

• 药剂与工艺 •

中药制剂银杏叶滴丸的安慰剂制备及模拟效果评价

孙明月¹, 陆芳¹, 赵阳¹, 柴露露¹, 李庆娜¹, 张建兵^{2,3}, 王青青^{2,3}, 杨韬炜³, 高蕊^{1*}

1. 中国中医科学院西苑医院, 北京 100091

2. 万邦德制药集团股份有限公司, 浙江 温岭 317599

3. 万邦德制药集团杭州医药技术有限公司, 浙江 杭州 310012

摘要: 目的 探索中药制剂银杏叶滴丸安慰剂的制备方法, 并客观评价其模拟效果, 为中药安慰剂的研制及评价方法提供参考。方法 以银杏叶滴丸安慰剂制备为例, 通过试验药物可能性、安慰剂与试验药的相似性评价、药物间的相似程度分析 3 种方法, 从外观、颜色、气味和口味多个方面对其进行模拟效果评价。结果 2 种处方的安慰剂与银杏叶滴丸原药的相似度较高, 在外观、颜色、气味和口味方面与原药基本一致, 且处方 2 [苦味剂蔗糖八乙酸酯 0.6 g, 着色剂焦糖 2.1 g, 填充剂聚维酮 (PVP) K30 13.3 g, 水溶性基质聚乙二醇 (PEG) 4000 44.0 g, 制 1 000 丸] 安慰剂的模拟效果较处方 1 (苦味剂蔗糖八乙酸酯 1.2 g, 着色剂焦糖 2.1 g, 填充剂 PVP K30 12.7 g, 水溶性基质 PEG 4000 44.0 g, 制 1 000 丸) 更好。结论 银杏叶滴丸安慰剂的研制填补了目前中药滴丸剂型安慰剂的空缺, 本安慰剂能够满足随机对照临床试验对安慰剂的要求, 为中药安慰剂的制备及模拟效果评价提供了可参考的方法及思路。

关键词: 中药安慰剂; 模拟效果; 银杏叶滴丸; 临床试验; 可能性评价; 相似性评价; 相似程度分析; 外观; 颜色; 气味; 口味; 随机对照

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)20-4884-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.20.007

Preparation and simulation effect evaluation of placebos for *Ginkgo Folium* Dropping Pills

SUN Ming-yue¹, LU Fang¹, ZHAO Yang¹, CHAI Lu-lu¹, LI Qing-na¹, ZHANG Jian-bing^{2,3}, WANG Qing-qing^{2,3}, YANG Tao-wei³, GAO Rui¹

1. Xiyuan Hospital, Chinese Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China

2. Wanbangde Pharmaceutical Group Co., Ltd., Wenling 317599, China

3. Wanbangde Pharmaceutical Group Hangzhou Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Hangzhou 310012, China

Abstract: Objective To explore the placebo-preparation method of *Ginkgo Folium* Dropping Pills (GFDP) and evaluate its simulation effect objectively, which could provide production and evaluation reference for Chinese materia medica (CMM) placebo. **Methods** Taking the placebo-preparation of GFDP as an example, the simulation effect was evaluated from aspects of appearance, color, smell, and taste. It employed three different approaches as possibility of experimental drug, similarity evaluation between placebo and experimental drug and the similarity analysis among the drugs. **Results** The two placebo-preparation prescriptions of GFDP have high similarity with the original drug in terms of appearance, color, smell, and taste. The simulation effect of No. 2 placebo-prescription (0.6 g of sucrose octaacetate as bitter agent, 2.1 g of caramel as colorant, 13.3 g of PVP K30 as filler and 44.0 g of PEG 4000 as water-soluble bases to prepare 1 000 pills) is better than No. 1 placebo-prescription (1.2 g of sucrose octaacetate as bitter agent, 2.1 g of caramel as colorant, 12.7 g of PVP K30 as filler, and 44.0 g of PEG 4000 as water-soluble bases to prepare

