times 10^{-3}$  mol/L的溶液,用时稀释到所需浓度。

## 1.2 实验方法

取10 mL 0.16 mol/L HAc - NaAc (20% 无水乙醇)缓冲溶液于电解池中,加入一定体积的紫草素标准溶液,于0.1~0.9 V,或0.3~1.1 V电位范围内进行伏安扫描,记录其伏安曲线进行性质研究.在进行含量测定时选择了方波伏安法,并在扫描前于0.460 V下吸附富集30 s以提高测定灵敏度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 紫草素的循环伏安行为

在0.16 mol/L HAc - NaAc (20% 无水乙醇, pH 3.98)缓冲溶液中,于0.3~1.1 V电位范围内循环扫描,发现紫草素有一对氧化还原峰,其峰电位分别为 $E_{pa} = 0.698$  V和 $E_{pc} = 0.632$  V (图2)。如果在同

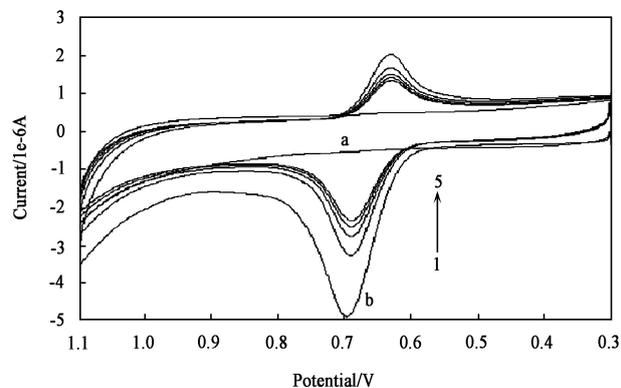


图2 紫草素在玻碳电极上的循环伏安图

Fig. 2 CV of shikonin at GCE for multi - cycles

a: 底液; b: a +  $2.0 \times 10^{-5}$  mol/L 紫草素; 电解质: 0.16 mol/L HAc - NaAc 缓冲溶液 (20% 无水乙醇, pH 3.98); 扫描速率: 100 mV/s.

一扫描速率下连续扫描,发现峰电流随着扫描次数的增加而迅速降低,到第4次时趋于稳定,该现象可能是由于其氧化还原产物吸附在电极表面,阻碍了电子的传递,不利于下一次电极反应的进行.但只要断开工作电极并使其在溶液中摇晃0.5 min,电极就能恢复初始状态,再次扫描时就能得到相同的循环伏安图.以下讨论中,峰电流均取自第一次扫描。

### 2.2 实验条件的选择

实验考察了支持电解质种类、浓度以及 pH 值对峰电流的影响,结果发现紫草素在碱性溶液中峰型较差甚至得不到氧化还原峰,而在酸性溶液中峰型较好,尤其在 HAc - NaAc 缓冲溶液中峰型最好,峰电流最大,稳定性也最高。

考虑到紫草素微溶于水的物理性质,在 HAc - NaAc 缓冲溶液中加入适当比例的乙醇以增加其溶解度.实验考察了无水乙醇在缓冲溶液中的体积百分数对紫草素在 HAc - NaAc 缓冲溶液中的溶解度的影响,结果表明紫草素的峰电位随着无水乙醇的体积分数的增加而负移、峰电流减小,但紫草素的溶解度增加.当乙醇在溶液中的体积百分比达20%时,浓度低于 $5.0 \times 10^{-5}$  mol/L的紫草素在该混合溶液中能很好的溶解.所以选择了含20%无水乙醇的 HAc - NaAc 缓冲溶液作为测定底液。

底液酸度的影响:用0.2 mol/L HCl 或 NaOH 溶液调节缓冲溶液的酸度,实验考察了紫草素在2.05~8.92的 pH 值范围内的电化学性质.结果表明当溶液的 pH 值小于4.90时峰电流几乎不变, pH 大于4.90后峰电流大幅减小而且不稳定,在 pH 大于8.92后紫草素的氧化还原峰几乎消失了.选择了 pH 为3.98、浓度为0.16 mol/L HAc - NaAc (含20%乙醇)缓冲溶液。

