

基于经典人群口尝法的苦味药物“比苦度”定量方法研究

李晨旭¹, 任延娜¹, 姚 静^{2,3,4,5}, 王艳丽², 高晓洁⁶, 李 涵¹, 郭晓帆¹, 刘瑞新^{2,3,4,5*}, 李学林^{2,3,4,5*}

1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046

2. 河南中医药大学第一附属医院 药学部, 河南 郑州 450000

3. 河南省中药临床应用、评价与转化工程研究中心, 河南 郑州 450000

4. 河南省中药临床药学中医药重点实验室, 河南 郑州 450000

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

6. 郑州市中医院 制剂室, 河南 郑州 450007

摘要:目的 建立苦味药物比苦度 (ratio of bitterness, ROB) 的测定及计算方法, 实现不同苦味药物之间的苦度定量比较, 为实现复方制剂中的苦味药物定向掩蔽奠定基础。方法 以 0.134 mmol/L 的盐酸小檗碱 (berberine hydrochloride, BBR) 为参比, 将其 ROB 定为 1, 以穿心莲内酯、葛根素、苦参碱、盐酸青藤碱、芦荟苷、氧化苦参碱 6 种苦味药物单体为模型药物, 基于经典人群口尝法 (traditional human taste panel method, THTPM), 参照“比甜度”的表示方法, 结合课题组前期已建立的苦味化合物标准表观苦度 (standard apparent bitterness, SAB) 的测定方法, 反推出 6 种模型药物 SAB=3 时的浓度, 并根据公式计算出其 ROB。结果 采用 THTPM 法测得不同浓度模型药物的口尝 SAB 值, 建立了 6 种模型药物的威布尔模型与对数模型。根据最优模型计算出了 6 种模型药物的 ROB 分别为 0.017、0.031、0.208、0.250、0.500、0.714。结论 建立了基于 THTPM 的 ROB 定量方法, 并成功测定了 6 种苦味药物单体的 ROB, 为不同苦味药物单体之间的苦度比较提供了新的苦度标尺, 丰富了药物苦度比较标尺的研究, 为苦度评价与苦味掩蔽评价提供了技术支撑。

关键词: 苦味药物; 经典人群口感评价; 中药掩味; 标准表观苦度; 比苦度; 盐酸小檗碱; 穿心莲内酯; 葛根素; 苦参碱; 盐酸青藤碱; 芦荟苷; 氧化苦参碱; 苦度评价; 苦味掩蔽评价

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)09-2758-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.09.008

Study on quantitative method of specific bitterness of bitter compounds based on traditional human taste panel method

LI Chen-xu¹, REN Yan-na¹, YAO Jing^{2,3,4,5}, WANG Yan-li², GAO Xiao-jie⁶, LI Han¹, GUO Xiao-fan¹, LIU Rui-xin^{2,3,4,5}, LI Xue-lin^{2,3,4,5}

1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

3. Henan Province Engineering Research Center for Clinical Application, Evaluation and Transformation of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

4. Henan Key Laboratory for Clinical Pharmacy of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

5. Collaborative Innovation Center for Prevention and Treatment of Respiratory Diseases with Traditional Chinese Medicine, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

6. Department of Pharmaceutical Preparation, Traditional Chinese Medicine Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450007, China

收稿日期: 2022-11-18

基金项目: 国家重点研发计划中医药现代化重点专项 (2017YFC1703400); 国家重点研发计划中医药现代化重点专项 (2017YFC1703401); 国家重点研发计划中医药现代化重点专项 (2017YFC1703402); 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); 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); 河南省卫生健康中青年学科带头人专项 (HNSWJW-2020014); 国家中医药管理局青年岐黄学者培养项目 (国中医药人教函〔2022〕256 号)

作者简介: 李晨旭, 女, 硕士研究生, 从事中药饮片临床应用现代化关键技术研究。Tel: 18237574183 E-mail: 2386609235@qq.com

***通信作者:** 刘瑞新, 博士后合作导师, 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
李学林, 男, 教授, 博士后合作导师, 主任药师, 从事中药应用形式研究。Tel: (0371)66245142 E-mail: xuelinli450000@163.com

