

不同麝香的气相色谱指纹图谱

于娟*

(漳州片仔癀药业股份有限公司, 福建 漳州 363000)

[摘要] 目的:建立养殖麝香、天然麝香和人工麝香的气相色谱指纹图谱,分析三者差异,为有效控制和科学评价麝香药材的质量提供依据。方法:采用气相色谱法(GC),HP-1 弹性石英毛细管柱(325 ℃,0.25 mm×30 m,0.25 μm),进样口温度 250 ℃,检测器温度 280 ℃,载气 N₂,流速 1 mL·min⁻¹,分流比 1:1;程序升温(柱温 80 ℃,保持 2 min;5 ℃·min⁻¹升温至 160 ℃,1 ℃·min⁻¹升温至 200 ℃,保持 20 min,5 ℃·min⁻¹升温至 260 ℃,保持 20 min),对 30 批养殖麝香,24 批天然麝香和 8 批人工麝香进行分析,使用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004A 版)对色谱图进行相似度评价,并采用 GC-MS 联用技术鉴定指纹特征峰,离子源温度 230 ℃,四极杆温度 150 ℃,GC-MS 接口温度 280 ℃,电子轰击离子源,电子能量 70 eV,扫描范围 *m/z* 30~550。结果:建立了不同品种麝香的气相指纹图谱,相似度均符合规定,确定了养殖麝香 17 个共有化合物,天然麝香 10 个共有化合物及人工麝香 8 个共有化合物,并比较了养殖麝香、天然麝香和人工麝香的异同。结论:该方法精密性、重复性、稳定性好,所建立的指纹图谱可为麝香药材的整体质量评价提供依据。

[关键词] 养殖麝香;天然麝香;人工麝香;气相色谱法;气相色谱质谱联用;指纹图谱
[中图分类号] R284.1;R289;R22;R2-031 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2019)06-0175-08
[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190613
[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181206.1059.002.html>
[网络出版时间] 2018-12-06 15:48

Gas Chromatographic Fingerprints of Different Musk

YU Juan*

(Zhangzhou Pien Tze Huang Parmaceutical Co. Ltd., Zhangzhou 363000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a gas chromatography (GC) fingerprints analysis method of farmed musk, natural musk and artificial musk for effective control and scientific evaluation of the quality of musk. **Method:** The sample was split in the 250 ℃ injection port, with 1:1 split ratio, and separated on a Capillary column (325 ℃, 0.25 mm×30 m, 0.25 μm). Nitrogen was used as a carrier gas, the flow rate was 1 mL·min⁻¹. The detector temperature was 280 ℃. The temperature program was 80 ℃ for 2 min, increase by 5 ℃·min⁻¹ to 160 ℃, and by 1 ℃·min⁻¹ to 200 ℃ for 20 min, then 5 ℃·min⁻¹ to 260 ℃ for 20 min. GC of the 30 batches of farmed musk, 24 batches of natural musk and 8 batches of artificial musk were analyzed by adopting temperature programmer. The similarity evaluation system for chromatographic fingerprint of TCM (2004A) was used to evaluate the similarity of these chromatograms. The fingerprint peaks were identified by using GC-MS combination technology. The ion source temperature was set at 230 ℃. The quadrupole temperature was set at 150 ℃. The GC-MS interface temperature was set at 280 ℃. Electron impact (EI) was used as the ionization source, and the electron energy was set at 70 eV. The scanning scope was *m/z* 30-550. **Result:** The GC fingerprints of different kind of musk were established, and the similarities all conformed to regulations. Totally 17 common compounds in farmed musk, 10 common compounds in natural musk, and 8 common compounds in artificial musk were determined and compared. **Conclusion:** This method features a high precision, reproducibility, and

[收稿日期] 20180615(002)
[基金项目] 中央引导地方科技发展专项(2017L3017)
[通信作者] * 于娟,硕士,高级工程师,从事药品质量控制与研发工作,E-mail:13906945397@163.com

stability. The established fingerprints could be used for the overall quality evaluation for musk.

[**Key words**] farmed musk; natural musk; artificial musk; GC; GC-MS; fingerprint

麝香(*Moschus*)首载于《神农本草经》,为麝科动物林麝(*Moschus berezovskii*),马麝(*M. sifanicus*)和原麝(*M. moschiferus*)成熟雄体香囊分泌物的干燥品,具有开窍醒神、活血通经、消肿止痛的功效^[1]。现代研究表明,麝香含有大环化合物如麝香酮等,甾族化合物等,具有双向调节中枢神经系统、强心、抗炎、增强宫缩、抑制人体肿瘤细胞,对由于血栓引起的缺血性心脏障碍有预防和治疗等作用^[2-3]。

