

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

蒋且英¹, 罗云^{2*}, 谭婷^{3*}, 杨明², 廖正根²

- (1. 江西中医药大学实验动物科技中心, 南昌 330004;
2. 江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004;
3. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006)

[摘要] 目的: 建立麝香及其代用品人工麝香中挥发性化学成分分析方法及麝香酮含量测定方法, 探索品种和产地对麝香药材质量的影响, 为麝香质量评价提供科学依据。方法: 采用 GC-MS 分析麝香中挥发性化学成分的组成并测定麝香酮的含量, 采用聚类分析、主成分分析等化学计量学方法综合评价不同品种和产地对麝香药材的质量。结果: 林麝、马麝、原麝 3 种天然麝香的挥发性化学成分组成相似, 主要含有麝香酮、雄酮、乙酸去氢表雄酮、雄烷二醇、胆固醇、胆甾烷醇等, 但不同品种和产地天然麝香所含成分的相对含量差别较大; 人工麝香的主要成分为麝香酮、表雄酮、油酸乙酯、对羟基苯甲酸、硬脂酸、棕榈酸等, 与天然麝香所含成分差别较大; 不同产地林麝麝香中麝香酮质量分数为 $(1.21 \pm 0.42)\%$, 马麝麝香中麝香酮质量分数为 $(0.26 \pm 0.15)\%$, 原麝麝香中麝香酮质量分数为 5.68% , 人工麝香中麝香酮质量分数为 5.07% 。结论: 不同品种和产地麝香所含挥发性化学成分种类及麝香酮含量差别较大, 提示不同品种和产地对麝香质量影响较大, 因此在人工驯养麝过程中应注意品种和产地的选择; 同时, 人工麝香和天然麝香化学组成也有较大差异, 提示人工麝香处方配比可能有待进一步优化。

[关键词] 麝香; 气质联用; 化学计量学; 品种; 产地; 含量测定

[中图分类号] R282; R931.74; R22; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)03-0049-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2018030049

Comparison of Volatile Chemical Compositions of Moschus from Different Species and Producing Areas by GC-MS and Chemometric Analysis

JIANG Qie-ying¹, LUO Yun^{2*}, TAN Ting^{3*}, YANG Ming², LIAO Zheng-gen²

- (1. *Experimental Animal Center, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanchang 330004, China*; 2. *Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China*; 3. *National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006, China*)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the analysis of volatile chemical compositions and determination of muscone in Moschus, explore the impact of species and producing areas on the quality of Moschus, and provide scientific basis for its quality evaluation. **Method:** Chemical compositions and contents of muscone in Moschus were analyzed by GC-MS, and chemometric analysis methods such as hierarchical cluster analysis (HCA) and principal component analysis (PCA) were used to comprehensively evaluate the effect of different species and producing areas on the quality of Moschus. **Result:** The volatile chemical compositions in three kinds of natural

[收稿日期] 20170516(010)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81460600, 81603274, 81760711); 江西省自然科学基金项目(20171BAB205100, 20161BAB215189); 江西省卫生计生委中医药科研项目(2016A042)

[第一作者] 蒋且英, 讲师, 从事中药质量评价研究, Tel: 0791-87118658, E-mail: lyzlyg@163.com

[通信作者] * 罗云, 博士, 副教授, 从事中药质量评价研究, Tel: 0791-87119027, E-mail: luoyunn@163.com;

* 谭婷, 博士, 讲师, 从事中药质量评价研究, Tel: 0791-87119027, E-mail: tanting2009@126.com

moschus (*Moschus berezovskii*, *M. sifanicus*, *M. moschiferus*) were similar and mainly included muscone, androsterone, dehydroepiandrosterone acetate, androstanediol, cholesterol and cholestanol, et al, but the relative contents of those compounds were different among the natural moschus of different species and producing areas. Artificial Moschus mainly contained muscone, epiandrosterone, ethyl oleate, hydroxybenzoic acid, stearic acid, and palmitic acid, et al, which was very different from natural Moschus. The average content of muscone was (1.21 ± 0.42)% in *M. berezovskii* from different producing areas, (0.26 ± 0.15)% in *M. sifanicus* from different producing areas, 5.68% in *M. moschiferus* from Anhui province, and 5.07% in artificial Moschus. **Conclusion:** The Moschus of different species and producing areas had different chemical compositions and content of muscone, suggesting that different species and producing areas had great effects on the quality of Moschus, so it is necessary to pay attention to species and producing areas in the process of musk domestication; meanwhile, the artificial Moschus and natural Moschus also showed great differences in chemical compositions, suggesting that ratio in artificial Moschus prescription needs to be further optimized.

