

基于味觉信息和化学成分的“谱味”关系 挖掘白术苦味物质基础

魏子路¹, 阿丽娅·阿卜杜热依木¹, 孙秀岩¹, 赵爽¹, 解军波^{1*},
赖长江生^{2*}, 张彦青³

(1. 天津中医药大学 中药学院, 天津 301617; 2. 中国中医科学院 道地药材品质保障与资源持续利用全国重点实验室, 北京 100700; 3. 天津商业大学 生物技术与食品科学学院, 天津 300134)

摘要: 基于味觉信息和化学成分的“谱味”相关性高效挖掘白术苦味的物质基础。采用电子舌技术测定34批次不同产地白术的苦味量化值, 采用紫外-可见分光光度法测定白术的总黄酮、总聚炔、总内酯含量, 采用高效液相色谱(HPLC)法测定白术中4种成分(白术内酯I、白术内酯II、白术内酯III、苍术酮)含量, 将白术的苦味值与其4种成分及总黄酮、总聚炔、总内酯含量进行双变量“谱味”相关性分析。根据相关性分析结果筛选出白术内酯I、白术内酯II、白术内酯III 3个化合物与苦味受体TAS2Rs进行分子对接验证。结果显示, 白术中白术内酯I、白术内酯II、白术内酯III的含量与苦味响应值存在显著正相关($p < 0.01$), 白术的总内酯含量与苦味响应值呈正相关($p < 0.05$), 白术的总聚炔含量与苦味响应值呈负相关($p < 0.05$), 苍术酮和总黄酮的含量与苦味响应值无显著相关关系。经AutoDock Vina软件模拟分析验证, 白术内酯I、白术内酯II、白术内酯III与AlphaFold2软件构建的TAS2Rs苦味受体结合较好, 以白术内酯I、白术内酯II和白术内酯III为主的白术内酯类成分为白术“苦味”的物质基础。

关键词: 苦味; 白术; “谱味”关系; 白术内酯; 电子舌

中图分类号: O657.7; R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2023)08-0952-08

Exploration on Bitter Substance Basis of *Atractylodes Macrocephala* Rhizoma Based on the “Spectral Taste” Relationship between Taste Information and Chemical Components

WEI Zi-lu¹, ARIYA Abdureyimu¹, SUN Xiu-yan¹, ZHAO Shuang¹, XIE Jun-bo^{1*},
LAI Chang-jiang-sheng^{2*}, ZHANG Yan-qing³

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China; 2. Cultivation Base of State Key Laboratory of Authentic Medicinal Materials, Resource Center of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 3. School of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300314, China)

Abstract: Based on the “spectral flavor” correlation between taste information and chemical components, the bitter substance basis of *Atractylodes* was efficiently explored in this paper. The bitter values of 34 batches of samples were determined by electronic tongue technique, the contents of total flavonoids, total polyalkynes and total lactones were determined by UV-Vis spectrophotometry, and the contents of four components, i. e. atractylenolide I, atractylenolide II, atractylenolide III and atractylon were detected by high performance liquid chromatography (HPLC). The bivariate “spectral taste” correlation analysis was conducted between the bitter values of *Atractylodes* and the contents of four components and total flavonoids, total polyalkyne and total lactone in *Atractylodes macrocephala* Rhizoma. According to the correlation analysis results, three compounds including atractylenolide I, atractylenolide II and atractylenolide III were screened out for molecular docking verification with bitter taste receptor TAS2Rs. The results showed that the contents of atractylenolide I, atractylenolide II and atractylenolide III in *Atractylodes macrocephala* Rhizoma were positively corre-

收稿日期: 2023-03-23; 修回日期: 2023-05-04

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1706104); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助(ZZ13-YQ-090-C1)

* 通讯作者: 解军波, 博士, 教授, 研究方向: 中药质量评价, E-mail: xiejb@tjutcm.edu.cn

赖长江生, 博士, 研究员, 研究方向: 中药质量评价, E-mail: laichangjiang44@126.com

lated with bitterness response ($p < 0.01$), total lactone of *Atractylodes macrocephala* Rhizoma was positively correlated with bitterness response ($p < 0.05$), the total polyalkyne content was negatively correlated with the bitterness response ($p < 0.05$), the atractylon content and total flavonoids content had no significant relationship with the bitterness response. The AutoDock Vina software simulation analysis showed that atractylenolide I, atractylenolide II and atractylenolide III combined well with the TAS2Rs bitterness receptor constructed by AlphaFold2 software. The constituents of total lactones, including atractylenolide I, atractylenolide II and atractylenolide III, are the main substance basis for the bitter taste of *Atractylodes macrocephala* Rhizoma.

