

玄参汤剂的荧光光谱分析

闫立华¹, 宋峰^{1*}, 韩娟², 苏静¹, 曲菲菲¹, 宋宜展¹, 胡柏林¹, 田建国¹

1 南开大学物理科学学院光子学中心, 天津 300071

2 天津中医药大学, 天津 300193

摘要 测量了相应的激发光谱以及溶液的 pH 值, 发现同种玄参汤剂中的荧光峰值波长随着激发波长的增加而增加; 冷浸玄参汤剂的荧光峰为 441 nm, 而沸煮玄参汤剂的为 532 nm; 相应激发光谱由双峰结构向单峰结构转变, 并且激发峰值也有明显的红移; 同时其 pH 值由 5.5 变化到 4.1。结合有机物混合体系中的荧光产生机理, 解释了上述现象的产生原因: 玄参汤剂中的不同荧光分子之间的相互作用以及相同荧光分子内部的能量转移; 加热所导致的荧光大分子含量的增加和荧光分子间氢键二聚体的形成。文章对中药玄参的药理学研究具有一定的参考价值, 为玄参汤剂质量鉴定提供了一种有效的测量方法。

关键词 玄参汤剂; 荧光光谱

中图分类号: O433, O561.3, R283 文献标识码: A 文章编号: 1000-0593(2008)08-1891-04

引言

玄参属是玄参科的一个大属, 是我国著名的传统中药。它有滋阴、降火、生津、凉血、解毒等功效, 药理有抗菌、降压、降血糖等作用, 在中药方剂中经常配伍入药^[1-3]。

由于玄参具有优良的药用价值, 国内外学者对它进行了化学、物理和药理学分析, 得到了玄参药用成分的诸多数据。在中药玄参中, 含量最多的是糖类、糖苷类, 其次是醛、酮、酸、醇, 最后是生物碱挥发油以及微量无机元素^[1-3]。近年来的文献资料报道了一些中药制剂相关的荧光特性^[4-6], 但是还没有发现玄参汤剂的荧光方面的报道。本文测量了玄参汤剂的荧光光谱, 并进行了分析, 得出一些结论, 为玄参汤剂的质量鉴定提供了一种新的分析手段。

1 玄参汤剂的光谱分析

玄参汤剂的制备: 称取两份清洁过表面的玄参干燥切片各 10 g, 分别置于两个各含有 200 mL 蒸馏水的烧杯中。其中的一份在室温下浸泡 2 h, 过滤并取上层清液, 用 4 倍体积分数的蒸馏水稀释, 作为待测冷浸玄参汤剂; 另外的一份加热煮沸并持续沸腾 2 h, 然后冷却至室温, 过滤并取上层清液, 作为待测沸煮玄参汤剂。在相同条件下测量上述两种样

品的荧光光谱。

实验用的玄参产自河北; 荧光检测采用 RF5301PC 光谱仪。对于两种汤剂, 我们测定了 220~550 nm 区间内, 每隔 5 nm 为一激发波长的荧光光谱, 其中的某些波长激发下的荧光光谱强度较大, 我们选取这些谱线进行分析(见图 1)。多次重复都得到了相同的实验结果。

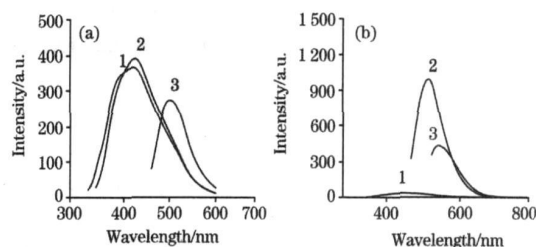


Fig 1 Fluorescence spectra under different excitation wavelength in cold water soaked and boiled water soaked

(a): Cold water soaked Scrophularia soup; Curve 1, 2, 3 excited by 320, 340, 465 nm and the emissions corresponding to the 435, 441, 526 nm respectively;

(b): Boiled water soaked Scrophularia soup; Curve 1, 2, 3 excited by 340, 465, 520 nm and the emissions corresponding to 460, 532, 538 nm respectively

图 1(a) 给出了冷浸玄参汤剂中 320, 340, 465 nm 的激

收稿日期: 2007-05-28, 修订日期: 2007-08-13

基金项目: 教育部“新世纪优秀人才支持计划”项目(903102, 903103), 教育部留学回国人员科研启动基金项目(b2a2023160)和教育部优秀青年教师资助计划项目(C01177)资助