2015 年版《中国药典》对麝香的质量控制,主要通过鉴别、检查及麝香酮含量测定等方法实现,但面对麝香复杂的成分体系及多变的市场掺伪行为^[4],其质量评价方法存在一定的局限性,难以完全把控麝香的质量。中药材成分复杂,治疗疾病也往往是多个有效成分协同作用的结果,整体质控药材能有效保证药材的质量和疗效。指纹图谱技术是实现多种成分整体相关质量评价的关键技术,通过对这些图谱进行比较和分析,可在大多数中药有效成分尚未阐明的现状下有效地表征中药质量,已成为国内公认的鉴别中药和评价中药质量的有效手段^[5-9]。吴芬宏^[10]利用气相色谱(GC)指纹图谱技术鉴别林麝麝香质量;张萍等^[11]用高效液相色谱法(HPLC)建立人工麝香特征图谱,用于人工麝香质量控制;王慧^[12]运用气质联用(GC-MS)技术从整体上综合评价麝香的质量;敖艳霖等^[13]利用衰减全反射红外光谱技术(ATR-FTIR)获取 22 份天然麝香物质整体化学信息(指纹图谱)用于麝香的快速鉴定;蒋且英等^[14]建立了麝香及其代用品人工麝香中挥发性化学成分分析及麝香酮含量测定方法,探索了品种和产地对麝香药材质量的影响;罗云等^[15]对麝香及其代用品人工麝香的评价方法进行了总结。但从现有文献来看,未见同一条件下应用 GC 指纹图谱技术及 GC-MS 对天然麝香、养殖麝香、人工麝香进行系统的比较研究报道。本研究采用 GC 对 24 批天然麝香,30 批养殖麝香和 8 批人工麝香进行了系统的指纹图谱研究,并采用 GC-MS 对共有峰进行了鉴别,对识别出的共有峰进行比较,为有效控制和科学评价麝香药材的质量提供依据。

1 材料

7890A 型气相色谱仪,7890A/5975C 型气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司);HP-1 弹性石英毛细管柱(325 ℃,0.25 mm × 30 m,0.25 μm);

XS204 型 1/1 万电子天平,XP205DR 型 1/10 万电子天平[梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司];YB-Z 型真空恒温干燥箱(天津药典标准仪器厂);KQ-300E 型超声波提取器(功率 300 W,频率 40 kHz,昆山市超声仪器有限公司)。国家药典委员会研制的中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A 版)。对照品麝香酮(中国食品药品检定研究院,批号 110719-201215)。乙醚、无水乙醇等均为分析纯。

养殖麝香(编号 JY1# ~ JY30#),均来自控股的麝业子公司养麝场(四川、陕西)活体取香得到的 30 批麝香样品,详见表 1;天然麝香(编号 TR1# ~ TR24 #),分别来自 6 家药材公司的 24 批麝香药材,均由漳州片仔癀药业股份有限公司检测中心以 2015 年版《中国药典》一部中麝香质量标准检验合格;详见表 2;人工麝香(编号 RG1# ~ RG8#),来自北京联鑫药业有限公司生产的 8 批人工麝香产品。所有养殖麝香和天然麝香样品,经福建省食品药品检验研究院中药所主任药师金鸣鉴定为鹿科动物林麝 *Moschus berezovskii*,马麝 *M. sifanicus* 或原麝 *M. moschiferus* 成熟熊提香囊中的干燥分泌物。人工麝香为北京联鑫药业有限公司独家生产,每批货品附有由中国食品药品检定研究院检验合格报告书。

表 1 养殖麝香批号与产地
Table 1 Number and origin place of farmed musk

批号	产地	批号	产地	批号	产地
JY1#	四川	JY11#	陕西	JY21#	陕西
JY2#	四川	JY12#	四川	JY22#	陕西
JY3#	陕西	JY13#	四川	JY23#	陕西
JY4#	陕西	JY14#	陕西	JY24#	四川
JY5#	陕西	JY15#	陕西	JY25#	陕西
JY6#	四川	JY16#	陕西	JY26#	陕西
JY7#	四川	JY17#	陕西	JY27#	四川
JY8#	四川	JY18#	四川	JY28#	陕西
JY9#	陕西	JY19#	陕西	JY29#	四川
JY10#	陕西	JY20#	陕西	JY30#	陕西

注:所有样品均为林麝麝香。

2 方法与结果

2.1 GC 和 GC-MS 色谱条件及系统适用性试验
GC 色谱条件:HP-1 弹性石英毛细管柱(325 ℃,

表 2 天然麝香批号与产地

Table 2 Number and origin place of natural musk					
批号	产地	批号	产地	批号	产地
TR1#	陕西	TR09#	四川	TR17#	陕西
TR2#	四川	TR10#	四川	TR18#	陕西
TR3#	四川	TR11#	四川	TR19#	四川
TR4#	四川	TR12#	四川	TR20#	陕西
TR5#	陕西	TR13#	陕西	TR21#	陕西
TR6#	陕西	TR14#	四川	TR22#	陕西
TR7#	陕西	TR15#	陕西	TR23#	四川
TR8#	陕西	TR16#	陕西	TR24#	陕西

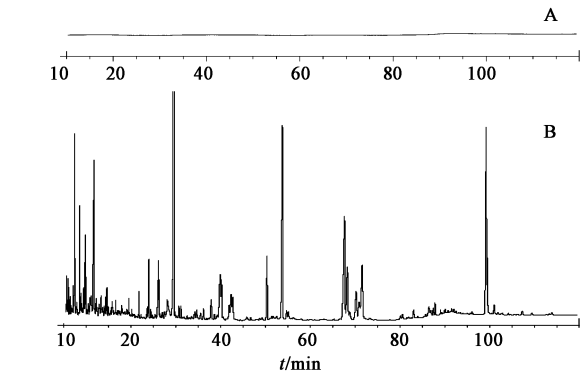
0. 25 mm×30 m,0. 25 μm),进样口温度 250℃,检测器温度 280℃,载气 N₂,流速 1 mL·min⁻¹,进样量 2 μL,分流比 1:1。程序升温(初始温度 80℃,保持 2 min,以 5℃·min⁻¹的速率升温至 160℃,再以 1℃·min⁻¹的速率升温至 200℃,保持 20 min,再以 5℃·min⁻¹的速率升温至 260℃,保持 20 min)。理论板数按麝香酮峰计算应不低于 20 000。

