

文章编号: 1001-3806(2011)05-0672-03

## 连翘叶的喇曼光谱鉴别

王 玮<sup>1</sup>, 席欣欣<sup>1</sup>, 王 蓓<sup>2</sup>, 李建波<sup>1</sup>, 景恒翠<sup>1</sup>

(1. 河南大学 药学院, 开封 475004; 2. 河南大学 物理与电子学院, 开封 475004)

**摘要:** 为了通过喇曼光谱对不同采收期的连翘叶进行快速质量评价, 采用 RM-1000 型共焦显微喇曼光谱仪获取其喇曼光谱图后, 对其喇曼图谱进行比较的方法, 进行了理论分析和实验验证, 取得了不同采收时间的连翘叶喇曼光谱特征峰强度的数据。结果表明, 连翘叶的喇曼峰主要位于  $700\text{cm}^{-1} \sim 1600\text{cm}^{-1}$  和  $2600\text{cm}^{-1} \sim 3100\text{cm}^{-1}$  范围内, 这些特征喇曼峰和其有效成分连翘苷密切相关, 可以用于连翘叶的定性鉴别; 不同采收时间连翘叶的喇曼特征峰强度存在明显差异, 可以用于连翘叶的质量评价。喇曼光谱对连翘叶的定性鉴别和质量评价具有直接快速、简单准确的优势, 这一结果对中药的质量控制是有帮助的。

**关键词:** 激光技术; 医用光学与生物技术; 定性鉴别; 喇曼光谱; 连翘叶

**中图分类号:** R927.11 **文献标识码:** A **doi:** 10.3969/j.issn.1001-3806.2011.05.026

## Raman spectrum analysis of forsythia leaves

WANG Wei<sup>1</sup>, XI Xin-xin<sup>1</sup>, WANG Bei<sup>2</sup>, LI Jian-bo<sup>1</sup>, JING Heng-cui<sup>1</sup>

(1. College of Pharmacy, Henan University, Kaifeng 475004, China; 2. College of Physics and Electronic Information, Henan University, Kaifeng 475004, China)

**Abstract:** In order to assess the quality of the forsythia leaves gathered in different periods rapidly, their Raman spectra were obtained with RM-1000 confocal microscopy laser Raman spectrometer, then the specific peaks of their Raman spectra were obtained after analysis and experiments. The Raman spectra of forsythia leaves show the main characteristic peaks are mainly in the range of  $700\text{cm}^{-1} \sim 1600\text{cm}^{-1}$  and  $2600\text{cm}^{-1} \sim 3100\text{cm}^{-1}$ . The characteristic peaks are closely related with forsythidin which is considered as the main active ingredient in the forsythia leaves and can be used for qualitative identification. The peak intensity in the spectra of forsythia leaves gathered in different periods is significantly different so that the quality of forsythia leaves can be evaluated. Raman spectra can be used for qualitative identification and evaluation of forsythia Leaves and it is direct, fast, simple and accurate. The results are useful for quality control of the traditional Chinese medicine.

**Key words:** laser technique; medical optics and biotechnology; qualitative identification; Raman spectrum; forsythia leaves

## 引 言

喇曼散射是一种新的分子辐射, 它产生与光子和分子间的能量交换有关<sup>[1]</sup>。当激发光的光子与样品分子相互作用时, 某些光子在发生散射的同时改变了光的频率, 这种散射就是喇曼。喇曼散射有斯托克线和反斯托克线。斯托克线强度远大于反斯托克线, 所以喇曼光谱中测量到大部分都是斯托克线。斯托克线和反斯托克线的频数差就是喇曼位移。喇曼光谱能用作结构鉴定是因为喇曼位移与分子振动能级变化相关。不同化学键存在不同的振动方式, 与其相对应的喇曼位移也是特定的<sup>[2]</sup>。喇曼光谱中峰位可以说明

样品的结构<sup>[3]</sup>, 而喇曼散射峰的强度与样品的浓度成正比关系<sup>[4]</sup>。近年来研究较多的喇曼图谱有傅里叶变换喇曼光谱技术、表面增强喇曼光谱技术、激光共振喇曼光谱、激光共焦显微喇曼光谱技术、高温激光喇曼等。