Key words: bitter taste; *Atractylodes macrocephala* Rhizoma; “spectral taste” relationship; atractylenolide; electronic tongue

“味”是中药的固有特征属性,与中药内在化学成分密切相关。作为衡量中药品质的关键指标,“味”在中药质量评价中具有极其重要的意义^[1]。通过量化表征探究中药的味觉信息,揭示其味觉物质基础,对于建立符合中医药理论特点的中药质量评价体系具有重要意义。近年来,与人类味蕾工作原理一致的人工脂膜传感器技术,深度用于电子舌领域,进而可通过感受味觉物质得到待测样品的味觉量化值,在中药味觉评价中得到了日益广泛的应用^[2-3]。荆文光等^[4]采用电子舌技术考察了不同来源厚朴药材的味觉信息和主要化学成分间的相关性,发现厚朴酚、和厚朴酚、辣薄荷基厚朴酚与苦味、苦味回味存在显著的正相关,说明厚朴酚与和厚朴酚为厚朴苦味的物质基础。杨露萍等^[5]采用电子舌联合气相色谱(GC)分析川芎辛味的物质基础,证明藁本内酯、洋川芎内酯A与丁烯苯酐3种苯酐类成分是川芎辛味的物质基础。梅桂林等^[6]采用电子舌结合电子鼻对白术药材等级进行鉴别,证明电子舌能够客观测定不同等级白术药材“味”的变化参数。

古代的中药本草中包含了大量与中药质量相关的线索,但限于理论、方法的滞后,众多品种背后的科学内涵一直未被有效阐释。白术(*Atractylodes macrocephala* Koidz.)作为一味中药大宗品种^[7],《中国药典》中一直缺乏其指标性成分,难以有效评价白术的质量。白术品种多样,性状特征差异显著。本草古籍对白术味觉的描述主要存在以下观点,南北朝陶弘景最早区分白术和苍术,并认为白术具甘辛之味,后世基本沿袭,《本草经集注》^[8]载:“白术叶大有毛而作桠,根甜而少膏。”明清时著作大多认为白术兼有苦、甘、辛之味,《景岳全书》^[9]载:“冬术甘而柔润,夏术苦而燥烈。”《本草崇原》^[10]载:“白术味始甘,次微辛,后乃有苦。”《御制本草品汇精要》^[11]载白术:“中少膏液其味甘苦而不烈。”明朝贾所学认为白术不具甘味而具苦辛之味,《药品化义》^[12]载:“味微苦略辛,云甘,非。”安徽省中药饮片炮制规范(2005版)中对多种白术的苦味进行了描述,其中白术具“味甘、微辛”、祁术具“味甘、微苦辛”、舒州术具“味甘、微苦辛”,表明它们在苦味方面具有差异^[13]。因此,本研究以祁术(优质野生白术)为质量参照,采用电子舌评价技术和分子对接验证方法,通过味觉信息和化学成分的“谱味”相关性挖掘白术的关键苦味物质基础。所建立的关键技术有望为科学解析中药味觉物质基础提供参考。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

SA-402B电子舌(日本Insent公司); Agilent 1260高效液相色谱仪(美国Agilent公司); 紫外可见分光光度计(上海佑科仪器仪表有限公司); ME403/02型千分之一天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司); AB265-S十万分之一分析天平(瑞士Mettler Toledo公司); SB-5200DTD超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司); DT5-1低速台式离心机(北京时代北利离心机有限公司); BenchMixer BV1000-E涡旋混匀器(Benchmark公司); Milli-S纯水机(密理博上海贸易有限公司)。

对照品:白术内酯I(批号:21051010)、白术内酯II(批号:20110610)、白术内酯III(批号:20110611)、苍术酮(批号:21060512)、苍术素(批号:20110645)购自北京倍特仁康生物医药科技有限公司; 磷酸、乙腈(色谱纯)购自美国Grace公司; 酒石酸、浓盐酸、氯化钾、三氯化铁、盐酸羟胺、无水乙醇(分析纯)购自天津市风船化学试剂科技有限公司; 氢氧化钾(分析纯)购自天津市化学试剂批发公司; 实验用水为屈臣氏饮用水。

1.2 材 料

白术样品于2019年采集于河北、河南、湖南等地,样品信息见表1,按品种划分,S15为祁术,S12-14、S16为亳术,S23-26为浙术,S29、S31-S34为平江术。样品经中国中医科学院中药资源中心赖长江生副研究员鉴定,均为白术的干燥根茎。

