

# 拉曼光谱技术及其在药物分析中的应用\*

张琳,曹晓云

(天津市药品检验所,天津 300070)

**摘要** 拉曼光谱是研究化合物分子受光照射后所产生的散射光与入射光能量差与化合物振动频率、转动频率间关系的分析方法。该方法可用于化学物质结构分析、晶型分析、中药材真伪鉴别和成分分析及药物剂型的快速鉴别等。本文简单介绍了拉曼光谱的发展和基本原理,着重描述了拉曼光谱技术在药物分析领域的应用,并对其应用前景做了展望。

**关键词** 拉曼光谱 药物分析 应用

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006-5687(2014)04-0046-04

拉曼光谱(Raman spectroscopy)是研究化合物分子受光照射后所产生的散射光与入射光能量差与化合物振动、转动频率间关系的分析方法。其优点在于快速、准确、灵敏,测量时通常不需要破坏样品(样品形态可以是固体、半固体、液体或气体);其谱带信号通常处于可见光谱或近红外光谱范围内,可以有效地和光纤联用。本文对拉曼光谱的发展和基本原理进行了简述,并将近年来拉曼光谱技术在药物分析中的应用做一综述。

## 1 拉曼光谱技术的发展及基本原理

1928年印度物理学家拉曼(C V Raman)发现光通过某种介质时,入射光与分子运动相互作用发生散射效应可引起频率变化,并受到了广泛的重视,这种散射效应被称为拉曼效应。由于其效应较弱,在很长一段时间内未被广泛应用。1960年以后,激光技术发展迅速,由于激光束具有高亮度、方向性和偏振性等特点,使其成为拉曼光谱的理想光源,给拉曼光谱的实际应用提供了现实可能性。

拉曼光谱是一种基于拉曼散射原理的振动光谱。其仪器组成主要包括光源、样品装置、滤光系统、光波处理系统(单色器或干涉仪)和检测器等。拉曼光谱通常采用激光作为单色光源,将样品分子激发到某一虚态,而后受激分子跃迁到一个与基态不同的振动能级,此时,散射辐射的频率不同于入射频率,这种频率的变化与基态和终态的振动能级差相当,这种“非弹性散射”光即称为拉曼散射。

除常规的拉曼光谱外,还有一些较为特殊的拉曼技术,如表面增强拉曼、共振拉曼、拉曼旋光、相关-反斯托克拉曼、拉曼增益或减失光谱以及超拉曼光谱等。其中,表面增强拉曼和共振拉曼在药物分析中应用最为广泛。

## 2 拉曼光谱技术在药物分析中的应用

**2.1 化学物质结构分析** 拉曼光谱属于振动光谱,可以与红外光谱相互补充,提供更为全面、准确的分子振动状态和分子结构等方面的信息。

王玮等<sup>[1]</sup>用共焦拉曼光谱仪测定了盐酸曲马多的拉曼光谱图,并对其谱带进行了解析,所测图谱峰形良好,峰强明显,指纹性强,能够反映出盐酸曲马多的结构信息。窦文虎等<sup>[2]</sup>分析研究了地塞米松磷酸钠和倍他米松磷酸钠两种差向异构体的固体及饱和溶液的常规拉曼光谱及以银胶为基底的表面增强拉曼光谱,建立了两种差向异构体基于银纳米粒子的吸附模式,实现了对两种物质的快速鉴别与区分。王吉有等<sup>[3]</sup>测量并分析了盐酸苯海拉明的红外光谱和拉曼光谱,结合分子振动理论,对拉曼光谱图中特征峰进行了归属,可有效确证盐酸苯海拉明的结构。胡健等<sup>[4]</sup>采用傅里叶变换红外光谱仪和便携式拉曼光谱仪对维生素A进行光谱检测和分析,结合两种方法获得了较完整的分子光谱信息,为药物合成及质量控制提供了重要的参考依据。

**2.2 晶型分析** 化学原料药物的多晶型现象会使其在溶解度及溶解性等方面表现出差异,直接影响口服固体药物的生物利用度和生物等效性,并对药物制剂生产过程及稳定性产生影响。在国外,早有拉曼光谱技术成功应用于甘露醇<sup>[5]</sup>、对乙酰氨基酚<sup>[6]</sup>、卡马西平<sup>[7]</sup>、阿托伐他汀钙<sup>[8]</sup>和磺胺嘧啶<sup>[9]</sup>等多晶型药物的晶型定量分析的报道。近年来,国内采用拉曼光谱技术进行晶型确认及特定晶型含量测定的报道也日益增多。