收稿日期: 2019-05-29

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目 (2017YFC1703703); 国家“重大新药创制”项目 (2017ZX09304003); 中医药临床研究及培训国际合作基地 (北京) 项目 (GZYYGJ2017010)

作者简介: 孙明月, 在站博士后, 研究方向为中药临床药理。E-mail: sun_moon25@163.com

*通信作者 高蕊, 教授, 主任医师, 研究方向为中药临床药理。E-mail: ruigao@126.com

1 000 pills). **Conclusion** The placebo-preparation of GFDP conform to placebo requirements of randomized controlled trials. It fills the vacancy of dropping pills form placebo-preparation in CMM and provides method and idea for placebo-preparation and simulation-effect evaluation of CMM.

Key words: traditional Chinese medicine placebo;simulation effect; *Ginkgo Folium* Dropping Pills; clinical trial; probability evaluation; similarity evaluation; similarity degree analysis; appearance; color; smell; taste; randomized control

随着循证医学的发展,为使中医药能得到更广泛的认可,在中医药临床试验研究中需遵循随机、对照、双盲及重复的基本原则^[1],在不同的临床研究阶段,研究者应根据研究目的选择适宜的研究方法,科学合理的临床试验设计才能更好地证明中医药的有效性、安全性等临床问题。安慰剂的设置可有效避免偏倚^[2],是实施双盲的关键环节,而安慰剂的制备水平,决定了受试者及研究者在盲法实施过程中破盲的几率,因此要求安慰剂应与试验药在外观、色泽、气味和味道上尽可能保持一致。与成分性质单一的化学药安慰剂相比,中药制剂具有天然药物的特有色泽、气味和味道,很难使用完全无治疗作用的成分来模拟,使其安慰剂的制备较为困难^[3]。本研究通过对临床试验用药银杏叶滴丸安慰剂的研发制备与模拟效果评价,进一步探索中药安慰剂的制备与评价方法,为中医药安慰剂的研制与应用提供参考。

1 仪器与试药

DWJ-2000S-DP 多功能滴丸机,烟台百药泰中药科技有限公司;BG-20H 滚筒式包衣机,浙江江南制药机械有限公司。

银杏叶滴丸,药用级,批号 A20170510,万邦德制药集团股份有限公司;蔗糖八乙酸酯,食品级,批号 NJ816,美国康生物制品有限公司;焦糖,食品级,批号 20170921,广州市威伦食品有限公司;聚维酮 K30 (PVP K30,批号 20160903)、PVP K90 (批号 20160827)、可溶性淀粉 (批号 170610)、玉米淀粉 (批号 170604)、普通药用淀粉 (批号 170608),药用级,湖北展望药业有限公司;聚乙二醇 4000 (PEG 4000),药用级,批号 FS170411062,辽宁奥克医药辅料股份有限公司;泊洛沙姆 188 (P188),试剂级,批号 P33420170711,上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

2 方法与结果

2.1 银杏叶滴丸安慰剂的制备方法与处方筛选

2.1.1 安慰剂的制备方法 按照筛选时所需用量,将 PEG 4000 加热至熔融,恒温 80 ℃,呈无色透明液体,分别加入处方量矫味剂和着色剂,开启搅拌,

转速 150 r/min,至熔融液成均匀黑色且无肉眼可见颗粒。称取处方量填充剂,在搅拌下分多次加入熔融液中,加料完毕后继续搅拌至均匀。然后将熔融液加入滴丸剂储液罐中,控制药温稳定于 82 ℃左右且冷凝液温度稳定于 0 ℃左右时进行滴制。滴制完成后,用石油醚清洗丸子表面的二甲基硅油,通风晾干,共制成 1 000 丸,包薄膜衣,密封包装。