GC-MS 色谱条件:HP-1 弹性石英毛细管柱(325℃,0. 25 mm×30 m,0. 25 μm),进样口温度 250℃,载气 He,流速 1 mL·min⁻¹,进样量 2 μL,分流比 1:1。程序升温(初始温度 80℃,保持 2 min,以 5℃·min⁻¹的速率升温至 160℃,再以 1℃·min⁻¹的速率升温至 200℃,保持 20 min,再以 5℃·min⁻¹的速率升温至 260℃,保持 20 min)。离子源温度 230℃,四极杆温度 150℃,GC-MS 接口温度 280℃,电子轰击离子源(EI),电子能量 70 eV,扫描范围 *m/z* 30~550。

2.2 供试品溶液的制备 取供试品(养殖麝香或天然麝香),经五氧化二磷减压干燥 24 h 后,置于玛瑙研钵中研成粉末,过五号筛,(人工麝香不需以上操作),称取约 0. 2 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入无水乙醇 10 mL,密塞,称定质量,冰水中超声处理(功率 300 W,频率 40 kHz)15 min,取出,放至室温,再称定质量,用无水乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3 方法学考察 以养殖麝香 JY3#为供试品,分别对空白溶剂的影响、稳定性、精密度、重复性进行考察。

2.3.1 溶剂空白试验 以提取溶剂无水乙醇作为空白样品直接进气相色谱仪,考察无水乙醇溶剂的干扰。结果空白溶剂对指纹图谱区无干扰。见图 1。



A. 空白溶剂;B. 养殖麝香(JY3#)
图 1 养殖麝香(JY3#)无水乙醇提取液 GC 色谱
Fig.1 GC chromatogram of farmed musk (JY3#) extract

2.3.2 稳定性试验 取同一供试品溶液,按 2.1 项下 GC 色谱条件,分别于 0,2,4,8,12,18,24 h 进样,测定。将图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”进行匹配,以 0 h 的色谱图作为参照图谱,其他时间段的色谱图与其相似度分别为 1.000,1.000,0.999,0.999,0.999,0.999,RSD 均<0.1%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.3 精密度试验 取同一供试品溶液,按 2.1 项下 GC 色谱条件,连续 6 次进样,测定。将图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”进行匹配,以首次进样的色谱图作为参照图谱,其余色谱图与其相似度分别为 0.999,0.999,1.000,1.000,1.000,RSD 均<0.1%,表明该仪器精密度良好。

2.3.4 重复性试验 取同一批次养殖麝香样品 6 份,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,分别进样检测。将图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”进行匹配,以其中 1 份供试品的色谱图作为参照图谱,其余 5 份供试品的色谱图与其相似度分别为 1.000,1.000,1.000,0.999,0.999,RSD 均<0.1%,表明该方法重复性良好。

2.4 样品的测定 分别取养殖麝香、天然麝香及人工麝香各批次样品,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进行分析,记录色谱图。

2.5 麝香指纹图谱的建立、相似度评价及共有峰化合物鉴定 取养殖麝香 20 批、天然麝香 14 批及人工麝香 6 批样品的色谱图以 AIA 格式,分别导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统中,进行数据剪切,取 5~120 min 的色谱图(去除溶剂峰干扰),分别以 JY1#,TR1#,RG1#色谱图作为参照图谱,设定时间窗为 0.2 s,对各色谱峰进行匹配,生成对照指纹图谱,以对照指纹图谱为参照,采用平均数法计算各批

次图谱的相似度,并分别另取养殖麝香 10 批、天然麝香 14 批及人工麝香 2 批的色谱图进行验证,相似度结果均符合规定。

采用 GC-MS 联用,鉴定养殖麝香、天然麝香及人工麝香指纹图谱中共有峰化合物的归属,由于 GC 与 GC-MS 的载气不同,各色谱峰保留时间有所偏移,借助色谱峰的相对保留时间、总离子流图峰形等各相关信息,进行各色谱峰的识别及化合物谱库检索。

2.5.1 养殖麝香指纹图谱的建立与相似度评价
使用 20 批养殖麝香(JY1#~JY20#)气相色谱图建立对照指纹图谱,确立了图谱中 63 个共有峰,见图 2;生成养殖麝香对照指纹图谱,见图 3。

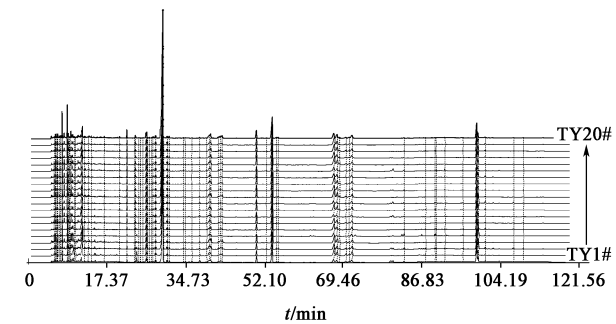


图2 养殖麝香 JY1#~JY20#GC 叠加
Fig. 2 Matching results of farmed musk (JY1 #-JY20 #) GC chromatogram peaks