林琳等<sup>[10]</sup>通过X-射线粉末衍射、红外光谱和热分析确认A、B两种晶型的氟康唑原料药,采用780nm色散型拉曼光谱法得到两种晶型的特征拉曼光谱图,

\* 收稿日期: 2014-03-27

分析了4个波段的光谱差异,通过主成分分析确认了3个不同厂家氟康唑口服固体制剂所含氟康唑晶型类别。杨梁等<sup>[11]</sup>采用拉曼光谱技术研究了盐酸林可霉素的I、II两种晶型,由于两种晶型分属不同晶系及空间群,在晶胞中的分子内,分子间氢键与分子构象不同,在拉曼光谱图中表现为主要散射峰的位置、强度、峰形等均有显著差异,说明傅立叶变换拉曼光谱法能够准确快捷地鉴别盐酸林可霉素的两种晶型。叶晓霞等<sup>[12]</sup>采用拉曼光谱技术,以拉米夫定晶型I的特征峰(697 $\text{cm}^{-1}$ )与内标峰(537 $\text{cm}^{-1}$ )的强度比为定量参数,研究建立了拉米夫定中晶型I的含量测定方法。拉米夫定晶型I的特征峰与内标峰的强度比在晶型I浓度0~100%范围内线性关系良好,最低检测限为1.2%,最低定量限为3.7%,此方法操作简便,可有效测定拉米夫定原料中晶型I的含量。

**2.3 中药材真伪鉴别** 中药材产地广阔、品种繁多、来源复杂,给中药材的检验和管理等方面带来许多困难。近年来,采用拉曼光谱技术对中药材的真伪进行快速、无损的鉴别受到了极大重视。

席欣欣等<sup>[13]</sup>采用RM-1000型共焦显微激光拉曼光谱仪对连翘苷的拉曼光谱图进行研究,谱图中显示出了连翘苷的主要拉曼特征峰,为连翘苷的定性鉴别提供了一种新的分析手段。周群等<sup>[14]</sup>采用傅里叶变换拉曼光谱法对12个不同产地、不同种植方式及不同采集时间的中药材黄芩进行了研究分析,结果表明采用拉曼光谱特征峰的频率和强度鉴别不同种植方式的黄芩样品较传统方法更直接、快速,且不破坏样品,更为准确科学。另外,也有拉曼光谱技术应用于八角茴香<sup>[15]</sup>、枸杞<sup>[16]</sup>等其他中药材真伪鉴别的文献报道。由以往文献报道可以看出傅里叶变换拉曼光谱法是鉴别中药材真伪的主要研究手段,同时共焦显微拉曼光谱法的应用也不容忽视。

**2.4 中药中化学成分的分析** 中药材中的许多有效成分往往因其官能团不同、构型不同等原因而具有不同的药理作用。鉴于选择性强、分析混合物时不需分离等特点,拉曼光谱技术在中药有效成分的结构分析和同分异构体鉴定中有一定的优势,目前已被广泛应用。

曲晓波等<sup>[17]</sup>采用共聚焦拉曼光谱对人参皂苷Rg3的两种异构体20-(R)-Rg3和20-(S)-Rg3进行了分析。结果表明两种异构体在1674、772和640 $\text{cm}^{-1}$ 等处的拉曼振动峰存在明显差异,可用于快速、简便地鉴别人参皂苷Rg3的两种异构体。郭萍等<sup>[18]</sup>采用拉曼光谱对中草药绞股蓝进行研究,成功地对绞股蓝的成分进行分析和特征波谱的鉴别,为合理利用绞

股蓝资源以及寻找绞股蓝新的有效成分提供了依据。谭炜等<sup>[19]</sup>利用银溶胶纳米颗粒作为拉曼增强基底,对桑皮苷成分进行了共聚焦显微拉曼光谱分析,确证了桑皮苷中有类似二苯乙烯结构的物质存在,为快速有效检测桑皮苷的主要成分提供了新的方法。此外,还有拉曼光谱应用于泽泻<sup>[20]</sup>、白芍<sup>[21]</sup>和地榆<sup>[22]</sup>等中药的成分研究方面的相关报道,这些都为拉曼光谱应用于中药成分分析和质量控制提供了依据。