[**Key words**] Moschus; GC-MS; chemometrics; species; producing area; content determination

麝香为鹿科动物林麝、马麝或原麝成熟雄体香囊中的干燥分泌物,始载于《神农本草经》,有2000多年的药用历史,主产于四川、西藏、陕西、甘肃等地。其性温,味辛,归心、脾经,具有开窍醒神、活血通经、消肿止痛等功效,广泛用于热病神昏、中风痰厥、气郁暴厥、中恶昏迷、经闭、癥瘕、难产死胎、胸痹心痛、心腹暴痛、跌扑伤痛、痹痛麻木、痈肿瘰疬、咽喉肿痛等证^[1]。

麝香是一味珍稀名贵中药材,有很高的药用价值和经济价值^[2]。为保护麝资源和满足医药行业需要,我国从1958年开始,陆续在四川马尔康、陕西镇坪、安徽佛子岭、上海崇明等地开展了野麝人工驯养、活体取香研究^[3]。麝香品种多、产地多,野生麝香、饲养麝香和人工麝香同用,同时由于价格昂贵,掺伪现象尤为严重,导致麝香质量参差不齐且难以控制。高效的质量评价方法对于保证麝香及其代用品质量至关重要。

目前,红外光谱^[4]、电子鼻^[5]、气相色谱^[6]、高效液相色谱^[7-8]、电感耦合等离子体质谱^[9]、原子吸收光谱^[10]、分子生物学鉴定^[11]及生物活性评价^[12]等现代分析技术已广泛用于麝香的质量评价。其中,气相色谱法具有操作简便、样品消耗少、定性定量结果可靠等优点,是最为常用的麝香质量评价方法,《中国药典》2015年版即采用气相色谱法鉴别和测定麝香中有效成分麝香酮的含量。气相色谱与质谱联用(GC-MS)可鉴别化合物结构,为成分复杂的中药提供了简便快捷的鉴别方法。聚类分析、主成分分析等化学计量学方法已广泛用于中药质量评价^[13-14],气质联用技术与化学计量学结合的方法可以较好地地区分不同产地的中药所含挥发性成分^[15],

本文采用GC-MS和化学计量学方法对不同品种和产地麝香的挥发性成分进行比较,以期对麝香的质量评价、麝的规范化养殖(GAP)以及人工麝香的处方配比优化提供参考。

1 材料

Agilent 7890A型气相色谱仪-5975C型质谱联用仪(美国Agilent公司);BT25S型1/10万电子分析天平,BSA124S型1/1万电子分析天平(德国Sartorius公司);JK-5200型超声波清洗器(功率200W,频率40kHz,合肥金尼克机械制造有限公司)。

麝香酮对照品(批号110719-201215)购自中国食品药品检定研究院;麝香药材经江西中医药大学廖正根教授鉴定为鹿科动物林麝 *Moschus berezovskii*, 马麝 *M. sifanicus* 或原麝 *M. moschiferus* 成熟雄体香囊中的干燥分泌物,按照林麝、马麝和原麝进行品种分类,同一品种按不同省份进行产地分类,不同品种和产地麝香及人工麝香来源信息见表1;高纯氦气(江西省南昌市宏伟气体有限公司),水为双蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 GC-MS分析条件^[16]

2.1.1 色谱条件 采用HP-5MS石英毛细管柱(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm),载气高纯度氦气,体积流量1.0 mL·min⁻¹,进样量1.0 μL,分流比10:1,进样口温度270℃,接口温度280℃,程序升温(160℃保持2 min,以速率4℃·min⁻¹升至200℃,再以速率6℃·min⁻¹升至280℃)。