表1 样品信息
Table 1 Informations of samples

No.	Sampling point	Harvesting time
S1	Beidu Village, Anguo City, Hebei Province(河北省安国市北都村)	2019. 10. 29
S2	Dongting Town, Dingzhou City, Hebei Province(河北省定州市东亭镇)	2019. 10. 13
S3	Anguo City, Hebei Province(河北省安国市)	2019. 10. 21
S4	Junxian Village, Wurenqiao Town, Anguo City, Hebei Province(河北省安国市伍仁桥镇军洗村)	2019. 10. 21
S5	Anjiaying Village, Bazhou City, Hebei Province(河北省霸州市安家营村)	2019. 10. 21
S6	Handan City, Hebei Province(河北省邯郸市)	2019. 10. 21
S7	Jian'an Village, Wangdu County, Baoding City, Hebei Province(河北省保定市望都县建安村)	2019. 10. 21
S8	Tantou Village, Dawu Town, Anguo City, Hebei Province(河北省安国市大五女镇滩头村)	2019. 10. 13
S9	Handan City, Hebei Province(河北省邯郸市)	2019. 10. 13
S10	Nanshizhuang Village, Zhengzhang Town, Baoding City, Hebei Province(河北省保定市郑章镇南仕庄村)	2019. 10. 21
S11	Dongdi Village, Quyang County, Baoding City, Hebei Province(河北省保定市曲阳县东邸村)	2019. 10. 21
S12	Shashi Town, Bozhou City, Anhui Province(安徽省亳州市沙土镇)	2019. 10. 29
S13	Lumiao Town, Bozhou City, Anhui Province(安徽省亳州市芦庙镇)	2019. 10. 21
S14	Guantang Town, Bozhou City, Anhui Province(安徽省亳州市观塘镇)	2019. 10. 29
S15	Qimen Count, Huangshan City, Anhui Province(安徽省黄山市祁门县)	2019. 10. 29
S16	Yanji Town, Bozhou City, Anhui Province(安徽省亳州市颜集镇)	2019. 10. 29
S17	Jiegou Town, Yucheng County, Shangqiu City, Henan Province(河南省商丘市虞城县界沟镇)	2019. 10. 13
S18	Wolong Town, Yongcheng City, Henan Province(河南省永城市卧龙镇)	2019. 10. 21
S19	Luyi town, Zhoukou City, Henan Province(河南省周口市鹿邑镇)	2019. 10. 21
S20	Yilu town, Dancheng County, Zhoukou City, Henan Province(河南省周口市郸城县宜路镇)	2019. 10
S21	Xuchang City, Henan Province(河南省许昌市)	2019. 10
S22	Zhoukou City, Henan Province(河南省周口市)	2019. 10
S23	Xinwo Town, Pan'an County, Jinhua City, Zhejiang Province(浙江省金华市磐安县新渥镇)	2019. 10
S24	Baita Town, Xianju County, Jinhua City, Zhejiang Province(浙江省台州市仙居县白塔镇)	2019. 10
S25	Jietou Town, Tiantai County, Jinhua City, Zhejiang Province(浙江省台州市天台县街头镇)	2019. 10
S26	Shanghu Town, Pan'an County, Jinhua City, Zhejiang Province(浙江省金华市磐安县尚湖镇)	2019. 10
S27	Shifeng County, Tieling City, Liaoning Province(辽宁省铁岭市石丰县)	2019. 10
S28	Yangshan Village, Makou Town, Anhua County, Yiyang City, Hunan Province(湖南省益阳市安化县马口镇羊山村)	2019. 10
S29	Yutan Village, Longmen Town, Pingjiang County, Yueyang City, Hunan Province(湖南省岳阳市平江县龙门镇渔潭村)	2019. 10
S30	Tianmu Village, Liantang Town, Guiyang County, Chenzhou City, Hunan Province(湖南省郴州市桂阳县莲塘镇田木村)	2019. 10
S31	Datang Village, Changshou Town, Pingjiang County, Yueyang City, Hunan Province(湖南省岳阳市平江县长寿镇大塘村)	2019. 10
S32	Pingjiang County, Yueyang City, Hunan Province(湖南省岳阳市平江县)	2019. 10
S33	Pingjiang County, Yueyang City, Hunan Province(湖南省岳阳市平江县)	2019. 10
S34	Pingjiang County, Yueyang City, Hunan Province(湖南省岳阳市平江县)	2019. 10

1.3 供试品溶液的制备

精密称取白术粉末样品0.2 g于具塞离心瓶中,精密加入10 mL甲醇,30℃超声提取(240 W,40 kHz)30 min,放至室温,离心10 min(转速5 000 r/min),取上清液,待测。

1.4 电子舌测定方法

1.4.1 供试品溶液的前处理 将供试品溶液置于具塞锥形瓶中,水浴蒸干,残渣以水复溶,待测。为保证传感器的稳定输出以5 mmol/L氯化钾溶液为溶媒,将复溶液稀释至35 mL,加入10 mmol/L氯化钾至70 mL,置于电子舌专用烧杯(35 mL)中待测。所有样品均含有5 mmol/L氯化钾。

1.4.2 电子舌测定条件 白术苦味检测选用Taste Analysis System Application软件“Foodstuff_sensors”选项,电子舌电极使用COO苦味传感器,每个样品测量前电子舌系统均需完成正、负极清洗90 s;参比溶液清洗2次,每次120 s,共240 s。清洗后的样品测试时间为30 s,每1 s采集1次数据,选用第30 s数据作为测量值。每个样品做5次循环,去掉前2次循环,取后3次测量结果。以参比溶液作为对照值,运用Taste Analysis System Application软件中“Data correction”选项将结果修正,然后用“Transformation for taste information”选项将测试样品的电位值转化为味觉值后进行味觉特征分析。

1.5 液相色谱测定方法

1.5.1 对照品溶液的制备 精密称定适量4种白术对照品, 加甲醇配制质量浓度分别为0.20、0.01、0.01、0.02 mg/mL的苍术酮、白术内酯Ⅰ、白术内酯Ⅱ和白术内酯Ⅲ混合对照品溶液, 于-20℃避光保存。

1.5.2 液相色谱条件 参考文献方法^[14]并作优化。色谱柱: Hypersil C₁₈ HPLC柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: A相为0.1%磷酸水溶液, B相为乙腈; 流速: 1 mL/min; 进样量: 10 μL。洗脱梯度为: 0~2 min, 60%~70% B; 2~9 min, 70%~79% B; 9~15 min, 79%~95% B。柱温: 30℃; 检测波长: 白术内酯Ⅰ、白术内酯Ⅲ和苍术酮为230 nm, 白术内酯Ⅱ为270 nm。

1.6 总成分测定方法

参考文献^[15-16]测定总黄酮和总内酯, 总聚炔测定方法略作优化, 白术主要的聚炔母核为单烯-二炔-二烯共轭体系^[17], 使用紫外分光光度计对苍术素和白术样品进行全波长扫描, 通过最大吸收波长确定测定波长为344 nm。