以养殖麝香对照指纹图谱为参照,各批次养殖麝香的相似度在 0.931~0.998,使用其中 10 批养殖麝香(JY21#~JY30#)气相图谱进行验证,相似度

表 4 GC-MS 鉴定 20 批养殖麝香 63 个共有峰中的 17 个化合物

Table 4 GC-MS identified 17 compounds from 63 common peaks of 20 farmed musk

No.	名称	相对保留 时间	相对 峰面积	匹配度 /%	CAS 编号	分子式	相对分子 质量
1	4-甲基苯酚 4-methyl-phenol	0.190	0.010	96	000106-44-5	C ₇ H ₈ O	108.06
2	苯甲酸 benzenecarboxylic acid	0.252	0.013	96	000065-85-0	C ₇ H ₆ O ₂	122.00
3	1-乙基-环十二醇 1-ethenyl-cyclododecanol	0.782	0.010	90	006244-49-1	C ₁₄ H ₂₆ O	210.20
4	降麝香酮 cyclopentadecanone	0.909	0.005	99	000502-72-7	C ₁₅ H ₂₈ O	224.21
5	麝香酮 3-methyl-cyclopentadecanone	1	1	96	000541-91-3	C ₁₆ H ₃₀ O	238.23
6	1,15-十六碳二烯酸 1,15-hexadecadiene	1.052	0.009	91	021964-51-2	C ₁₆ H ₃₀	222.24
7	n-十六酸 n-hexadecanoic acid	1.229	0.005	95	000057-10-3	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.24
8	(1s,15s)-二环[13.1.0]十六碳-2-酮 (1s,15s)-bicyclo[13.1.0]hexadecan-2-one	1.370	0.043	93	102572-89-4	C ₁₆ H ₂₈ O	236.21
9	顺-9-十六碳醛 cis-9-hexadecenal	1.457	0.024	94	056219-04-6	C ₁₆ H ₃₀ O	238.23
10	醋酸去氢表雄酮 prasterone acetate	1.868	0.211	95	104597-49-1	C ₂₁ H ₃₀ O ₃	330.22
11	(3α,5β)-3-羟基-雄甾-17-酮 (3α,5β)-3-hydroxy-androstan-17-one	2.358	0.105	99	000053-42-9	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	290.23

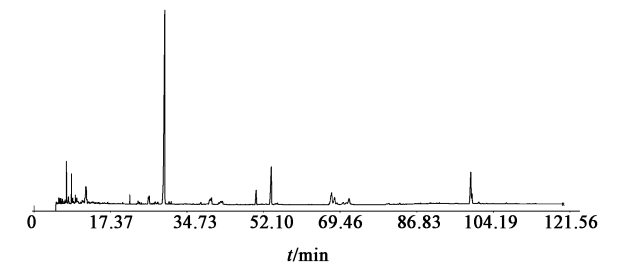


图3 养殖麝香 GC 对照指纹谱
Fig.3 Reference fingerprint of farmed musk

在 0.963~0.995,见表 3,符合要求。采用 GC-MS 联用技术,共鉴定出 63 个共有峰中 17 个化合物,结果见表 4。

表 3 养殖麝香 JY1#~JY30# GC 指纹图谱相似度

Table 3 Similarity results of farmed musk (JY1 #-JY30 #) chromatographic fingerprints

养殖麝香 批号	相似度	养殖麝香 批号	相似度	养殖麝香 批号	相似度
JY1#	0.939	JY11#	0.994	JY21#	0.990
JY2#	0.993	JY12#	0.996	JY22#	0.994
JY3#	0.968	JY13#	0.996	JY23#	0.994
JY4#	0.991	JY14#	0.996	JY24#	0.982
JY5#	0.931	JY15#	0.992	JY25#	0.988
JY6#	0.984	JY16#	0.997	JY26#	0.99
JY7#	0.993	JY17#	0.996	JY27#	0.995
JY8#	0.990	JY18#	0.998	JY28#	0.963
JY9#	0.996	JY19#	0.997	JY29#	0.99
JY10#	0.985	JY20#	0.994	JY30#	0.988

续表 4							
No.	名称	相对保留 时间	相对 峰面积	匹配度 /%	CAS 编号	分子式	相对分子 质量
12	雄酮/异雄酮 androsterone/epiandrosterone	2. 452	0. 019	99	000481-29-8 000053-41-8	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	290. 23
13	二氢雄甾酮 dihydroandrosterone	2. 478	0. 017	99	1000248-26-6	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292. 24
14	(3 α ,5 α ,17 β)-雄甾-3,17-二 醇 (3 α ,5 α ,17 β)- androstane-3,17-diol	2. 500	0. 051	99	001852-53-5	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292. 24
15	(3 β)-胆甾-5-烯-3-醇 (3 β)-cholest-5-en-3-ol	3. 492	0. 163	99	000057-88-5	C ₂₇ H ₄₆ O	386. 36
16	胆甾烷醇 cholestanol	3. 502	0. 038	99	000080-97-7	C ₂₇ H ₄₈ O	388. 37
17	(3 β ,5 α)-胆甾-7-烯-3-醇 (3 β ,5 α)-cholest-7-en-3-ol,	3. 557	0. 009	96	000080-99-9	C ₂₇ H ₄₆ O	386. 36