Abstract: Objective To establish a method to predict the ratio of bitterness (ROB) of bitter drugs, in order to compare the quantitative bitterness between different bitter drugs and lay the foundation for achieving targeted masking of bitter drugs in compound formulations. **Methods** Taking berberine hydrochloride (0.134 mmol/L, BBR) as reference, andrographolide, sinomenine hydrochloride, aloin, matrine, oxymatrine and puerarin were used as model drugs. Based on the traditional human taste panel method (THTPM), the expression method of 'sweetness' was referred. Based on the determination method of standard apparent bitterness (SAB) of bitter compounds based on THTPM previously established by our research group, ROB of six bitter compounds were calculated (SAB=3). **Results** The oral taste SAB values of different concentrations of model drugs were measured by the THTPM method, and the Weibull and logarithmic models of six model drugs were established. The ROB for the six model drugs were calculated as 0.017, 0.031, 0.208, 0.250, 0.500, and 0.714, respectively, based on the optimal model. **Conclusion** The ROB quantitative method based on THTPM was established, and the ROB of six bitter drug monomers was successfully determined. It provided a new bitterness scale for the comparison of bitterness between different bitter drug monomers, enriched the research of drug bitterness comparison scale, and laid a technical support for bitterness evaluation and bitterness masking evaluation.

Key words: bitter drugs; traditional human taste panel method; traditional Chinese medicine masking taste; standard apparent bitterness; ratio of bitterness; berberine hydrochloride; andrographolide; puerarin; matrine; sinomenine hydrochloride; aloin; oxymatrine; bitterness evaluation; bitterness masking evaluation

对苦味药物进行掩蔽是药学工作者的重要课题,实现药物苦度的客观定量并掌握其客观规律,有利于药学工作者更好的开展药物的苦味掩蔽研究。此前本课题组已经探究药物苦度与其浓度的关系^[1],通过经典人群口尝法(traditional human taste panel method, THTPM)建立了苦味化合物标准表观苦度(standard apparent bitterness, SAB)模型^[2],表明苦味化合物的苦味程度与其浓度之间符合威布尔关系。并且对药物分子苦度定量方法进行了研究,建立了药物分子苦度^[3]与分子苦度当量预测模型^[4],能够对苦味药物的苦度进行测量,为药物的苦度评价提供量化指标,并为药物苦味掩蔽研究奠定基础。然而,对于不同苦味药物分子之间苦度强弱的比较研究还相对较少。上述分子苦度预测模型虽然也能对不同苦味药物分子之间的强弱进行比较,但其适用范围为极低苦度的情况下,而平时常用的苦味药物一般都为中等苦度,基于此情况,分子苦度预测模型并不适用。这使得在苦味药物不良味觉掩蔽的研究中,研究者对于在处方中出现多种苦味药物的情况时不能够精确对最苦的成分进行苦味掩蔽,因此,需要建立在中等苦度下能对不同苦味药物苦度强弱进行比较的苦度标尺。相较于苦度研究的不足,关于甜度已有很多研究报道,如比甜度是甜味剂甜味的高低、强弱的一种表示方法,中国农业出版社出版的《食品化学》(第二版)中就记录了部分糖类的比甜度,取蔗糖的甜度为 1,则乳糖的比甜度为 0.4、麦芽糖的比甜度为 0.5、 α -D-葡萄糖的比甜度为 0.7 等^[5]。本研究参照甜味剂甜度的表示方法^[6-7],将评价员口尝质量浓度为 0.05 g/L (SAB 为

3) 的盐酸小檗碱(berberine hydrochloride, BBR)溶液比苦度定为 1,通过 THTPM 法与 E-tongue 法结合模型回归获取其他苦味物质与其苦度相当时的质量浓度,通过公式“ROB=BBR 质量浓度/苦味物质质量浓度”计算出该苦味化合物的比苦度(ratio of bitterness, ROB),其自然对数称为“比苦度指数”(ROB-index, ROBI)。常见的中药中具有苦味的化学成分有生物碱、苷类、萜类、苦味肽等,而目前肽类药物的来源以人、动物或海洋生物为主,植物中的肽研究远远不足^[8],因此,本研究选取生物碱类成分苦参碱、氧化苦参碱,苷类成分葛根素,萜类化合物穿心莲内酯这 6 种常见的成分作为研究载体,进行苦味药物“比苦度”定量方法的研究。此方法能够较为直观地比较常用苦味药物之间苦度的差异,为进一步开展相关抑苦规律研究提供借鉴依据,为更好地开展苦味掩蔽研究做出贡献。

1 仪器与材料

1.1 仪器

BCA2248-CW 型电子天平、CP225D 型电子天平,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;HHS 型电热恒温水浴锅,北京科伟永兴仪器有限公司;AM-5250B 型磁力搅拌器,天津奥特赛恩斯仪器有限公司。

