

# 制剂用水蛭原粉掩味前后主要腥臭异味物质的变化分析

范建伟, 刘武占, 李艳芳, 苏瑞强\*

(鲁南制药集团股份有限公司, 中药制药共性技术国家重点实验室, 山东省中药制药新技术重点实验室, 山东 临沂 276006)

**[摘要]** 目的:探讨应用 $\beta$ -环糊精包合技术掩蔽制剂用水蛭原粉腥臭异味的作用及效果。方法:在通过气相色谱法验证 $\beta$ -环糊精对正己醛、三甲胺2种成分的包合作用基础上,分析水蛭原粉经 $\beta$ -环糊精掩味处理前后正己醛、三甲胺的溶出变化情况。结果:正己醛、三甲胺作为水蛭原粉中腥臭异味物质的主要组成成分,其质量分数分别为0.02,0.09  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ;正己醛包合物水相中未检出正己醛成分,同样三甲胺包合物水相中仅能检出微量三甲胺;水蛭原粉与 $\beta$ -环糊精共研磨后所得水蛭混合粉水相中均未检出游离的正己醛和三甲胺成分。结论: $\beta$ -环糊精能对正己醛、三甲胺等低分子腥臭异味成分达到有效包合作用。 $\beta$ -环糊精可用作气味掩蔽剂,在生产中合理添加后可达到有效掩蔽药材原粉及其制剂不良气味的目的。

**[关键词]** 水蛭; 气相色谱法; 正己醛; 三甲胺;  $\beta$ -环糊精; 气味掩蔽剂

**[中图分类号]** R22;R289;R283.6;R944.2;R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)06-0022-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20180605

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171226.1413.023.html>

**[网络出版时间]** 2017-12-27 15:20

## Analysis on Changes of Main Stench Compounds from Hirudo Raw Powder in Traditional Chinese Medicine Preparations Before and After Being Taste-masked

FAN Jian-wei, LIU Wu-zhan, LI Yan-fang, SU Rui-qiang\*

(Shandong Provincial Key Laboratory of New Manufacture Technology of Traditional Chinese Medicine (TCM), State Key Laboratory of Generic Manufacture Technology of TCM, Lunan Pharmaceutical Group Co. Ltd., Linyi 276006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To discuss the function and effect on the application of  $\beta$ -cyclodextrin to mask the smell of stench in Hirudo raw powder. **Method:** GC analysis was used to test the inclusion effect of  $\beta$ -cyclodextrin on hexanal and trimethylamine, respectively. And dissolution changes of hexanal and trimethylamine in Hirudo raw powder before and after being treated with  $\beta$ -cyclodextrin were analyzed by GC. **Result:** Hexanal and trimethylamine were attributed to the main stench compounds in Hirudo raw powder, and their contents were 0.02, 0.09  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , respectively. Hexanal and trimethylamine were not detected in aqueous phases of hexanal inclusion complex with  $\beta$ -cyclodextrin, and only trace trimethylamine was detected in aqueous phases of trimethylamine inclusion complex with  $\beta$ -cyclodextrin. Meanwhile, both of free hexanal and trimethylamine were not detected in aqueous phases of mixed Hirudo powder by co-grinding with  $\beta$ -cyclodextrin. **Conclusion:** As representative of low molecular stench components, hexanal and trimethylamine can be efficiently included with  $\beta$ -cyclodextrin, and  $\beta$ -cyclodextrin can be applied as an odor masking agent to effectively mask unpleasant smells in traditional Chinese medicine preparations when added properly in the production.

