

GC-MS 研究含天然麝香小金丸与含人工麝香 小金丸特征化学成分

袁绿益, 陈娟, 常颜, 唐晓莹, Brian McGarvey, 王晓玲
(西南民族大学 药学院, 成都 610041)

[摘要] 目的:建立 GC-MS 法分析小金丸中的特征成分。方法:采用无水乙醇超声提取小金丸中的挥发性成分,再采用气相色谱-质谱联用技术和自动质谱解卷积定性系统(AMDIS)对其特征成分进行定性分析。结果:共鉴定出 53 个化学成分,含天然麝香小金丸中鉴定出 30 个化合物,而含人工麝香小金丸中鉴定出 23 个化合物。含天然麝香小金丸中检测出 7 个特征成分,分别是棕榈酸乙酯;乙酸脱氢异雄甾酮;3-乙基-3-羟基-雄甾烷-17-酮;去氢表雄酮;雄甾酮;3,17-二酮雄甾烷;3,17-二醇雄甾烷,其相对质量分数分别为 0.11% ,1.12% ,2.80% ,1.59% ,0.56% ,1.99% ,1.22%。特征成分中的甾体类化合物来自于天然麝香,酯类化合物可能是天然麝香中的某些化合物与其他药物配伍反应生成的物质。结论:该方法特征性强、方法简便、重复性好,为区分含天然麝香小金丸和含人工麝香小金丸提供参考依据。

[关键词] 小金丸; 气相色谱-质谱; 分析; 特征成分

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)02-0043-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017020043

GC-MS Study on Characteristics of Xiaojin Pills Containing Natural Musk and Artificial Musk

YUAN LYu-yi, CHEN Juan, CHANG Yan, TANG Xiao-yin, Brian McGarvey, WANG Xiao-ling*
(Pharmacy College Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the GC-MS analysis method for the identification of Xiaojin pills. **Method:** The volatile compounds in Xiaojin pills were extracted by ethanol, whose chemical constituents were then analyzed by gas chromatography-mass spectrum (GC-MS) and AMDIS. **Result:** A total of 53 compounds were identified, 30 compounds were identified from Xiaojin pills containing natural moschus, 23 compounds were identified from Xiaojin pills containing artificial musk. There are 7 characteristic compounds from Xiaojin pills containing natural musk, including palmitic acid ethyl ester, dehydroisoandrosterone 3-acetate, 3-ethyl-3-hydroxy-androstan-17-one, dehydroepiandrosterone, androsterone, androstan-3, 17-dione, androstane-3, 17-diol, their relative contents were 0.11% , 1.12% , 2.80% , 1.59% , 0.56% , 1.99% and 1.22% . The steroidal compounds in the characteristic compounds are derived from natural musk, and the ester compound may be a substance produced by the compatibility of some compounds of natural musk with other drugs. **Conclusion:** This method is characteristic, simple and reproducible, which provides a reference for the distinction Xiaojin pills containing natural-musk and artificial-musk.

[Key words] Xiaojin pills; GC-MS; analysis; characteristics

[收稿日期] 20160605(003)

[基金项目] 四川省科技厅科技支撑项目(2015SZ0040);西南民族大学研究生创新科研项目(CX2015SZ044)