1.2 材料

1.2.1 苦味药物单体 盐酸小檗碱(批号 140406,质量分数 98.62%),四川省玉鑫药业有限公司;苦参碱(批号 JT20140418,质量分数 98.12%)、穿心莲内酯(批号 JT20141026,质量分数 98.28%)、葛根素(批号 JT20141102,质量分数 98.54%),西安

嘉天生物科技有限公司；芦荟苷（批号 HXLHG20140815，质量分数 98.12%）、盐酸青藤碱（批号 YSQTJ20150315、YSQTJ20221113，质量分数 98.20%）、氧化苦参碱（批号 YHKSJ20150409、YHKSJ20221021，质量分数 98.50%），西安昊轩生物科技有限公司。

1.2.2 试剂 无水乙醇，天津市天力化学试剂有限公司；氯化钾、氢氧化钾、酒石酸，天津市科密欧化学试剂有限公司；甜味浸泡液，日本 Insent 公司；水为纯化水，自制。

2 方法与结果

2.1 评价员筛选

经河南中医药大学第一附属医院伦理委员会审查批准（伦理审查批件号：2015HL-032-01）后，参考文献方法^[9]对招募的评价员进行了包括苦味敏感度等在内的严格筛选，最终选择 25 名健康评价员作为受试者，在试验前签订知情同意书。

纳入标准：（1）年龄 18~40 岁，身体健康；（2）能够保证参与口尝评价时间；（3）有主观能动性（意愿和兴趣）；（4）阅读并充分理解受试者须知，签署知情同意书。

排除标准：（1）有严重口腔疾病者；（2）心态过于紧张者；（3）口尝柠檬黄水溶液评价有苦味的志愿者；（4）品尝溶液前 3 h 进食（尤其是刺激性食物）者；（5）怀孕、哺乳期、有遗传病史、对即将评价样品存在过敏的、有胆囊炎及胃肠道严重疾病者；（6）具有其他可能影响味觉的不良嗜好，如吸烟、饮酒等；（7）味觉功能异常者。

2.2 样品制备

2.2.1 参比样品组的质量浓度选择及样品制备 参照文献方法^[9-11]，将苦味分为 5 个等级，每个级别赋予一定的苦度值范围。配制不同质量浓度的 BBR 溶液作为参比样品组，各苦度级别的 BBR 的不同质量浓度见表 1。

2.2.2 待测样品组制备

（1）穿心莲内酯：将穿心莲内酯配制为浓度分别为 2.28、3.42、5.71、8.85、14.27、22.83 mmol/L 的溶液。

（2）葛根素：将葛根素配制为浓度分别为 1.50、2.40、3.84、6.15、9.85、15.73 mmol/L 的溶液。

（3）苦参碱：将苦参碱配制为浓度分别为 0.15、0.25、0.39、0.63、1.01、1.61 mmol/L 的溶液。

（4）盐酸青藤碱：将盐酸青藤碱配制为浓度分

表 1 中药苦度值 (*I*) 的定性描述、等级及定量范围

Table 1 Qualitative description, grade and quantitative range of Chinese medicine bitterness value (*I*)

参比溶液质量 浓度/(g·L ⁻¹)	苦度的口感描述	赋予的 <i>I</i> 的取值 等级	范围
0	几乎没有苦味	I	[0.5~1.5)
0.01	略有苦味	II	[1.5~2.5)
0.05	可接受的苦味	III	[2.5~3.5)
0.10	很苦，但是仍然可以忍受	IV	[3.5~4.5)
0.50	不能忍受的苦味	V	[4.5~5.5]

别为 0.082、0.131、0.210、0.336、0.538、0.861 mmol/L 的溶液。

（5）芦荟苷：将芦荟苷配制为浓度分别为 0.091、0.146、0.234、0.373、0.598、0.956 mmol/L 的溶液。

（6）氧化苦参碱：将氧化苦参碱配制为浓度分别为 0.03、0.07、0.17、0.40、0.95、2.27 mmol/L 的溶液。

待测样品放置水浴锅中，备用，温度设置为 37 ℃。

2.3 评价员口感评价标准化培训及考核

具体参照文献方法^[12]，分别取各浓度的盐酸小檗碱参比溶液 15 mL 于口尝杯中，由评价员含于口中，计时 15 s，在口腔进行漱口动作，目的是使舌根及舌侧苦味的感受区域能够感知样品的苦味，根据表 1 对比记忆参比溶液的苦度分级、苦度值，吐出后漱口至少 3 次，直至口腔中不再有苦味感受，依次完成 5 个等级的参比溶液的苦味的标准化感官记忆。15 min 后将 5 个等级的参比溶液按照随机顺序采取单盲法再按上述口尝流程让评价员进行口尝并排序，通过考核者可进行后续的口尝评价。