1.7 分子对接方法

选择人类典型苦味受体亚型TAS2R1作为实验模板, 从AlphaFold2蛋白质结构数据库中下载TAS2R1蛋白的PDB文件, 通过AlphaFold2建模进行3D结构的预测。利用分子对接软件AutoDock Vina构建对照物白术内酯Ⅰ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅲ与TAS2R1受体的对接模型, 用半经验的自由能计算方法评价小分子与蛋白受体间的结合情况, 评分绝对值越高, 表明小分子与受体的亲和力越强^[18-19]。

1.8 数据处理

分子对接使用AlphaFold2和AutoDock Vina软件, Pearson分析和聚类分析参考文献^[20]方法采用SPSS v26.0软件, 实验数据和图像处理采用Excel 2019、PyMol 2.5.2和Origin 2021软件。

2 结果与讨论

2.1 白术苦味的测定

2.1.1 方法学考察 经方法学考察, 精密度、重复性、36 h稳定性实验的相对标准偏差(RSD)分别为1.7%、3.6%、1.4%, 均小于5.0%, 表明本方法可行。

2.1.2 电子舌测定结果 如图1A所示, 不同产地白术的苦味量化值为2.47~9.26, 批次间差异显著, 且具有地域分布规律, 省份之内苦味值表现较稳定, 不同省份间差异较大, 其中湖南平江术的苦味值最大, 河北安国白术次之, 安徽白术的苦味值较低。祁术的苦味与浙江白术、部分河南白术接近, 而安徽亳州白术与河南永城白术的苦味值低。

2.2 白术中4种指标性成分的测定

2.2.1 线性关系 以对照品的质量浓度为横坐标(x), 峰面积积分值为纵坐标(y), 进行线性回归分析。苍术酮、白术内酯Ⅰ、白术内酯Ⅱ和白术内酯Ⅲ的线性方程分别为 $y = 3.6927x + 2.9199$ 、 $y = 52.732x + 10.037$ 、 $y = 37.365x + 4.4029$ 、 $y = 17.835x + 5.6146$, 线性范围分别为14.875~461.029 μg/mL、0.502~8.573 μg/mL、0.578~6.881 μg/mL、1.856~18.963 μg/mL, 相关系数(r)均为0.999。混合对照品与白术样品溶液的色谱图见图2。

2.2.2 方法学考察 经方法学考察, 白术内酯Ⅰ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅲ和苍术酮的精密度实验RSD分别为1.8%、1.2%、1.6%、1.7%, 重复性实验RSD分别为2.1%、1.5%、2.3%、2.5%, 24 h稳定性实验RSD分别为2.3%、2.2%、2.0%、2.0%, 加标回收率实验RSD分别为3.0%、2.3%、3.3%、2.1%, 均小于5.0%; 加标回收率分别为94.1%、98.5%、97.8%、96.1%。表明实验方法可行。

2.2.3 样品测定 4种指标性成分的测定结果如表2所示。34批白术的白术内酯Ⅰ含量分布在0.077~1.369 mg/g之间, 白术内酯Ⅱ含量分布在0.068~1.872 mg/g之间, 白术内酯Ⅲ含量分布在0.119~3.770 mg/g之间, 苍术酮含量分布在0.066~2.241 mg/g之间, 不同批次间各药效成分含量存在较显著的差异。湖南平江白术中白术内酯Ⅰ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅲ的含量显著高于其他产地, 同时苦味值也最高, 提示其可能具有一定相关性。祁术中指标成分的含量与浙江白术相近, 综合“苦味”和“成分”方面的特征, 发现祁术质量与浙江白术最为接近。