2.5.2 天然麝香指纹图谱的建立与相似度评价

使用 14 批天然麝香(TR1# ~ TR14#)气相色谱图建立指纹图谱,确立了图谱中 18 个共有峰,匹配图谱见图 4;生成天然麝香对照指纹图谱,见图 5。以天然麝香对照指纹图谱为参照,各批次天然麝香的相似度在 0.951 ~ 0.993,使用其中 10 批天然麝香(JY15# ~ JY24#)气相图谱进行验证,相似度在 0.965 ~0.994,结果符合要求,见表 5。采用 GC-MS 联用,共鉴定出 18 个共有峰中 10 个化合物,结果见表 6。

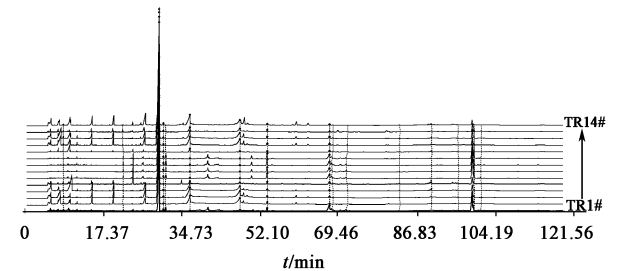


图 4 天然麝香 TR1# ~ TR14# GC 叠加色谱

Fig. 4 Matching results of natural musk (TR1 #-TR14 #) GC chromatogram peaks

表 6 GC-MS 鉴定 14 批天然麝香 18 个共有峰中的 10 个化合物

Table 6 GC-MS identified 10 compounds from 18 common peaks of 14 natural musk

No.	名称	相对保留 时间	相对峰面积	匹配度 /%	CAS 编号	分子式	相对分子 质量
1	麝香酮 3-methyl-cyclopentadecanone	1	1	96	000541-91-3	C ₁₆ H ₃₀ O	238. 23
2	1,15-十六碳二烯酸 1,15-hexadecadiene	1. 050	0. 009	91	021964-51-2	C ₁₆ H ₃₀	222. 24
3	<i>n</i> -十六酸 <i>n</i> -hexadecanoic acid	1. 243	0. 070	99	000057-10-3	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256. 24
4	油酸 oleic acid	1. 640	0. 058	99	000112-80-1	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282. 26
5	醋酸去氢表雄酮 prasterone acetate	1. 856	0. 022	95	104597-49-1	C ₂₁ H ₃₀ O ₃	330. 22
6	(3 α ,5 β)-3-羟基-雄甾-17-酮 (3 α ,5 β)-3-hydroxy-androstan- 17-one	2. 350	0. 036	99	000053-42-9	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	290. 23
7	(3 α ,5 α ,17 β)-雄甾-3,17-二 醇 androstane-3,17-diol,(3 α ,5 α ,17 β)	2. 488	0. 008	99	001852-53-5	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292. 24
8	(3 β)-胆甾-5-烯-3-醇 (3 β)-cholest-5-en-3-ol	3. 484	0. 108	99	000057-88-5	C ₂₇ H ₄₆ O	386. 36
9	cholestanol 胆甾烷醇	3. 494	0. 019	99	000080-97-7	C ₂₇ H ₄₈ O	388. 37
10	(3 β ,5 α)-胆甾-7-烯-3-醇 (3 β ,5 α)-cholest-7-en-3-ol	3. 549	0. 003	96	000080-99-9	C ₂₇ H ₄₆ O	386. 36

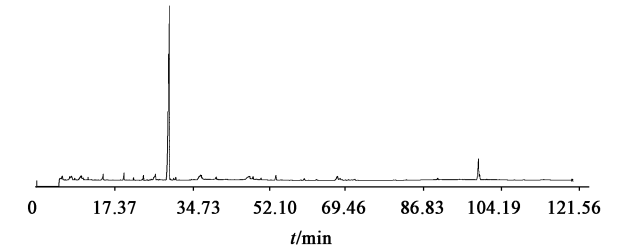


图 5 天然麝香 TR1# ~ TR14#GC 对照指纹谱

Fig. 5 Reference fingerprint of natural musk(TR1#-TR14#)

表 5 天然麝香 TR1# ~ TR24#的 GC 指纹图谱相似度

Table 5 Similarity of natural musk (TR1 #-TR24 #) chromatographic fingerprints

批号	相似度	批号	相似度	批号	相似度
TR1#	0. 968	TR9#	0. 979	TR17#	0. 977
TR2#	0. 990	TR10#	0. 993	TR18#	0. 965
TR3#	0. 959	TR11#	0. 985	TR19#	0. 992
TR4#	0. 951	TR12#	0. 991	TR20#	0. 967
TR5#	0. 988	TR13#	0. 993	TR21#	0. 972
TR6#	0. 980	TR14#	0. 978	TR22#	0. 978
TR7#	0. 979	TR15#	0. 994	TR23#	0. 971
TR8#	0. 982	TR16#	0. 988	TR24#	0. 974

2.5.3 人工麝香指纹图谱的建立与相似度评价
使用 6 批人工麝香(RG1#~RG6#)气相色谱图建立指纹图谱,确立了图谱中 25 个共有峰,匹配图谱见图 6;生成人工麝香对照指纹图谱,见图 7。