作者简介: 闫立华, 1980 年生, 南开大学物理系硕士研究生 * 通讯联系人 e-mail: fsong@nankai.edu.cn

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

射光谱, 三种激发波长下的荧光峰分别是 435, 441, 526 nm, 可以观察到荧光发射波长随着激发光波长的增加而增加, 其中 340 nm 激发下得到的发射峰值极大, 位于 441 nm。图 1(b) 给出了沸煮玄参汤剂中 340, 465 和 520 nm 的发射光谱, 这三种激发波长下的荧光峰分别是 460, 532, 558 nm, 同样可以观察到荧光发射波长随着激发光波长的增加而增

加, 其中 465 nm 激发下的发射峰值极大, 位于 532 nm。针对实验中出现的发射光谱强度极值, 我们做了相应的激发光谱。图 2(a), (b) 分别是冷浸玄参汤剂中 340 nm 的发射光谱和 441 nm 激发光谱; 图 2(c), (d) 分别是沸煮玄参汤剂中的 465 nm 的发射光谱和 532 nm 激发光谱。

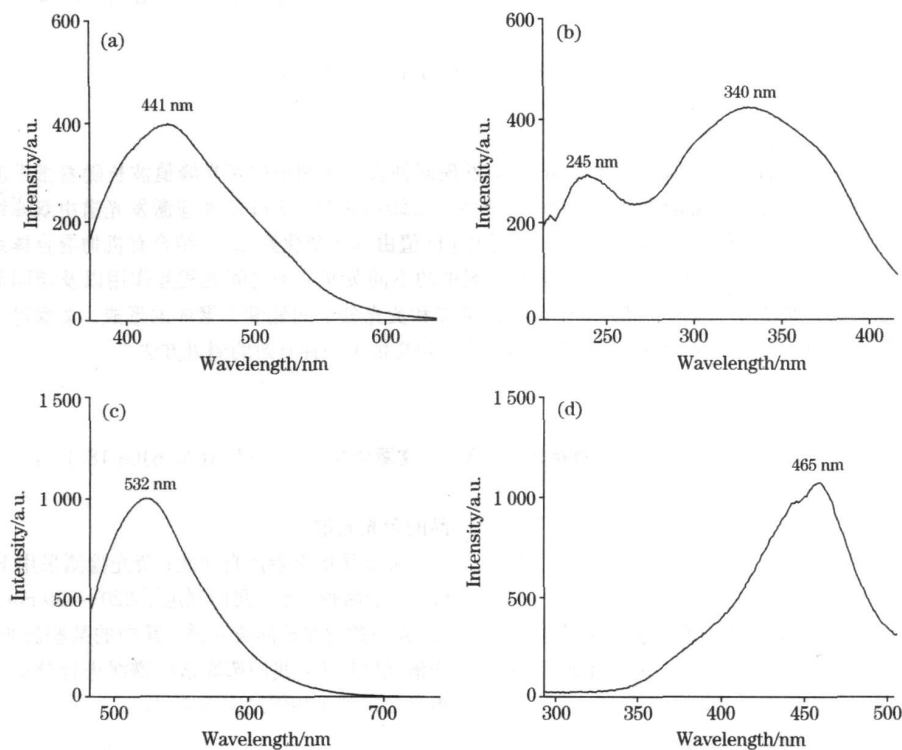


Fig 2 Emission and Excitation spectra under different conditions

- (a): Emission spectrum by 340 nm of the cold water soaked Scrophularia soup;
 (b): Excitation spectrum by 441 nm of the cold water soaked Scrophularia soup;
 (c): Emission spectrum by 465 nm of the boiled water soaked Scrophularia soup;
 (d): Excitation spectrum by 532 nm of the boiled water soaked Scrophularia soup

总结上述实验现象, 我们可以得到以下规律: 相同玄参汤剂中的荧光峰值波长随着激发波长的增加而增加; 荧光峰极值波长由冷浸玄参汤剂的 441 nm 红移到沸煮玄参汤剂的 532 nm; 对应于荧光峰极值波长处的激发光谱由明显的双峰结构向单峰结构转化, 并且激发峰值有明显的红移。