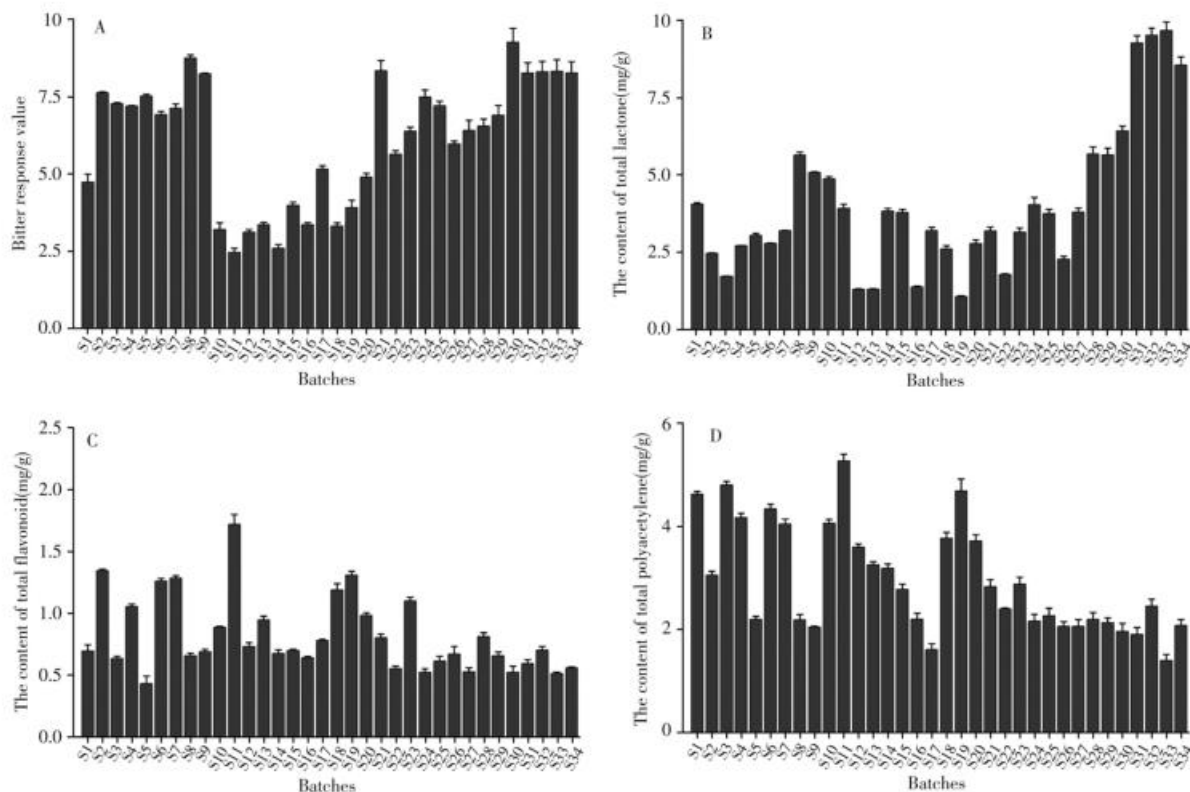


图1 34批次白术的苦味值(A)及总内酯(B)、总黄酮(C)、总聚炔(D)含量测定结果

Fig. 1 Determination results of bitterness(A), total lactone(B), total flavonoid(C) and total polyacetylene(D) in 34 batches of *Atractylodes macrocephala* Rhizoma

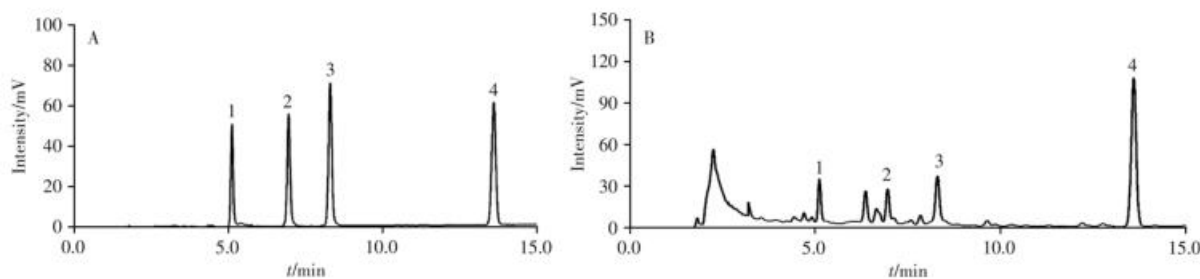


图2 混合对照品溶液(A)与白术样品溶液(B)的HPLC色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of mixed reference solution(A) and *Atractylodes macrocephala* Rhizoma sample solution(B)

1. atractylenolide III; 2. atractylenolide II; 3. atractylenolide I; 4. atractylon

2.3 白术三大类成分含量的测定

2.3.1 线性方程 以吸光度值为纵坐标, 白术内酯II的质量浓度为横坐标得总内酯的线性方程为 $y = 0.7180x + 0.1652$; 以吸光度值为纵坐标, 芦丁的质量浓度为横坐标得总黄酮的线性方程为 $y = 2.454x - 0.0403$; 以吸光度值为纵坐标, 苍术素的质量浓度为横坐标得总聚炔的线性方程为 $y = 1.965x - 0.0229$; 线性范围分别为 $0.10 \sim 0.90 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.05 \sim 0.35 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.10 \sim 0.50 \mu\text{g/mL}$, 相关系数(r)均为0.999。

2.3.2 方法学考察 经方法学考察, 总内酯、总黄酮和总聚炔的精密度实验RSD分别为0.12%、0.14%、0.17%, 重复性实验RSD分别为2.1%、2.3%、2.4%, 6 h稳定性实验RSD分别为3.2%、1.1%、3.0%, 加标回收率实验RSD分别为3.1%、1.1%、2.7%, 均小于5.0%; 加标回收率分别为104%、101%、103%。表明本方法可行。

2.3.3 含量测定 如图1B~D所示, 白术的总内酯含量分布在1.067~9.666 mg/g之间, 总黄酮含量分布在0.431~1.718 mg/g之间, 总聚炔含量分布在1.404~5.272 mg/g之间, 可知内酯类成分为含量最高的大类。对比苦味值和含量测定结果图得知, 湖南平江术的苦味值和总内酯含量均最高, 安徽白

术的苦味值和总内酯含量均最低, 提示苦味和总内酯含量可能具有一定相关性, 需进一步的相关性分析。

表2 34批白术样品中4种成分含量的测定结果(mg/g)

Table 2 Determination results of 4 components in 34 batches of *Atractylodes macrocephala* Rhizoma sample(mg/g)