2.1.2 基质和填充剂的筛选 根据《中国药典》2015 年版中所述,银杏叶滴丸为棕褐色滴丸,味微苦。要制备银杏叶滴丸的安慰剂,使之大小(肉眼观测)与试验药相同,则需找到处方中主药的替代物,由于滴丸剂型的特殊性,可以从基质和填充剂 2 个方面考虑。

银杏叶滴丸处方中的基质为 PEG 4000,其余均为主药银杏叶提取物,故安慰剂仍以 PEG 4000 作为水溶性基质^[4],通过筛选填充剂来代替主药。安慰剂常用的填充剂中水溶性较好的有淀粉(可溶性淀粉、玉米淀粉、预胶化淀粉)、微晶纤维素、PVP 等,筛选试验分别尝试了可溶性淀粉、普通药用淀粉、玉米淀粉、PVP K30,结果见表 1,可见 PVP K30 的模拟效果最佳。

2.1.3 色泽和味道的调配 由于中药制剂的特殊性,有其独特的颜色和味道。因此,中药安慰剂制备过程中常常添加一定的着色剂和矫味剂进行模拟。常用的中药安慰剂着色剂有焦糖、柠檬黄、苋菜红等,对其使用量也有严格的控制^[5]。本实验选择可可壳色素(棕色)和焦糖(黑色)分别进行模拟原药颜色。结果见表 2。比较实验结果,3.5%的

表 1 填充剂筛选实验结果

Table 1 Results of screening test of fillers

填充剂	平均丸质量/mg	平均丸径/mm
可溶性淀粉	53	3.79 (较原研小)
玉米淀粉	54	3.86 (较原研小)
普通药用淀粉	54	3.85 (较原研小)
PVP K30	59	4.18 (与原研相近)

原药平均丸质量为 60 mg, 平均丸径为 4.10 mm

The average pill weight of GFDP is 60 mg, and the average pill diameter is 4.10 mm

表 2 着色剂筛选实验结果

Table 2 Results of screening test of colorants

着色剂	用量/%	模拟程度
可可壳色素	7.0	棕黄色
	3.5	浅棕色
焦糖	7.0	深黑色
	3.5	浅黑色

焦糖就能较好地模拟原药的颜色。另一方面,从中药安慰剂色素使用的安全性^[6]角度考虑,着色剂的用量不宜过高。同时,后续包衣工艺还会进行上色,故采用 3.5% 的焦糖用量。

中药安慰剂中常以苦味剂模拟原药的苦味,银杏叶滴丸原药味道微苦,苦味程度不高,故根据程度分级采用苦味程度较低的蔗糖八乙酸酯(蔗糖和蔗糖八乙酸酯均为收录在《中国药典》2015 年版辅料目录以及《药用辅料手册》第 6 版当中,在药典标准下,其使用限量并无具体限定,但出于安全性考虑,尽可能使用低剂量的苦味剂^[7])进行模拟,其用量筛选实验结果见表 3。从结果上看,1.0% 和 2.0% 的用量均有较为明显的苦味,但是由于个人对苦味的体验不尽相同,因此需进一步安慰剂评价以决定蔗糖八乙酸酯的用量。

2.1.4 安慰剂处方 基于以上筛选结果,拟定了 2 种安慰剂处方,并通过该处方制备银杏叶滴丸安慰剂,以供模拟效果评价使用,2 种处方得到的滴丸均与试验药大小相近,包薄膜衣后每丸均质量 63 mg,具体处方见表 4、5。

2.2 安慰剂模拟效果评价方法与结果

采用人工打分法进行安慰剂模拟效果评价,对

表 3 苦味剂蔗糖八乙酸酯用量筛选实验结果

Table 3 Results of screening test of bittering agents

用量/%	模拟程度
0.5	味涩,不苦
1.0	苦味明显
2.0	苦味明显

表 4 安慰剂处方 1 (制 1 000 丸)

Table 4 Placebo prescription 1 (1 000 pills)