**[Key words]** Hirudo; gas chromatography; hexanal; trimethylamine;  $\beta$ -cyclodextrin; odor masking agent

**[收稿日期]** 20170507(005)

**[基金项目]** 山东省自主创新及成果转化专项(创新型产业集群)计划项目(2015ZDJQ05003)

**[第一作者]** 范建伟, 硕士, 从事中药新药开发与质量控制研究, Tel:0539-8336639, E-mail: lunanfanjianwei@163.com

**[通信作者]** \* 苏瑞强, 研究员, 从事中药研发及其关键技术推广应用研究, Tel:0539-8336079, E-mail: ruiqianguo@163.com

在中药制剂制备过程中,特别是丸剂、片剂、胶囊剂等中药固体制剂,针对处方中的贵重药材,以其原粉形式直接入药的工艺较为普遍。水蛭作为临床常用的动物类贵重药材之一,始载于《神农本草经》,称其能“主逐恶血、瘀血、月闭,破血瘕积聚,无子,利水道”<sup>[1]</sup>。在现代临床上,水蛭已被广泛用于冠心病、心绞痛、脑血管疾病、骨伤疾病及肿瘤等方面的治疗<sup>[2]</sup>。据统计,在 2015 年版《中国药典》中,以水蛭作为处方药味组成的中成药品种共计 18 个,且抗栓再造丸、豨莶通栓丸、化癥回生片、脑心通胶囊、通心络胶囊、血栓心脉宁胶囊等 10 余个品种中,均是全部或部分的水蛭原粉直接制剂成型。然而因水蛭本身固有的腥臭异味较为显著,致使以水蛭原粉入药的中成药产品普遍存在着临床依从性及耐受性差的问题,患者在服用后易出现恶心、呕吐等不适反应。

目前,关于水蛭中腥臭异味物质成分的研究尚未见报道,但考虑到水蛭药材的原动物生活习性及其产地加工特点,并结合其他水产品中腥臭异味物质组成及其形成机制,推测正己醛等低分子醛类物质、三甲胺等低分子生物胺类物质应为水蛭腥臭异味物质的主要组成<sup>[3-7]</sup>。 $\beta$ -环糊精具有“内疏水、外亲水”的特殊桶状结构,能与多种空间尺寸适合的有机小分子形成主客分子弱作用的包合物,具有掩盖药物不良气味、增加药物溶解度、提高药物稳定性、提高药物生物利用度等作用,已被广泛用于制药、食品加工等领域<sup>[8-11]</sup>。基于此,本实验选择正己醛和三甲胺为指标成分,采用气相色谱法(GC)分别考察并验证 $\beta$ -环糊精对水溶液中正己醛和三甲胺 2 个成分的包合作用,分析 $\beta$ -环糊精处理前后水蛭药粉中正己醛和三甲胺 2 种成分的变化情况,以验证 $\beta$ -环糊精对水蛭原粉腥臭异味的掩蔽效应,为不良嗅味中药及其制剂的掩味剂开发提供参考。

## 1 材料

GC-2010 型气相色谱仪和 HS-20 型顶空进样器(日本 Shimadzu 公司),AG285 型电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司),PM180R 型高速冷冻离心机(意大利 ALC 公司),GZX-9140MBE 型电热鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司),DFT-100 型中药粉碎机(温岭市大德中药机械有限公司),78HW-1 型恒温磁力搅拌器(杭州仪表电机有限公司)。

水蛭药材采集于江苏宝应地区,经鲁南制药集团李守信高级工程师鉴定为水蛭科动物蚂蝗 *Whitmania pigra* 的干燥全体,凭证标本保存于鲁南

制药集团中药制药共性技术国家重点实验室; $\beta$ -环糊精(药用级,安徽山河药用辅料股份有限公司),正己醛(美国 Sigma 公司,批号 S88145,纯度  $\geq 98\%$ ),三甲胺水溶液(天津市科密欧化学试剂有限公司,批号 201501,纯度 30%),水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 采用 Agilent HP-5 弹性石英毛细管柱(0.25 mm  $\times$  30 m, 0.25  $\mu$ m),进样口温度 200  $^{\circ}$ C,检测器温度 250  $^{\circ}$ C,分流进样的分流比 20:1,载气为高纯氮,载气流量 0.8 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>;柱温采用程序升温,初始温度 30  $^{\circ}$ C,以 5  $^{\circ}$ C  $\cdot$  min<sup>-1</sup> 升温至 140  $^{\circ}$ C,以 10  $^{\circ}$ C  $\cdot$  min<sup>-1</sup> 升温至 220  $^{\circ}$ C,保持 8 min。

**2.2 水蛭药粉的制备** 将水蛭药材低温干燥至手折易断为度,机械粉碎,过 200 目筛,得水蛭原粉;取水蛭原粉适量与 $\beta$ -环糊精按质量比 1:1 共置研钵中进行机械研磨混合,并参照中药散剂的外观均匀度检查方法<sup>[12]</sup>,将混合粉末研磨至色泽均匀一致,得水蛭混合粉。

### 2.3 正己醛的分析

**2.3.1 正己醛包合物的制备** 取 $\beta$ -环糊精 2 g,置 100 mL 烧杯中,加水 50 mL,搅拌使溶解,以封口膜密封杯口,其上留有一小孔;另取正己醛 0.1 g,以少量乙醇溶解,在搅拌下经封口膜上小孔缓慢滴加至 $\beta$ -环糊精溶液中,滴完后继续搅拌 30 min,冷置 24 h,抽滤,加适量水洗涤,抽干,得正己醛包合物,滤液备用。