2.4 待测样品组的口尝评价

待测样品的口尝评价参照“2.3”项方法，每一轮口尝评价放置 1 杯苦度等级为 III 的盐酸小檗碱溶液作为参比，受试者根据自己的口尝感受，结合之前的标准化感官记忆，确定某样品所在的苦度级别，并给予具体的苦度值，口尝记录待测样品的苦度值 (*I*)。

2.5 离群值的处理

由于本实验对象为生物样本，考虑到生物样本的特点，且不同受试者之间可能存在个体差异，实验测试数据中有个别异常值，不能随意取舍，因此参照文献方法^[12]，采用 Grubbs 检验法对数据进行异常值的循环检验和剔除。每一组每一轮仅剔除 1

个异常值。口尝试验中过大的异常值和过小的异常值均有存在的可能，因此采用双侧检验进行剔除。本实验选择检出水平为 0.1、剔除水平为 0.05。结果显示芦荟苷和盐酸青藤碱各有 1 组数据达到剔除水平，故剔除该组评价结果，剔除后不再进行插值或补充测试。其余实验数据结果显示没有数据达到设定的剔除水平，故均予以保留。

2.6 标准表观苦度的模型构建

根据参考文献方法^[13]，不同浓度的苦味物质的浓度与标准表观苦度（SAB）之间符合对数关系，因此对上述不同苦味物质的浓度（ C ）与标准表观苦度 $I_{0(SAB)}$ 之间建立威布尔关系模型（ f_1 ）和对数关系模型（ f_2 ），二者关系式如下：

$$I_{0(SAB)} = f_1(C) = \beta[1 - e^{-(C-a)^m/k}]$$

$$I_{0(SAB)} = f_2(C) = a \ln C + b$$

C 表示浓度， a 、 b 、 α 、 β 、 m 、 k 为待定参数

分别建立 2 种浓度对口尝苦度的预测模型：采用“规划求解”建立的威布尔模型和基于 Excel 建立的对数模型。

6 种苦味药物单体 SAB 预测模型拟合方程见表 2，其中 $I_{0(SAB)}$ 代表口尝标准表观苦度值， C 代表浓度， e 是自然数对数。由上述拟合方程的 R^2 可知，6 种苦味药物单体的威布尔模型除氧化苦参碱外均优于对数曲线模型，因此，采用威布尔模型建立 6 种苦味药物单体不同浓度下的标准表观苦度 $I_{0(SAB)}$ 模型，结果如图 1 所示。

2.7 苦味药物单体比苦度的计算

借鉴比甜度的评价方法^[13-14]，将评价员口尝浓度为 0.05 g/L 的 BBR 溶液（37 °C）的苦度定为 1，其他苦味物质与其苦度相当时（称为等苦度 BBR 质

表 2 6 种苦味物质 SAB 预测模型拟合方程

Table 2 Fitting equation of six kinds of bitter substances concentration on standard apparent bitterness prediction model

苦味物质	n	威布尔模型	对数模型
穿心莲内酯	6	$I_{0(SAB)} = 4.23 [1 - e^{-(C-0.07)^{0.80}/4.44}]$, $R^2 = 0.982\ 3$, $P < 0.01$	$I_{0(SAB)} = 1.24 \ln C + 0.19$, $R^2 = 0.978\ 6$, $P < 0.01$
葛根素	6	$I_{0(SAB)} = 6.52 [1 - e^{-(C-1.22)^{0.30}/2.66}]$, $R^2 = 0.971\ 8$, $P < 0.01$	$I_{0(SAB)} = 1.12 \ln C + 1.08$, $R^2 = 0.961\ 8$, $P < 0.01$
苦参碱	6	$I_{0(SAB)} = 4.38 [1 - e^{-(C^{0.80}/0.85)}]$, $R^2 = 0.978\ 6$, $P < 0.01$	$I_{0(SAB)} = 1.10 \ln C + 3.00$, $R^2 = 0.959\ 2$, $P < 0.01$
盐酸青藤碱	6	$I_{0(SAB)} = 15\ 753.264 [1 - e^{-(C-0.06)^{0.32}/4\ 346.116\ 3}]$, $R^2 = 0.970\ 9$, $P < 0.01$	$I_{0(SAB)} = 0.96 \ln C + 3.49$, $R^2 = 0.966\ 3$, $P < 0.01$
芦荟苷	6	$I_{0(SAB)} = 11.39 [1 - e^{-(C-0.066)^{0.33}/2.03}]$, $R^2 = 0.986\ 9$, $P < 0.01$	$I_{0(SAB)} = 1.17 \ln C + 4.37$, $R^2 = 0.984\ 3$, $P < 0.01$
氧化苦参碱	6	$I_{0(SAB)} = 5.38 [1 - e^{-(C-0.01)^{0.42}/0.70}]$, $R^2 = 0.981\ 8$, $P < 0.01$	$I_{0(SAB)} = 0.81 \ln C + 4.03$, $R^2 = 0.983\ 3$, $P < 0.01$

