

基于苦味阈值浓度的苦味中药分子苦度当量定量方法研究

王青晓¹, 高晓洁², 桂新景^{3,4,5}, 王艳丽^{3,4,5*}, 王君明⁴, 李晨旭⁴, 任延娜⁴, 姚 静^{3,4,5}, 张 璐^{3,4,5}, 施钧瀚^{3,4,5}, 李学林^{3,4,5}, 刘瑞新^{3,4,5*}

1. 河南省食品药品检验所, 河南 郑州 450008
2. 郑州市中医院制剂室, 河南 郑州 450007
3. 河南中医药大学第一附属医院 药学部, 河南 郑州 450000
4. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046
5. 河南中医药大学 呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 河南 郑州 450046

摘要: **目的** 建立适用于苦味中药的苦度定量方法。**方法** 采用经典人群口感评价法, 以盐酸小檗碱为参比苦味物质, 以不同浓度的 23 种苦味中药饮片水煎液为载体, 采用“最小极限法”预测中药饮片的苦味阈值浓度 (bitterness threshold concentration, BTC), 并在此基础上计算苦味中药的分子苦度当量 (equivalent molecular bitterness, EMB) 和分子苦度当量指数 (EMB-index, EMBI), 进而实现对中药饮片的苦度定量测定; 此外, 以不同浓度的黄连和苦参水煎液为载体, 对建立方法的重现性进行验证。**结果** 建立了感知到苦味的人数比例与苦味中药饮片水煎液浓度的对数模型和威布尔模型, 由拟合方程的 R^2 和 P 值可知威布尔模型优于对数模型, 由威布尔模型的拟合方程计算出中药饮片的 BTC, 进而测得了 23 种苦味中药饮片的 EMB 和 EMBI; 方法学验证结果显示, 测得的黄连和苦参的 EMB 以及 EMBI 的 RSD 值均小于 20%, 重现性相对良好。**结论** 采用经典人群口感评价法预测出了 23 种中药饮片的 EMB 和 EMBI, 建立了苦味中药的苦度定量测定方法。

关键词: 苦味中药; 经典人群口感评价法; 苦味阈值浓度; 分子苦度当量; 黄连; 苦参

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2022)21-6698-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.21.006

Study on quantitative method of equivalent molecular bitterness of traditional Chinese medicines based on bitterness threshold concentration

WANG Qing-xiao¹, GAO Xiao-jie², GUI Xin-jing^{3,4,5}, WANG Yan-li^{3,4,5}, WANG Jun-ming⁴, LI Chen-xu⁴, REN Yan-na⁴, YAO Jing^{3,4,5}, ZHANG Lu^{3,4,5}, SHI Jun-han^{3,4,5}, LI Xue-lin^{3,4,5}, LIU Rui-xin^{3,4,5}

1. Henan Institute for Food and Drug Control, Zhengzhou 450008, China
2. Department of Pharmaceutical Preparation, Traditional Chinese Medicine Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450007, China
3. Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China
4. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China
5. Collaborative Innovation Center of Chinese Medicine for Respiratory Diseases Co-construction by Henan Province & Ministry of Education, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Objective To establish a quantitative method for bitterness intensity of bitter traditional Chinese medicines. **Methods** With the application of traditional human taste panel method (THTPM), the decoction of 23 kinds of bitter Chinese herbal pieces of different concentrations was used as the research subject and the “minimum limit method” was employed to predict the bitterness threshold concentration (BTC) of Chinese herbal pieces using berberine hydrochloride as the reference bitter substance. Based on this, the “equivalent molecular bitterness” (EMB) and molecular bitterness equivalent index (EMB-index, EMBI) of bitter Chinese

收稿日期: 2022-05-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81774452); 国家自然科学基金资助项目 (81001646); 2017 年国家重点研发计划中医药现代化重点专项 (2017YFC1703402); 河南省中医药拔尖人才培养项目资助 (2019ZYBJ07); 河南省高层次人才特殊支持“中原千人计划”——“中原青年拔尖人才”项目 (ZYQR201912158)

作者简介: 王青晓, 硕士, 副主任药师, 从事中药检验、分析与质控研究。Tel: (0371)63388285 E-mail: wangqingxiao@126.com

***通信作者:** 刘瑞新, 博士, 主任药师, 从事中药饮片临床应用现代化关键技术研究。Tel: (0371)66233562 E-mail: liuruixin7@163.com

medicine were calculated, so as to realize the quantitative determination of bitterness of Chinese medicinal slices. In addition, different concentrations of Huanglian (*Coptidis Rhizoma*) and Kushen (*Sophorae Flavescentis Radix*) decoction were used as carriers to verify the reproducibility of the established method. **Results** The logarithmic model and Weibull model of the proportion of the number of people who perceived bitter taste and the concentration of the decoction of bitter Chinese herbal pieces were established. From the R^2 and P value of the fitting equation, it can be seen that the Weibull model was better than the logarithmic model. The BTC of Chinese herbal pieces was calculated through the fitting equation yield by Weibull model, and then the EMB and EMBI of 23 kinds of bitter Chinese herbal pieces were measured; Methodological validation results showed that the RSD values of EMB and EMBI of *Coptidis Rhizoma* and *Sophorae Flavescentis Radix* were less than 20%, and the reproducibility was relatively well. **Conclusion** The EMB and EMBI of 23 kinds of Chinese herbal pieces was predicted through THTPM, and a quantitative determination method for the bitterness intensity of bitter traditional Chinese medicines has been established.

