

基于感官指标相似性和模拟辅料可控性的疏风解毒颗粒安慰剂质量及稳定性研究

徐辰琪^{1,2}, 丁可欣^{1,2}, 胡佳亮^{1,2}, 王翔³, 马彩菊^{1,2}, 林晓², 洪燕龙², 李翔宇^{3*}, 吴飞^{1,2*}

1. 上海中医药大学创新中药研究院, 上海 201203

2. 中药现代制剂技术教育部工程研究中心, 上海 201203

3. 安徽济人药业股份有限公司, 安徽 亳州 236800

摘要: **目的** 建立疏风解毒颗粒 (Shufeng Jiedu Granules, SJG) 安慰剂的感官与物理参数的模拟与评价方法, 研制其安慰剂并构建质量标准体系, 开展稳定性考察。**方法** 基于感官指标 (颜色、气味、味道) 及物理参数 (粒度分布、堆密度) 等关键质量属性 (CQAs) 构建相似性评价模型, 采用 Pearson 相关系数 (Pearson correlation coefficient, PCC) 量化安慰剂与模拟对象的属性相似性; 建立 HPLC 法同步测定安慰剂中人工色素 (柠檬黄、苋菜红、亮蓝) 及蔗糖八醋酸酯的含量, 用于质量控制。**结果** 安慰剂与 SJG 的人工感官相似性评分均 > 3 分 (满分为 5 分), 颜色与物理特性 PCC > 0.998; 电子舌/鼻分析显示味道与气味特征相似度与人工评价一致; HPLC 方法学验证显示专属性与线性关系良好 ($R^2 \geq 0.9994$), 精密度等方法学考察指标符合相关规定, 稳定性试验 6 个月内含量变化率 < 7.0%。**结论** 通过整合感官评价、物理表征与化学定量分析, 首次构建中药安慰剂多维质量评价体系, 阐明感官指标稳定性的化学基础, 为双盲临床试验中 SJG 安慰剂的相似性控制提供方法学保障。

关键词: 疏风解毒颗粒; 安慰剂; 感官指标; 颜色; 相似性

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)14-5019-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.14.008

Study on quality and stability of Shufeng Jiedu Granules placebo based on similarity of sensory indicators and controllability of sensory simulation excipients

XU Chenqi^{1,2}, DING Kexin^{1,2}, HU Jialiang^{1,2}, WANG Xiang³, MA Caiju^{1,2}, LIN Xiao², HONG Yanlong², LI Xiangyu³, WU Fei^{1,2}

1. Innovative Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

2. Engineering Research Center of Modern Preparation Technology of TCM of Ministry of Education, Shanghai 201203, China

3. Anhui Jiren Pharmaceutical Co., Ltd., Bozhou 236800, China

Abstract: Objective To establish simulation and evaluation methods for sensory and physical parameters of Shufeng Jiedu Granules (SJG, 疏风解毒颗粒) placebo, develop its preparation process, construct a quality standard system, and conduct stability studies. **Methods** A similarity evaluation model was developed based on critical quality attributes (CQAs) including sensory indicators (color, odor, taste) and physical parameters (particle size distribution, bulk density), with the Pearson correlation coefficient (PCC) used to quantify attribute similarity between the placebo and SJG. HPLC methods were established for simultaneous determination of artificial pigments (tartrazine, amaranth, brilliant blue) and sucrose octaacetate for quality control. **Results** The placebo demonstrated human sensory similarity scores > 3 (maximum score: 5) compared with SJG. Color and physical characteristics showed PCC > 0.998.