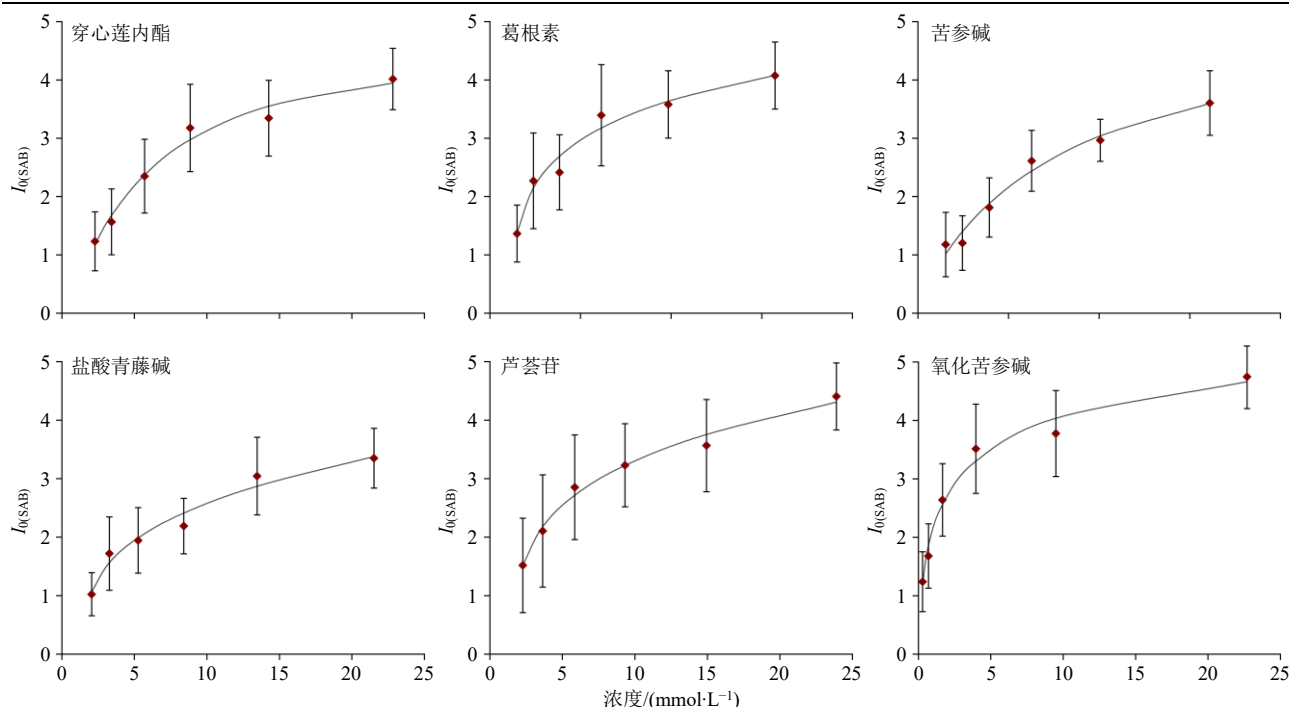


图 1 不同苦味药物单体的标准表观苦度与浓度的关系

Fig. 1 Relationship between standard apparent bitterness and concentration of different bitter drug monomers

量浓度),则苦味化合物的比苦度(ratio of bitterness, ROB) = BBR 质量浓度/苦味物质质量浓度,其自然对数称为“比苦度指数”(ROB-index, ROBI)。