2.1.2 质谱条件 EI电离源,电子能量70 eV,离子源温度230℃,四级杆温度150℃,扫描范围 *m/z*

表 1 不同品种和产地麝香及人工麝香样品信息

Table 1 Different kinds of natural musk and artificial musk

编号	品种	拉丁名	产地
SX1	林麝	<i>Moschus berezovskii</i>	四川省阿坝州小金县
SX2	原麝	<i>M. moschiferus</i>	安徽省六安市霍山县
SX3	林麝	<i>M. berezovskii</i>	上海市崇明县
SX4	林麝	<i>M. berezovskii</i>	陕西省安康市镇坪县
SX5	林麝	<i>M. berezovskii</i>	陕西省宝鸡市凤县南星镇
SX6	林麝	<i>M. berezovskii</i>	北京市
SX7	林麝	<i>M. berezovskii</i>	四川省阿坝州马尔康县
SX8	林麝	<i>M. berezovskii</i>	四川省都江堰市紫坪铺镇
SX9	林麝	<i>M. berezovskii</i>	四川省雅安市宝兴县
SX10	马麝	<i>M. sifanicus</i>	四川省雅安市宝兴县
SX11	林麝	<i>M. berezovskii</i>	四川省广元市青川县
SX12	马麝	<i>M. sifanicus</i>	甘肃省榆中县城关镇
RGSX	人工麝香	-	中国中药公司

35 ~ 1 000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取麝香酮对照品 5.76 mg 置 10 mL 量瓶中,用无水乙醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得含麝香酮 $0.576 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品储备液。再用无水乙醇等比稀释制成不同质量浓度的对照品溶液,备用。

2.3 供试品溶液的制备 取麝香 0.1 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,加入无水乙醇 10 mL,密塞,称定质量,超声提取 30 min,放冷,再称定质量,用无水乙醇补足减失质量,摇匀,静置, $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 麝香化学成分的定性分析 麝香化学成分的 GC-MS 总离子流色谱见图 1。经计算机检索及对质谱图进行解析确定化合物,对 GC-MS 总离子流色谱图进行了初步指认,采用峰面积归一化法测定各成分相对质量分数,共确定色谱峰 24 个,其中相对质量分数 $> 1.5\%$ 的色谱峰 13 个,占 93.29%,见表 2。由表 2 可见,林麝、马麝、原麝 3 种天然麝香的化学成分组成相似,主要含有乙酰基环十二烷 (C1),5-环十六碳烯-1-酮 (C2),环十五烷酮 (C3),麝香酮 (C4),棕榈油酸 (C5),三氟乙酸去氢表雄酮 (C6),乙酸去氢表雄酮 (C7),雄酮 (C8),普拉睾酮 (C9),表雄酮 (C10),雄烷二醇 (C11),胆固醇 (C12),胆甾烷醇 (C13) 等,但不同品种天然麝香所含同一成分的相对质量分数差别较大;人工麝香的主要成分为麝香酮、表雄酮、胆固醇、油酸乙酯、对羟基苯甲酸、对羟基苯甲酸乙酯、硬脂酸、棕榈酸、棕榈酸乙酯、硬

脂酸乙酯、油酸、胆甾烷醇等。人工麝香中大环酮类、雄性激素类化合物的种类和含量均与天然麝香有较大差异,提示人工麝香处方配比可能有待进一步优化。

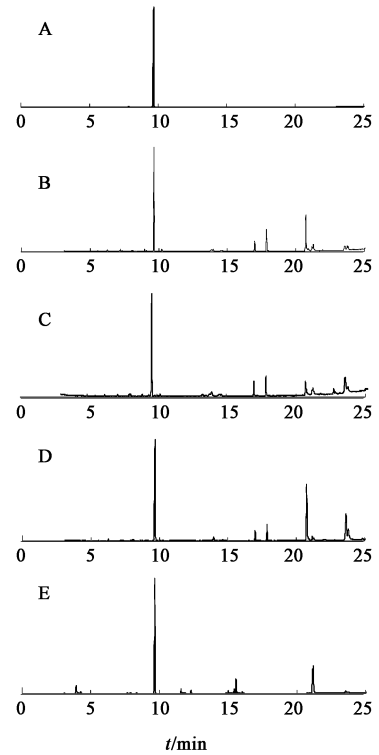


图 1 麝香酮对照品 (A),林麝麝香 (B),马麝麝香 (C),原麝麝香 (D)及人工麝香 (E) GC-MS 总离子流

Fig. 1 GC-MS total ion chromatograms of muscone standard solution (A), natural musk solutions (B, C and D) and artificial musk solution (E)