### 2.3 扫描速率的影响

实验考察了扫描速率在50~400 mV/s 范围内、浓度为 $2.0 \times 10^{-6}$  mol/L的紫草素的循环伏安行为.随着扫描速率的增大,还原峰 $P_c$ 的电位逐渐负移,氧化峰 $P_a$ 的电位逐渐正移,即紫草素的氧化峰和还原峰的峰电位之差随着扫描速率的增加而增大,而且在此扫描速率范围内, $P_a$ 、 $P_c$ 的峰电流均与扫描速率的一次方成良好的线性关系,初步说明紫草素在玻碳电极上的电极反应主要是受吸附控制的过程。

### 2.4 峰电流和紫草素浓度的关系

紫草素是中药紫草的主要活性成分,是1,4 萘醌的衍生物,萘醌上的羰基在电极上容易发生氧化还原反应,但主要表现在负电位范围<sup>[14]</sup>,因此,选择在正电位范围且灵敏度较高的氧化峰 $P_a$ 作为分析对象可以消除其它1,4 萘醌衍生物的干扰.同时,比较了方波伏安法(SWV)和差示脉冲伏安法(DPV)对测定灵敏度的影响,发现SWV的测定电流比DPV的测定电流大约一倍,因此,选择了灵敏度高、

速度快的方波伏安法作为检测手段。

由于紫草素在玻碳电极上的反应是受吸附控制为主的过程,因此在电极上进行预富集能提高检测的灵敏度.考察了预富集时间和预富集电位的影响,选定的最佳富集条件为在电位 0.46 V 下预富集时间 30 s.在上面选定的实验条件下,紫草素的氧化峰电流与紫草素浓度在  $5.2 \times 10^{-8} \sim 1.82 \times 10^{-6}$  mol/L 范围内呈较好线性关系,线性方程和相关系数分别为:  $i_p(\mu\text{A}) = 0.126 + 2.246C(\mu\text{mol/L})$ ,  $\gamma = 0.998$ .

根据文献[15]推导出的检测限公式为式(1):

$$LOD = \frac{3S_B}{B} \frac{\sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y})^2}{n-2}}}{B} \quad (1)$$

其中,  $S_B$  是标准偏差,  $y_i$  是所测溶液的浓度,  $\hat{y}$  是由

线性方程计算出的溶液浓度,  $n$  是样品数,  $B$  是线性回归方程的斜率.由式(1)计算出检测限为  $2.08 \times 10^{-8}$  mol/L.

## 2.5 分析应用

在上面选定的实验条件下,对实际样品中药紫草中紫草素及其衍生物的总含量进行测定.将干燥紫草药材粉碎,过 0.45 mm 孔径筛,精确称取紫草药材粉末 0.500 0 g,置 50 mL 锥形瓶中,加乙醇 30 mL,超声提取 30 min,振摇后静置冷却 10 min,双层滤纸过滤,滤渣加 20 mL 乙醇,超声提取 20 min,双层滤纸过滤后合并乙醇滤液并用乙醇定容至 50 mL,将该溶液作为待测样品液(样品中其它组分不干扰的测定).用标准加入法测定其紫草素的含量和回收率.6 次测得紫草素的平均含量为 9.172 mg/g,平均回收率为 99.85%,相对标准偏差为 3.15%.结果见表 1.