由表 1 可知,0.05 g/L 的 BBR 的 SAB 为 3,参照表 2 中苦味药物单体的拟合方程,分别计算出 6 种苦味药物单体与 BBR 苦度相当时的质量浓度,结果如表 3 所示。基于此,按照上述方法,计算 6 种苦味药物单体的 ROB 分别为 0.016、0.022、0.208、0.227、0.385、0.714;其 ROBI 分别为-4.149、-3.798、-1.569、-1.482、-0.956、-0.336,ROB 与 ROBI 越大,苦味药物单体的苦度越高。由图 2 可见,6 种苦味药物单体的 ROB 为穿心莲内酯<葛根素<苦参碱<盐酸青藤碱<芦荟苷<氧化苦参碱,通过这种方法可以直观的比较苦味药物单体之间的苦度。

表 3 模型药物与 BBR (0.05 g·L⁻¹) 苦度相当时的质量浓度
Table 3 Concentrations of six bitter drug monomers equivalent to bitterness of BBR (0.05 g·L⁻¹)

单体	与 BBR 苦度相当时的质量浓度/(g·L ⁻¹)
穿心莲内酯	3.17
葛根素	2.23
苦参碱	0.24
盐酸青藤碱	0.22
芦荟苷	0.13
氧化苦参碱	0.07

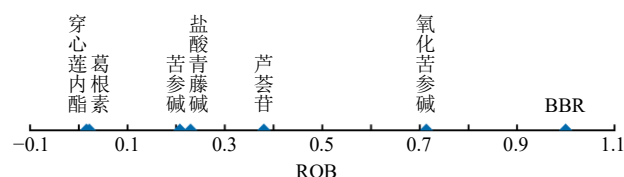


图 2 6 种苦味药物单体的 ROB

Fig. 2 ROB of six bitter drug monomers

2.8 方法学验证

2.8.1 重复性考察 取氧化苦参碱,按照“2.2”项下方法制成供试品溶液,在相同条件下由相同的评价员按照“2.4”项下方法进行评价,计算 3 次测得的氧化苦参碱的 ROB 的 RSD 为 7.3%。

2.8.2 再现性考察 分别取氧化苦参碱、盐酸青藤碱,按照“2.2”项下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“2.4”项下方法进行评价,分别计算 3 次测试所得氧化苦参碱和盐酸青藤碱的 ROB 的 RSD 值,分别为 5.3%、1.9%。

3 讨论

3.1 研究苦味药物比苦度定量方法的意义

药物的不良口感会影响患者的服药依从性,其中苦味是其不良口感的主要原因。对于中药制剂特别是中药汤剂等复方制剂来说,苦味口感更为显著,令许多患者“望苦却步”,而以上制剂又具有“大剂量、多成分、多苦味”的特点,其苦味掩蔽难点更为突出。近些年来研究者多采用中药伴侣对中药汤剂的不良口感进行掩蔽^[15-16],但中药汤剂多随症加减,一种固定配方的中药伴侣是否适用于所有的中药汤剂尚不得而知。该研究的苦味药物比苦度定量方法提供了一种苦度标尺,可以对中药汤剂乃至其他中药复方制剂中的苦味药物的苦度进行量化,对不同苦味药物的苦度进行比较,从而对复方制剂中苦度相对更大的苦味药物进行精准苦味掩蔽,有利于推进中药复方制剂掩味研究的进行,提高中药复方制剂掩味研究效率。

3.2 基于经典人群口感评价的药物比苦度研究

本研究前期参照比甜度测定方法^[17-19],对参比物质(质量浓度为 0.05 g/L 的 BBR 溶液)进行口尝,然后再对一系列不同质量浓度的待测样品溶液口尝,从中对比选择出与参比溶液苦度相当的样品溶液,但未得到有统计学意义的结果。原因如下:若待测样品质量浓度梯度太小,则采用 THTPM 很难分辨出相邻的样品的差别,若梯度太大,则又很难选择出与参比溶液苦味相当的样品。

另外,中药本身五味杂陈,对于其中所含的单体,本身也是多种味道的复合体,受其他异味的影响,使得采用这种方法预测比苦度对评价员的要求更高,很难得到有统计学意义的结果。因此,本研究最终基于课题组前期建立的预测标准表观苦度的方法,采用有效的剔除异常值的检验方法,得到了具有极显著性意义($P < 0.01$)的 I_0 -C 拟合曲线,然后根据拟合曲线求出与参比溶液苦味相当的样品的浓度,采用这种方法可以避免反复调整待测样品浓度,使评价员得到统一的数据,而且数据处理方法简单,结果具有统计学意义。