2.5 聚类分析 将不同品种和产地的麝香药材 GC-MS 指纹图谱的 13 个共有峰的相对峰面积作为特征,得到 13×13 阶原始数据矩阵,见表 3,运用 SPSS 19.0 分析软件对其进行聚类分析,采用组间联接法,以欧式平方距离为测度,对样品进行聚类分析,结果见图 2。

13 个麝香药材样品总共可以聚为 5 类,其中,北京产林麝 (SX6),四川宝兴产马麝 (SX10),甘肃兰州产马麝 (SX12),四川都江堰产林麝 (SX8),四川宝兴产林麝 (SX9),四川青川产林麝 (SX11),上海崇明产林麝 (SX3),四川马尔康产林麝 (SX7),陕西镇坪产林麝 (SX4) 聚为第 1 类;然后与陕西凤县产林麝 (SX5) 聚为一类;再与四川小金产林麝 (SX1) 聚为一类;人工麝香 (RGSX) 单独聚为第 2 类;安徽霍山产原麝 (SX2) 单独聚为第 3 类。从聚类分析结果来看,麝香的 GC-MS 成分分析结果与其

表 2 不同品种麝香及人工麝香中化学成分分析

Table 2 Chemical components in different kinds of natural musk and artificial musk

No.	t_R /min	化合物	分子式	相对分子质量	相对质量分数/%			
					林麝	马麝	原麝	人工麝香
1	3.95	对羟基苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₃	138	-	-	-	5.12
2	4.26	对羟基苯甲酸乙酯	C ₉ H ₁₀ O ₃	166	-	-	-	0.95
3	6.27	乙酰基环十二烷	C ₁₄ H ₂₆ O	210	0.73	0.64	0.53	-
4	8.05	5-环十六碳烯-1-酮	C ₁₆ H ₂₈ O	236	0.54	0.99	0.40	-
5	8.97	环十五烷酮	C ₁₅ H ₂₈ O	224	1.07	0.65	0.18	-
6	9.65	麝香酮	C ₁₆ H ₃₀ O	238	45.14	40.76	37.45	56.86
7	10.23	十八(烷)醛	C ₁₈ H ₃₆ O	268	-	-	-	-
8	11.57	棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	-	-	-	2.05
9	12.31	棕榈酸乙酯	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	-	-	-	1.22
10	13.96	棕榈油酸	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254	1.13	3.33	2.08	-
11	14.99	油酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	-	-	-	1.48
12	15.46	硬脂酸	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	-	-	-	2.44
13	15.56	油酸乙酯	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	-	-	-	5.53
14	16.01	硬脂酸乙酯	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	-	-	-	0.63
15	16.99	三氟乙酸去氢表雄酮	C ₂₁ H ₂₇ F ₃ O ₃	384	4.61	6.01	2.93	-
16	17.86	乙酸去氢表雄酮	C ₂₁ H ₃₀ O ₃	330	9.42	7.71	4.53	-
17	20.72	雄酮	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	290	19.32	9.82	21.48	-
18	20.92	普拉睾酮	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	288	1.26	1.02	1.55	-
19	21.17	表雄酮	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	290	2.43	2.69	1.60	21.38
20	21.26	雄烷二醇	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292	5.23	4.75	0.93	-
21	22.73	雄烯二酮	C ₁₉ H ₂₆ O ₂	286	-	1.75	-	-
22	23.56	胆固醇	C ₂₇ H ₄₆ O	386	4.68	14.12	18.09	1.39
23	23.77	胆甾烷醇	C ₂₇ H ₄₈ O	388	4.44	5.76	7.55	0.95
24	24.84	烯胆甾烷醇	C ₂₇ H ₄₆ O	386	-	-	0.70	-