Key words: bitter traditional Chinese medicines; traditional human taste panel method; bitterness threshold concentration; equivalent molecular bitterness; *Coptidis Rhizoma*; *Sophorae Flavescentis Radix*

自古以来,就有着“良药苦口”的说法^[1],对于中药饮片及中药复方来说,其五味杂陈,然而最让人难以接受的还是苦味,严重影响患者的服药依从性^[2-3]。此外,人们对中药苦度的表达多使用“微苦”“苦”“极苦”等定性的描述,或半定量的测量方法,缺乏准确客观的定量描述^[4-5]。且已有的评价方法存在测量标准不统一、适用范围窄等问题,没有一套科学、可行、规范的测试体系,这对于实现中药饮片及中药复方苦度的精准预测,进而开发合适的掩味剂,改善其口感是十分不利的。那么如何实现对中药苦味的测量,基于测出的苦味强度寻求合适的掩味剂,改善中药以及复方的口感,从而提高患者服药依从性已经成为摆在药学工作人员面前亟不可待的事情。课题组前期提出了针对单体苦味化合物的“分子苦度(molecular bitterness, MB)”的概念,并且实现了对 19 种苦味单体分子苦度的测量^[6],然而,对于苦味中药的苦度评价,其对象就不再局限于单个化合物,而是多类苦味化合物的叠加,已有的苦味单体化合物的定量方法不能完全复制于复杂成分的中药,因此,寻求新的,适合苦味中药苦度定量的方法十分必要。本研究旨在建立一种基于“苦味阈值浓度(bitterness threshold concentration, BTC)”测量的苦味中药“分子苦度当量(equivalent molecular bitterness, EMB)”的测定方法,可以准确客观地测定苦味中药的苦度,为药物的苦度评价提供量化指标,并为药物掩味提供技术支撑,开拓药物的商业价值,提高药物服用效果,具有显著的经济和社会效益。

1 仪器与材料

1.1 仪器

BCA2248-CW 型电子天平、CP225D 型十万分之一电子天平,德国 Sartorius 公司; HK250 型科导

台式超声清洗器,上海科导超声仪器有限公司; AM-5250B 型磁力搅拌器,天津奥特赛恩斯仪器有限公司; HH-S4A 型电热恒温水浴锅,北京科伟永兴仪器有限公司; TD5M 型多管架自动平衡离心机,上海卢湘仪离心机仪器有限公司。

1.2 材料

本实验所用中药饮片经河南中医药大学第一附属医院陈天朝主任药师鉴定均合格,符合《中国药典》2020 年版规定,具体信息见表 1。

2 方法

2.1 志愿者筛选

经河南中医药大学第一附属医院伦理委员会审查批准后(伦理审查批件号:2017HL-066-01),课题组对招募的志愿者进行了包括苦味敏感度等在内的严格筛选^[7-8],并且遵照参与苦度评价志愿者不低于 20 名的原则,最终选择 22 名健康志愿者(男 7 名、女 15 名)作为受试者,并在试验前签订知情同意书。

2.2 评价方法

将样品按照浓度由低到高的顺序进行编号并置于口尝纸杯中,并在样品序列中随机加入一个阴性样品(纯化水),然后志愿者按编号顺序将样品含于口中,计时 15 s,此间口腔做漱口动作,使舌根和舌侧的苦味感受区能够充分感受药物是否具有苦味,将结果填入“药物苦味评价表”中,然后吐出样品,漱口 5 次,至口腔内无苦味,1~2 min 后测定下一个样品^[9-10]。

2.3 基于 BTC 的 EMB

采用“最小极限法”^[11]测定 37 ℃下参比苦味物质和其他各苦味中药饮片的 BTC,即半数志愿者尝到苦味的最低质量浓度。以盐酸小檗碱为参比苦味物质,在盐酸小檗碱的 BTC 下,其分子苦度 MB_r