喇曼光谱近年来已逐步成为一种新的分子结构鉴定方法, 它不需要复杂的样品准备就可以对样品进行直接测量。喇曼光谱具有选择性高、分析混合物时不需分离、可用于实时跟踪测量等优点<sup>[5]</sup>。喇曼目前已被应用于材料学、化学、生物学<sup>[6-7]</sup>、矿物学<sup>[8]</sup>、宝石鉴定学、公安法学等领域。目前已有学者将喇曼光谱技术应用于药物鉴别和分析、中药材活性成分、药物制剂赋形剂<sup>[9]</sup>, 为药物的纯度检查与质量控制提供可靠依据。因此, 喇曼光谱技术已被应用到药物的分析研究中<sup>[10-11]</sup>。

连翘叶为连翘属药用植物连翘的干燥叶, 除具有

作者简介: 王 玮(1964-), 男, 副教授, 博士, 从事药物喇曼光谱分析学的研究工作。

E-mail: wayne770@126.com

收稿日期: 2010-09-29; 收到修改稿日期: 2010-12-10

清热解毒、消肿散结、抑菌降血脂的功效外<sup>[12-13]</sup>,它还有良好的抗氧化作用<sup>[14]</sup>。连翘叶中含有连翘苷、连翘酯苷、芦丁等成分,其中以连翘苷含量最高,但采收时间对连翘叶的质量影响较大<sup>[15]</sup>。本研究以连翘苷作为连翘叶质量控制的依据,研究了不同采收时间连翘叶的喇曼光谱,通过特征峰强度的差异对连翘叶的质量做出评价,为连翘叶的定性鉴别和质量评价提供更新更好的测试分析手段。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与测量参量

RM-1000 型共焦显微喇曼光谱仪主要由以下部件组成:激光喇曼光谱仪,He-Ne 激光器,显微镜,固体激光器。457nm 激发线用作样品测量的激发光源。测量过程中,激光功率 50mW,探测时间 10s。所有喇曼光谱均是一次性扫描探测结果,未进行累积处理。数据收集、贮存、处理和谱图打印等均由计算机通过 ORIGIN6.10 软件控制。

### 1.2 化学试剂

连翘叶于 2009 年 7 月、9 月、12 月间采自伏牛山,并经本实验室鉴定。

### 1.3 实验步骤

将不同时间采收的连翘叶于烘箱内 70℃ 干燥 2h 后研细。测定样品时取适量细粉置于载玻片上,用另一个载玻片将其压实。置于共焦显微喇曼光谱仪下,调焦,使激光聚于固体粉末表面,测定其共焦喇曼光谱。

### 1.4 喇曼谱线的处理

所有测得的喇曼图谱均进行平滑处理和荧光背景处理。平滑处理可以解决因信噪比偏低而引起的谱线毛糙问题。平滑处理有 3 种手段,分别为光滑滤波算子滤波器平滑法、邻近点平均法平滑法和快速傅里叶变换滤波器平滑法。本文中采用的方法是快速傅里叶变换滤波器平滑法。通过适当增加激光功率和基线校正的方法来减弱荧光干扰。

## 2 结果与讨论

### 2.1 连翘叶的喇曼光谱

图 1 为 2009-09-03 采自伏牛山的连翘叶的喇曼光谱。从其喇曼光谱图中可以看出,连翘叶的喇曼峰主要位于  $700\text{cm}^{-1} \sim 1600\text{cm}^{-1}$  和  $2600\text{cm}^{-1} \sim 3100\text{cm}^{-1}$  范围内。这些特征喇曼峰和其主要有效成分连翘苷密切相关。