[第一作者] 袁绿益,在读硕士,从事天然药物化学研究,Tel:18782972229,E-mail:416430619@qq.com

[通讯作者] *王晓玲,博士,教授,从事天然药物化学研究,Tel:13258159190,E-mail:wxl3232@sina.com

小金丸是由麝香(或人工麝香)、木鳖子(去油去壳)、制草乌、枫香脂、制乳香、制没药、五灵脂(醋炒)、当归、地龙及香墨共 10 味药组成的中药成方制剂,收载于《中国药典》2015 年版。具有散结消肿、化痰止痛的功效,主治痰气凝滞所致的瘰疬、癭瘤、乳岩、乳癖等^[1]。近年来发现小金丸在辅助治疗甲状腺腺肿^[2-3]、良性前列腺增生^[4]、乳腺囊性增生^[5]、带状疱疹后遗神经痛^[6]和各种恶性肿瘤^[7]均有确切疗效。其中麝香在小金丸药效中起重要作用,具有开窍醒神、活血通经、消肿止痛的功效。天然麝香资源有限且价格昂贵,1993 年卫生部批准人工麝香生产,1994 年替代天然麝香入药。虽然人工麝香与天然麝香的主要成分相似,但是天然麝香中有许多特有的未知成分。这些成分中,有些本身具有生物活性,有些与其他药物配伍后可能产生新的药理活性物质。这也是药品中使用人工麝香不能写成麝香的原因^[8]。

目前关于小金丸的质量评价研究报道主要有制草乌生物碱类成分含量测定^[9]、气相色谱法测定贵重药成分麝香酮^[10]、高效液相色谱法测定乌头碱含量^[11-12]、液相色谱法测定单一药效成分阿魏酸含量^[13-14]、超高效液相色谱对小金丸中多种成分同时测定^[15]。现有的方法均不能有效区分天然麝香小金丸与人工麝香小金丸。鉴于此,本文建立了小金丸 GC-MS 分析方法,对该制剂中特征成分进行定性分析,为区分含天然麝香小金丸和含人工麝香小金丸提供参考依据。

1 材料

Trace DSQ 型 GC-MS 联用仪(配 Triplus 自动进样器,美国 Thermo 公司),KQ-250SB 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),申科 R-201 型旋转蒸发仪(上海申顺生物有限公司),BP121S 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司),乙醇分析纯(成都市科龙化工试剂厂)。

天然麝香由成都永康制药有限公司甘孜养麝场提供(产品批号 130601,150402,150706);人工麝香由成都永康制药有限公司提供(产品批号 150602,150908,151102);小金丸(人工麝香)由成都永康制药有限公司提供(产品批号 150502,150902,151008);小金丸(天然麝香)由成都永康制药有限公司提供(产品批号 150802,150902,151108)。

2 方法

分别取小金丸(天然麝香),小金丸(人工麝香)供试品各 1.5 g,研细,精密称定;置一定量无水乙醇

中,称定,超声处理 30 min,放置至室温,再用无水乙醇补足减失质量,离心取上清液为供试品溶液;分别取天然麝香、人工麝香样品各 100 mg,精密称定,以无水乙醇超声提取 3 次,每次 15 min,定容至 5 mL,合并各提取液即为供试品溶液。

GC 条件:HP-5MS 色谱柱(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm),不分流模式,流速 1 mL·min⁻¹;色谱柱初始温度 120 °C,以 4 °C·min⁻¹速度升温至 160 °C,保留 2 min,再以 4 °C·min⁻¹速度升温至 220 °C,保留 6 min,再以 4 °C·min⁻¹速度升温至 250 °C,保留 8 min,最后以 10 °C·min⁻¹速度升温至 280 °C,保留 2 min。进样口温度 250 °C,进样量 1 μL,载气为 99.999% 氦气。

MS 条件:电子电离源,电子能量 70 eV,离子源温度 250 °C,传输线温度 280 °C,全扫描模式,质量扫描范围 *m/z* 40 ~ 400。

3 结果与分析

MS 结果由 AMDIS 软件手动对照检索(NIST08 谱图库)进行定性分析,另外利用面积归一化法计算小金丸中已鉴定挥发性物质相对含量,采用提取离子流方式报告代表性挥发性物质的峰面积。结果见表 1。

通过质谱分析和标准谱图检索,并参考相应化合物在类似色谱分析条件下的保留时间,分别从人工麝香中检测出 7 个化合物,天然麝香中检测出 30 个化合物,含人工麝香小金丸中检测出 23 个化合物,含天然麝香小金丸中检测出 30 个化合物,结果见表 1。各样品总离子流色谱见图 1。