收稿日期: 2025-02-24

基金项目: 上海市卫健委临床研究专项 (201940296); 上海市卫健委临床研究专项 (202140347); 上海中医药慢性病防治与健康服务省部共建协同创新中心 (A1-U24-308-01); 上海市科技计划项目 “上海市健康辨识与评估重点实验室” (21DZ2271000)

作者简介: 徐辰琪, 硕士研究生, 研究方向为中药制剂安慰剂开发。E-mail: pazxuchenqi@126.com

***通信作者:** 李翔宇, 副研究员, 从事中药制剂开发。E-mail: 13500592911@163.com

吴飞, 副研究员, 硕士生导师, 从事中药制剂安慰剂开发。E-mail: wufei_shutcm@126.com

Electronic tongue/nose analysis revealed taste and odor profiles consistent with human sensory evaluation. HPLC method validation confirmed acceptable specificity and excellent linearity ($R^2 \geq 0.999\ 4$), with precision and other methodological parameters complying with pharmacopeial requirements. Accelerated stability testing over six months exhibited content variation rates $< 7.0\%$. **Conclusion** This study pioneered a multidimensional quality evaluation system for traditional Chinese medicine placebos by integrating sensory evaluation, physical characterization, and chemical quantification, elucidating the chemical basis of sensory stability. The methodology provides critical support for similarity assurance of SJG placebo in double-blind clinical trials.

Key word: Shufeng Jiedu Granules; placebo; sensory index; color; similarity

为提高疏风解毒胶囊吞咽困难特殊人群的服药依从性,以疏风解毒胶囊为基础开发疏风解毒颗粒(Shufeng Jiedu Granules, SJG)。根据国家药监局药审中心最新发布的相关指导原则^[1],中药临床试验或相关的临床研究应优先使用安慰剂对照,以准确评估制剂的临床疗效。颗粒剂型的中药安慰剂的制备难度较大,相似性不足有可能导致破盲,直接关系到临床试验的实施。研究团队前期提出中药安慰剂研究的 4 个基本属性(安全性、相似性、适用性和可控性)及确保临床盲法实施的关键目标,并在一系列中药安慰剂的制备和应用中进行了有效的实践^[2-3]。尤其是针对模拟对象的关键质量属性(critical quality attributes, CQAs)进行有效模拟,以及针对关键感官参数进行有效控制的思路^[4-5],对于确保安慰剂的相似性和质量可控性具有良好的指导价值。本研究基于模拟对象 SJG 的 CQAs,建立针对颜色、味道、气味等感官参数的可靠且稳定的感官指标综合评价方法;同时从化学的角度建立关键感官模拟辅料的定量控制方法,并在稳定性研究中开展 2 种制剂的相似性评价,为中药颗粒剂安慰剂的制备及质量可控性研究提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪, VWD、ALS、TCC 和 Chemstation 化学工作站, 美国安捷伦科技有限公司; XP205 型分析天平, 0.01 mg, 瑞士梅特勒-托利多科学仪器有限公司; FA2104N 型分析天平, 0.1 mg, 上海精密科学仪器有限公司; SK7210HP 型超声波清洗器, 上海科导超声仪器有限公司; DK-S26 型恒温水浴锅, 上海一恒科学仪器有限公司; TGL-18C 型高速离心机, 上海安亭科学仪器厂; Visualizer 型成像系统, 瑞士 CAMAG 公司; DZF-6090 型真空干燥箱, 上海精宏实验设备有限公司; HLSH2-6A 型湿法混合制粒机, 北京航空制造工程研究所; ADCI-60-C 型色差仪, 北京辰泰克仪器有限公司; BT-1000 型粉体综合特性测定仪, 丹东市

百特仪器有限公司; NLHC16SI 型药物稳定性试验箱, 印度 Newtronic Lifecare Equipment Pvt. Ltd.; KBF-240 型药物稳定性试验箱, 德国 Binder 公司; α -Astree II 型电子舌, 法国 Alpha MOS 公司; PEN3 型电子鼻, 德国 AIRSENSE 公司。