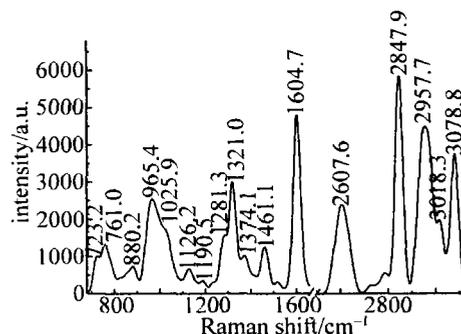


Fig. 1 Raman spectrum of forsythia leaves

结合连翘苷的结构式判断,这些主要为吡喃葡萄糖、1,2,4-三取代苯基和呋喃环的特征吸收峰。图 2 是连翘苷的结构式。

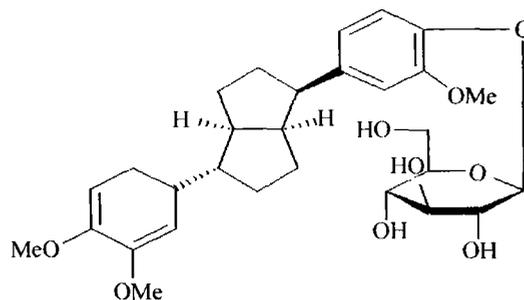


Fig. 2 Molecular structure of forsythin

图 1 中喇曼位移为  $880.2\text{cm}^{-1}$ ,  $1461.1\text{cm}^{-1}$ ,  $2847.9\text{cm}^{-1}$  和  $2957.7\text{cm}^{-1}$  的峰为连翘苷中呋喃环的特征喇曼峰。 $880.2\text{cm}^{-1}$  为呋喃环的 C—C 环对称振动(环呼吸),  $1461.1\text{cm}^{-1}$  处的喇曼峰为呋喃环上—CH<sub>2</sub> 的变形振动,  $2607.6\text{cm}^{-1}$  和  $2847.9\text{cm}^{-1}$  处的强峰为呋喃环上 C—H 对称伸缩振动,  $2957.7\text{cm}^{-1}$  处中强峰为呋喃环上 C—H 反对称伸缩振动。处于  $723.2\text{cm}^{-1}$ ,  $1281.3\text{cm}^{-1}$ ,  $761.0\text{cm}^{-1}$ ,  $1321.0\text{cm}^{-1}$  和  $3078.8\text{cm}^{-1}$  的喇曼峰为连翘苷中三取代苯基的特征喇曼峰。 $723.2\text{cm}^{-1}$  和  $1281.3\text{cm}^{-1}$  为 1,2,4-三取代苯上 C—C 变形振动和芳环骨架伸缩振动,  $761.0\text{cm}^{-1}$  为芳环上 H 的面外弯曲振动,  $1321.0\text{cm}^{-1}$  处尖锐强峰为苯环上 C—H 的面内变形振动,  $3078.8\text{cm}^{-1}$  处的强峰为苯环上芳香氢的伸缩振动。吡喃葡萄糖基中 C—O—C 的对称伸缩出现在  $965.4\text{cm}^{-1}$  和  $1604.7\text{cm}^{-1}$  处。另外吡喃葡萄糖基中有 4 个仲醇, 它们的信号出现在  $1126.2\text{cm}^{-1}$  处。连翘苷中重要的吡喃葡萄糖苷键的喇曼特征峰出现在  $1190.5\text{cm}^{-1}$  和  $1025.9\text{cm}^{-1}$  处<sup>[16]</sup>。

### 2.2 不同采收期连翘叶的喇曼光谱比较

采收时间不同的连翘叶的喇曼光谱如图 3 所示。从图 3 中可以看出, 它们的喇曼光谱表现出了很强的相似性, 这表明喇曼光谱可以用于连翘叶的定性鉴别。

连翘叶的质量好坏可以通过连翘苷含量的高低做出判断。根据喇曼散射峰强度的不同就能达到鉴定连

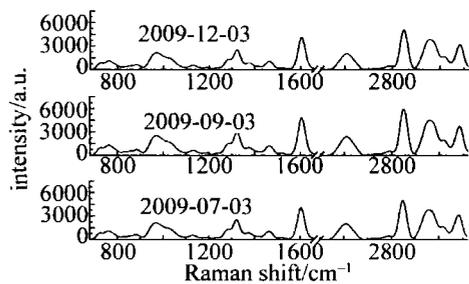


Fig. 3 Raman spectrum of forsythia leaves gathered in different periods

翘叶质量优劣的目的。不同采收期连翘叶的喇曼光谱中峰位和峰高如表1所示。从表1中可以看出9月间采收的连翘叶的喇曼散射峰的峰高较其它月份采集的连翘叶高。这是因为喇曼散射峰的峰高与连翘苷的含量成正比关系,峰强较强的连翘叶中连翘苷的含量也较高。

Table 1 Attribution of peaks in Raman spectrum of forsythia leaves gathered in different periods

2009-07-03		2009-09-03		2009-12-03	
Raman shift/cm <sup>-1</sup>	intensity	Raman shift/cm <sup>-1</sup>	intensity	Raman shift/cm <sup>-1</sup>	intensity
761.8	1116.0	762.4	1317.9	762.3	1130.4
966.1	2147.3	965.4	2534.0	965.9	2173.5
1319.8	2517.2	1321.0	2981.4	1321.4	2553.5
1461.8	1058.7	1461.2	1238.7	1464.3	1074.2
1604.5	4073.4	1604.7	4817.6	1604.1	4132.1
2607.8	2031.3	2607.6	2409.3	2606.9	2062.7
2847.1	5011.6	2847.9	5896.9	2847.5	4927.9
2956.8	4478.8	2957.7	3852.1	2957.4	3852.1
3076.9	3173.1	3078.8	3741.9	3078.2	3218.8