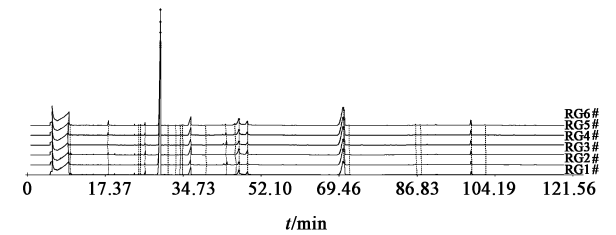


图 6 人工麝香 RG1#~RG6# GC 叠加谱
Fig. 6 Matching results of artificial musk (RG1 #-RG6 #) GC chromatogram peaks

以人工麝香对照指纹图谱为参照,各批次人工

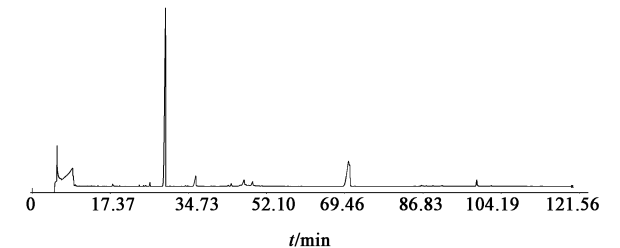


图 7 人工麝香 RG1#~RG6#的 GC 对照指纹谱
Fig. 7 Reference fingerprint of artificial musk (RG1 #-RG6 #)

麝香的相似度结果分别为 0.987,0.995,0.995,0.995,0.994,0.997,另使用其中 2 批人工麝香(RG7#,RG8#)气相图谱进行验证,相似度结果为 0.975,0.963,结果符合要求。采用 GC-MS 联用,共鉴定出 25 个共有峰中 8 个化合物,结果见表 7。

表 7 GC-MS 鉴定 8 批人工麝香 25 个共有峰中的 8 个化合物

Table 7 GC-MS identified 8 compounds from 25 common peaks of 8 artificial musk

No.	名称	相对保留时间	相对峰面积	匹配度/%	CAS 编号	分子式	相对分子质量
1	十四酸 tetradecanoic acid	0.876	0.012	95	000544-63-8	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228.21
2	麝香酮 3-methyl-cyclopentadecanone	1	1	96	000541-91-3	C ₁₆ H ₃₀ O	238.23
3	<i>n</i> -十六酸 <i>n</i> -hexadecanoic acid	1.242	0.080	99	000057-10-3	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.24
4	油酸 oleic acid	1.627	0.061	99	000112-80-1	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.26
5	硬脂酸 octadecanoic acid	1.696	0.032	91	000057-11-4	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.27
6	普拉雄酮 prasterone	2.462	0.339	99	000053-43-0	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	288.21
7	雄酮/异雄酮 androsterone/epiandrosterone	2.472	0.087	99	000481-29-8 000053-41-8	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	290.23
8	(3β)-胆甾-5-烯-3-醇 (3β)-cholest-5-en-3-ol	3.487	0.029	99	000057-88-5	C ₂₇ H ₄₆ O	386.36

2.6 养殖麝香、天然麝香和人工麝香指纹图谱异同的比较 由实验建立 3 种麝香指纹图谱并比较 3 种麝香已知共有物质的异同,差别见表 8,图 8~10。

表 8 比较 3 种麝香已知共有物质的异同

Table 8 Compare the similarities and differences between three kind of musk known common substances

No.	化合物中文名	化合物英文名	养殖麝香	天然麝香	人工麝香
1	4-甲基苯酚	phenol,4-methyl-	√	N	N
2	苯甲酸	benzenecarboxylic acid	√	N	N
3	1-乙基-环十二醇	cyclododecanol,1-ethenyl-	√	N	N
4	十四酸	tetradecanoic acid	N	N	√
5	降麝香酮	cyclopentadecanone	√	N	N
6	麝香酮	cyclopentadecanone,3-methyl-	√	√	√
7	1,15-十六碳二烯酸	1,15-hexadecadiene	√	√	NN
8	<i>n</i> -十六酸	<i>n</i> -hexadecanoic acid	√	√	√
9	(1 <i>s</i> ,15 <i>s</i>)-二环[13.1.0]十六碳-2-酮	(1 <i>s</i> ,15 <i>s</i>)-bicyclo[13.1.0]exadecane-2-one	√	N	NN
10	顺-9-十六碳醛	<i>cis</i> -9-hexadecenal	√	N	NN
11	油酸	oleic acid	N	√	√
12	硬脂酸	octadecanoic acid	N	N	√
13	醋酸去氢表雄酮	prasterone acetate	√	√	NN
14	(3α,5β)-3-羟基-雄甾-17-酮	(3α,5β)-3-hydroxy-androstan-17-one	√	√	NN

续表 8					
No.	化合物中文名	化合物英文名	养殖麝香	天然麝香	人工麝香
15	普拉雄酮	prasterone	N	N	✓
16	雄酮/异雄酮	androsterone/epiandrosterone	✓	N	✓
17	二氢雄甾酮	dihydroandrosterone	✓	N	NN
18	(3 α ,5 α ,17 β)-雄甾-3,17-二醇	(3 α ,5 α ,17 β)-androstane-3,17-diol	✓	✓	NN
19	(3 β)-胆甾-5-烯-3-醇	(3 β)-cholest-5-en-3-ol	✓	✓	✓
20	胆甾烷醇	cholestanol	✓	✓	NN
21	(3 β ,5 α)-胆甾-7-烯-3-醇	(3 β ,5 α)-cholest-7-en-3-ol	✓	✓	NN