表 1 中药饮片信息

Table 1 Information of Chinese herbal pieces

名称	基原	苦味程度
黄连	毛茛科黄连属植物黄连 <i>Coptis chinensis</i> Franch. 的干燥根茎	气微, 味极苦
延胡索	罂粟科延胡索属植物延胡索 <i>Corydalis yanhusuo</i> W. T. Wang 的干燥块茎	气微, 味苦
莲子心	睡莲科莲属植物莲 <i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn. 的成熟种子中的干燥幼叶及胚根	气微, 味苦
龙胆	龙胆科龙胆属植物龙胆 <i>Gentiana scabra</i> Bge. 的干燥根及根茎	气微, 味甚苦
黄柏	芸香科黄柏属植物黄皮树 <i>Phellodendron chinense</i> Schneid. 的干燥树皮	气微, 味极苦
穿心莲	爵床科穿心莲属植物穿心莲 <i>Andrographis paniculata</i> (Burm. f.) Nees 的干燥地上部分	气微, 味极苦
苦参	豆科槐属植物苦参 <i>Sophora flavescens</i> Ait. 的干燥根	气微, 味极苦
防己	防己科千金藤属植物粉防己 <i>Stephania tetrandra</i> S. Moore 的干燥根	气微, 味苦
胡黄连	玄参科胡黄连属植物胡黄连 <i>Picrorhiza scrophulariiflora</i> Pennell 的干燥根茎	气微, 味极苦
青风藤	防己科防己属植物青藤 <i>Sinomenium acutum</i> (Thunb.) Rehd. et Wils. 的干燥藤茎	气微, 味苦
连翘	木犀科连翘属植物连翘 <i>Forsythia suspensa</i> (Thunb.) Vahl 的干燥果实	气微香, 味苦
金银花	忍冬科忍冬属植物忍冬 <i>Lonicera japonica</i> Thunb. 的干燥花蕾或带初开的花	气清香, 味淡、微苦
冬凌草	唇形科香茶菜属植物碎米桠 <i>Rabdosia rubescens</i> (Hemsl.) Hara 的干燥地上部分	气微香, 味苦、甘
枳壳	芸香科柑橘属植物酸橙 <i>Citrus aurantium</i> L. 及其栽培变种的干燥未成熟果实	气清香, 味苦、微酸
益母草	唇形科益母草属植物益母草 <i>Leonurus japonicus</i> Houtt. 的新鲜或干燥地上部分	气微, 味微苦
佛手	芸香科柑桔属植物佛手 <i>Citrus medica</i> L. var. <i>sarcodactylis</i> Swingle 的干燥果实	气香, 味微甜后苦
橘核	芸香科柑橘属植物橘 <i>Citrus reticulata</i> Blanco 及其栽培变种的干燥成熟种子	气微, 味苦。
牛蒡子	菊科牛蒡属植物牛蒡 <i>Arctium lappa</i> L. 的干燥成熟果实	气微, 味苦后微辛而稍麻舌
椿皮	苦木科臭椿属植物臭椿 <i>Ailanthus altissima</i> (Mill.) Swingle 的干燥根皮或干皮	气微, 味苦
野菊花	菊科菊属植物野菊 <i>Chrysanthemum indicum</i> L. 的干燥头状花序	气芳香, 味苦
青皮	芸香科柑橘属植物橘及其栽培变种的干燥幼果或未成熟果实的果皮	气香, 味苦、辛
化橘红	芸香科柑橘属植物柚 <i>Citrus grandis</i> (L.) Osbeck 的未成熟或近成熟的干燥外层果皮	气芳香, 味苦、微辛
续断	川续断科川续断属植物川续断 <i>Dipsacus asper</i> Wall. ex Henry 的干燥根	气微香, 味苦、微甜而后涩

定为 1, 则其他苦味中药饮片的 $EMBS = C_r/C_s \times MB_r$ 。其中 C_r 表示盐酸小檗碱的 BTC; C_s 表示未知中药饮片的 BTC。对其取自然对数, 称为“分子苦度当量指数”(EMB-index, EMBI)。

2.4 样品配制

苦味中药水煎液的制备: 取药材饮片, 按《中国药典》2020 年版规定用量范围的平均值(如黄柏用量为 6~9 g^[12], 则取 7.5 g) 的 10 倍用量制备样品^[13], 将其置于适宜容器内加水 2000 mL, 浸泡 30 min, 于电磁炉上加热(功率 2100 W), 待沸腾后, 功率改为 600 W, 煎煮 20 min, 滤过, 二煎加水 2000 mL, 沸腾后煎煮 10 min, 余同一煎, 合并滤液, 混匀, 冷却至室温, 4000 r/min 离心(离心半径为 11.6 cm) 15 min, 取上清液, 定容至 4000 mL, 灌装, 压盖, 灭菌, 备用。

(1) 黄连水煎液: 取黄连 35 g, 按照上述方法制备水煎液, 并分别稀释为原液 0.050%、0.075%、

0.100%、0.150%、0.200%、0.300%、0.400% 的溶液。

(2) 延胡索水煎液: 取延胡索 65 g, 按照上述方法制备水煎液, 并分别稀释为原液 4.690%、6.250%、9.380%、12.500%、18.750%、25.000% 的溶液。

(3) 胡黄连水煎液: 取胡黄连 65 g, 按照上述方法制备水煎液, 并分别稀释为原液 0.938%、1.250%、1.875%、2.500%、3.750%、5.000%、7.500% 的溶液。

(4) 青风藤水煎液: 取青风藤 90 g, 按照上述方法制备水煎液, 并分别稀释为原液 2.500%、3.750%、5.000%、7.500%、10.000%、15.000%、20.000% 的溶液。

(5) 连翘水煎液: 取连翘 105 g, 按照上述方法制备水煎液, 并分别稀释为原液 9.375%、12.500%、18.750%、25.000%、37.500%、50.000%、75.000% 的溶液。

(6) 金银花水煎液: 取金银花 105 g, 按照上

述方法制备水煎液，并分别稀释为原液 9.375%、12.500%、18.750%、25.000%、37.500%、50.000%、75.000% 的溶液。

(7) 冬凌草水煎液：取冬凌草 450 g，按照上述方法制备水煎液，并分别稀释为原液 1.125%、1.500%、2.250%、3.000%、4.500%、6.000%、9.000% 的溶液。

(8) 枳壳水煎液：取枳壳 65 g，按照上述方法制备水煎液，并分别稀释为原液 2.250%、3.000%、4.500%、6.000%、9.000%、12.000%、18.000% 的溶液。

(9) 益母草水煎液：取益母草 195 g，按照上述方法制备水煎液，并分别稀释为原液 5.000%、7.500%、10.000%、15.000%、20.000%、30.000%、40.000% 的溶液。

(10) 佛手水煎液：取佛手 65 g，按照上述方法制备水煎液，并分别稀释为原液 4.500%、6.000%、9.000%、12.000%、18.000%、24.000%、36.000% 的溶液。

(11) 橘核水煎液：取橘核 60 g，按照上述方法制备水煎液，并分别稀释为原液 1.250%、1.500%、2.250%、3.000%、4.500%、6.000%、9.000% 的溶液。

(12) 牛蒡子水煎液：取牛蒡子 90 g，按照上述方法制备水煎液，并分别稀释为原液 2.250%、3.130%、4.500%、6.250%、9.000%、12.500%、18.000% 的溶液。