**2.5 药物制剂快速鉴别** 拉曼光谱技术具有快速、简便、准确率高、无需破坏样品及识别自动化等优点,在药物快速鉴别中发挥着重要的作用。

王勇<sup>[23]</sup>采用便携式拉曼光谱仪对几种左氧氟沙星注射剂进行了表面增强拉曼光谱检测,并对其分子振动模式进行识别,可快速、准确地区分左氧氟沙星的几种注射剂。冯翠娟等<sup>[24]</sup>采用光纤传感技术结合拉曼光谱建立了快速无损鉴别甲硝唑片的方法,所测药物图谱峰形良好、峰强明显、指纹性强,方法快速准确,灵敏度高,无需前处理。冯超等<sup>[25]</sup>应用RM-200型便携式拉曼光谱仪,采集了爱斯妥、欧维婷的常规拉曼光谱和乙烯雌酚片以银胶为基底的表面增强拉曼光谱,并对其进行了分析比对和模拟计算。结果表明,3种雌激素在不同的波段处有明显的拉曼特征峰,可以实现对3种口服制剂中的17 $\beta$ -雌二醇、雌三醇和乙烯雌酚快速准确的定性检测。

**2.6 市场监管** 随着便携式拉曼光谱仪的出现,药品监管部门已考虑将其作为药物打假的重要工具。从现有的文献研究情况来看,拉曼光谱法敏捷高效,可使药品市场监管的工作效率显著提高。

罗娅等<sup>[26]</sup>采用TruScan便携式拉曼光谱仪,对格列本脲、格列齐特、格列美脲和那格列奈4种降糖药片剂共22个样品(包括阳性样品、阴性样品)和7种常规辅料(阴性样品)进行了分析研究,建立了降糖药主药成分对照品的拉曼光谱库,并测定了相应片剂的拉曼光谱,针对以空白辅料冒充药片和以低价药冒充高价药两种假药形式进行判别,灵敏度达到100.00%,专属性达到94.44%,准确度达到96.36%。赵瑜等<sup>[27]</sup>用拉曼光谱对两组真假奈韦拉平片进行检测,揭示了真假药的差异在于硫和卤素等元素的含量,为拉曼光谱技术在对奈韦拉平快检打假中的应用提供了重要依据。王科兵等<sup>[28]</sup>采用拉曼光谱技术建立了头孢氨苄胶囊品牌药及4种仿冒药的分类模型,建模交叉验证的准确率为95.63%,并对可疑样品进行预测分类,准确率为93.75%,以自制样品作为额外的预测集,假阳性率为25%;再对阳性样品进行相似度计算或主成分分析,可分别将假阳性率降低至5%和0%;此方法可

快速、准确地实现对品牌仿冒药的检测。王玉等<sup>[29]</sup>建立了快速鉴别真假人血白蛋白的拉曼光谱方法,将样品的拉曼光谱图与人血白蛋白特征拉曼光谱图进行比对分析,以拉曼光谱峰位移频率和峰强度的相似度计算结果来判断人血白蛋白样品的真假伪劣。采用此法分析市场监督抽样的15批样品,结果其中5批样品拉曼光谱图与特征拉曼光谱图存在明显的差异,判断为假药,该结果与采用《中国药典》2010年版三部方法测定结果一致。曹玲等<sup>[30]</sup>采用显微共聚焦拉曼光谱技术,使样品在显微镜下微区成像,并与对照品光谱图进行比对分析,建立了降糖中药非法添加化学药的拉曼光谱检测方法,在市场监督抽样中成功地检出非法添加盐酸二甲双胍的样品,检测结果与采用HPLC-MS方法的验证结果一致。