注:✓. 共有化合物;N. 部分批次样品存在此类化合物,但非共有化合物;NN. 所有批次均不存在此类化合物。

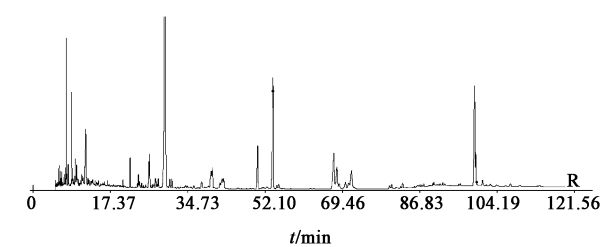


图 8 养殖麝香共有物质
Fig.8 Schematic diagram of common substance of farmed musk

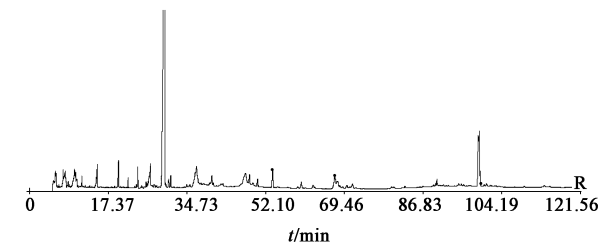


图 9 天然麝香共有物质
Fig.9 Schematic diagram of common substance of natural musk

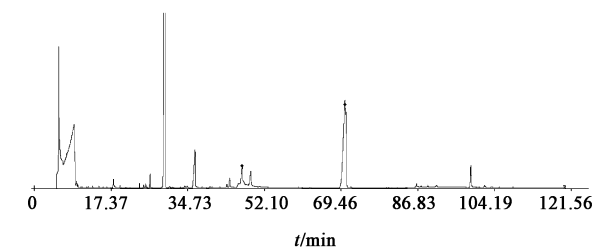


图 10 人工麝香共有物质
Fig.10 Schematic diagram of common substance of artificial musk

从上述图表的比较结果可以看出,20 批养殖麝香共有成分最多。14 批天然麝香的共有成分较少,成分的差异较养殖麝香显著。人工麝香的成分较为单一,也较为一致,含量相对接近,并且与天然、养殖麝香的共有峰差异性较大。3 种麝香均共有的化合物有 3 个,分别是麝香酮(峰 6),*n*-十六酸(峰 8)和(3 β)-胆甾-5-烯-3-醇(峰 15)。

养殖麝香共有的 17 个化合物,包含了天然麝香中 10 个共有化合物的其中 9 个,其他 8 个成分虽不是共有成分,但在天然麝香的部分批次中亦有检出。

说明峰 6,7,8,13,14,18,19,20,21 的化合物可能为麝香中较为普遍的成分,而其他化合物,可能由于麝香产地及来源不同而有所区别。所取得的 20 批养殖麝香样品(来源为林麝)中,所含有的雄甾酮类及胆甾醇类物质(峰 13,14,16~21)种类较丰富且含量较高,而所取得的 14 批天然麝香样品中的种类则较少或者含量较低,可能是麝香来源不同造成,也有可能是天然麝香商品在贮存过程中发生了变化等原因。总体说来,从所含有的化学成分上看,养殖麝香、天然麝香的相似度较高。

人工麝香中有 8 个已知的共有化合物,除麝香酮(峰 6),*n*-十六酸(峰 8)与(3 β)-胆甾-5-烯-3-醇(峰 19)以外,还有雄酮/异雄酮(峰 16)为养殖麝香中的共有化合物,峰 4,15 为养殖、天然麝香中的非共有成分,在养殖、天然麝香中含量多数较低。人工麝香与养殖、天然麝香的差异,以甾体类化合物差别最为明显,人工麝香中的雄甾酮类化合物仅有普拉雄酮(峰 11)与雄酮/异雄酮(峰 12),并且含量均较高(峰面积分别为 2 000,500 左右),但在天然、养殖麝香中却含有多种雄甾酮类物质(相对保留时间约在 2.3~2.5),但普拉雄酮、雄酮/异雄酮含量却很低(峰面积仅为几十);人工麝香中的胆甾醇类化合物含量较低(以峰面积比较),仅有(3 β)-胆甾-5-烯-3-醇(峰 15),并且不含养殖、天然麝香均共有的胆甾烷醇(峰 16)和(3 β ,5 α)-胆甾-7-烯-3-醇(峰 17)。可以看出,人工麝香以较为单一的成分替代养殖及天然麝香中较为复杂的多种同类化合物组成。以上化合物的区别,可以作为区别人工麝香与养殖、天然麝香的依据。

3 讨论

3.1 提取溶剂及色谱柱的选择 以养殖麝香 JY3# 为供试品,分别选用无水乙醇、乙醚进行超声提取,并使用 3 种不同的弹性石英毛细管色谱柱(DB-1701,HP-1,HP-5)进行试验,以色谱峰数为指标进行比较。结果为 HP-1(无水乙醇提取)96 个峰,DB-