表 3 不同品种和产地麝香及人工麝香共有峰相对峰面积

Table 3 Relative peak areas of 13 common chromatographic peaks

编号	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13
SX1	0.39	0.40	0.20	30.34	0.83	0.30	1.33	0.53	0.12	1.24	0.20	44.27	19.85
SX2	0.54	0.40	0.18	37.45	2.08	2.93	4.53	21.49	1.55	1.60	0.93	18.10	8.22
SX3	1.20	1.12	0.40	52.42	3.12	1.65	2.84	11.17	1.44	2.75	4.37	14.65	2.87
SX4	0.47	0.68	0.28	32.22	1.30	6.31	7.24	13.82	1.63	2.22	3.67	23.45	6.71
SX5	0.73	0.54	1.07	45.14	1.13	4.61	9.42	19.32	1.26	2.43	5.23	4.68	4.44
SX6	0	0	1.63	25.87	0	2.34	3.61	17.37	3.11	2.46	3.22	25.97	14.42
SX7	1.58	1.49	0.42	60.73	4.71	0.27	0.52	11.78	1.46	4.77	6.53	4.40	1.34
SX8	0.52	2.01	0.45	65.09	3.71	0.29	0.10	2.21	0.74	5.88	1.69	13.44	3.87
SX9	0.95	0.91	0.31	43.49	3.25	6.41	10.28	18.98	3.07	2.48	4.66	3.78	1.43
SX10	0.70	1.29	0.49	48.40	3.65	0.80	1.41	9.86	1.97	2.42	3.69	21.39	3.93
SX11	1.01	1.02	0.22	44.60	3.00	7.09	13.37	14.75	1.39	2.24	4.35	5.52	1.44
SX12	0.64	0.99	0.65	40.76	3.33	6.02	7.72	9.82	1.02	2.69	4.75	15.85	5.76
RGSX	0	0	0	72.20	0	0	0	0	0	24.27	0	2.58	0.95

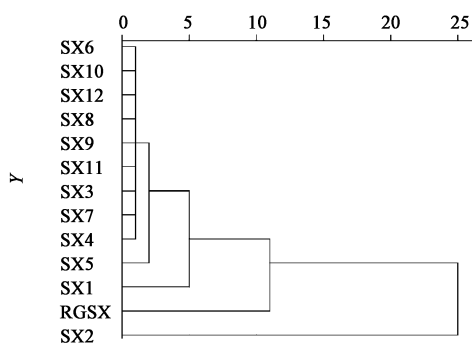


图 2 13 批麝香的聚类分析树状关系

Fig. 2 Dendrogram of 13 batches of Moschus

品种和产地具有一定的相关性,但不绝对相关。

2.6 主成分分析 主成分分析是一种能用较少的几个彼此不相关的综合指标尽可能多地反映原来众多变量信息的常用、有效方法。通过主成分分析挑选出对表征麝香化学成分作用贡献最大的主成分,

表 4 相关系数矩阵

Table 4 Matrix of correlation coefficients

峰号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	1.000	0.882	0.488	0.611	0.970	0.790	0.806	0.893	0.897	-0.180	0.661	0.632	0.616
2	0.882	1.000	0.305	0.328	0.853	0.628	0.630	0.654	0.651	-0.367	0.715	0.469	0.434
3	0.488	0.305	1.000	0.238	0.392	0.551	0.633	0.545	0.511	-0.250	0.675	0.289	0.345
4	0.611	0.328	0.238	1.000	0.601	0.549	0.550	0.705	0.660	0.635	0.127	0.557	0.544
5	0.970	0.853	0.392	0.601	1.000	0.776	0.762	0.911	0.915	-0.182	0.534	0.606	0.576
6	0.790	0.628	0.551	0.549	0.776	1.000	0.977	0.906	0.865	-0.141	0.579	0.519	0.481
7	0.806	0.630	0.633	0.550	0.762	0.977	1.000	0.882	0.848	-0.145	0.647	0.507	0.492
8	0.893	0.654	0.545	0.705	0.911	0.906	0.882	1.000	0.981	-0.053	0.453	0.640	0.613
9	0.897	0.651	0.511	0.660	0.915	0.865	0.848	0.981	1.000	-0.092	0.445	0.586	0.567
10	-0.180	-0.367	-0.250	0.635	-0.182	-0.141	-0.145	-0.053	-0.092	1.000	-0.386	-0.063	-0.066
11	0.661	0.715	0.675	0.127	0.534	0.579	0.647	0.453	0.445	-0.386	1.000	0.182	0.200
12	0.632	0.469	0.289	0.557	0.606	0.519	0.507	0.640	0.586	-0.063	0.182	1.000	0.992
13	0.616	0.434	0.345	0.544	0.576	0.481	0.492	0.613	0.567	-0.066	0.200	0.992	1.000