**2.7 药用辅料分析** 拉曼光谱可以给出关于化合物结构的指纹信息,凭借拉曼谱带可以区别一些药用辅料,在某些方面比红外光谱具有一定的优势,可用于药用辅料的质量控制。

林琳等<sup>[10]</sup>通过780nm色散型拉曼光谱法测定了3个不同厂家氟康唑固体口服制剂的拉曼光谱图,并采用拉曼成像技术确认了T1样品除含有氟康唑A晶型还含有淀粉类辅料,T3样品除含有氟康唑B晶型还含有乳糖类辅料。石蓓佳等<sup>[31]</sup>采集了几种醛酮类药用辅料的红外光谱和拉曼光谱,分别归属其振动光谱峰并分析比较光谱差异与结构之间的关系,建立了醛酮类药用辅料的拉曼光谱分析方法。

**2.8 含量测定** 由于样品分子结构不同,相应的拉曼图谱也有所不同,所以采用拉曼光谱技术测定样品中化学物质的相对含量有一定的可行性。

陈斌等<sup>[32]</sup>运用拉曼光谱技术对盐酸左氧氟沙星注射液进行分析。结果表明拉曼光谱法可以准确鉴别出氧氟沙星消旋体和左氧氟沙星,辨别出不同pH的左氧氟沙星注射液的图谱差异,并可用于盐酸左氧氟沙星注射液的含量测定。张锐等<sup>[33]</sup>采用拉曼光谱技术对硫普罗宁注射液进行分析,选取样品溶液拉曼光谱中巯基S-H振动(2580 cm<sup>-1</sup>)处的强峰作为定量峰,建立了拉曼光谱法测定硫普罗宁注射液含量的方法。在10~100 mg/ml浓度范围内,拉曼峰强度与硫普罗宁浓度呈良好的线性关系,相关系数为0.999 9 ( $n=6$ ),平均回收率为101.98%,RSD为2.09% ( $n=9$ ),方法简便快速,结果准确可靠。王玮等<sup>[34]</sup>采用拉曼光谱内标定量法建立了连翘叶中连翘苷的含量测定方法。分别以相对峰强和峰面积比值作为响应值用于拉曼光谱定量分析时,均有良好的线性关系,相关系数分别为0.998 0和0.997 6;回收率均在

100.04%~101.30%之间。此方法操作简便,为拉曼光谱用于中草药的含量测定提供了佐证。

**2.9 其他方面** 作为一种新兴的分析技术,拉曼光谱用于药物固体分散体分散性的研究也时有报道,王伟等<sup>[35-40]</sup>采用拉曼光谱技术成功地分析了尼群地平、布洛芬、对乙酰氨基酚、灯盏花素和黄芩苷等难溶性药物在固体分散体中的存在形式,并以X-射线粉末衍射和红外光谱法进行佐证,为药物在固体分散体中分散状态的鉴别提供了新的分析手段。作为新的验证固体分散体形成的物相鉴别方法,拉曼光谱技术简单易行,是一种理想的、很有前景的分析方法。

此外,拉曼光谱也逐渐应用于包合物的验证,王伟等<sup>[41,42]</sup>采用拉曼光谱法分析研究了维生素C包合物和对乙酰氨基酚包合物,证明了两种药物均是通过氢键作用嵌入 $\beta$ -环糊精的疏水空腔形成包合物的。拉曼光谱技术应用于包合物验证时可提供更为完整的分子结构信息,并对其结构做进一步的描述和表征,解决了在包合物制备及储藏过程中药物包合方式的分析等关键技术问题,为包合物质量的稳定和可控提供了技术手段。

### 3 拉曼光谱技术的前景与展望

作为一种快速、无损的分析手段,近年来拉曼光谱技术已成为分析化学、生物学、药学的重要研究手段。

现场检测中的应用给便携式拉曼光谱仪提供了很大的发展空间,对于药物原辅料的入厂快速确证非常适用,能提高企业的生产效率,减少资源损耗,降低生产安全性风险,促进生产流程的标准化,满足精益生产的需求。近年来,该技术已在美国、欧洲的数千家制药企业被广泛使用。目前,采用拉曼光谱技术快速检测原辅料的方法已被美国FDA写入美国药典。在我国,随着2011年《药品生产质量管理规范(2010年修订)》(新版GMP)的执行,制药企业原辅料的检验由抽检过渡为逐批检验,必将使拉曼光谱技术得到更为广泛的应用。

