

注射用益气复脉（冻干）味的测定

李莉^{1,2}, 杨梅³, 李德坤^{1,2*}, 鞠爱春^{1,2*}

1. 天津天士力之骄药业有限公司, 天津 300410
2. 天津市中药注射剂安全性评价企业重点实验室, 天津 300410
3. 天津埃文森科技有限公司, 天津 300384

摘要: **目的** 建立一种用于测定注射用益气复脉（冻干）滋味的方法, 以保证不同生产批次间的质量稳定。**方法** 采用 Alpha MOS 公司电子舌 (Astree) 测定注射用益气复脉（冻干）6 批样品, 以 0.01 mol/L 盐酸为校准溶液, 以蒸馏水为稀释溶剂, 样品采集时间为 60 s, 每次分析时间 120 s, 每个样品重复测 9 次, 利用 Alpha Soft V14.2 软件进行数据分析。**结果** 注射用益气复脉（冻干）的酸、甜、苦 3 个滋味表现较明显, 且批间差异不大; 利用主成分分析能很好地区分不同批次样品在味道上的差异; 不同样品间味道的相对强度存在差异; 利用独立建模分析对其他批次样品进行鉴定, 识别率为 100%。**结论** 所建立的方法具有样品处理方法简单、操作简单、快速、检测成本低、污染小等特点, 可用于注射用益气复脉（冻干）滋味的测定。**关键词:** 中药注射剂; 注射用益气复脉（冻干）; 电子舌; 主成分分析; 独立建模分析

中图分类号: R282.710.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2018) 03- 0469 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.03.020

Determination of the tastes of Yiqi Fumai Lyophilized Injection

LI Li^{1,2}, YANG Mei³, LI Dekun^{1,2}, JU Aichun^{1,2}

1. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300410, China
2. Key Laboratory of Safety Evaluation of Traditional Chinese Medicine Injections of Tianjin Enterprise, Tianjin 300410, China
3. Tianjin Evansentech Co., Ltd., Tianjin 300384, China

Abstract: Objective A method for determination of the tastes of Yiqi Fumai Lyophilized Injection was established to ensure the quality stability among the different production batches. **Methods** Alpha MOS electronic tongue (Astree) was used for the determination in 6 batches samples using 0.01 mol/L hydrochloric acid as calibration solution and the distilled water as dilution solvent, the sample collection time was 60 s, the time for each analysis was 120 s, the determination of each sample was repeated 9 times, and the test data was analyzed by Alpha Soft V14.2. **Results** The performance of sour, sweet, and bitter tastes was significant in Yiqi Fumai Lyophilized Injection, and the difference among the batches was not significant. PCA analysis can be used to distinguish differences of the taste in the different batches samples; The relative intensity of tastes is different among the different batches of samples. The model established by SIMCA was used to identify the other batches of samples with the recognition rate of 100%. **Conclusion** The established method with the characteristics of simple sample handling, simple operation, short detection period, lower cost and pollution, which is applicable for the determination of the tastes of Yiqi Fumai Lyophilized Injection.

Key words: traditional Chinese medicine injection; Yiqi Fumai Lyophilized Injection; electronic tongue; PCA; SIMCA

注射用益气复脉（冻干）由红参、麦冬和五味子 3 味主药组成, 具有益气复脉, 养阴生津功效, 用于冠心病劳累型心绞痛气阴两虚证^[1]。方中红参气微香而特异, 味甘、微苦, 性温, 归脾、肺、心、肾经, 具有大补元气, 复脉固脱, 补脾益肺, 生津养血, 安神益智作用; 麦冬气微香, 味甘、微苦,

收稿日期: 2017-12-26

基金项目: 天津市中药注射剂关键技术校企协同创新实验室建设 (17PTSJYC00090)

第一作者: 李莉 (1975—), 女, 高级工程师, 研究方向为药物制剂工艺研究和质量控制。Tel: (022)84498152 E-mail: lili4@tasly.com