No.	Atractylenolide I (白术内酯 I)	Atractylenolide II (白术内酯 II)	Atractylenolide III (白术内酯 III)	Atractylon (苍术酮)	No.	Atractylenolide I (白术内酯 I)	Atractylenolide II (白术内酯 II)	Atractylenolide III (白术内酯 III)	Atractylon (苍术酮)
S1	0.282	0.336	0.456	1.364	S18	0.111	0.068	0.119	0.409
S2	0.375	0.279	0.529	0.270	S19	0.210	0.124	0.198	0.511
S3	0.218	0.210	0.433	0.410	S20	0.157	0.084	0.147	0.280
S4	0.343	0.467	0.495	0.218	S21	0.375	0.783	1.936	0.066
S5	0.620	0.429	0.972	0.581	S22	0.288	0.175	0.428	0.357
S6	0.367	0.408	0.618	0.848	S23	0.430	0.381	0.764	0.209
S7	0.365	0.507	0.674	0.756	S24	0.593	0.748	1.678	0.245
S8	0.392	0.831	1.695	0.511	S25	0.506	0.448	0.921	0.305
S9	0.633	0.793	1.213	0.650	S26	0.365	0.298	0.473	0.207
S10	0.153	0.266	0.417	0.876	S27	0.077	0.261	1.560	0.218
S11	0.140	0.100	0.220	0.486	S28	0.612	0.692	1.532	0.451
S12	0.261	0.143	0.243	0.578	S29	1.369	1.366	1.588	0.406
S13	0.238	0.138	0.276	0.414	S30	0.862	1.698	3.652	0.333
S14	0.163	0.105	0.147	0.482	S31	0.862	1.698	3.652	0.252
S15	0.453	0.333	1.106	0.643	S32	0.819	1.618	3.321	0.433
S16	0.214	0.148	0.327	0.437	S33	0.832	1.730	3.770	0.401
S17	0.236	0.140	0.220	0.444	S34	0.898	1.872	3.506	2.241

2.4 白术化学成分含量与电子舌苦味的相关性分析及聚类分析

2.4.1 相关性分析

为探究白术苦味的药性物质基础, 将白术药材中4个成分含量及总内酯、总聚炔和总黄酮含量与苦味传感器测定值进行皮尔逊(Pearson)相关性分析, 结果见图3。由图可知, 白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III 的含量与苦味响应值呈显著正相关($p < 0.01$), 白术总内酯与苦味响应值呈正相关($p < 0.05$), 白术总聚炔与苦味响应值呈负相关($p < 0.05$), 苍术酮和总黄酮与苦味响应值无显著相关性。证明白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III 为潜在的白术苦味物质基础, 且白术苦味的物质基础可能是以白术内酯为主的内酯类成分。研究表明, 萜类化合物因含有内酯、内缩醛、内氢键、糖苷基等能形成螯合物的结构而具有苦味^[21], 白术内酯为倍半萜类化合物, 含有内酯环结构, 可能为其具有苦味的结构基础。现代药理学研究表明, 白术内酯具有调节胃肠道功能的功效^[22], 可促进胃肠运动, 内酯组分可能是其苦味药性的物质基础, 促进胃肠运动为其“味苦”(能泄、能燥)功能的体现。

根据相关性分析结果, 为进一步探究白术的苦味及苦味相关成分是否具有地域分布规律, 本研究以白术的苦味量化值和3种白术内酯以及白术总内酯的含量进行聚类分析, 采用系统聚类分析方法, 通过组间连接方法, 以平方欧氏距离作为样品相似性的判定, 分析结果见图4。通过聚类分析结果可知, 以欧式距离5为临界点时, 可将34批样品分为3类, 即S30、S31、S32、S33、S34聚为一类(2类), S29单独聚为一类(1类), 其余样品归为一类(3类)。S29单独聚为一类, 主要因其白术内酯 I 含量最高, 远超其他批次; 2类样品产地均为湖南, 苦味值及苦味成分含量较高; 3类样品为其他地区, 苦味值及苦味成分含量较低。以欧式距离3为临界点时, 其他产区又聚为3类, S2~S4、

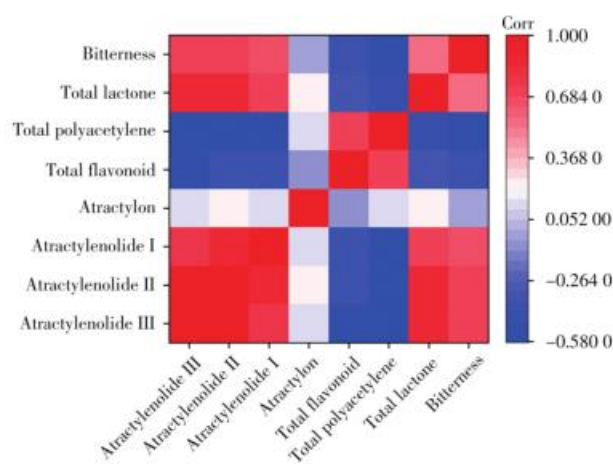


图3 白术苦味与各成分之间的相关性

Fig. 3 Correlation between bitterness and components of *Atractylodes macrocephala* Rhizoma

S6、S7、S22、S23、S26聚为一类，主要产地为河北北部，苦味值及苦味相关成分的含量较高；S1、S10~S14、S16~S20聚为一类，主要产地为安徽和河南，苦味值及苦味相关成分的含量最低；S5、S8、S9、S15、S21、S24、S25、S27、S28聚为一类，此类苦味值及苦味成分含量也较高，但产地较为分散。

聚类分析结果表明，苦味值及苦味成分含量有明显的地域分布规律，湖南产区的苦味值及苦味成分含量最高，河北产区次之，安徽和河南产区的苦味值及苦味相关成分含量最低。此外，聚类结果亦可对白术品种进行区分，苦味值及苦味成分含量的顺序为平江术>安国白术>浙江白术>祁术>河南白术≈亳术。