组成	用量/g	处方分析
蔗糖八乙酸酯	1.2	苦味剂
焦糖	2.1	着色剂
PVP K30	12.7	填充剂
PEG 4000	44.0	水溶性基质

表 5 安慰剂处方 2 (制 1 000 丸)

Table 5 Placebo prescription 2 (1 000 pills)

组成	用量/g	处方分析
蔗糖八乙酸酯	0.6	苦味剂
焦糖	2.1	着色剂
PVP K30	13.3	填充剂
PEG 4000	44.0	水溶性基质

评判者设盲,将处方 1、2 安慰剂及试验药分别随机编号为 A、B、C 药,由评判者对 3 种药物的外观、气味、颜色、味道等进行评价。揭盲后可知 A 药为处方 1, B 药为试验药, C 药为处方 2, 数据采集后,通过 SAS 9.4 软件进行统计分析。

2.2.1 试验药物可能性评价

(1) 评价方法: 21 位评判者被随机分发 A 药或 B 药或 C 药, 由其独立从外观、颜色、气味和口味 4 个方面对所评价的药物是试验药物的可能性进行评分, 允许评判者将滴丸咬碎评价口味, 可对照药品说明书判断。评判者通过执行上述规则, 对评价的药物是试验药还是安慰剂做出主观判断, 分值从 0 分到 10 分等比例划分, 含义依次为肯定是对照药、可能是对照药、不确定、可能是试验药、肯定是试验药, 统计方法采用方差分析 (ANOVA)。

(2) 评价结果: A、B、C 药在外观、气味、颜色、味道 4 个方面的可能性分数差异均无统计学意义。从均值和中位数来看, 3 种药在外形评价 (外观和颜色) 上差异较小, 在味道评价 (气味和味道) 上略有区别, A 药与其他 2 种药的分数差异较大, B 药和 C 药之间的差异较小, 见表 6。

2.2.2 安慰剂与试验药的相似性评价

(1) 评价方法: 给 21 位评判者每人同时发放 A、B、C 药和试验药样品, 让每位评判者对 3 种药分别与试验药样品从外观、颜色、气味和口味 4 个方面进行评分。与原药样品完全一样为 10.0 分, 比较相似为 7.5 分, 不确定为 5.0 分, 差异较大为 2.5 分, 完全不一样为 0 分, 介于两者之间的根据情况打分, 统计方法采用方差分析 (ANOVA)。

(2) 评价结果: A、B、C 药在外观、气味、颜色、味道 4 个方面与原药的相似性分数差异均无统计学意义。从均值和中位数来看, 3 种药在外形评价 (外观和颜色) 上相似性得分较高, 在味道评价 (气味和味道) 上得分较低, 气味评价上 3 种药得分相当, 味道评价上 B 药和 C 药得分略高于 A 药, 见表 7。

2.2.3 3 种药物间的相似程度分析

(1) 评价方法: 为了比较 3 种药物间的相似程度, 采用“2.2.2”项获得的数据, 拟定评分大于 5 分为与试验药相似, 评分小于等于 5 分为与试验药不相似, 揭盲后已知 B 药是试验药, A、C 药是 2 种不同的安慰剂, 故采用 A 药与 B 药相比, C 药与

B 药相比, 分析安慰剂与试验药的相似程度。

相似度=2 药相似的例数/总评判人数

(2) 评价结果: 比较 3 种药物间的相似程度, A 药和 C 药在外观和颜色上与 B 药相似度较高, 在气味和味道上相似度略低, 其中 C 药与 B 药的相似度比 A 药与 B 药略高, 见表 8。