*通信作者: 李德坤, 男, 工程师, 研究方向为中药注射剂工艺研究、质量标准研究, 安全性及药物警戒研究。

Tel: (022) 26736712 E-mail: lidekun@tasly.com

鞠爱春 (1973—), 男, 高级工程师, 研究方向为中药注射剂工艺及质量控制。Tel: (022)86342096 E-mail: juach@tasly.com

性微寒，归心、肺、胃经，具有养阴生津，润肺清心的功效；五味子其果肉气微，种子破碎后，有香气，味酸、甘，性温，具有收敛固涩、益气生津、补肾宁心的功效^[2-3]。中药的味道与化学成分有一定关系，而成分又与药理作用相关。中药五味药性的客观表征是中药药性理论研究的钥匙，是阐释传统中药药性理论科学内涵的重要路径^[4]。但是，目前尚无文献关于注射用益气复脉（冻干）中“味”的研究报道。本试验通过利用电子舌对其进行快速分析，为中药冻干制剂的质量控制提供一个新的思路与方法。

1 仪器与材料

1.1 实验仪器

法国阿默思（Alpha Mos）电子舌（ASTREE II）：是在仿生学基础上发展起来的一种分析、识别液体滋味成分的检测仪器，主要由进样系统、传感器系列和数据处理系统3部分组成，实现了对待测液体整体滋味品质进行客观分析，判别出样品之间整体味觉上的差异。该设备带有 AlphaSoft V 14.2 数据处理系统。本次分析采用第5套传感器系统，对味觉具有专一性识别的传感器阵列，包括 SRS、GPS、STS、UMS、SPS、SWS、BRS 共7根传感器，选择 Ag/AgCl 作为参比电极。其中 SRS、STS、UMS 分别为对酸味、咸味和鲜味敏感的专一性传感器，能够给出这3种滋味的相对强度。传感器经活化、校正后方可用于检测。

1.2 试剂和主要试剂

注射用益气复脉（冻干）试验样品6批，0.65 g/支天津天士力之骄药业有限公司提供（批号 S1~S6）；盐酸溶液（1 mol/L，100 mL/瓶）法国阿默思公司产品。蒸馏水，天津天士力之骄药业有限公司制剂车间提供。

2 方法

2.1 方法概述

电子舌通过利用低选择性、非特异性、交互敏感的多传感器系列，感测未知液体样品的整体特征响应信号，应用化学计量学方法，实现对样品进行模型识别和定性定量分析。首先由进样系统采样，味觉传感器系列（SRS、GPS、STS、UMS、SPS、SWS、BRS）模拟生物系统中的舌的功能，对所采样品（供试品或校准溶液）的“滋味”进行感应并模拟神经感觉系统将被激发的信号传递到电脑数据处理（模型识别）系统中；模型识别系统

（AlphaSoft V 14.2）发挥生物系统中大脑的作用对信号进行特征提取，建立识别模型，并对不同被测溶液进行区分辨识。

2.2 校准液的制备

取 1 mol/L 盐酸溶液适量，加蒸馏水稀释至 0.01 mol/L，摇匀，备用。

2.3 供试品溶液的制备

取注射用益气复脉（冻干）样品（批号分别为 S1~S6）1支，加入 30 mL 蒸馏水充分溶解。

2.4 Astree 电子舌分析条件

取 25 mL 供试品溶液置于清洁干燥的电子舌专用烧杯中，设置样品采集时间为 60 s，每次分析时间为 120 s，每个样品重复测定 9 次。

2.5 统计学方法

利用统计软件 AlphaSoft V 14.2 对实验获得的数据进行分析。

3 数据分析

3.1 原始数据分析

6批注射用益气复脉（冻干）样品（批号分别为 S1~S6 对应样品号分别为 1~6）在 SRS（酸）、GPS（复合 1）、STS（咸）、UMS（鲜）、SPS（复合 2）、SWS（甜）、BRS（苦）等7根专属传感器的响应3次的平均值（Mean）及相对标准偏差见表1。