(13) 椿皮水煎液：取椿皮 75 g，按照上述方法制备水煎液，并分别稀释为原液 4.500%、6.500%、9.000%、13.000%、18.000%、26.000%、36.000% 的溶液。

(14) 野菊花水煎液：取野菊花 120 g，按照上述方法制备水煎液，并分别稀释为原液 0.563%、0.750%、1.150%、1.500%、2.250%、3.000%、4.500% 的溶液。

(15) 化橘红水煎液：取化橘红 45 g，按照上述方法制备水煎液，并分别稀释为原液 4.500%、6.000%、9.000%、12.000%、18.000%、24.000%、36.000% 的溶液。

(16) 青皮水煎液：取青皮 65 g，按照上述方法制备水煎液，并分别稀释为原液 4.500%、6.500%、9.000%、13.000%、18.000%、26.000%、36.000% 的溶液。

(17) 续断水煎液：取续断 120 g，按照上述方法制备水煎液，并分别稀释为原液 4.500%、6.500%、

9.000%、13.000%、18.000%、26.000%、36.000% 的溶液。

(18) 莲子心水煎液：取莲子心 35 g，按照上述方法制备水煎液，并分别稀释为原液 1.125%、1.500%、2.250%、3.000%、4.500%、6.000%、9.000% 的溶液。

(19) 龙胆水煎液：取龙胆 45 g，按照上述方法制备水煎液，并分别稀释为原液 0.563%、0.750%、1.125%、1.500%、2.250%、3.000%、4.500% 的溶液。

(20) 黄柏水煎液：取黄柏 75 g，按照上述方法制备水煎液，并分别稀释为原液 0.075%、0.100%、0.150%、0.200%、0.300%、0.400%、0.600% 的溶液。

(21) 穿心莲水煎液：取穿心莲 75 g，按照上述方法制备水煎液，并分别稀释为原液 0.300%、0.400%、0.600%、0.800%、1.200%、1.600%、2.400% 的溶液。

(22) 苦参水煎液：取苦参 67.5 g，按照上述方法制备水煎液，并分别稀释为原液 0.563%、0.750%、1.125%、1.500%、2.250%、3.000%、4.500% 的溶液。

(23) 防己水煎液：取防己 75 g，按照上述方法制备水煎液，并分别稀释为原液 0.150%、0.200%、0.300%、0.400%、0.600%、0.800%、1.200% 的溶液。

2.5 离群值的剔除

对所有评价员的数据进行统计分析，当评价员对阴性样品的评价分值为“1”，或者违反韦伯-费希纳定律^[14]：刺激量与刺激强度成正比的规律，则剔除该评价员对该组样品的评价结果。

2.6 “苦度轴”的建立

根据所得结果，分别建立中药 EMB 轴和中药 EMBI 轴，以更加直观地掌握不同中药的 EMB 的相对大小。

2.7 方法学验证

分别取黄连、苦参饮片，按照“2.4”项中方法制备成供试品溶液，分别在第 1、2、3 天，由不同的口尝评价员按照“2.2”项中方法进行评价，分别计算 3 次测试得的黄连和苦参的 EMB 以及 EMBI 的 RSD 值。

3 结果

3.1 23 种中药饮片的 EMB 和 EMBI

对上述 23 种苦味中药饮片水煎液的口尝评价结果进行统计分析，结果表明，感知到苦味的人数比例与 23 种苦味中药饮片水煎液质量浓度的对数呈正相关关系，与韦伯-费希纳定律一致^[15-16]。因此，

分别对 23 种中药饮片水煎液感知到苦味的人数比例 (P₀) 分别做威布尔曲线和对数曲线, 二者关系式如式 (1)、(2)。采用“规划求解”建立威布尔曲线和 Excel 建立对数曲线, 23 种中药饮片水

煎液 C 与 P₀ (在 0~100%) 之间的拟合方程见表 2。

$$P_0 = f_1(C) = \beta[1 - e^{-(C-a)^m/k}] \quad (1)$$

$$P_0 = f_1(C) = a \ln C + b \quad (2)$$

C 表示质量浓度, a、b、α、β、m、k 为待定参数, P₀ 代表感知到苦味的人数比例, n 是样品质量浓度个数

表 2 23 种中药饮片水煎液不同的质量浓度 C 与感知到苦味的人数比例 P₀ 的拟合方程

Table 2 Fitting equation between different concentrations (C) of 23 kinds of bitter Chinese herbal pieces decoction and proportion (P₀) of people who felt bitter