3.3 基于其他方法的药物比苦度研究

本研究也通过电子舌方法对苦味药物的比苦度进行了研究,结果表明,盐酸小檗碱在测试浓度范围下对 H-bitterness 传感器 BT0 和 B-bitterness2 传感器 AN0 响应显著;苦参碱、氧化苦参碱和葛根素在测试范围下对 Bitterness 传感器 C00 和

Astringency 传感器 AE1 对其响应显著,且除葛根素外响应值均随着样品浓度的增大而增大;穿心莲内酯在测试的浓度范围下对于 B-bitterness2 传感器 AN0 和 Bitterness 传感器 C00 响应显著,但在较低浓度(2.28~8.85 mmol/L)下,B-bitterness2 传感器 AN0 响应值变化不显著,在较高浓度(8.85~22.83 mmol/L)下,随着样品浓度的增大,苦味回味也增大;盐酸青藤碱和芦荟苷对所有传感器的响应值均较小,大部分低于以上味觉传感器的无味点,不适宜进行建模。

根据上述电子舌响应值结果,选择随着浓度改变响应值变化明显的传感器进行建模。由于盐酸小檗碱浓度过小,因此将其单位换算为 $\mu\text{mol/L}$ 。最终对盐酸小檗碱浓度与其 AN0、BT0 传感器响应值,苦参碱、氧化苦参碱、穿心莲内酯、葛根素浓度与其 C00 传感器进行拟合,其预测模型威布尔拟合方程分别为 $I_{\text{e(SAB)}}=144.39 [1-\text{e}^{-(C-3.25)^{0.52}/69.92}]$, $R^2=0.996$, $P<0.01$, $n=5$ (盐酸小檗碱, AN0 传感器); $I_{\text{e(SAB)}}=27.54 [1-\text{e}^{-(C-3.33)^{0.42}/5.06}]$, $R^2=0.995$, $P<0.01$, $n=5$ (盐酸小檗碱, BT0 传感器); $I_{\text{e(SAB)}}=8.88 [1-\text{e}^{-C^{1.18}/0.25}]$, $R^2=0.992$, $P<0.01$, $n=6$ (苦参碱, C00 传感器); $I_{\text{e(SAB)}}=5.38 [1-\text{e}^{-(C-0.01)^{0.44}/0.58}]$, $R^2=0.999$, $P<0.01$, $n=6$ (氧化苦参碱, C00 传感器); $I_{\text{e(SAB)}}=5\ 453.66 [1-\text{e}^{-C^{0.48}/16\ 455.85}]$, $R^2=0.955$, $P<0.01$, $n=6$ (穿心莲内酯, C00 传感器); $I_{\text{e(SAB)}}=158.78 [1-\text{e}^{-C^{0.07}/20.93}]$, $R^2=0.829$, $P<0.01$, $n=6$ (葛根素, C00 传感器); 其中 $I_{\text{e(SAB)}}$ 代表电子舌苦度响应值, C 代表浓度, e 是自然对数。

以 BBR 为参比物质,当 $I_{0(\text{SAB})}=3$, BBR 的浓度为 0.134 mmol/L,根据上述公式,此时 BBR 的 $I_{\text{e(SAB, AN0)}}=23.48$, $I_{\text{e(SAB, BT0)}}=21.40$,而苦参碱、氧化苦参碱、穿心莲内酯、葛根素有适宜响应值的传感器均为 C00 传感器,由于传感器之间的响应值不能相互转换,此时 BBR 不适宜作为其他 4 种苦味药物单体的参比物质。

当 $I_0=3$ 时,苦参碱、氧化苦参碱、穿心莲内酯和葛根素对应的浓度分别为 0.976、0.280、9.035、5.180 mmol/L,代入上述公式中可得 I_{e} 值分别为 8.698、3.330、0.958、8.287,其苦度相同但响应值差异甚大。若以苦参碱为参比物质,则根据上述公式,苦参碱、穿心莲内酯、葛根素、氧化苦参碱基于 THTPM 的 ROB 分别为 1.000、0.108、0.188、3.482,基于电子舌的 ROB 分别为 1.000、0.001、

0.092、无解,去掉氧化苦参碱后另外 3 种苦味药物单体的 2 种 ROB 之间具有显著相关性 ($P<0.01$, $R=1.000$, $n=3$)。

同样的,若分别以穿心莲内酯、葛根素为参比物质,2 种方法得到的 ROB 也具有显著相关性(穿心莲内酯为参比: $P<0.01$, $R=0.997$, $n=3$; 葛根素为参比: $P<0.05$, $R=0.999$, $n=3$)。以上结果表明基于电子舌方法测定苦味药物的 ROB 是具有潜力的,但本实验中样品量较少,只能进行初步的探讨,当增加样品量并且选择合适的传感器,相信可以得到精确的基于 *E-tongue* 预测苦味药物单体 ROB 的方法。