2 实验结果分析

2.1 混合物体系的荧光

单成分有机物质中荧光峰值一般不随激发光波长变化而变化, 但是, 混合有机物溶液中, 各种荧光分子具有不同的能带结构, 它们的态与态之间交叉重叠, 并通过轨道耦合作用使其能级结构由分立逐渐变为密集, 进而形成准连续态。能量在其中的转移程度是影响荧光总体特征的重要因素^[7, 8]。

研究多荧光分子体系的荧光, 重点在于分析其中的能量转移过程, 这里我们列出三种主要的能量转移过程^[9, 10]:

(1) 辐射能量转移, 其能量转移效率取决于两者之间吸收光谱的重叠程度; (2) 共振能量转移, 与供体和受体的浓度有关, 两者的浓度增加, 均有助于该效应的增强; (3) 交换能量转移, 主要是荧光大分子内部能量过程。

上述三种过程都能够产生如下影响: 供体部分的荧光减弱, 受体部分的荧光增强, 光谱整体向着受体荧光方向移动, 在荧光波长变化上体现为光谱红移。作为一种有机物混合液的玄参汤剂的荧光产生和变化也是上述过程的共同作用的结果。下面我们将结合实验现象分析其中存在的物理和化学过程。

2.2 实验现象解释

由文献[13]并结合芳香族化合物的性质可知: 对于冷浸或沸煮玄参汤剂, 芳环荧光分子和杂环荧光分子占很大比重。各种荧光分子之间存在的能量转移主要是 1 过程; 同种荧光分子内部存在着 π 电子的激发和以及电子激发态的生成, 而 π 电子的激发和以及电子激发态的生成也是产生荧光的根源。这里的能量转移过程是 2 和 3 过程; 荧光分子与荧

光分子之间以及同种荧光分子内部的能量转移是引起玄参汤剂荧光随着激发光波长的增加而增加这一现象的原因。

同冷浸玄参汤剂相比, 沸煮玄参汤剂中出现红移, 从分子相互作用机制出发, 并结合多分子体系中的荧光产生机制讨论这类现象, 得到以下两个主要影响因素: 荧光大分子含量增加和荧光分子间氢键二聚体的形成。

有机分子的溶解程度和温度有一定的关系, 温度的升高会使得大部分有机溶质分子的溶解度增加, 而大分子的荧光因为共轭结构的增加导致 $\pi \rightarrow \pi$ 电子跃迁能量降低, 使得荧光光谱红移。

实验中, 沸煮玄参汤剂颜色明显要比冷浸下的颜色深得多, 可见加热使得玄参中的更多的有效成分溶进在水中, 导致多环芳烃的数目增加。这样荧光分子体系整体共轭程度增加, 并且在上述3种能量转移机制的共同作用下, 沸煮玄参汤剂较冷浸玄参汤剂出现荧光光谱红移。

荧光分子间氢键二聚体形成也是导致荧光红移的原因。羧酸类及其衍生物在玄参可溶性成分中占有很重要的地位。溶液的 pH 值由 5.5 变化到 4.1, 这是加热导致的此类物质增加的结果, 而这种酸性荧光分子的增加使得荧光光谱也会产生红移现象, 下面我们详细分析此类物质的结构和成键特征在荧光红移中的作用。

羧酸类及其衍生物的中心碳原子构相是 sp^2 杂化, 该羧基含有一强 σ 键和一弱 π 键, 羧基是一个极性基团, 其中氧原子是亲核中心, 碳原子是亲电中心, 并可参与氢键二聚体的形成。

由于极性羧基 R 和 R' 基团中的杂原子的存在, 羧基及其衍生物都是极性分子。羧酸可以通过分子间氢键形成二聚体, 这有利于 π 键键能的进一步降低和离域, 进而使得荧光

能量红移。

其形成可以表示如图 3。

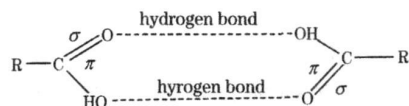


Fig 3 Generation of hydrogen bonds between the fluorescence molecules

激发光谱体现了玄参汤剂中的荧光分子的吸收性质, 沸煮玄参汤剂中激发光谱峰值的红移, 以及两个激发光谱峰值的靠近, 正是荧光分子吸收红移和集中的体现。

由上可见, 玄参汤剂中的不同荧光分子之间的相互作用以及相同荧光分子内部的能量转移, 是影响玄参汤剂宏观荧光的主要因素, 也是同种玄参汤剂中荧光峰值随激发波长的增加而增加的主要原因; 加热所导致的荧光大分子含量的增加和荧光分子间氢键二聚体的形成是沸煮玄参汤剂较冷浸玄参汤剂发射峰值明显红移的由来。