纵观近年来国内发生的一系列药品安全事件不难发现,打假技术发展迅速,已在药品安全检测行业受到广泛关注。目前HPLC、LC-MS、GC-MS等方法虽然能够对未知样品进行定性、定量检测,但是却存在预处理过程烦琐、检验周期长、检测成本高、仪器昂贵等问题。由于采用拉曼光谱技术不需要对样品进行预处理,故省去了样品的制备环节,避免了一些误差的产生,并且具备操作简便、快速、灵敏度高等优点,因此在药品市场监管工作中可作为理想的筛查工具推广使用。

拉曼光谱早在USP(28版)已用于盐酸林可霉素

胶囊的溶出度测定<sup>[43]</sup>,《中国药典》2010年版也已收录了拉曼光谱法指导原则<sup>[44]</sup>。相信随着仪器性能的提高及化学计量学等相关理论的发展,拉曼光谱技术作为一种高效、绿色的分析手段以其独特的优势,在药物分析领域将有更加广阔的发展前景。

## 参考文献

- 1 王玮,田京辉,李晓曼,等.拉曼光谱分析盐酸曲马多的结构特征[J].中南药学,2010,8(10):736
- 2 窦文虎,周光明,康倩倩.地塞米松磷酸钠和倍他米松磷酸钠两种差向异构体的 FTIR,FT-Raman 和 SERS 光谱研究[J].光谱学与光谱分析,2012,32(10):2664
- 3 王吉有,郭姣,邹兆贵,等.苯海拉明的拉曼光谱和红外光谱研究[J].光散射学报,2012,24(4):371
- 4 胡健,成磊,伊利辉,等.维生素 A 的分子光谱分析[J].中国药师,2013,16(8):1120
- 5 Campbell Roberts S N, Williams A C, Grimsey I M, et al. Quantitative analysis of mannitol polymorphs. FT-Raman spectroscopy [J]. J Pharm Biomed Anal, 2002, 28(6):1135
- 6 Kachrimanis K, Braun D E, Griesser U J. Quantitative analysis of paracetamol polymorphs in powder mixtures by FT-Raman spectroscopy and PLS regression [J]. J Pharm Biomed Anal, 2007, 43(2):407
- 7 Tian F, Zhang F, Sandler N, et al. Influence of sample characteristics on quantification of carbamazepine hydrate formation by X-ray powder diffraction and Raman spectroscopy [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2007, 66(3):466
- 8 Skorda D, Kontoyannis C G. Identification and quantitative determination of atorvastatin calcium polymorph in tablets using FT-Raman spectroscopy [J]. Talanta, 2008, 74(4):1066
- 9 Hu Y, Erleben A, Ryder A G, et al. Quantitative analysis of sulfathiazole polymorphs in ternary mixtures by attenuated total reflectance infrared, near-infrared and Raman spectroscopy [J]. J Pharm Biomed Anal, 2010, 53(3):412
- 10 林琳,李晓东,丁丽霞,等.拉曼光谱测定氟康唑晶型的应用研究[J].中国药理学杂志,2012,47(11):915
- 11 杨梁,张敏,鹿颐,等.拉曼光谱法研究盐酸林可霉素多晶型[J].药物分析杂志,2010,30(11):2120
- 12 叶晓霞,刘茜,耿志旺,等.拉曼光谱法检测拉米夫定晶型 I [J].中国医药工业杂志,2013,44(1):60
- 13 席欣欣,王玮,王蓓,等.连翘苷的共焦显微拉曼光谱与普通拉曼光谱[J].现代科学仪器,2011,3:89