表 6 试验药物可能性评分统计结果

Table 6 Statistical result of experimental drugs probability score

样品 例数	外观			气味			颜色			味道		
	$\bar{x} \pm s$	(min, max)	平均值	$\bar{x} \pm s$	(min, max)	平均值	$\bar{x} \pm s$	(min, max)	平均值	$\bar{x} \pm s$	(min, max)	平均值
A 药 8	7.7±2.7	(2.5, 10)	8.3	4.8±2.2	(2.5, 8)	5.0	7.8±2.6	(3, 10)	8.3	5.1±2.9	(2.5, 10)	4.0
B 药 5	8.5±1.4	(7.5, 10)	7.5	7.6±1.8	(5.0, 10)	7.5	7.6±1.8	(5, 10)	7.5	7.5±3.1	(2.5, 10)	7.5
C 药 8	7.2±1.6	(5.0, 10)	7.5	6.0±2.7	(2.5, 10)	6.3	8.2±1.8	(5, 10)	7.8	7.4±2.9	(2.5, 10)	8.3
F	0.61			2.32			0.14			1.53		
P	0.55			0.13			0.87			0.24		

表 7 试验药物与原药的相似性评分统计结果

Table 7 Statistical result of similarity score in experimental drugs with original drug

样品 例数	外观			气味			颜色			味道		
	$\bar{x} \pm s$	(min, max)	平均值	$\bar{x} \pm s$	(min, max)	平均值	$\bar{x} \pm s$	(min, max)	平均值	$\bar{x} \pm s$	(min, max)	平均值
A 药 21	8.7±1.8	(2.5, 10)	9.5	5.5±3.2	(0, 10)	7.5	9.1±1.8	(2.5, 10)	10	5.5±2.9	(0, 10)	5.0
B 药 21	9.2±1.1	(7.5, 10)	10.0	7.1±2.3	(0, 10)	7.5	9.5±1.0	(7.5, 10)	10	6.1±2.7	(0, 10)	7.5
C 药 21	9.3±1.0	(7.5, 10)	10.0	6.1±3.1	(0, 10)	7.5	9.5±1.0	(7.5, 10)	10	5.8±3.4	(0, 10)	7.0
F	1.22			1.73			0.50			0.27		
P	0.30			0.19			0.61			0.76		

表 8 A、C 药与 B 药的相似程度分析

Table 8 Similarity analysis in three drugs

样品	与 B 药 相似判断	外观			气味			颜色			味道		
		相似/ 例	不相似/ 例	相似度	相似/ 例	不相似/ 例	相似度	相似/ 例	不相似/ 例	相似度	相似/ 例	不相似/ 例	相似度
A 药	相似	20	0	95.24	12	0	57.14	20	0	95.24	7	3	33.33
	不相似	1	0		4	5		1	0		7	4	
C 药	相似	21	0	100.00	12	1	57.14	21	0	100.00	9	4	42.86
	不相似	0	0		4	4		0	0		5	3	

3 讨论

理想的安慰剂在外观、颜色、气味、口味、包装、用法与用量方面与试验药需保持完全一致。在安慰剂评价方面, 尤其是中药安慰剂, 目前还缺少公认的评价方法和标准^[8]。同时, 因个体差异性, 每位评判者对药物外观、颜色、气味、口味等敏感程度不一, 也是造成安慰剂评价困难的主要原因之一^[9]。目前尚未见到有关中药滴丸剂型安慰剂制备

的相关报道, 亦少见不含任何试验药或活性成分的中药安慰剂, 可见制备理想的中药安慰剂存在较大难度^[10], 而对中药安慰剂的评价也应当具有自己的特点。

本次安慰剂制作时进行过多次预筛选实验, 如基质预筛选时, 采用表面活性剂 P188 与 PEG 4000 混合制备混合基质, 制备过程中发现, 在滴速搅拌下, 混合基质仍会产生大量气泡, 无法自己消除,

尝试超声去除,效果不佳。如若基质中含有大量气泡,将会影响滴丸滴制过程中滴丸的成形,遂考虑改用添加填充剂的方案。矫味剂筛选时,尝试过在处方中加入中药味或花草味的香精,如人参香精、菊花香精等,但这些香精都具有较高的辨别性,反而更容易破盲,同时,银杏叶滴丸的成分较为单一,在滴丸外层尚有包衣,使其中草药香味浓度不高、辨别性较低,不进行香味模拟对安慰剂整体模拟效果的影响并不显著^[11],故仅以蔗糖八乙酸酯对其气味、味道进行模拟。