从表1可以看出样品3次重复的相对标准偏差都比较小（RSD < ±5%），说明样品在重复测试中仪器的稳定性、重现性好。并且可知酸、甜、苦3个滋味在注射用益气复脉（冻干）中的表现比较明显，且其批间差异不大。图1为以1号样品（批号 S1）为例的原始信号响应图。

3.2 “味”的主成分分析（PCA）

主成分分析（PCA）是从多个数值变量之间的相互关系入手，利用降低维度的思想，将多个变量化为少数几个互不相关的综和变量的统计方法。在尽量保留原有信息量的条件下减少信息维数，用复杂的多维数据建立有良好可视性的 2D/3D 图表，原始数据中最大量的信息将被投影在 PC1 轴，其次是 PC2、PC3 轴。每个样品将在 PCA 图上形成 1 个集合，各样品集合之间的距离通常用来表示其相互间的化学物质或者滋味上的相似度。它可以无需先验知识，找到 1 组新的数轴来最大限度地展示数据间的差异性，以此挖掘有用的信息，给出具有不同风味区域和簇的描述性图表^[5]。6批注射用益气复脉（冻干）的电子舌分析结果见图2、3。

表 1 全部样品 3 次重复测定的传感器响应平均值及相对标准偏差

Table 1 Average and RSD of sensors response for three repeated determination of all samples

样品	SRS (酸)		GPS (复合 1)		STS (咸)		UMS (鲜)		SPS (复合 2)		SWS (甜)		BRS (苦)	
	Mean	RSD/%	Mean	RSD/%	Mean	RSD/%	Mean	RSD/%	Mean	RSD/%	Mean	RSD/%	Mean	RSD/%
1	1 568	0.43	1 675	0.28	-320	-3.32	624	1.09	943	1.11	1 103	0.48	1 112	0.10
2	1 567	0.34	1 623	0.18	-493	-3.26	641	0.27	905	0.19	1 097	0.19	1 133	0.23
3	1 571	0.23	1 606	0.12	-529	-1.78	585	0.18	869	0.25	1 173	0.59	1 163	0.20
4	1 558	0.53	1 590	0.10	-595	-1.62	572	0.49	840	0.17	1 219	0.26	1 201	0.32
5	1 589	0.53	1 631	0.03	-524	-0.29	553	0.12	834	0.10	1 232	0.24	1 266	0.09
6	1 544	0.42	1 586	0.04	-575	-2.39	555	0.19	810	0.41	1 242	0.77	1 273	0.31
最小值	1 544	0.23	1 586	0.03	-595	-3.32	553	0.12	810	0.10	1 097	0.19	1 112	0.09
最大值	1 589	0.53	1 675	0.28	-320	-0.29	641	1.09	943	1.11	1 242	0.77	1 273	0.32
平均值	1 566	0.41	1 619	0.13	-506	-2.11	588	0.39	867	0.37	1 178	0.42	1 191	0.21