苦味中药	n	威布尔曲线	对数曲线
黄连	6	$P_0 = 5.38 [1 - e^{-(C-0.004)^{0.45}/0.81}]$, $R^2 = 0.945\ 0$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.53 \ln C + 3.01$, $R^2 = 0.942\ 2$, $P < 0.01$
延胡索	5	$P_0 = 1.02 [1 - e^{-(C-0.76)^{0.49}/0.74}]$, $R^2 = 1.000\ 0$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.49 \ln C + 0.33$, $R^2 = 0.857\ 8$, $P < 0.05$
莲子心	5	$P_0 = 1.10 [1 - e^{-(C-0.09)^{0.69}/0.21}]$, $R^2 = 0.976\ 0$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.59 \ln C + 1.59$, $R^2 = 0.925\ 4$, $P < 0.01$
龙胆	6	$P_0 = 0.97 [1 - e^{-(C-0.04)^{1.57}/0.02}]$, $R^2 = 0.967\ 2$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.54 \ln C + 1.67$, $R^2 = 0.917\ 2$, $P < 0.01$
黄柏	7	$P_0 = 0.99 [1 - e^{-(C-0.01)^{1.22}/0.01}]$, $R^2 = 0.993\ 0$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.48 \ln C + 2.13$, $R^2 = 0.969\ 3$, $P < 0.01$
穿心莲	6	$P_0 = 0.99 [1 - e^{-(C-0.004)^{3.58}/0.000\ 3}]$, $R^2 = 0.991\ 5$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.61 \ln C + 1.88$, $R^2 = 0.900\ 4$, $P < 0.01$
苦参	7	$P_0 = 1.05 [1 - e^{-(C-0.09)^{0.64}/0.26}]$, $R^2 = 0.995\ 3$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.41 \ln C + 1.21$, $R^2 = 0.921\ 4$, $P < 0.01$
防己	6	$P_0 = 0.94 [1 - e^{-(C-0.03)^{1.07}/0.04}]$, $R^2 = 0.996\ 4$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.46 \ln C + 1.68$, $R^2 = 0.981\ 5$, $P < 0.01$
胡黄连	5	$P_0 = 0.98 [1 - e^{-(C-0.15)^{2.19}/0.008}]$, $R^2 = 0.997\ 1$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.78 \ln C + 1.54$, $R^2 = 0.870\ 9$, $P < 0.05$
青风藤	5	$P_0 = 1.08 [1 - e^{-(C-0.55)^{0.79}/0.54}]$, $R^2 = 0.998\ 5$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.68 \ln C + 0.56$, $R^2 = 0.921\ 5$, $P < 0.01$
连翘	6	$P_0 = 0.98 [1 - e^{-(C-1.69)^{2.01}/11.87}]$, $R^2 = 0.998\ 7$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.61 \ln C - 0.46$, $R^2 = 0.937\ 0$, $P < 0.01$
金银花	6	$P_0 = 0.99 [1 - e^{-C^{2.10}/25.64}]$, $R^2 = 0.990\ 1$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.49 \ln C - 0.16$, $R^2 = 0.934\ 3$, $P < 0.01$
冬凌草	6	$P_0 = 1.10 [1 - e^{-(C-1.23)^{1.05}/2.26}]$, $R^2 = 0.995\ 0$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.62 \ln C - 0.11$, $R^2 = 0.985\ 1$, $P < 0.01$
枳壳	7	$P_0 = 1.01 [1 - e^{-(C-0.36)^{0.80}/0.42}]$, $R^2 = 0.985\ 7$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.44 \ln C + 0.68$, $R^2 = 0.851\ 9$, $P < 0.01$
益母草	4	$P_0 = 2\ 338.46 [1 - e^{-(C-3.53)^{0.88}/12\ 866.82}]$, $R^2 = 0.989\ 6$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.88 \ln C - 1.13$, $R^2 = 0.931\ 8$, $P < 0.01$
佛手	6	$P_0 = 1.01 [1 - e^{-(C-0.47)^{1.90}/2.47}]$, $R^2 = 0.994\ 7$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.63 \ln C + 0.16$, $R^2 = 0.981\ 7$, $P < 0.01$
橘核	5	$P_0 = 1.00 [1 - e^{-(C-0.15)^{1.67}/0.07}]$, $R^2 = 1.000\ 0$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.74 \ln C + 1.32$, $R^2 = 0.948\ 3$, $P < 0.01$
牛蒡子	4	$P_0 = 3\ 362.87 [1 - e^{-(C-0.001)^{1.13}/4\ 914.98}]$, $R^2 = 0.993\ 6$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.67 \ln C + 0.73$, $R^2 = 0.962\ 7$, $P < 0.01$
椿皮	7	$P_0 = 0.99 [1 - e^{-(C-0.79)^{1.95}/3.91}]$, $R^2 = 0.999\ 2$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.56 \ln C + 0.01$, $R^2 = 0.956\ 0$, $P < 0.01$
野菊花	6	$P_0 = 0.98 [1 - e^{-(C-0.03)^{2.27}/0.07}]$, $R^2 = 0.996\ 4$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.54 \ln C + 1.15$, $R^2 = 0.943\ 4$, $P < 0.01$
青皮	5	$P_0 = 1.01 [1 - e^{-(C-0.73)^{1.06}/0.61}]$, $R^2 = 0.998\ 2$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.72 \ln C + 0.32$, $R^2 = 0.945\ 9$, $P < 0.01$
化橘红	6	$P_0 = 0.99 [1 - e^{-(C-0.50)^{0.82}/0.32}]$, $R^2 = 0.997\ 3$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.51 \ln C + 0.63$, $R^2 = 0.791\ 5$, $P < 0.05$
续断	5	$P_0 = 1.00 [1 - e^{-(C-1.35)^{3.21}/1.42}]$, $R^2 = 0.998\ 2$, $P < 0.01$	$P_0 = 0.84 \ln C - 0.25$, $R^2 = 0.853\ 7$, $P < 0.05$

由上述拟合方程的 R^2 可知, 23 种中药饮片的威布尔模型均优于对数模型, 因此采用威布尔模型建立 23 种中药饮片不同质量浓度下感知到苦味的人数比例 P₀ 模型, 结果如图 1 所示。由课题组前期研究结果可知^[6], 盐酸小檗碱的 BTC 为 4.148 mg/L, 计算各中药饮片的 EMB 和 EMBI, 结果见表 3。