本次安慰剂的规格和包装与临床试验用药银杏叶滴丸采取统一标准,因而对安慰剂的评价主要侧重于安慰剂的外观、气味、颜色、味道等是否与试验药一致。根据研究结果可见,处方2安慰剂较处方1的模拟效果更好,与试验药的相似度更高。由试验药物的可能性的评价结果可见,3种药在外观、气味、颜色、味道4个方面作为试验药物的可能性无明显差异,同时通过与试验药的相似性评价及相似程度分析结果可知,3种药在外观、气味、颜色、味道方面与试验药的相似性无明显差异,2种安慰剂在外形上模拟程度较好,其中处方2安慰剂的模拟程度和相似度较处方1安慰剂更好,然评判者认为3种药在气味和味道上与试验药均略有不同,而B药实际为试验药,说明评判者可能存在主观感受的差异,此试验采用了评判者在盲态下独立对3种药物进行评判的设计方法,可减少评判者的主观倾向^[12],使评价结果更为真实可靠。

综上可知,本次银杏叶滴丸安慰剂的研制填补了目前中药滴丸剂型安慰剂的空缺。研究结果提示,处方2安慰剂在外观、颜色、口味等方面和试验药相似,模拟效果良好,无显著差异,能够有效防止临床试验产生偏倚或发生破盲。处方中不含任何试验药或其他对疾病有治疗作用的活性成分,经检验质量合格、安全无毒,不会对临床试验结果产生影

响。本安慰剂能够满足随机双盲对照临床试验对安慰剂的要求,为中药安慰剂的制备及模拟效果评价提供了可参考的方法及思路。

参考文献

- [1] 陆芳,唐健元,赵阳,等. 中药新药临床试验中安慰剂模拟效果评价与思考 [J]. 中国循证医学杂志, 2018, 18(11): 27-32.
- [2] Arnstein P, Broglio K, Wuhrman E, *et al.* Use of placebos in pain management [J]. *Pain Manag Nurs*, 2011, 12(4): 225-229.
- [3] 李秋爽,曹毅,季聪华,等. 中药安慰剂质量评价思考 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(6): 2365-2368.
- [4] 汪盈盈,柳继锋. 中药滴丸研究进展 [J]. 产业与科技论坛, 2017, 16(12): 67-68.
- [5] 樊丽姣,付赛,林龙飞,等. 计算机配色技术在如意金黄散安慰剂颜色模拟中的应用 [J]. 中草药, 2017, 22(48): 4648-4654.
- [6] 张德翠,段俊国,罗涛. 浅谈中药临床试验安慰剂制作中应注意的问题 [J]. 中药药理与临床, 2009, 25(2): 124-125.
- [7] 王云飞,阮新民,吴焕林,等. 大型双盲临床试验中药安慰剂制备方法及效果评价研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(3): 255-258.
- [8] 王茹茹,刘玉杰,杨添钧,等. 中药安慰剂评价客观量化的思考 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2014, 16(3): 485-489.
- [9] 金冠钦,孙黎,夏玲红. 中药制剂肾八味胶囊的安慰剂制备及评价研究 [J]. 中国药师, 2014, 17(5): 734-736.
- [10] 吴飞,陆章琪,胡佳亮,等. 临床试验用中药安慰剂设计和质量控制研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2018, 11(38): 1254-1261.
- [11] 胡德美,郑霏艳,尹文凤,等. 矫味剂在掩盖中药苦味中的应用 [J]. 云南中医中药杂志, 2017, 38(10): 86-88.
- [12] 彭嘉,肖静. 中医汤剂临床研究的盲法运用现状及评价 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 10(31): 4031-4033.