2.5 白术苦味成分与苦味受体的分子对接验证

人们对于苦味的感知是因为苦味化合物能激活G蛋白偶联的苦味受体TAS2Rs，TAS2Rs不同亚型的特征性构型使其能够辨别各种苦味化合物^[23]。本实验通过运用AutoDock Vina预测白术内酯与苦味受体TAS2Rs的结合，可验证白术内酯是否为苦味物质。白术内酯I、白术内酯II和白术内酯III的对接结合能分别为-8.3、-8.2、-8 kcal/mol，可认为白术内酯I、II、III与蛋白质受体有效对接^[24-26]。使用可视化软件PyMol 2.5.2对对接结果进行分析(如图5)，结果显示配体具体作用位点为GLN-175、ILE-176、LYS-244、LEU-247和LYS-251，主要作用力为疏水作用和盐桥作用。生源上，白术内酯III为白术内酯I的氧化产物，白术内酯II为白术内酯III的脱水产物，三者的化学结构差异小，因此与苦味受体TAS2Rs对接结合能的差异较小。

3 结 论

本研究采用电子舌评价技术和分子对接验证方法，通过味觉信息和化学成分的“谱味”相关性确定白术的关键苦味物质基础为白术内酯I、白术内酯II和白术内酯III，且白术苦味的物质基础可能是以白术内酯为主的内酯类成分。祁术的苦味值与浙江白术、部分河北安国白术接近，而安徽亳州白术与河南永城白术的苦味值低。综合“成分”和“苦味”方面的特征，发现与祁术质量最为接近的是浙江白术。本实验通过化学成分分析和电子舌技术的结合，探讨“苦味”化学成分与“苦味”受体的相互作用及其分子机制，从分子层面揭示白术“苦味”的物质基础，为中药味觉物质基础研究提供了可参考的模式，为“苦味”药材以及“苦味”受体的实验研究提供了借鉴。

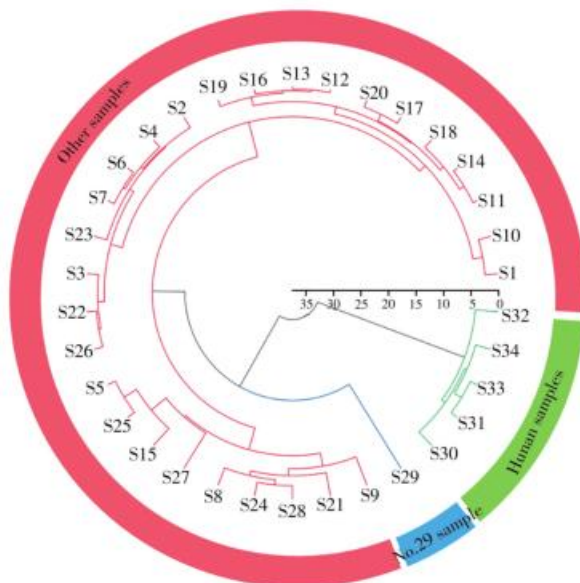


图4 34批白术样品的苦味参数聚类分析
Fig. 4 Cluster analysis of bitter parameters of 34 batches of *Atractylodes macrocephala* Rhizoma sample

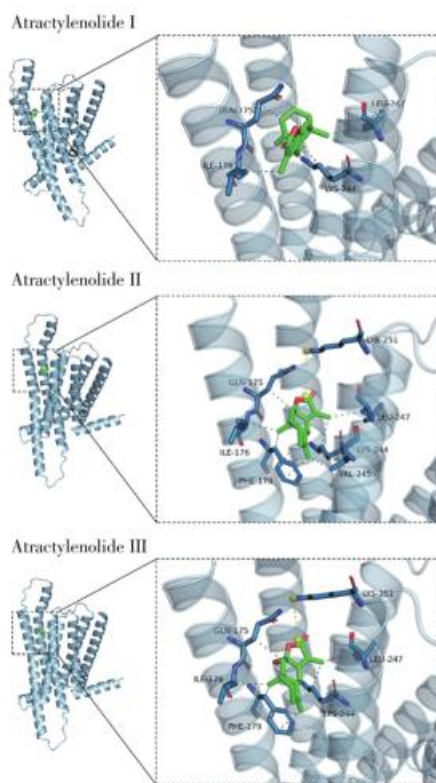


图5 白术内酯I、II、III与TAS2Rs受体对接示意图
Fig. 5 Schematic diagram of atractylenolide I, II, III and TAS2Rs receptor docking

参考文献:

- [1] Zhang T J, Liu C X. *Chin. Tradit. Herb. Drugs*(张铁军, 刘昌孝. 中草药), **2015**, 46(1): 1–6.
- [2] Liu C X, Zhang T J, He X, Chen C Q, Xu J, Tian C W. *Chin. Tradit. Herb. Drugs*(刘昌孝, 张铁军, 何新, 陈常青, 许浚, 田成旺. 中草药), **2015**, 46(5): 615–624.
- [3] Jiang H Y, Zhang M, Bhesh B, Benu A. *Food Rev. Int.*, **2018**, 34(8): 746–769.
- [4] Jing W G, Zhao X L, Zhang Q, Cheng X L, Ma S C. *Mod. Chin. Med.*(荆文光, 赵小亮, 张权, 程显隆, 马双成. 中国现代中药), **2022**, 24(2): 258–264.
- [5] Yang L P, Ni N, Hong Y L, Wu F, Shen L. *Chin. Tradit. Pat. Med.*(杨露萍, 倪妮, 洪燕龙, 吴飞, 沈岚. 中成药), **2021**, 43(7): 1805–1811.
- [6] Mei G L, Chen N, Yao J, Fang C W. *Guangzhou Chem. Ind.*(梅桂林, 陈娜, 姚洁, 方成武. 广州化工), **2020**, 48(21): 77–84.
- [7] Chinese Pharmacopoeia Commission. *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*. Beijing: China Medical Science and Technology Press(国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 北京: 中国医药科技出版社), **2020**.
- [8] Tao H J. *Collection of Herbal Classics*. Beijing: People's Medical Publishing House(陶弘景. 本草经集注. 北京: 人民卫生出版社), **1994**: 197.
- [9] Zhang J B. *Jing Yue Book Series Eight*. Beijing: China Medical Science and Technology Press(张介宾. 景岳全书系列之八. 北京: 中国医药科技出版社), **2017**: 3.
- [10] Zhang Z C. *Herbal Chongyuan*. Beijing: Xueyuan Publishing House(张志聪. 本草崇原. 北京: 学苑出版社), **2011**: 7.
- [11] Liu W T. *Essentials of Imperial Herbal Medicine Collection*. Shanghai: Shanghai Science Publishing House(刘文泰. 御制本草品汇精要. 上海: 上海科学出版社), **2005**: 190.
- [12] Jia S X. *Drug Meaning*. Beijing: Xueyuan Publishing House(贾所学. 药品化义. 北京: 学苑出版社), **2011**: 66.
- [13] Lai C J S, Peng H S, Wei X Y, Chen J L, Nian S H, Zhao M, Xie J B, Yang B. *Chin. J. Exp. Tradit. Med. Formulae*(赖长江生, 彭华胜, 魏旭雅, 陈金龙, 年四辉, 赵明, 解军波, 杨滨. 中国实验方剂学杂志), **2020**, 26(18): 133–138.
- [14] Shao Z Y, Zhang J, Wu D L, Huang Q, Zhang W, Xu F Q, Zhao H S. *J. Anhui Univ. Chin. Med.*(邵志愿, 章娟, 吴德玲, 黄琪, 张伟, 许凤清, 赵宏苏. 安徽中医药大学学报), **2020**, 39(1): 84–87.
- [15] Du Y F, Xin S S, Dong Y, Peng L, Sun W, Fan W, Lin Y D, Liu H C, Yang Z. *J. Inner Mongolia Med. Univ.*(杜银飞, 信莎莎, 董玉, 彭璐, 孙伟, 樊玮, 林盈达, 刘红彩, 杨峥. 内蒙古医科大学学报), **2017**, 39(2): 141–144.
- [16] Sun G Q, Liu J Y, Wu F M, Zhang Q Y, Ma X T, Zhang X Y, Hong Y Q, Yao N, Yang J W, Liu X M. *Chin. Tradit. Herb. Drugs*(孙国庆, 刘建雨, 吴发明, 张庆宇, 马鑫彤, 张馨月, 洪瑛琪, 姚娜, 杨建文, 刘秀明. 中草药), **2022**, 53(1): 222–230.
- [17] Yao Z M, Chen W D, Yang Z H, Jiang C J, Li N N, Guo Y, Wang D L, Liu C X. *Chin. Tradit. Herb. Drugs*(姚兆敏, 陈卫东, 仰忠华, 蒋成君, 李妮妮, 郭艳, 汪电雷, 刘昌孝. 中草药), **2019**, 50(19): 4796–4806.
- [18] Zeng D, Xin J B, Yang K Y, Guo S X, Wang Q, Gao Y, Chen H Q, Ge J Q, Lu Z, Zhang L M, Chen J Y, Chen Y X, Xia N S. *Viruses*, **2022**, 14(6): 1305.
- [19] Chen J, Li W, Liu Z, Jiang Y Q, Xing Q C. *J. Guangdong Pharm. Univ.*(陈佳, 李伟, 刘征, 江雅琴, 邢琪昌. 广东药科大学学报), **2020**, 36(4): 515–518.
- [20] Guo S C, Zheng Y Z, Guo R, Zeng X H, Liang H F, Chen Y D, Yang Y K, Dong T X, Wang H Y, Tsim W K. *J. Instrum. Anal.*(郭舒臣, 郑玉忠, 郭瑞, 曾鑫海, 梁惠芬, 陈奕东, 杨应楷, 董婷霞, 王怀友, 詹华强. 分析测试学报), **2021**, 40(1): 10–18.
- [21] Behrens M, Ziegler F. *Molecules*, **2020**, 25(19): 4423.
- [22] Chen J, Dou D Q. *J. Chin. Med. Mater.*(陈静, 窦德强. 中药材), **2019**, 42(7): 1702–1708.
- [23] Wang Y Q, Jing Y. *World Latest Med. Inf.*(王雅倩, 敬洋. 世界最新医学信息文摘), **2019**, 19(6): 32–33.
- [24] Li X H, Su J S, Liu X H, Long W, Zou Z M, Meng X L, Zhang Y, Tang C. *China J. Chin. Mater. Med.*(李轩豪, 苏锦松, 刘秀华, 龙伟, 邹忠梅, 孟宪丽, 张艺, 唐策. 中国中药杂志), **2019**, 44(15): 3157–3161.
- [25] Robertson A J, Courtney J M, Shen Y, Ying J F, Bax A. *Food Rev. Int.*, **2021**, 143(46): 19306–19310.
- [26] Liu H Y, Tang L, Xie S W, Zhang W Q, Yi Z S, Li X, Shan Y. *J. Instrum. Anal.*(刘红艳, 唐琳, 谢世伟, 张文强, 易忠胜, 李霞, 单杨. 分析测试学报), **2020**, 39(3): 323–329.