2.7 麝香中麝香酮的含量测定^[17] 在麝香和人工麝香所含成分中,麝香酮相对质量分数最大,可以较好地反映麝香化学成分的变化规律,故选择其作为指标成分。

2.7.1 系统适用性试验 按 2.1 项下色谱条件进行检测,以麝香酮计算理论塔板数 > 3 000,分离度 > 1.5。麝香酮对照品溶液、天然麝香及人工麝香供试品溶液的色谱图见图 1。结果表明,在上述色谱条件下,所测成分分离度良好。

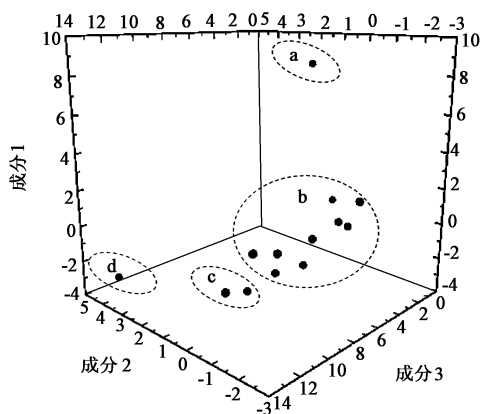
2.7.2 线性关系考察 取麝香酮对照品储备液(0.576 g·L⁻¹),用无水乙醇等比稀释成 0.288,

可减少变量的数目,简化变量之间的关系,从而快速、准确地区分不同品种和产地的麝香。采用 SIMCA-P 12.0 统计软件对 13 个麝香药材的 GC-MS 图谱数据进行主成分分析,将 13 批次样品 13 个共有峰峰面积导入 SIMCA-P 12.0 软件,进行主成分分析。根据因子荷载矩阵,见表 4,推测影响麝香药材质量差异的并不是单一成分,而是多成分(群)协同作用的结果。对麝香药材共有峰峰面积标准化处理后,计算主成分特征值、累计贡献率及主成分综合得分等。前 3 个主成分的累计方差贡献率为 85.97%,故选取前 3 个主成分即可进行评价,它代表了麝香药材中 12 个成分量的 85.97% 的信息量,具有很好的代表性,可以评价麝香药材的品质,结果见图 3。由图 3 可见,通过主成分分析,原麝(SX2),林麝(SX1, SX3 ~ SX9, SX11),马麝(SX10, SX12)和人工麝香(RGSX)可以较好地区分。

0.144, 0.072, 0.036, 0.018 g·L⁻¹ 的对照品溶液,按上述色谱条件进样 1 μL,记录色谱峰面积,以进样量 X(μg)为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标绘制标准曲线,并拟合线性回归方程,结果 Y = 391 516 416X + 1 437 063 (r = 0.999 9),麝香酮在 0.018 ~ 0.576 μg 线性关系良好。

2.7.3 精密度试验 精密吸取麝香酮对照品溶液(0.144 g·L⁻¹) 1 μL,重复进样 6 次,测定峰面积积分值,结果麝香酮峰面积 RSD 0.7%,表明仪器的精密度良好。

2.7.4 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液



a. 原麝; b. 林麝; c. 马麝; d. 人工麝香

图 3 麝香 GC-MS 图谱的主成分分析

Fig. 3 PCA of GC-MS spectrum in different Moschus

1 μL , 进样测定峰面积, 每 4 h 测定 1 次, 结果麝香酮峰面积的 RSD 1.3% ($n=7$), 表明样品溶液在 24 h 内稳定。

2.7.5 重复性试验 取同一麝香样品 6 份, 每份 0.1 g, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 精密吸取 1 μL , 注入气相色谱仪, 计算麝香酮的含量, 结果麝香酮的平均质量分数为 $13.81 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 1.1%, 表明方法的重复性良好。