3.2 苦度轴

按照“3.1”项中结果, 建立的 2 类苦度轴如图 2 所示。

3.3 方法学验证结果

按照“3.1”项中的方法, 分别计算出第 1、2、

3 天测得的黄连和苦参的 EMB 和 EMBI 值, 3 次试验测得的黄连的 EMB 和 EMBI 的 RSD 分别值为 19%、4%, 3 次试验测得的苦参的 EMB 和 EMBI 的 RSD 值分别为 13%、11%。

4 讨论

4.1 参比苦味物质的选择

在进行药物苦味评价时, 一般选择奎宁作为参比苦味物质, 但因其相对不易得、有一定毒性等原因, 本研究选择苦味纯正, 毒副作用小, 且价廉易得的盐酸小檗碱作为参比苦味物质, 比奎宁更具有可比性和代表性。

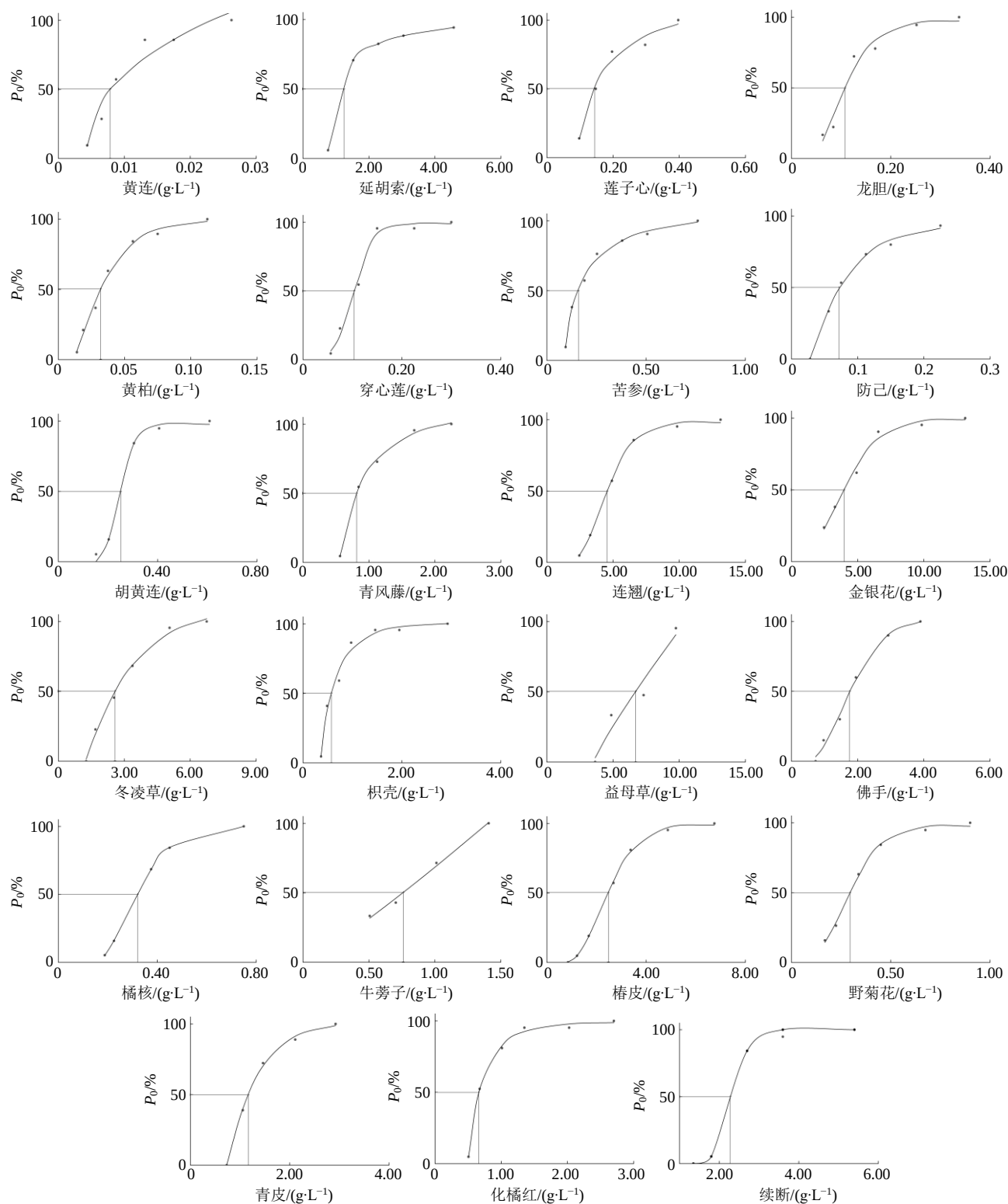


图 1 23 种中药饮片不同质量浓度水煎液与感知到苦味的人数比例威布尔图

Fig. 1 Weibull chart of different concentration of 23 kinds of bitter Chinese herbal pieces decoction and proportion of people who felt bitter

4.2 苦味中药饮片的选择

对苦味中药饮片的选择,从《中国药典》2020 年版^[12]中选择了各饮片“性状”项下描述为“味淡”