1701(无水乙醇提取)90 个峰,HP-5(无水乙醇提取)53 个峰,HP-1(乙醚提取)79 个峰,DB-1701(乙醚提取)73 个峰。其中 HP-1(无水乙醇提取)分析所得总峰数最多,因此选择无水乙醇提取为提取溶剂,选择 HP-1 弹性石英毛细管柱(0.25 mm×30 m,0.25 μm)为色谱柱。

3.2 提取方法的选择 取减压干燥后的麝香供试品约 0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入试剂 10 mL,密塞,称定质量,振摇 2 min,再使用以下 4 种提取方法:①冰浴超声 5 min,放置至室温,用试剂补足质量,摇匀,静置过夜;②冰浴超声 15 min,放置至室温,用试剂补足质量,摇匀;③静置 2 h;④静置 4 h。结果显示①,② 2 种方案提取较完全,由于②耗时最短,节约时间,因此选取方法②,即冰浴超声 15 min,放置至室温,用试剂补足质量,摇匀。

3.3 色谱检测分析条件的选择

3.3.1 不同分流比的选择 进样体积相同的情况下,考察了不同分流比 1:1,5:1,10:1 对各组分检测结果的影响。结果表明采用 1:1 的分流比,所得指纹图谱的色谱峰数目最多,且色谱峰响应值较大。故选择分流比为 1:1 进行试验。

3.3.2 不同进样体积的比较 实验考察了不同进样体积 1,2,3 μL 对各组分检测结果的影响,结果采用 2 μL 和 3 μL 的进样体积,所得指纹图谱的色谱峰数目均较多。选择 3 μL 时有些在 2 μL 独立出峰的组分合并了其他组分,考虑到溶剂膨胀系数和对 GC 色谱系统的保护,最后选择进样体积为 2 μL 进行试验。

3.3.3 不同流速的比较 实验考察了不同流速(1,0.8 mL·min⁻¹)对各组分检测结果的影响,结果表明流速降低不但色谱峰的分离度未明显改善,反而使色谱峰减少。因此确定采用的流速为 1 mL·min⁻¹。

养殖麝香与天然麝香的成分复杂,但有效成分多集中在大环酮类与甾体类。采用同一分析方法能够从一张图谱中即可反映较为完整的物质信息,但由于两类物质的溶解性不同,如果要兼顾二者,可能丢失含量较低的成分。考虑在今后进一步的研究中,可以将大环酮类与胆甾醇类分别分析,进而分别建立指纹图谱,可以得到更为丰富的指纹信息以进行评价。

实验采用了 GC 技术进行麝香指纹图谱研究,为了全面反映各种麝香化学成分,对提取溶剂、提取方法、色谱柱、色谱条件,以及质谱条件进行优化,并确定供试品制备方法及色谱检测条件,验证了该方

法的稳定性、精密度和重复性,结果满意。建立了养殖麝香、天然麝香、人工麝香的指纹图谱,各批次麝香样品对比其对照指纹图谱的相似度均在 0.9 ~ 1.0,符合中药指纹图谱建立的相关要求。3 种麝香中共有峰有所不同,可以作为鉴别的参考。3 种麝香的指纹图谱具有专属性,可作为《中国药典》麝香质量标准的辅助,对 3 种麝香质量的整体控制提供可靠的依据。

[致谢] 本课题研究工作在漳州片仔癀药业研究院完成,得到福建省食品药品研究院游勇基、金鸣等老师的指导,漳州片仔癀药业研究院蒋珍珍、夏松等同事的帮助。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:12.

[2] 高学敏. 中药学[M]. 7 版. 北京:中国中医药出版社,2002:487.

[3] 孙蓉,王任卿,于晓,等. 麝香的化学与药理研究进展[J]. 齐鲁药事,2005,24(5):296-297.

[4] 周健,金城,罗云,等. 应用红外光谱技术鉴别中药麝香的真伪[J]. 光谱学与光谱分析,2010,30(9):2368-2371.

[5] 魏惠珍,王信,王跃生,等. 炒苦杏仁饮片指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(8):71-74.

[6] 詹雪艳,史新元,段天璇,等. 色谱指纹图谱相似度方法的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(2):248-251.

[7] 李强,杜思邈,张忠亮,等. 中药指纹图谱技术进展及未来发展方向展望[J]. 中草药,2013,44(22):3095-3104.

[8] 陈华,李岚,陈小荣,等. 健胃消食片 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(5):79-82.

[9] 陈祥胜,刘艳菊,陈海霞,等. 苍术炒焦前后 GC 指纹图谱的比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(2):24-28.

[10] 吴芬宏. 林麝麝香气相色谱指纹图谱研究及麝香质量鉴别[D]. 成都:四川大学,2006.

[11] 张萍,肖宣,张南平,等. 人工麝香高效液相色谱特征图谱分析[J]. 中国医学科学院学报,2014,36(6):587-590.

[12] 王慧. 麝香(Moschus)质量控制方法的研究[D]. 上海:华东理工大学,2010.

[13] 敖艳霖,刘闯,金煜,等. 天然麝香 ATR-FTIR 红外指纹图谱的比较[J]. 东北林业大学学报,2018,46(2):98-104.

[14] 蒋且英,罗云,谭婷,等. 气质联用和化学计量学比较不同品种和产地麝香挥发性成分组成[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(3):49-55.

[15] 罗云,杨明,廖正根,等. 麝香及其代用品人工麝香质量评价方法研究进展[J]. 药物分析杂志,2017,37(1):13-19.

[责任编辑 顾雪竹]