2.7.6 加样回收试验 取同一已知含量的麝香样品 6 份, 每份 0.05 g, 按照 100% 样品含量分别精密加入麝香酮对照品溶液 1 mL ($0.576 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), 加入无水乙醇 9 mL, 混匀, 按 2.3 项下的方法制备供试品溶液, 进样 1 μL , 测定峰面积, 计算回收率, 结果麝香酮的平均回收率为 99.5% (RSD 2.1%), 表明加样回收率良好, 方法可行。见表 5。

表 5 麝香中麝香酮加样回收率试验

Table 5 Recovery test of muscone in Moschus

No.	称样量 /g	样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%
1	0.046 2	0.638	1.219	100.9
2	0.047 0	0.649	1.225	100.0
3	0.046 3	0.639	1.220	100.8
4	0.046 9	0.647	1.205	96.8
5	0.046 5	0.642	1.227	101.5
6	0.046 7	0.645	1.203	96.9

注: 加入量均为 0.576 mg。

2.7.7 不同品种和产地麝香及人工麝香中麝香酮的含量测定 取不同品种和产地麝香及人工麝香 0.1 g, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 在 2.1 项下色谱条件进行测定, 每份进样 2 次, 以外标一点法

计算样品中麝香酮的平均含量, 结果见表 6。

表 6 不同品种和产地麝香及人工麝香中麝香酮质量分数

Table 6 Contents of muscone in different kinds of natural Moschus and artificial Moschus

编号	麝香酮 /%
SX1	1.56
SX2	5.68
SX3	1.05
SX4	0.91
SX5	1.90
SX6	0.10
SX7	1.41
SX8	0.59
SX9	0.79
SX10	0.16
SX11	1.16
SX12	0.36
RGSX	5.07

由表 6 可见, 林麝麝香中麝香酮质量分数为 $(1.21 \pm 0.42)\%$, 马麝麝香中麝香酮质量分数为 $(0.26 \pm 0.15)\%$, 原麝麝香中麝香酮质量分数为 5.68%, 人工麝香中麝香酮质量分数为 5.07%。以麝香酮含量为指标, 从品种的角度来看, 原麝麝香质量明显优于林麝, 林麝麝香质量明显优于马麝麝香, 提示原麝有待进一步保护、发展和利用。目前林麝在全国的分布范围最广, 是我国养殖规模最大的麝种, 其麝香质量也较好, 可以进一步扩大养殖规模; 马麝主要生长于高海拔地区, 其麝香质量也较差, 不太利于扩大其养殖规模; 从产地来看, 陕西产林麝麝香中麝香酮质量分数最高为 $(1.41 \pm 0.70)\%$, 四川产林麝麝香中麝香酮质量分数其次为 $(1.10 \pm 0.41)\%$, 上海崇明产林麝麝香中麝香酮质量分数最低为 1.05%; 四川产林麝麝香省内差异为 37.1%, 陕西产林麝麝香省内差异为 49.8%, 而全国 4 个省区林麝麝香省间差异为 61.8%, 表明省间差异大于省内差异, 产地对麝香的质量影响较大, 这可能与陕西和四川是林麝的传统道地产区, 且养殖历史最久、养殖规模也较大有关。甘肃产马麝麝香质量优于四川产马麝麝香。综上所述, 不同品种和产地麝香所含化学成分种类和麝香酮含量差别较大, 提示不同品种和产地对麝香质量影响较大, 在人工驯养过程中应注意品种和产地的选择。

3 讨论

3.1 供试品制备方法 分别考察了采用乙醚、无水乙醇、甲醇提取麝香的效果, 从色谱峰的数量和大小来看, 乙醚和无水乙醇提取效果相似, 均明显优于甲

醇的提取效果,可能与麝香所含成分大多为脂溶性成分有关。由于乙醚溶剂挥发性比乙醇强,容易造成供试品溶液浓度变化,因此,采用无水乙醇作为提取溶剂,并进行了方法学考察。

3.2 色谱条件的优化 麝香含有的成分复杂多样,对毛细管初始温度、升温速率以及分流比进行了考察,结果显示,所建立的色谱条件能对麝香成分进行较好地分离。

3.3 样品用量和分析效率 麝香药材价格十分昂贵,本研究采用 GC-MS 测定麝香酮含量,与《中国药典》2015 年版采用气相色谱相比,药材取样量减少了一半,节约了药材,同时溶剂用量增加了 4 倍,供试品提取更充分,提取时间缩短,分析效率、灵敏度和准确度均明显提高。