**2.3.2 正己醛对照品溶液的制备** 称取正己醛 0.1 g,置 100 mL 量瓶中,加乙酸乙酯稀释并定容至刻度,摇匀,即得。

**2.3.3 正己醛供试品溶液的制备** 取 2.3.1 项下正己醛包合物及滤液,分别置于挥发油提取装置中,各加水至总液量约 200 mL,各加入乙酸乙酯 2 mL,按 2015 年版《中国药典》(四部)通则 2204“挥发油测定法”操作,提取 3 h,收集乙酸乙酯液,分别置于 100 mL 量瓶中,加乙酸乙酯定容至刻度,摇匀,依次得正己醛供试品溶液 I 和 II。

**2.3.4 水蛭供试品溶液的制备** 取水蛭原粉 10 g 和水蛭混合粉 20 g,分别置于 250 mL 烧杯中,各加水 100 mL,以封口膜密封杯口,搅拌 60 min,静置,离心(5 000 r  $\cdot$  min<sup>-1</sup>, 5 min,下同),分别得到原粉固形物、原粉水液、混合粉固形物和混合粉水液共 4 种样品。将上述 4 种样品依次置于挥发油提取装置中,各加水至总液量约 200 mL,各加入乙酸乙酯

2 mL,按 2015 年版《中国药典》(四部)通则 2204 “挥发油测定法”操作,提取 3 h,收集乙酸乙酯液,依次作为水蛭供试品溶液 I, II, III, IV。

**2.3.5 正己醛的 GC 分析** 取上述对照品溶液和各供试品溶液各 1  $\mu\text{L}$ ,按 2.1 项下色谱条件进样分析,记录色谱图。计算水蛭原粉所含正己醛的质量分数为  $0.02 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ;正己醛包合物中所检出的正己醛含量与对照品基本持平,且其相应滤液中未检出正己醛;水蛭原粉固形物、原粉水液及混合粉固形物中均可检出正己醛,但水蛭混合粉水液中未能检出正己醛。各样品的色谱图见图 1。

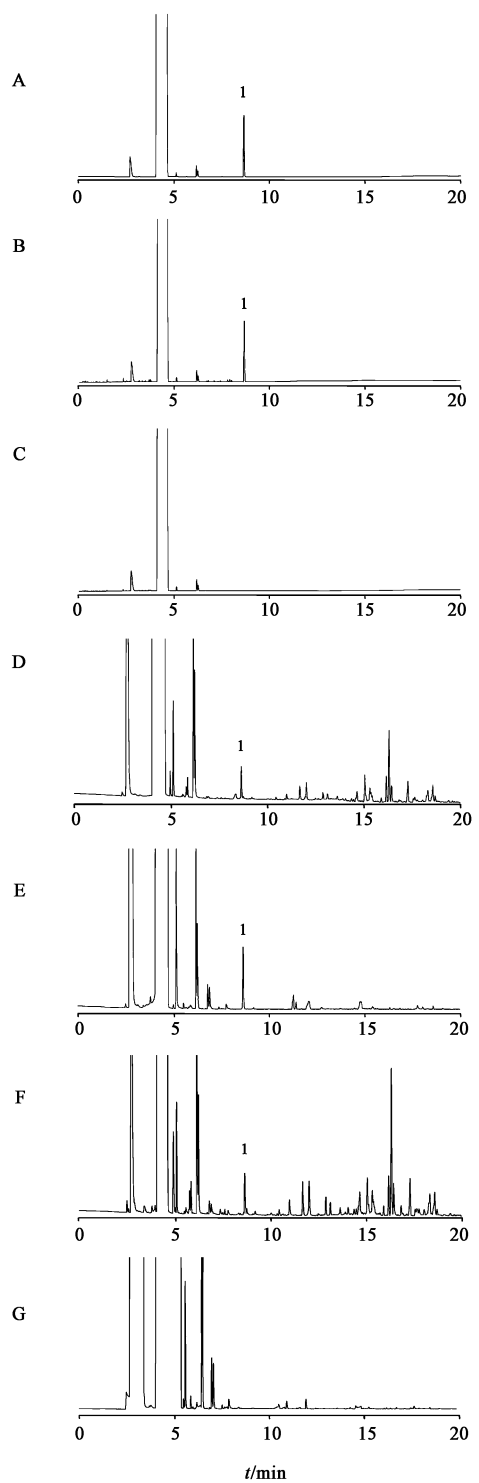
### 2.4 三甲胺的分析

**2.4.1 三甲胺对照品溶液的制备** 取 30% 三甲胺水溶液 4 mL,置于 25 mL 量瓶中,加水稀释并定容至刻度,摇匀,从中精密量取 3 mL 至 100 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,得三甲胺储备液。精密吸取该储备液 3 mL,置于 20 mL 顶空进样瓶中,加入氢氧化钠 2 g,加盖密封后于  $40\text{ }^\circ\text{C}$  恒温平衡 30 min,作为三甲胺对照品溶液。