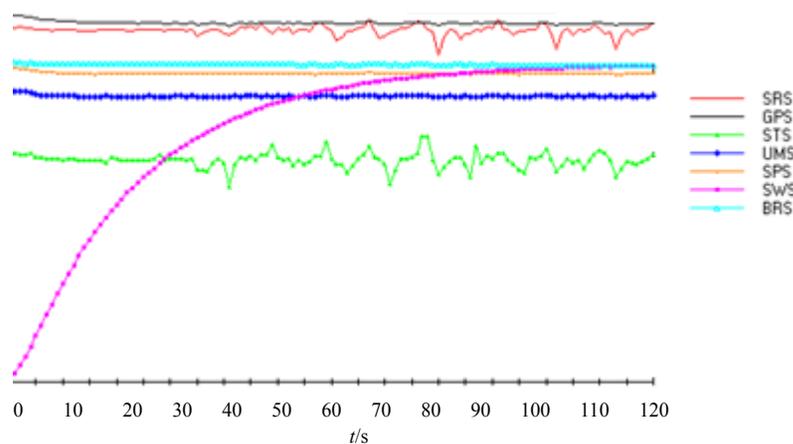


图 1 样品 S1 的原始信号响应图

Fig. 1 Original signal response curves to sample S1

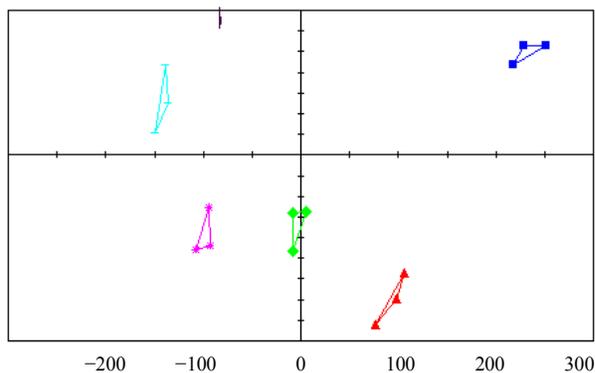


图 2 6 批注射用益气复脉 (冻干) 的电子舌主成分分析
Fig. 2 Electronic tongue PCA analysis of 6 batches samples of Yiqi Fumai Lyophilized Injection

从图 2 和图 3 可以看出, 第一主成分 (PC1) 与第二主成分 (PC2) 的贡献率之和达到了 96.967%,

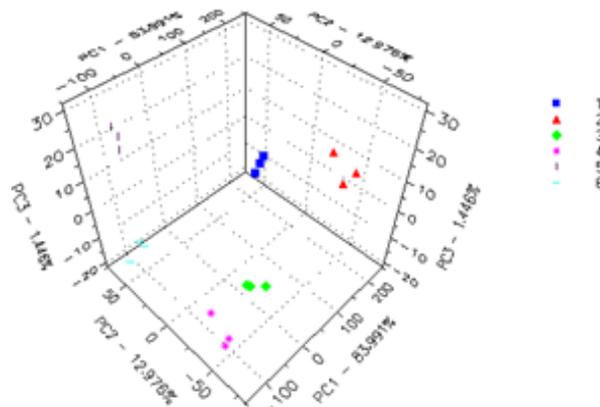


图 3 6 批注射用益气复脉样品的电子舌 PCA 图 (3D)
Fig. 3 Three-dimensional diagram of electronic tongue PCA analysis of 6 batches samples of Yiqi Fumai Lyophilized Injection

能很好地反映样品的实际情况。且 PCA 的识别指数为 92, 说明 6 批注射用益气复脉样品能够通过电子舌很好地区分开来, 即 6 批注射用益气复脉(冻干)样品在滋味上存在差异。

表 2 为 6 批样品两两间相对距离表, 在 PCA 图中(图 2、3)样品间的相对距离越近, 则样品滋味越接近。即 S5 与 S6 样品味道较为相近, S1 与 S6 样品味道差别最大。利用此味道距离可筛选不同配方中与标样最相近的配方。

3.3 味觉分析

表 3 为 6 批注射用益气复脉样品在电子舌第 5 套传感器上各种滋味的相对强度, 电子舌通过软件对信号值的分析, 能够在 0 到 12 的刻度上比较不同样品间的各种滋味的相对强度。这些强度能够印证感官评价小组和其他方法得到的数据(如 HPLC-ELSD 法测定制剂中含有的钠、钾元素), 通过这些强度能够对不同的样品中各种滋味的强度进行排序。

6 批注射用益气复脉样品的滋味雷达图(图 4),

表 2 样品间相对距离表

Table 2 Relative distance between samples

样品编号	对照品	相对距离
5	6	85.74
4	6	87.10
3	4	96.16
4	5	112.30
2	3	112.49
3	5	132.04
3	6	156.19
1	2	186.37
2	4	199.66
2	5	223.87
1	3	250.91
2	6	255.73
1	5	317.98
1	4	342.45
1	6	375.02

表 3 样品在电子舌第五套传感器上各种滋味的相对强度

Table 3 Relative strength of various tastes on fifth sets of sensors of electronic tongue of samples