### 3 结论

采用激光共焦显微喇曼光谱技术测定不同采收期连翘叶的喇曼光谱,通过喇曼光谱中连翘叶特征峰的峰强信号来判定不同采收期连翘叶的质量优劣。峰强信号越强,则连翘叶中连翘苷的含量越高,质量越好。本实验中选用共焦技术针对精细的连翘叶粉末进行不同区域的探测,得到了更为精细的结果,提高了喇曼光谱用于质量评价的精密度和准确性。总之,采用喇曼光谱可以定性鉴别中草药,也可以成为药物的纯度检查和质量控制新的快速、准确的分析手段。

#### 参考文献

[1] WU L, OUYANG Zh H, CAO Sh Ch, *et al.* Research development and application of Raman scattering technology[J]. Chinese Journal of Light Scattering, 2005, 17(2): 180-186 (in Chinese).

[2] ZHANG Q M, ZHANG X, LIU Zh X. Study on identification of principal constituent of fever-relieved and pain-relieved drugs by the hand-held Raman spectrometer [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2008, 43(24): 1903-1906 (in Chinese).

[3] QU X B, ZHAO Y, SONG Y, *et al.* Raman spectroscopy study on the structure of ginsenoside Rg<sub>3</sub> [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2008, 28(3): 569-571 (in Chinese).

[4] LIU W H, YANG W, WU X Q, *et al.* Direct determination of ethanol by laser Raman spectra with internal standard method [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2007, 35(10): 1503-1505 (in Chinese).

[5] XU L L, DING K K, GUO X Q, *et al.* Raman spectra of salicylic acid, p-methoxybenzoic acid and metronidazole [J]. Journal of Capital University of Medical Sciences, 2006, 27(6): 785-787 (in Chinese).

[6] ZHAO Y Zh, LI Z W, GAO Sh Q, *et al.* Ultra-trace analysis of biological molecules in water by means of the resonance Raman spectra in liquid-core optical fiber [J]. Laser Technology, 2004, 28(5): 491-493 (in Chinese).

[7] NAN N, SHAO Y H, JIANG Y L, *et al.* Study of carotenoid in human skin by means of resonance Raman detection [J]. Laser Technology, 2008, 32(5): 490-492 (in Chinese).

[8] YANG Ch H, SHI X H, LIU X B, *et al.* Study of Raman spectrum in detecting mineral substance concentration of drinking water [J]. Laser Technology, 2008, 32(4): 366-369 (in Chinese).

[9] WU X Q, ZHENG J Zh, LIU W H, *et al.* Quantitative determination of glucose by internal standard laser Raman spectra [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2007, 27(7): 1344-1346 (in Chinese).

[10] BELU A, MAHONEY C, WARMOUTH K. Chemical imaging of drug eluting coatings: combining surface analysis and confocal Raman microscopy [J]. Journal of Controlled Release, 2008, 126(2): 111-121.

[11] ZHANG L, HENSON M, SEKULIC S. Multivariate data analysis for Raman imaging of a model pharmaceutical tablet [J]. Analytica Chimica Acta, 2005, 545(2): 262-278.

[12] ZHANG G, LI F R, DUAN F, *et al.* Determination of phillyrin, forsythiaside and rutin in folium forsythia gathered in different periods [J]. Natural Product Research and Development, 2005, 17(6): 790-793 (in Chinese).

[13] LI F R, DUAN F, YANG J X. Comparative study on content of phillyrin in fructus forsythiae and leaves of forsythia (forsythia suspensa) [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2004, 24(4): 725-727 (in Chinese).

[14] ZHU S Y, YANG J X, LI F R. Effects of forsythia suspense leaves' extract on oxidative lesion in mice [J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2004, 20(1): 18-20 (in Chinese).

[15] WU Y F, WANG X Sh, SHANG X J. Determination of phillyrin in green and grown fructus forsythiae from funiushan [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2008, 19(4): 855-856 (in Chinese).

[16] ZHU Z Y, GU R A, LU T H. Raman spectroscopy in chemistry [M]. Shenyang: Northeastern University Press, 1998: 79-84 (in Chinese).