表 1 样品回收率测定 ( $n=6$ )

Table 1 Determination of sample ( $n=6$ )

No	样品测定值/(mg/g)	标准溶液添加值/ $\mu\text{g}$	标准溶液测定值/ $\mu\text{g}$	回收率/%	RSD/%
1	9.291	0.532	0.496	93.23	3.15
2	8.716	0.532	0.543	102.07	
3	9.399	0.532	0.559	105.07	
4	9.368	0.532	0.499	93.80	
5	9.431	1.140	1.196	104.91	
6	8.824	1.140	1.140	100.00	
平均值	9.172			99.85	

## 3 结论

运用电化学手段研究了抗癌中草药紫草素在玻碳电极上的电化学性质,在 pH 3.98 的 HAc - NaAc (20% 乙醇)缓冲溶液中,紫草素在电极上产生了一对氧化还原峰.实验结果表明紫草素在玻碳电极上发生的是以吸附控制为主的电极反应.据此,建立了一种新的检测紫草素的电化学分析方法.该方法具有高灵敏度、高选择性和比较宽的检测范围.运用该方法对中药紫草样品中紫草素的含量进行了检测,不用预分离,结果令人满意.

## 参考文献:

[1] 李忠良.紫草的总色素含量测定[J].中草药,1983,14(10):44-45.  
[2] 傅善林.新疆软紫草中萘醌色素的研究[J].中草药,

1986,17(10):2-5.  
[3] 向桂琼.新疆紫草细胞培养物的化学成份研究[J].植物学报,1992,6:470-474.  
[4] 侯家玉,王本祥.现代中药药理学[M].天津:天津科学技术出版社,1997:349-353.  
[5] 黄兆胜.中药学[M].北京:人民卫生出版社,2002:125-126.  
[6] 黎玉红,周晓荣.新疆紫草的研究进展[J].新疆中医药,2002,20(4):75-77.  
[7] 中国食品添加剂生产应用工业协会.食品添加剂手册[M].北京:中国轻工业出版社,1996:351-415.  
[8] 刘芳,伍伟祯.薄层扫描法测定烧伤膏中左旋紫草素的含量[J].基层中药杂志,2001,15(2):21-22.  
[9] 郭红军,简丽娜,孔焕宇.高效液相色谱法测定玉红膏中紫草素的含量[J].时珍国医国药,2006,17(4):489-490.  
[10] 施玉峰,谢明勇,梁瑞红.反相高效液相色谱法测定

- 紫草素衍生物[J]. 色谱, 2005, 23(2): 209-212.
- [11] 李全文, 陈缙光, 周颢. 毛细管电泳法测定紫草中的紫草素[J]. 分析化学, 2006, 34(7): 991-994.
- [12] 李海峰, 汪宝琪, 庞志功. 薄层色谱-化学发光联用技术测定紫草素含量[J]. 分析化学, 1998, 26(10): 1282-1283.
- [13] 袁倬斌, 邹洪. 紫草素的电化学研究[J]. 分析测试学报, 2001, 20(5): 50-52.
- [14] Athanassios K. Boudalis, Xavier Policand, Alix Sournia - Saquet, Synthesis, spectroscopic, structural and electrochemical studies of carboxyl substituted 1,4 - naphthoquinones [J]. *Inorganica Chimica Acta*, 2008, 361: 1681-1688.
- [15] James N Miller, Jane C Miller. *ESTADISTICAY QUIMIOMETRIA PARA QUIMICA [M]*. ANALITICA, PEARSON EDUCACION, S A, Madrid, 2002: 119-128.

## Study on Square - Wave Voltammetry Determination and Electrochemical Behavior of Shikonin

ZHOU Hong - bi, LI Le - xiang

(Henan Design Institute Branch of Wison Engineering Co Ltd, Zhengzhou 450000, China)

**Abstract:** The electrochemical behaviour of shikonin was investigated on a glassy carbon electrode in an acetate buffer (pH = 3.98) solution using cyclic voltammetry. Shikonin gives a pair of redox peaks by the absorption - controlled process. The experimental conditions were optimized for the determination of shikonin and the square - wave anodic peak currents were linearly related to the shikonin concentrations in the range from  $2.08 \times 10^{-8}$  to  $1.82 \times 10^{-6}$  mol/L with a correlation coefficient of 0.998. Using the established method without pretreatment and pre - separation, shikonin in herbal drug Gromwell Root was determined with satisfactory result.

**Key words:** shikonin; electrochemical; determination

**Classifying number:** O657.1