“味微苦”“味苦”“味极苦”和“味甚苦”的 5 类中药饮片按照本研究所述的样品制备方法制备,经预实验,描述为“味淡”的饮片制备的样品基于 THTPM

表 3 23 种苦味中药 BTC、EMB、EMBI 值

Table 3 BTC, EMB and EMBI of 23 kinds of bitter Chinese herbal pieces

中药	BTC/(g·L ⁻¹)	EMB	EMBI	中药	BTC/(g·L ⁻¹)	EMB	EMBI	中药	BTC/(g·L ⁻¹)	EMB	EMBI
黄连	0.008 0	0.520 7	-0.652 6	野菊花	0.296 8	0.014 0	-4.270 4	佛手	1.783 5	0.002 3	-6.063 7
黄柏	0.032 1	0.129 3	-2.045 9	橘核	0.317 5	0.013 1	-4.337 9	续断	2.344 9	0.001 8	-6.337 4
防己	0.073 4	0.056 6	-2.872 6	枳壳	0.567 8	0.007 3	-4.919 1	椿皮	2.468 2	0.001 7	-6.388 6
穿心莲	0.105 2	0.039 4	-3.233 2	化橘红	0.662 9	0.006 3	-5.074 0	冬凌草	2.584 7	0.001 6	-6.434 7
龙胆	0.107 6	0.038 6	-3.255 8	牛蒡子	0.757 9	0.005 5	-5.207 9	金银花	3.965 1	0.001 0	-6.862 7
莲子心	0.141 6	0.029 3	-3.530 4	青风藤	0.808 9	0.005 1	-5.273 0	连翘	4.587 8	0.000 9	-7.008 5
苦参	0.155 2	0.026 7	-3.622 1	延胡索	1.002 2	0.004 1	-5.487 3	益母草	6.691 6	0.000 6	-7.386 0
胡黄连	0.248 4	0.016 7	-4.092 4	青皮	1.165 9	0.003 6	-5.638 6				

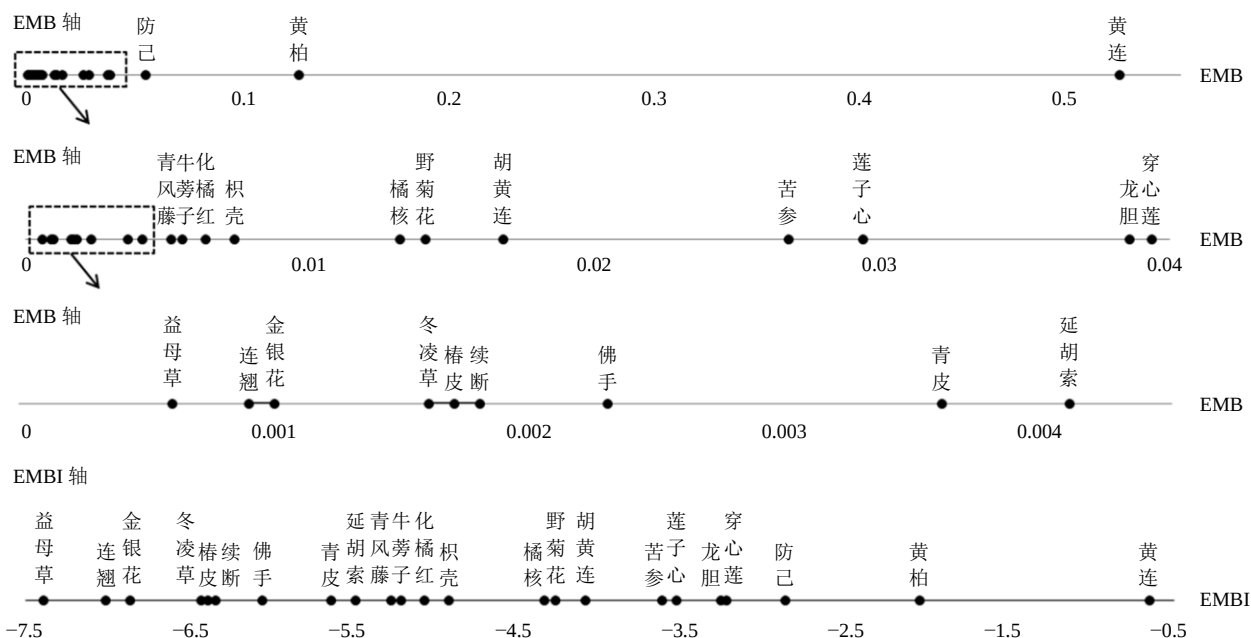


图 2 中药的苦度轴

Fig. 2 Bitterness axis of traditional Chinese medicines

方法均尝不到苦味。因此，最终选择的载体，从描述为“味微苦”“味苦”“味极苦”和“味甚苦”且无毒的饮片中选择，其中龙胆属于味甚苦的范畴，黄连、黄柏、穿心莲、苦参、胡黄连属于味极苦的范畴，延胡索、莲子心、防己、青风藤、连翘、冬凌草、枳壳、佛手、橘核、牛蒡子、椿皮、野菊花、青皮、化橘红、续断属于味苦的范畴，金银花、益母草属于味微苦的范畴。

4.3 中药饮片的 EMB 与《中国药典》“性状”描述的差异

从 EMB 轴上可以直观的看出 23 种苦味中药饮片的 EMB 高低顺序，部分饮片测得的 EMB 与药典“性状”项下的描述不符，如“味甚苦”的龙胆 EMB 小于“味极苦”的黄连、黄柏、穿心莲，以及“味

苦”的防己；“味极苦”的苦参、胡黄连 EMB 小于“味苦”的防己、莲子心，这主要是因为①研究对象不同，本实验的研究对象为中药水煎液，而药典性状项下的味道描述对象为饮片本身，中药饮片在水煎煮的过程中会发生一系列的化学反应，伴随着部分化学成分的分解以及新的化学成分的生成，因此苦味也会发生变化；②适用范围不同，本研究所提出的方法适用于低浓度苦味中药饮片水煎药的苦度预测，而药典描述的苦味是通过口腔咀嚼等方式直接品尝，是局部高浓度测得的结果。