1.2 试药

SJG(批号 Z230401)和 SJG 安慰剂(批号 230701), 规格均为 1.2 g/袋, 安徽济人药业股份有限公司; 对照品柠檬黄(批号 510004-202003, 质量分数 93.4%)、苋菜红(批号 510002-201602, 质量分数 79.8%)、亮蓝(批号 112010-201501, 质量分数 100.0%)、蔗糖八醋酸酯(批号 190106-201501, 质量分数 98.9%), 中国食品药品检定研究院; 糊精, 批号 2022051901, 嘉兴市白浪淀粉制品有限公司; P460 型焦糖色素, 批号 202212005, 重庆渝龙荣添食品添加剂有限公司; 枸橼酸, 批号 TF81220601, 九典宏阳制药有限公司; 蔗糖八醋酸酯, 批号 AA210912, 浙江合糖科技有限公司; 柠檬黄色素(批号 12122055)、可可棕色素(批号 201418001), 上海染料研究所有限公司; 三氯蔗糖, 批号 Y23010401, 盐城捷康三氯蔗糖制造有限公司; 多种香精, 依伦(上海)香精香料有限公司; 甲醇为色谱纯, 乙醇、乙酸铵等为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司。

1.3 软件

Photoshop CC 2019, 爱尔兰 Adobe 系统软件有限公司; Pycharm 2022.2, 捷并思(上海)信息技术有限责任公司; Origin 2022, 美国 OriginLab 公司。

2 方法与结果

2.1 用于相似性模拟和评价的 SJG CQAs 参数的提取

为了确保和提升安慰剂的相似性,用于模拟研究和安慰剂质量控制的中药制剂的主要特征属性可概括为剂型特征属性、视觉特征属性和气、味特征属性 3 个方面^[6]。其中视觉特征属性中的制剂颜色以及气、味特征属性中的味道、气味是安慰剂制

备研究中的感官 CQAs 参数。

《中国药典》2020 年版对混悬颗粒剂的粒度、含水量和装量差异有明确的检查标准^[7], 剂型特征属性用于相似性的模拟以及评价。含水量、休止角、松密度、振实密度、豪斯纳比和短时引湿性等物性参数对安慰剂的相似度有一定影响, 故将其纳入 SJG 安慰剂评价的 CQAs 参数。

2.2 相似性评价方法

中药安慰剂常用的相似性评价方法包括 2 种, 即健康志愿者人工评价法和以感官与物性测定仪器进行的客观评价法。人工评价法包括人工打分评价和制剂间相似程度的人工判别, 评价对象为单个特征属性参数或整体制剂。客观评价法包括物性参数的测定、使用仿生设备测定味道和气味以及使用色差计或图像评价法测定颜色。

为了消除各个参数的量纲差异对相似性评价带来的影响, 参考余欣彤等^[8]使用 Pearson 相关系数 (Pearson correlation coefficient, PCC) 法计算物理指纹图谱之间相似性, 本研究采用 PCC 法计算相似性。

2.2.1 人工评价法 按照 GB/T 15549-2022《感官分析方法学检测和识别气味方面评价员的入门和培训》^[9]和 GB/T 12312-2012《感官分析 味觉敏感度的测定方法》^[10]中的方法对健康志愿者进行味道和气味培训, 筛选、训练志愿者的感官评价能力以提高人工评价结果的可靠性。以 SJG 及其溶液的气味和味道作为相似性评分项目, 分别对安慰剂与模拟对象进行打分, 并评价两者相似性。

参与评价的志愿者需要具备以下条件: ①味觉及嗅觉灵敏度高, 尤其对甜味、苦味、酸味和气味的感受灵敏; ②志愿者年龄在 20~50 岁; ③评价近 2 d 未有饮酒或吸烟; ④品尝样品前 2 h 未进食, 尤其是会对味蕾和味觉感受产生较强刺激性的食物或者饮料。

人工评价试验采用单盲法^[2], 选取 6 名健康志愿者打分评价。具体实施如下: 取模拟对象为参照药, 另取安慰剂和模拟对象完全随机分装成 A 药和 B 药, 将 A 药与 B 药与参照药进行相似性评分, 相似性打分标准参照国际通用的李克特量表, 1 分为完全不一致, 2 分为不确定, 3 分为较为接近, 4 分为很接近, 5 分为几乎完全一致。

对模拟对象与安慰剂在颗粒颜色、溶液颜色、颗粒气味、溶液气味、溶液澄明度和溶液味道 6 个

感官 CQAs 参数进行打分评价。若评分大于 3 分, 则表明 2 个评价对象的相似性高^[2]。结果 (表 1) 表明, 安慰剂与模拟对象在各个感官 CQAs 参数的相似性评分均高于 3 分, 具有较高的相似性。