**2.4.2 三甲胺供试品溶液的制备** 取 2.4.1 项下三甲胺储备液 50 mL,置于 100 mL 烧杯中,加入  $\beta$ -环糊精 2 g,以封口膜密封杯口,搅拌 60 min,静置,离心,取上清液 3 mL,置于 20 mL 顶空进样瓶中,加入氢氧化钠 2 g,加盖密封后于  $40\text{ }^\circ\text{C}$  恒温平衡 30 min,制得三甲胺供试品溶液 I;另将上述离心所得沉淀物加水洗涤,抽干,置于 20 mL 顶空进样瓶中,加水 3 mL,同法制得三甲胺供试品溶液 II。

**2.4.3 水蛭供试品溶液的制备** 取水蛭原粉 1 g,置于 20 mL 顶空进样瓶中,加水 3 mL,加入氢氧化钠 2 g,加盖密封后于  $40\text{ }^\circ\text{C}$  恒温平衡 30 min,作为水蛭供试品溶液甲。取水蛭混合粉 10 g,置于 100 mL 烧杯中,加水 50 mL,以封口膜密封杯口,搅拌 60 min,静置,离心,取上清液 3 mL,置于 20 mL 顶空进样瓶中,同法制得水蛭供试品溶液乙;另将上述离心所得沉淀物以水洗涤,抽干,称取 2 g 置于 20 mL 顶空进样瓶中,加水 3 mL,同法制得水蛭供试品溶液丙。

**2.4.4 三甲胺的 GC 分析** 取上述对照品溶液及各供试品溶液适量,按 2.1 项下色谱条件顶空进样分析。计算水蛭原粉所含三甲胺的质量分数为  $0.09 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ;与三甲胺对照品相比,三甲胺包合物中检得的三甲胺略微偏低,且其相应离心液中仅能检出微量三甲胺;水蛭原粉及离心后水蛭混合粉中均可检出三甲胺,且所测含量二者基本相当,但水蛭混合粉离心液中未能检出三甲胺。各样品测得的色



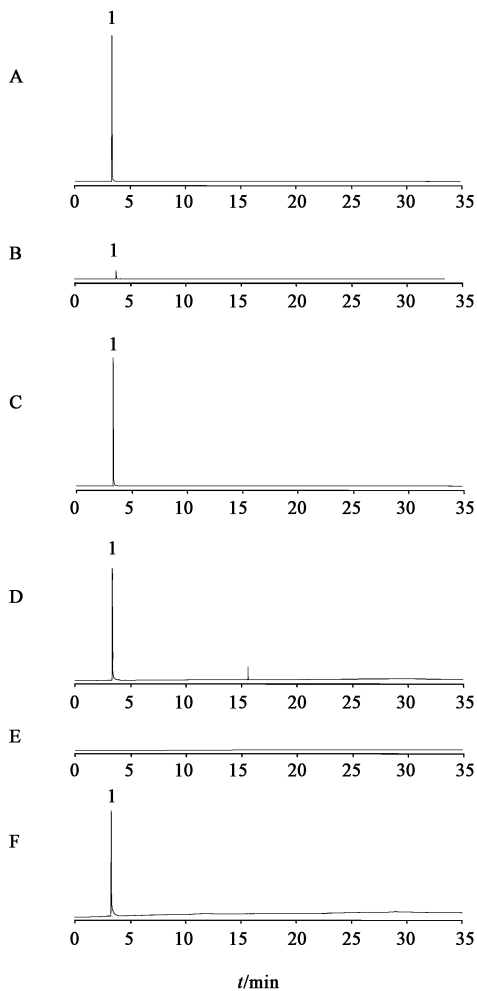
A. 对照品;B. 正己醛供试品 I;C. 正己醛供试品 II;D. 水蛭供试品 I;E. 水蛭供试品 II;F. 水蛭供试品 III;G. 水蛭供试品 IV;1. 正己醛  
图 1 正己醛对照品及各供试品的 GC