样品	SRS-sourness (酸)	GPS (复合 1)	STS_saltiness (咸)	UMS-umami (鲜)	SPS (复合 2)	SWS (甜)	BRS (苦)
1	5.8	9.8	10.1	3.9	9.4	3.5	3.4
2	5.9	6.3	6.3	2.9	7.7	3.3	4.1
3	5.4	5.2	5.5	6.2	6.1	5.8	5.1
4	7.1	4.1	4.0	7.0	4.8	7.4	6.3
5	3.0	6.9	5.6	8.1	4.5	7.8	8.4
6	8.9	3.9	4.5	8.0	3.5	8.2	8.6

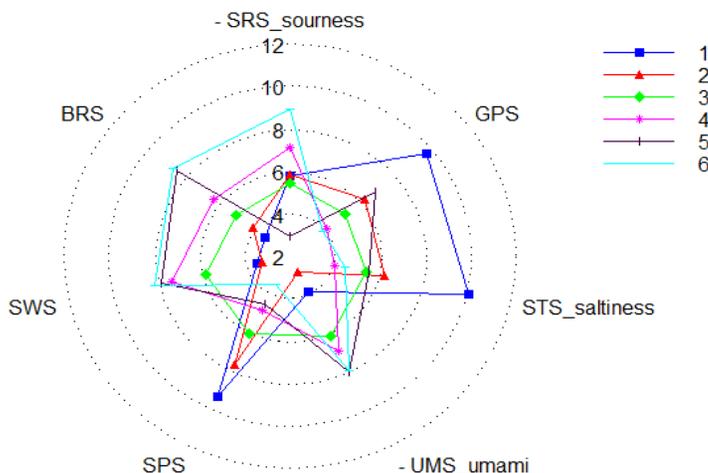


图 4 6 批注射用益气复脉样品的滋味雷达图

Fig. 4 Radar map to tastes of 6 batches of Yiqi Fumai Lyophilized Injection samples

更能直观地看出样品间在滋味上有差别，图中数值为样品在 0 到 12 的刻度上的各种滋味的相对强度。

3.4 “味”的独立建模分析 (SIMCA)

独立建模分析 (SIMCA) 方法是基于类模型基础上的有监督的模式识别方法，该方法基于这样的假设：同一样本具有相似的特征，在一定的特征空间内，属于同一类的样品就会聚集在某一特定的空间区域，而对不同的样本，则分布在不同的区域。通过因子分析法分别针对训练集中的每类样品建立类模型。类模型建好后，对实验集中的样本，计算其到各类模型的 SIMCA 距离，根据 SIMCA 距离判别样品属于某一已知类，或归于新类。

本试验随机选择 S1 和 S6 批次样品为 good 组，图 5 为 good 组样品的 SIMCA 分析结果，以 good 组样品为参考样，图中蓝色部分代表可接受区域。模型识别率为 100%，说明模型良好，模型可以用于其他批次注射用益气复脉（冻干）样品的鉴定。