3 结 论

本文通过测量两种处理方式下玄参汤剂的荧光光谱, 并结合有机混合物中荧光现象的产生机制, 分析了玄参汤剂宏观荧光现象的产生原因, 得到了玄参汤剂中荧光分子之间的能量转移过程以及加热产生的荧光分子共轭结构的增加, 是导致沸煮玄参汤剂较冷浸玄参汤剂荧光红移的重要原因。对玄参化学成分的进一步药理学研究具有一定的参考价值, 同时也为玄参汤剂的质量鉴定提供了一种新的分析手段。

参 考 文 献

- [1] ZOU Jie-ming, WANG Li-sheng, MA Xue-min, et al(邹节明, 王力生, 马学敏, 等). Acta Pharmaceutica Sinica(药学报), 2004, 39(11): 910.
- [2] WANG Li-sheng, MA Xue-min, GUO Ya-jian, et al(王力生, 马学敏, 郭亚健, 等). Chinese Pharmaceutical Journal(中国药理学杂志), 2004, 29(2): 149.
- [3] Hirshi Kamiyama, Shingo Takano, Eiichi Ishikawa, et al. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2005, 28(11): 2111.
- [4] FANG Guang-rong, SONG Gong-wu, LI Ling, et al(方光荣, 宋功武, 李玲, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2002, 22(4): 631.
- [5] CHEN Xiao-kang, SUN Su-qin, LI Long-di(陈小康, 孙素琴, 李隆弟). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2002, 30(10): 1168.
- [6] DU Ming, TANG Bo, SHEN Hai-xi(杜鸣, 唐波, 沈含熙). Acta Pharmaceutica Sinica(药学报), 1997, 32(9): 695.
- [7] ZHAO Chang-yi(赵长毅). Petroleum Exploration and Development(石油勘探与开发), 1996, 23(2): 8.
- [8] WANG Chun-yan, WANG Xin-shun, WANG Yan-hua, et al(王春艳, 王新顺, 王延华, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(4): 728.
- [9] CHEN Guo-zhen, HUANG Xian-zhi, ZHENG Zhu-zi, et al(陈国珍, 黄贤智, 郑朱梓, 等). Fluorescence Analysis, 2nd Edition(荧光分析, 第2版). Beijing: Science Press(北京: 科学出版社), 1990. 118.
- [10] HE Hai-jian, YU Rui-peng, ZHU Tuo, et al(何海建, 虞锐鹏, 朱拓, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(9): 1636.

Fluorescence Spectra Analysis of the Scrophularia Soup

YAN Li hua¹, SONG Feng^{1*}, HAN Juan², SU Jing¹, QU Fei fei¹, SONG Yi zhan¹, HU Bo lin¹, TIAN Jia n g u o¹

1. Photonics Center, College of Physics Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China

2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract The cold water and boiled water soaked scrophularia soups have been prepared. The emission and excitation spectra of each scrophularia soup under different conditions have been measured at room temperature. The pH values of the different scrophularia soups have been also detected. There are obvious differences between the cold water soaked scrophularia soup and the boiled water soaked scrophularia. For both soups the emission wavelength increases with the wavelength of the excitation, but the peaks of the emission spectra for cold water and boiled water soaked scrophularia soup are different, which are 441 and 532 nm, respectively. Excitation spectrum has double peaks in the cold water soaked scrophularia soup while only one peak with longer wavelength in the boiled water soaked one. The pH value changes from 5.5 to 4.1. According to the organic admixture fluorescence mechanism we analyzed the reasons of the experimental results. Through heating, the interaction in different fluorescence molecular and the energy transfer process in the same fluorescence molecular become more active, and the conjugate structures and the generation of hydrogen bonds increase. The fluorescence measurement is of value for the scrophularia pharmacology analysis and provides an analytical method for the quality identification of scrophularia soup.

Keywords Scrophularia soup; Fluorescence spectra

(Received May 28, 2007; accepted Aug. 13 2007)

* Corresponding author