4 讨论

本论文建立了小金丸的 GC-MS 分析方法,特征性强、方法简便、重复性好,定性结果可靠。天然麝香和小金丸(天然麝香)中均检测到化合物 32, 37, 38, 40, 42, 43,且都是天然麝香中的甾体活性成分,而化合物 16 只在小金丸(天然麝香)中检测到,可能是天然麝香中的某些化合物与其他药物配伍反应生成的物质。

各种麝类动物濒临灭绝,人工麝香代替天然麝香是大势所趋,但是两者的疗效不可能绝对一致。何玲玲^[16]通过对小鼠静脉注射天然麝香和人工麝香研究发现,人工麝香和天然麝香对中枢神经均有影响,但天然麝香更为明显。目前,大多数中成药都以人工麝香代替天然麝香作为原料,故研究比较人工、天然麝香为原料的中成药的区别,在科学价值、经济效益和生态效益上都具有重大意义。

表1 各样品化学成分保留时间及相对质量分数

Table 1 Retention time and relative contents of chemical composition of samples

No.	化合物	t_R /min				相对质量分数/%			
		人工麝香	天然麝香	小金丸 (人工麝香)	小金丸 (天然麝香)	人工麝香	天然麝香	小金丸 (人工麝香)	小金丸 (天然麝香)
1	石竹烯	-	-	7.66	7.64	-	-	3.71	0.99
2	α -葑澄茄油烯	-	-	9.20	8.80	-	-	1.20	0.03
3	α -红没药烯	-	-	9.31	9.33	-	-	0.50	1.24
4	α -衣兰油烯	-	-	9.76	9.96	-	-	0.96	1.53
5	石竹烯氧化物	-	-	11.40	11.42	-	-	3.81	1.44
6	表蓝桉醇	-	-	12.55	12.57	-	-	1.17	2.36
7	毕澄茄醇	-	-	13.13	13.20	-	-	4.76	1.27
8	2-亚甲基-6,8,8-三甲基-三环[5.2.2.0(1,6)]十一碳-3-醇	-	-	13.87	13.91	-	-	2.11	0.52
9	环十五烷酮	-	14.86	-	-	-	0.23	-	-
10	川芎内酯	-	-	15.70	15.75	-	-	1.55	0.49
11	2,3-环十二吡啶(麝香吡啶)	-	17.21	-	-	-	0.31	-	-
12	麝香酮	18.73	18.75	18.81	18.84	45.47	12.00	8.36	9.01
13	1,2-苯二甲酸辛酯	19.20	19.20	-	-	0.45	0.41	-	-
14	邻苯二甲酸基丁基十一烷基酯	21.65	21.65	-	-	0.34	1.98	-	-
15	1-甲基-1-乙炔基-2,4-二(1-甲基乙炔基)-环己烷	-	-	21.79	21.80	-	-	0.49	0.62
16	棕榈酸乙酯	-	-	-	22.50	-	-	-	0.11
17	4,8,12,15,15-甲基-[1R-(1R*,3E,7E,11R*,12R*)]-双环[9.3.1]十五烷-3,7-烯-12-醇	-	-	23.09	23.10	-	-	2.89	2.23
18	1,2-环戊二醇	-	23.59	-	-	-	1.87	-	-
19	2,6,6-三甲基-1-苯基甲磺酰基苯	-	-	24.16	24.18	-	-	1.44	1.53
20	7-十四碳烯醛	-	24.25	-	-	-	2.30	-	-
21	12-甲基-2,13-十八碳-1-醇	-	24.43	-	-	-	4.21	-	-
22	二苯丙烯酸-1,3-苯酯	-	-	24.60	24.69	-	-	0.82	0.92
23	13-十四碳烯醛	-	24.97	-	-	-	0.07	-	-
24	9-十六碳烯	-	25.17	-	-	-	6.87	-	-
25	11-十六碳烯	-	25.29	-	-	-	0.23	-	-
26	4-乙炔基-4-三甲基-3-(1-甲基乙炔基)-环己烷甲醇	-	-	26.22	26.18	-	-	0.90	0.43
27	甲基-3-(3,7,11-三甲基-1,6,10-十二烷三稀)酯	-	-	26.46	26.51	-	-	11.24	0.60
28	十六烷酰胺	26.77	26.79	-	-	0.60	2.02	-	-
29	2,6,10-三甲基-(2E,6E,10E)-十二碳三烯-12-乙酰氧基-1-醇	-	-	27.03	27.13	-	-	7.04	8.51
30	苯丙烯酸基-1,7,7-三甲基双环[2.2.1]庚-2-基酯	-	-	27.92	27.98	-	-	10.36	9.95
31	3-甲基-3-苯基-氮杂环丁烷	-	-	30.31	30.40	-	-	8.89	7.46
32	乙酸脱氢异雄甾酮	-	30.06	-	30.09	-	1.60	-	1.12
33	(Z)-9-十八烯酰胺	31.81	31.87	-	-	3.72	11.93	-	-