3.4 品种和产地对麝香质量的影响 笔者实地走访了全国多家主要的麝养殖场,发现不同养殖场麝的品种、种源、生长条件、生长年限、饲料组成、病虫害的防治方法以及麝香的采集、干燥、贮存条件均有较大差异,这些因素都可能是导致麝香质量差异较大的原因。随着麝养殖规模的扩大,品种、种源、产地、生长条件、生长年限、饲料组成、采收时间、干燥方法、贮存条件等对麝香质量的影响有待进一步系统研究,家麝 GAP 规范化养殖势在必行。

目前,由于麝为国家一级保护动物,全国麝的人工养殖场屈指可数,有些养殖场已不再饲养麝,如安徽佛子岭,有些养殖规模很小,如上海崇明等,导致麝香样品的采集十分困难,部分产地只能收集到 1 份样品,有待进一步采集样品进行研究。此外,麝香含有多种化学成分,如多肽、大环酮类、甾体类、吡啶类、脂肪酸类、酯类、无机物等,在麝香的质量评价中,不能仅以 1 种检测手段或单一成分含量作为判断的依据,应根据不同的检测目的选择适当的分析方法。本研究仅以麝香酮含量为指标,来判断麝香的质量尚有不足之处,有待进一步建立其他化学成分为指标的测定以及化学指纹图谱等方法,综合、整体、全面地评价麝香的质量。

[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,2015:384-385.
[2] 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.

[3] 王岚,王翰,刘海萍,等. 四川麝的养殖与发展[J]. 中药与临床,2015,6(4):6-8.
[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] YE T, JIN C, ZHOU J, et al. Can odors of TCM be captured by electronic nose. The novel quality control method for musk by electronic nose coupled with chemometrics [J]. J Pharm Biomed Anal, 2011, 55(5):1239-1244.
[6] 张皓冰,何昱,贾国惠,等. 气相色谱/质谱(GC/MS)联用技术对麝香的多成分含量分析[J]. 中成药,2002,24(11):868-871.
[7] JIN C, YAN C X, LUO Y, et al. Fast and direct quantification of underivatized muscone by ultra performance liquid chromatography coupled with evaporative light scattering detection [J]. J Sep Sci, 2013,36(11):1762-1767.
[8] 张皓冰,陶奕,洪筱坤,等. HPLC-MS 在麝香酮分析中的应用[J]. 中草药,2002,33(11):970-973.
[9] 刘薇,邹秦文,程显隆,等. 人工麝香中五种重金属的含量测定[J]. 中国医学科学院学报,2014,36(6):610-613.
[10] 张丽萍,万秀华,赵海榕. 麝香总灰中微量元素测定[J]. 时珍国医国药,2000,11(6):482.
[11] 杜鹤,孙佳明,崔丽娜,等. 基于 COI 条形码的麝香及其混伪品的 DNA 分子鉴定[J]. 吉林中医药,2011,31(5):451-452.
[12] 罗云,金城,周健,等. 基于微量热法和化学计量学的人工麝香抗金黄色葡萄球菌作用研究[J]. 中国药学杂志,2011,46(17):1312-1316.
[13] 迟明艳,黄勇,李勇军,等. UPLC 结合化学计量学方法的白及指纹图谱分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(14):51-56.
[14] 狄准,赵艳丽,张霁,等. 紫外光谱结合化学计量学区分不同产地川东獐牙菜[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(18):21-26.
[15] 刘梦楚,邹晓红,蓝伦礼,等. 基于电子鼻及顶空-气质联用技术结合化学计量学区分不同产地的砂仁[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(6):35-42.
[16] 杨弘,吴树华,俞磊明. GC-MS 联用对麝香中多组分定性分析的研究[J]. 中成药,2013,35(9):1966-1968.
[17] 李硕,刘文华,刘发贵,等. 不同年限麝香中麝香酮含量 GC-MS 分析[J]. 长春中医药大学学报,2011,27(3):351-353.

[责任编辑 顾雪竹]