Fig. 1 GC chromatograms of hexanal reference substance and related samples

谱图见图 2。

### 3 讨论

在诸多中药制剂中,往往含有一定比例的中药



A. 对照品; B. 三甲胺供试品 I; C. 三甲胺供试品 II; D. 水蛭供试品甲; E. 水蛭供试品乙; F. 水蛭供试品丙; 1. 三甲胺

图2 三甲胺对照品及各供试品的 GC

Fig. 2 GC chromatograms of trimethylamine reference substance and related samples

材原粉,但因某些中药材固有苦味、涩味、腥臭异味等不良气味的影 响,使得此类中药制剂存在口感欠佳、用药依从性差的缺点。为改善制剂口感,提高患者用药依从性,基于  $\beta$ -环糊精包合原理的矫味技术得到了普遍应用。有研究者曾对一个动物生药粉直接入药的颗粒剂进行矫味研究,证明  $\beta$ -环糊精可有效去除动物药带来的腥臭味<sup>[13]</sup>。

鉴于本公司内脉络舒通制剂同样因含有水蛭原粉而致口感差、胃肠刺激大的问题,本研究在验证  $\beta$ -环糊精对正己醛、三甲胺 2 种成分能达到有效包合基础上,以二者作为评价指标,进一步考察了应用共研磨技术后  $\beta$ -环糊精对水蛭原粉中腥臭异味成分的吸附、包合作用。结果表明正己醛等低分子醛类和三甲胺等低分子生物胺类物质应为水蛭腥臭异味物质的主要组成;水蛭原粉与  $\beta$ -环糊精共研磨混

合后,在其混合粉水相中,相关腥臭异味成分能与  $\beta$ -环糊精充分发生吸附、包合作用,进而达到被有效掩蔽。水蛭共研磨混合粉制备过程中物料配比、粉体学基本性质的变化及掩蔽矫味的效果评价则有待进一步研究。此外,本研究考虑正己醛极性小、沸点高而三甲胺极性大、沸点低的理化特点,在对其进行 GC 检测时,分别采用了直接进样和顶空进样的方式,避免了直接进样时对三甲胺的干扰,以保证二者均能有效检测。

综上所述, $\beta$ -环糊精可作为优良的气味掩蔽剂,在制剂生产中通过合理添加可达到有效掩蔽药物腥臭异味等不良气味的目的。本研究已初步应用于本公司内脉络舒通制剂、金藤清痹制剂等产品中,在改善制剂口感、提高患者用药依从性方面取得了显著成效,且对其他中药制剂的矫味研究具有一定的借鉴与指导意义。

[参考文献]

- [1] 佚名. 神农本草经[M]. 顾观光, 辑. 北京: 学苑出版社, 2007: 300-301.
- [2] 李翠珍. 中药水蛭的炮制研究和临床应用[J]. 基层医学论坛, 2014, 18(11): 1444-1445.
- [3] 周益奇, 王子健. 鲤鱼体中鱼腥味物质的提取和鉴定[J]. 分析化学, 2006, 34(s1): 165-167.
- [4] 张金海. 顶空气相色谱法测定咸鱼中正己醛含量样品前处理条件的优化[J]. 大连海洋大学学报, 2015, 30(2): 216-220.
- [5] 李兆杰. 水产品化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 101-102.
- [6] 李松林. 壳聚糖对黄鳝冷藏保鲜效果的研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(12): 429-431.
- [7] 王国超, 李来好, 郝淑贤, 等. 水产品腥味物质形成机理及相关检测分析技术的研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(5): 401-404, 409.
- [8] 汤丹丹, 李纳, 王丽雯, 等. 药物分子对羟丙基- $\beta$ -环糊精复合包合物的影响[J]. 中国中药杂志, 2014, 40(15): 2893-2899.
- [9] 李学林, 王盼盼, 刘瑞新, 等. 3 种掩味剂单独或联合应用对黄柏的掩味作用探究及掩味前后化学成分的比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(2): 7-11.
- [10] Ono N, Miyamoto Y, Ishiguro T, et al. Reduction of bitterness of antihistaminic drugs by complexation with  $\beta$ -cyclodextrins [J]. J Pharm Sci, 2011, 100(5): 1935-1943.
- [11] 施钧瀚, 张杏芳, 仇继玺, 等.  $\beta$ -环糊精对几种苦味中药的掩味作用考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(12): 1-4.
- [12] 张兆旺. 中药药剂学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 92.
- [13] 刘斌斌, 简晖, 田佳明, 等. 中药矫味与掩味技术的研究进展及问题分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(16): 229-234.

[责任编辑 刘德文]