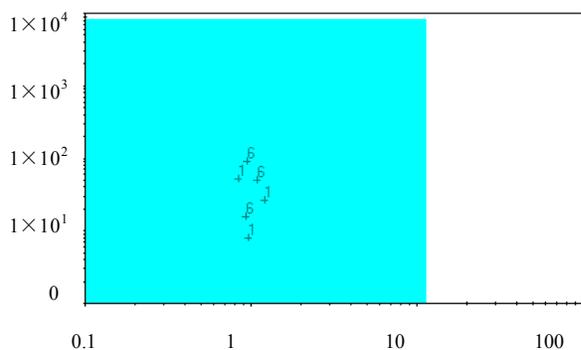


图 5 注射用益气复脉样品的 SIMCA 分析图

Fig. 5 SIMCA analysis chart of Yiqi Fumai Lyophilized Injection samples

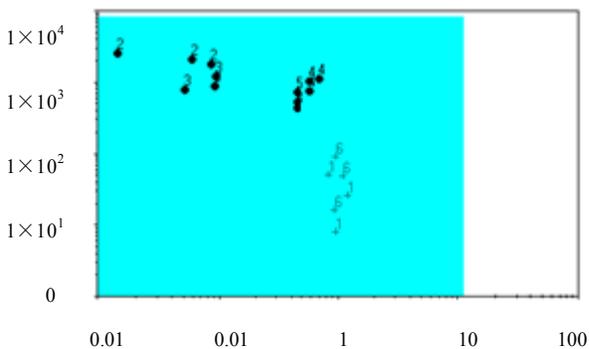


图 6 SIMCA 模型识别未知样品结果图

Fig. 6 Results chart of identification of unknown samples by SIMCA model

图 6 及表 4 为以 good 组样品建立的 SIMCA 模型识别 S2、S3、S4、S5 批次样品的结果。从图 6 可以看出 S2、S3、S4、S5 批次样品全部位于蓝色区域范围内；表 4 的识别结果显示 S2、S3、S4、S5 批次均判别为 good 组，即以 good 组批次样品为参考，S2、S3、S4、S5 批次样品符合参考样品的标准。

通过以上分析可知，电子舌能够根据滋味差异很好地区分开 6 批注射用益气复脉（冻干）样品，并且能够给出样品滋味的差异大小。

表 4 模型识别结果

Table 4 Recognition results by model

样品编号	组
S2-1	good
S2-2	good
S2-3	good
S3-1	good
S3-2	good
S3-3	good
S4-1	good
S4-2	good
S4-3	good
S5-1	good
S5-2	good
S5-3	good

4 讨论

因为电子舌的响应强度与供试品溶液的组成、浓度密切相关，浓度过低则响应强度偏低；注射用益气复脉（冻干）中含有大量的糖类成分，因此当浓度过高时，供试品溶液的黏度增大，存在溶液均匀度不佳或粘附与传感器表面的干扰传感器测定，响应值波动增大的风险。因此适宜的供试品溶液浓度是试验成败的关键。鉴于注射用益气复脉（冻干）包装规格、物理特性等，兼顾操作简便，减少供试品处理时间，避免冻干粉碎不均匀，称量过程中吸湿、粘附称量器具、污染、混淆等事件的发生，采取整瓶冻干粉针进行稀释配制的方法。试验对比了 5 种供试品浓度（3 瓶加入蒸馏水 25 mL，2 瓶加入蒸馏水 25 mL，2 瓶加入蒸馏水 40 mL，1 瓶加入蒸馏水 30 mL，1 瓶加入蒸馏水 50 mL），根据 5 种浓度下电子舌的 7 根专属传感器的相应情况，最终确定以供试品 1 瓶，加入 30 mL 蒸馏水充分溶解的配

制方法。

由表1中数据可知,注射用益气复脉(冻干)样品的SRS(酸)、SWS(甜)、BRS(苦)3个味觉在第4套传感器上的响应比较明显,其结果与处方组成和工艺相吻合。其酸味主要来自于方中五味子,主要成分为木脂素类,与之对应的制剂中的成分主要有五味子酯甲、五味子酯乙、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子甲素、五味子乙素^[6-7]。甜味主要来自于配方中麦冬含有的糖类,少量来源于红参和五味子(因注射用红参提取物和注射用五味子提取物制备过程中采用高醇提取工艺,因此糖类保留有限)中含有的糖类,与之对应的制剂中成分主要有葡萄糖、果糖、麦芽糖和蔗糖等^[8]。苦味主要来源于组方中红参含有的皂苷,其次来源于方中麦冬含有的皂苷,主要成分为三萜皂苷类、甾体皂苷类,与之对应的制剂中成分主要有人参皂苷Rb₁、人参皂苷Rb₂、人参皂苷Rb₃、人参皂苷Rd、构型为R型的人参皂苷Rg₃、人参皂苷Rh₂、人参皂苷F₂、人参皂苷Rk₁、三七皂苷R₁、人参皂苷Re、人参皂苷Rf、人参皂苷Rg₁、构型为S型的人参皂苷Rg₂、人参皂苷Rh₁、人参皂苷Ro、麦冬皂苷C等^[7,9-11]。由此可知,3味中药经历了复杂的工艺过程后仍可保留其各自的“味”,即保留了红参的益气生津,麦冬的养阴清热以生津,五味子的敛肺止汗而生津的功效^[12],从“味”的量化角度证明了其气味与功效的一致性。