4.4 方法学验证结果

由于本实验研究的载体均为低质量浓度的中药饮片水煎液，其苦味处于有与无之间，且受试者为存在个体差异的人类，不同的受试者味觉灵敏度不

同,因此3次测得的实验数据会存在差异,但由“3.3”项中结果可知,黄连重现性考察结果的 RSD 值均小于 20%,苦参重现性考察结果的 RSD 值均小于 15%,表明本研究的试验方法重现性相对较好。

4.5 中药饮片的 EMB 与其所含主要单体成分 MB 的差异

中药饮片化学成分复杂多样,但每种饮片都会有一种或者几种特征性成分,有的是该中药饮片中含有较高的成分,有的是该饮片药效的主要物质基础^[17-18],那么,能否通过预测苦味单体的 MB 来预测以该单体为主要成分的饮片的 EMB,或者通过预测饮片的 EMB 预测其主要化学成分的 MB。

结合课题组前期测得的苦味单体的 MB 与实验的结果,按照苦度由强到弱的顺序为黄连>穿心莲>龙胆>苦参>枳壳>化橘红>青风藤>延胡索>益母草,而作为主要化学成分的苦味单体的苦味强度:氧化苦参碱>盐酸小檗碱>龙胆苦苷>盐酸青藤碱>柚皮苷>益母草碱>苦参碱>穿心莲内酯>延胡索乙素。同时,在预实验中发现,青皮的水煎液存在苦味,但作为其主要成分的橙皮苷在水中溶解度小^[19],其饱和水溶液经评价员评价仍感知不到苦味。此外,对于主要成分为梔子苷和京尼平苷的梔子而言^[20],按本研究的中药饮片水煎液制备方法,梔子饮片水煎液的原液经评价员评价感知不到苦味,而梔子苷和京尼平苷水溶液却存在苦味。由于中药饮片水煎液的味道为多种成分的复合味道,可能存在味道的协同和拮抗^[16],因此,不能通过中药饮片的 EMB 直接预测其主要含有的化学成分的 MB,反之,亦不可行。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 孙焱东,呼健,杨明会.良药“苦口”与“适口”之辨析[J].天津中医药,2013,30(3):155-156.
- [2] Amelian A, Wasilewska K, Wesoły M, et al. Taste-masking assessment of orally disintegrating tablets and lyophilisates with cetirizine dihydrochloride microparticles[J]. *Saudi Pharm J*, 2017, 25(8): 1144-1150.
- [3] 王艳丽,陈鹏举,桂新景,等.基于电子舌的天然药物的四类味觉分类辨识研究[J].中华中医药杂志,2021,36(1):423-433.
- [4] 贺鹏,李海英,樊启猛,等.超分子“印迹模板”理论解析中药五味[J].中草药,2019,50(12):2763-2770.

- [5] 吴秀玲,李大岩,王丹丹,等.现代味觉电生理技术在中药五味定性和定量研究中的作用[J].中国医药指南,2009,7(12):195-196.
- [6] 高晓洁,白明学,桂新景,等.基于苦味阈值浓度的药物分子苦度定量方法研究[J].中草药,2022,53(3):696-703.
- [7] 李学林,康欢,田亮玉,等.不同类型掩味剂对龙胆、苦参、穿心莲、莲子心4种中药水煎液的抑苦效能及抑苦规律评价[J].中草药,2018,49(22):5280-5291.
- [8] 李学林,吴子丹,刘瑞新,等.口尝法评价中药汤剂苦味的研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(23):11-13.
- [9] Choi D U H, Kim N A, Nam T S, et al. Evaluation of taste-masking effects of pharmaceutical sweeteners with an electronic tongue system[J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2014, 40(3): 308-317.
- [10] 刘瑞新,张杏芬,李学林,等.3种口尝评价方法用于药物苦度评价的比较[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(20):118-122.
- [11] 刘瑞新,李学林,姚静,等.一种基于苦度阈值浓度的药物苦度测量方法:CN108318628B[P].2020-07-28.
- [12] 中国药典[S].一部,2020:318.
- [13] 张璞,张耀,桂新景,等.基于经典人群口尝法和电子舌法的中药饮片水煎液苦度叠加规律研究[J].中草药,2021,52(3):653-668.
- [14] Leeds J P. Applying cognitive acuity theory to the development and scoring of situational judgment tests[J]. *Behav Res Methods*, 2018, 50(6): 2215-2225.
- [15] Omür-Ozbek P, Dietrich A M. Developing hexanal as an odor reference standard for sensory analysis of drinking water[J]. *Water Res*, 2008, 42(10/11): 2598-2604.
- [16] 李学林,张耀,陈鹏举,等.基于口尝评价和电子舌评价的药物苦味叠加规律研究[J].中国中药杂志,2019,44(23):5134-5142.
- [17] 刘昌孝,陈士林,肖小河,等.中药质量标志物(Q-Marker):中药产品质量控制的新概念[J].中草药,2016,47(9):1443-1457.
- [18] Xu N, Sun R, Shi Y P, et al. Discovery and identification of quality markers of *Sparganii Rhizoma* based on zebrafish thrombosis model[J]. *Chin Herb Med*, 2021, 13(3): 389-395.
- [19] 徐玉玲,伍利华,李鹏程,等.基于橙皮苷临床利用量的青皮品质评价研究[J].中草药,2016,47(22):4009-4015.
- [20] 李晓静,严东明,冯琴,等.梔子苷及京尼平的动物肝毒性机制研究进展[J].世界中医药,2021,16(17):2652-2656.

[责任编辑 郑礼胜]