续表 1

No.	化合物	t_R /min				相对质量分数/%			
		人工麝香	天然麝香	小金丸 (人工麝香)	小金丸 (天然麝香)	人工麝香	天然麝香	小金丸 (人工麝香)	小金丸 (天然麝香)
34	十八烷酰胺	-	32.77	-	-	-	1.54	-	-
35	桂酸桂酯	-	-	33.76	33.90	-	-	5.96	5.21
36	3-羟基雄甾烷-17-酮	-	36.37	-	-	-	11.50	-	-
37	3-乙基-3-羟基-雄甾烷-17-酮	-	36.78	-	47.08	-	0.44	-	2.80
38	去氢表雄酮	37.19	37.19	-	37.38	34.91	0.12	-	1.59
39	表雄酮	-	37.25	-	-	-	0.40	-	-
40	雄甾酮	-	37.28	-	37.46	-	1.82	-	0.56
41	雄甾-5-烯-3,17-二醇	-	37.30	-	-	-	0.87	-	-
42	3,17-二酮雄甾烷	-	37.37	-	47.07	-	2.86	-	1.99
43	3,17-二醇雄甾烷	37.93	37.96	-	38.27	0.48	0.81	-	1.22
44	双氢睾酮	-	38.48	-	-	-	1.60	-	-
45	雄烯二酮	-	40.37	-	-	-	0.90	-	-
46	5,19-环-雄甾-6-烯-3,17-二酮	-	40.58	-	-	-	3.67	-	-
47	雄甾-4,6-二烯-3,17-二酮	-	41.29	-	-	-	1.36	-	-
48	3-羟基-6,17-二酮雄甾烷	-	43.39	-	-	-	0.23	-	-
49	3,7,17-三醇-雄甾烷	-	44.63	-	-	-	0.31	-	-
50	维生素 A	-	-	51.23	51.39	-	-	0.78	4.89
51	β -香树脂醇	-	-	51.54	51.70	-	-	1.32	1.42
52	α -香树脂醇	-	-	52.47	52.64	-	-	2.68	3.05
53	胆固醇	-	53.49	-	-	-	0.52	-	-