Alpha MOS公司电子舌对注射用益气复脉(冻干)中味测定方法具有样品处理方法简单、操作简单、检测周期短、检测成本低、污染小等特点,方法填补了其“味”测定的空白,可尝试用于该产品的质量控制在;利用PCA法,能够较好地识别不同批次注射用益气复脉(冻干)样品在滋味上存在的差异,获得具有不同滋味区域和簇的描述性图表,区分出不同批次样品;不同批次样品间各种滋味的相对强度可以与感官评价小组得到的数据进行比较,也可以对其各种滋味的强度进行排序,并通过滋味雷达图中直观地看出其滋味上有差别,该差别在一定程度上也可以反映出不同批次样品间“味”的保留程度;通过SIMCA定性分析手段,并在建立模型时充分考虑样品的差异性(足够多的参考样本),能够对未知样品进行合格或不合格的判定,

并通过逐个验证样本的交叉有效性来计算识别百分比,当识别率大于90%时可认定SIMCA模型是符合的。该分析手段不仅为注射用益气复脉(冻干)批次间的质量稳定性评价提供新思路和新方法,也为其他产品和工艺过程的质量控制提供新思路和方法。鉴于本试验选择品种和样品批次的局限性,大样本的实验和深入研究仍有待于后续开展。

参考文献

- [1] 刘晓光,胡金芳,宋美珍,等.注射用益气复脉(冻干)对环磷酰胺诱导小鼠免疫低下的改善作用[J].药物评价研究,2016,39(6):962-965.
- [2] 中国药典[M].一部.2015:66.
- [3] 杨会芳,李德坤,周大铮,等.HPLC法测定红参提取物中的 α -亚麻酸、亚油酸[J].药物评价研究,2015,38(5):523-526.
- [4] 韩彦琪,许浚,龚苏晓,等.基于味觉、嗅觉受体分子对接技术的中药性味物质基础研究的路径和方法[J].中草药,2018,49(1):14-19.
- [5] 杜瑞超,王优杰,吴飞,等.电子舌对中药滋味的区分辨识[J].中国中药杂志,2013,38(2):154-160.
- [6] Liu C H, Ju A C, Zhou D Z, et al. Simultaneous qualitative and quantitative analysis of multiple chemical constituents in Yi Qi Fu Mai Injection by ultra-fast liquid chromatography coupled with ion trap time-of-flight mass spectrometry[J].Molecules,2016,21(5):640-653.
- [7] 乔晓莉,肖学风,周大铮,等.UPLC-MS/MS法同时测定注射用益气复脉(冻干)中13种成分[J].中草药,2014,45(23):3402-3407.
- [8] 吕芳,叶正良,李德坤,等.加热时间对注射用益气复脉(冻干)药液中不同成分的影响研究[J].陕西中医,2012,33(10):1414-1416.
- [9] 周丹丹,王蕴华,李凡,等.注射用益气复脉(冻干)的HPLC指纹图谱研究[J].药物分析杂志,2009,29(11):1900-1904.
- [10] 褚延斌,苏小琴,李德坤,等.基于一测多评法对注射用益气复脉(冻干)中9种成分的质量控制研究[J].中草药,2017,48(17):3537-3544.
- [11] Zhou D D, Jiang S J, Tong L, et al. Quantitative determination of eight major constituents in the traditional Chinese medicinal Yi-Qi-Fu-Mai Preparation by LC[J].Chromatographia,2009,70(9):969-974.
- [12] 严永清,吴建新,钱健雄.生脉散的历代文献考查[J].中国中药杂志,1989,14(5):259-261.