- 14 周群,蔡少青,王建华,等.拉曼光谱法快速鉴别黄芩中药材[J].光散射学报,2002,14(3):166
- 15 刘蓬勃,朱世玮,孙素琴.傅里叶变换拉曼光谱法鉴别八角茴香及其伪品[J].时珍国医国药,2001,12(10):903
- 16 施玉珍,陈志春,林贤福.枸杞子的共焦显微拉曼光谱鉴别[J].光谱实验室,2004,21(6):1211
- 17 曲晓波,赵雨,宋岩,等.人参皂苷 Rg3 的拉曼光谱研究[J].光谱学与光谱分析,2008,28(3):0569
- 18 郭萍,袁亚莉,熊平.中草药绞股蓝的傅里叶变换红外和拉曼光谱分析[J].光谱学与光谱分析,2004,24(10):1210
- 19 谭炜,胡林水,刘书朋.桑皮苷的拉曼光谱快速分析[J].生物医学工程学进展,2013,34(4):226
- 20 黄浩,侯俊玲,陈伟伟,等.泽泻煎剂的拉曼光谱研究[J].福州大学学报(自然科学版),2012,40(6):738
- 21 黄浩,陈伟伟,俞允,等.基于拉曼光谱技术的白芍药汤剂的光谱特性分析[J].中国中药杂志,2012,37(23):3569
- 22 林文硕,陈荣,陈巧玲,等.近红外拉曼光谱快速检测地榆[J].光谱实验室,2011,28(2):543
- 23 王勇.左氧氟沙星的拉曼光谱研究[J].中国药师,2013,16(3):398
- 24 冯翠娟,李莉,李思栋,等.拉曼光纤技术快速无损鉴别甲硝唑片[J].光谱实验室,2012,29(2):730
- 25 冯超,董鹏,吴永军,等.拉曼技术应用于雌激素检测的研究[J].光谱学与光谱分析,2011,31(8):2127
- 26 罗娅,柳艳,胡茜茜,等.便携式拉曼光谱仪用于降糖药品快速检测的研究[J].药学实践杂志,2011,29(1):35
- 27 赵瑜,王军,张学博,等.拉曼光谱法在快速鉴别复方拉米夫定/齐多夫定/奈韦拉平片(Zidolam-N)中的应用[J].中国药事,2012,26(9):939
- 28 王科兵,高群,李皓,等.基于拉曼光谱法的品牌仿冒药检测方法研究[J].药学实践杂志,2013,31(2):108
- 29 王玉,王思寰,陈建国,等.拉曼光谱法快速鉴别人血白蛋白[J].药物分析杂志,2012,32(3):537
- 30 曹玲,王玉,罗疆南,等.显微共聚焦拉曼检测中药中非法添加的化学降糖药[J].药物分析杂志,2011,31(3):539
- 31 石蓓佳,吴莉,曹玲,等.醛酮类药物辅料的振动光谱分析[J].药物分析杂志,2011,31(3):523
- 32 陈斌,张少敏,余岳林,等.拉曼光谱快速检测盐酸左氧氟沙星注射液[J].药物分析杂志,2011,31(9):1715
- 33 张锐,石蓓佳,王玉.拉曼光谱法测定硫普罗宁注射液的含量[J].中国药理学杂志,2012,47(3):232
- 34 王玮,席欣欣,杨浩,等.拉曼光谱法测定连翘苷含量的探讨[J].第二军医大学学报,2011,32(1):62
- 35 王玮,李晓曼,席欣欣,等.Raman 光谱法与经典方法验证尼群地平固体分散体[J].河南大学学报(医学版),2011,30(3):170
- 36 王玮,王蓓,李晓曼,等.振动光谱法研究布洛芬及其固体分散体[J].光散射学报,2011,23(2):154
- 37 王玮,李晓曼,席欣欣,等.振动光谱法研究对乙酰氨基酚固体分散体的分散性[J].药物分析杂志,2011,31(6):1168
- 38 王玮,程黎,赵辉,等.拉曼光谱法与经典方法验证对乙酰氨基酚固体分散体[J].光散射学报,2011,23(3):263
- 39 王玮,李晓曼,席欣欣,等.振动光谱法研究灯盏花素固体分散体的分散特性[J].药物分析杂志,2011,31(11):2118
- 40 王玮,李晓曼,田京辉,等.振动光谱法研究黄芩苷固体分散体的分散性[J].中国中药杂志,2011,36(5):573
- 41 王玮,钱佩佩,田京辉,等.维生素 C 包合物的拉曼光谱和红外光谱研究[J].光散射学报,2010,22(4):373
- 42 王玮,钱佩佩,曹凯,等.对乙酰氨基酚包合物拉曼光谱和红外光谱研究[J].光散射学报,2011,23(1):66
- 43 The United States Pharmacopoeia 28th Edition[S]. Rockville M D: the United States Pharmacopoeial Convention, 2004:1134
- 44 中国药典[S].二部.2010:附录 210-212