注: 化合物 16, 32, 37, 38, 40, 42, 43 是含天然麝香小金丸的特征化学成分。

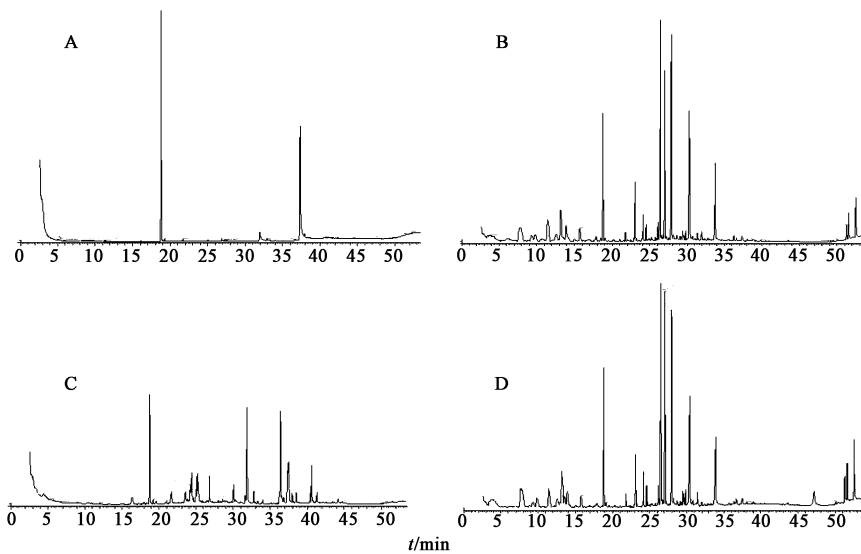


图 1 人工麝香 (A), 小金丸 (人工麝香) (B), 天然麝香 (C) 和小金丸 (天然麝香) (D) 的总离子流色谱
Fig.1 Total ion current chromatograms of artificial moschus (A), Xiaojin pills (artificial moschus) (B), natural moschus (C) and Xiaojin pills (natural moschus) (D)

[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: 568-569.
- [2] 秦树光. 小金丸联合甲状腺素片治疗甲状腺肿的临床分析[J]. 现代中西医结合杂志, 2005, 14(8): 1018.
- [3] 唐志强. 小金丸治疗结节性甲状腺肿疗效观察[J]. 中国误诊学杂志, 2007, 7(8): 1744-1745.
- [4] 屈江宁. 小金丸治疗良性前列腺增生 80 例[J]. 世界中医药, 2008, 3(5): 277.
- [5] 黄慧琳, 曾幼波, 林川, 等. 小金丸治疗乳腺增生的临床观察[J]. 海峡药学, 2004, 16(3): 96-97.
- [6] 马保华, 周彤. 小金丸治疗带状疱疹后遗症神经痛 44 例[J]. 中国中医急症, 2003, 12(5): 473-474.
- [7] 柳芳, 鞠海, 苗颖, 等. 小金丸及其组成药味抗肿瘤作用的研究进展[J]. 中国药房, 2015, 26(13): 1844-1846.
- [8] 刘从盛. 因为天然, 所以珍贵—麝香与片仔癀[J]. 医药世界, 2008, 10(4): 73.
- [9] 任桂林, 韩丽, 王小平, 等. 小金丸中制草乌单酯型生物碱类成分的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(21): 123-126.
- [10] 平欲晖, 毛红梅, 关志宇, 等. 气相色谱法测定小金丸中麝香酮的含量研究[J]. 江西师范大学学报: 自然科学版, 2011, 35(3): 263-265.
- [11] 平欲晖, 宗星星, 关志宇, 等. HPLC 测定小金丸中乌头碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(9): 80-81.
- [12] 刘刚, 王辉, 杨俊. 高效液相色谱法测定小金丸中乌头碱的含量[J]. 广东药学院学报, 2004, 20(2): 134-135.
- [13] 陈仁兴, 王红霞. RP-HPLC 法测定小金丸中阿魏酸的含量[J]. 中国医药指南, 2003, 11(17): 501-502.
- [14] 王欣, 刘新. 高效液相色谱法测定小金丸软胶囊中阿魏酸的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(3): 350-352.
- [15] 蔡博, 董林毅, 王静, 等. 超高效液相色谱质谱联用技术同时测定小金丸中 7 种成分的含量[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(8): 718-721.
- [16] 何玲玲. 人工合成与天然麝香对中枢神经的影响研究[J]. 中国医药导报, 2010, 7(29): 22-23.

[责任编辑 顾雪竹]