本研究最终未能基于 *E-tongue* 预测苦味药物单体的 ROB,主要影响因素有二:其一,对参比物质产生响应的传感器为 BT0 和 AN0,而对苦参碱、氧化苦参碱、穿心莲内酯、葛根素产生响应的传感器为 C00,传感器之间的信息不能相互转化;另外,本研究中样品量较少,使得本研究中未能建立精确的预测方法。从上述结果的讨论来看,虽然相较于人类舌上有成千上万个味蕾,电子舌传感器数量有限,在丰富度及复杂味觉的评价方面或许尚不能与人类口尝相媲美,但电子舌在灵敏度或检测限方面可能高于人类口尝,且无口尝法中的安全性风险,*E-tongue* 具有很大的应用潜力。电子舌近些年来在中药掩味领域应用颇多^[2,10],也得到许多不斐的成果,因此,对于电子舌测定苦味药物比苦度的探索,未来应进一步研究。

本研究得到了一种基于 THTPM 法的苦味药物比苦度定量方法,通过这种方法,可以得出多种苦味药物的比苦度,从而实现苦味药物的定量比较,对不同的苦味药物进行对比。有利于对苦味药物的进一步研究,通过比苦度的方法,能够对复方制剂中的苦味分子进行定向苦味掩味,从而降低复方制剂的掩味难度。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李学林,张杏芬,刘瑞新,等. 药物苦度的定量及其与浓度的关系研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2013, 15(4): 667-671.
- [2] 李学林,桂新景,刘瑞新,等. 基于电子舌法对中药苦味化合物苦度的预测 [J]. 中国新药杂志, 2016, 25(11): 1307-1314.
- [3] 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.
- [4] 王青晓, 高晓洁, 桂新景, 等. 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 [J]. 中草药, 2022, 53(21): 6698-6705.
- [5] 阚建全. 食品化学 [M]. 第 2 版. 北京: 中国农业大学出版社, 2008: 109.
- [6] Cusiello K V C, da Silva ACML, Tavares-Filho E R, et al. Sensory influence of sweetener addition on traditional and decaffeinated espresso [J]. *J Food Sci*, 2019, 84(9): 2628-2637.
- [7] Fujimaru T, Park J H, Lim J. Sensory characteristics and relative sweetness of tagatose and other sweeteners [J]. *J Food Sci*, 2012, 77(9): S323-S328.
- [8] 桂新景, 张璐, 张璞, 等. 基于经典人群口尝评价法的中药饮片水煎液味觉评价 [J]. 医药导报, 2021, 40(11): 1544-1551.
- [9] 李学林, 陈鹏举, 桂新景, 等. 电子舌在羟丙基- β -环糊精抑苦规律研究中的应用 [J]. 中草药, 2017, 48(20): 4235-4244.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] 张璐, 高晓洁, 桂新景, 等. 基于经典人群口感评价方法的苦度评价中评价员分级探索 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(2): 12-18.
- [13] 方聪, 刘怡雪, 黎四芳. 新型超高甜度二肽甜味剂爱德万甜的研究进展 [J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(2): 128-136.
- [14] 姚宇晨, 杨钊, 梁幼飞, 等. 甜味剂的甜度测量方法研究进展 [J]. 甘蔗糖业, 2020, 49(4): 75-82.
- [15] 仇敏, 杨静, 王晓宇, 等. 中药汤剂伴侣用于经典名方抑苦掩味的适宜性研究 [J]. 中草药, 2022, 53(8): 2292-2301.
- [16] 施钧瀚, 姚静, 陈鹏举, 等. 采用 HPLC 考察疏风化痰汤掩味后化学成分变化 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(6): 2450-2454.
- [17] 黄嘉丽, 黄宝华, 左珊珊, 等. 多种甜味剂的电子舌味觉评价 [J]. 食品科学, 2020, 41(20): 227-233.
- [18] 林薇薇, 万武波, 白燕, 等. 天然复合甜味剂的配方研究 [J]. 农产品加工, 2019(17): 16-19.
- [19] 穆小青, 晏日安, 谭奇坤, 等. 新型高倍二肽甜味剂的制备与表征 [J]. 食品与机械, 2019, 35(12): 36-41.

[责任编辑 郑礼胜]