表 1 SJG 及其安慰剂感官 CQAs 相似性的人工评分
($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Human scoring of similarity between SJG and its placebo in sensory CQAs ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

评价项目	评分	评价项目	评分
颗粒颜色	3.28±0.22	溶液澄明度	4.47±0.31
溶液颜色	3.97±0.27	溶液气味	4.53±0.31
颗粒气味	3.38±0.26	溶液味道	4.80±0.20

2.2.2 颜色的相似性评价 在视觉特征属性中, 因为在颗粒和溶液 2 种状态下均需要满足相似性要求, 所以颜色相似性是颗粒安慰剂制作的重点和难点。颜色评价常用人工评价法, 以色差计或基于计算机图像进行颜色测定的应用也逐步增多^[11], 因此, 本研究将色差计法和计算机图像相似度评价法 (以下简称“图像评价法”) 也作为安慰剂和模拟对象颜色的相似性评价方法。

(1) 色差计法: 色差计测定样品的前处理简单快速, 可以测定 L^* 、 a^* 、 b^* 颜色空间参数, 一般用于颜色模拟处方的快速筛选。本研究中以色差计法测定 SJG 及其安慰剂在颗粒和溶液状态下的 L^* 、 a^* 、 b^* 颜色空间。色差计技术参数: 照明: 仪器用卤钨灯; 照明条件: 0/d 条件 (垂直照射, 漫反射接收), D65 标准光源; 标准观察者: 10 度视场。

供试品的制备: 颗粒状态下, 取颗粒直接测定; 溶液状态下, 取颗粒配制成质量浓度 24 mg/mL 的溶液用于测定。

颜色空间的测定: 取相同质量或体积的颗粒或溶液, 置于比色皿中, 测定 L^* 、 a^* 、 b^* 和 ΔE^* 值。

色差计法相似性评价: 通过色差计获得的 L^* 、 a^* 、 b^* 和 ΔE^* 值可以判断 2 个样品之间的颜色相似性。 ΔE^* 的计算公式如下所示。

$$\Delta E^* = (L^{*2} + a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

根据样品间的 ΔE^* 与目视色差感受的对应关系来评估样品之间的颜色相似度, 具体见表 2、3。将 ΔE^* 作为颜色相似性的评价指标, 当 $\Delta E^* < 3.0$ 时, 安慰剂与 SJG 的颜色相似性较高^[12]。

色差计测定结果表明, 在颗粒和溶液 2 种状态下, 2 种制剂的颜色均具有较高的相似性。

(2) 图像评价法: 课题组前期在多个中药复方

表 2 ΔE^* 与色差感受对应关系Table 2 Correspondence between ΔE and feeling of color difference

ΔE^*	目视色差感觉	ΔE^*	目视色差感觉
<0.2	不可见	3.0~6.0	明显差别
0.3~1.0	刚可察觉	>6.0	差别大
1.0~3.0	轻微差别		

表 3 SJG 及其安慰剂的色差检测结果

Table 3 Color difference between SJG and its placebo

样品名称	L^*	a^*	b^*	ΔE^*
安慰剂颗粒	44.57	25.46	27.67	2.32
模拟对象颗粒	46.24	24.23	28.69	
安慰剂溶液	22.25	53.83	16.91	0.69
模拟对象溶液	22.44	53.20	17.14	

制剂^[2-3]的颜色特征属性上将 RGB、HSV 以及灰度值纳入其与安慰剂颜色相似性评价的指标。RGB 颜色空间模型^[13]是数字图像处理中最基础的颜色模型，其建立的依据是人眼的色感细胞最大感光灵敏度落在红 (red)、蓝 (blue) 和绿 (green) 3 个区域，由此建立得到 RGB 三维彩色空间，被计算机用于

精确记录图像色彩。但是 RGB 颜色空间容易被亮度影响，因此本研究同时引入将颜色和亮度分开处理的 HSV 颜色空间，提高图片的识别效果。HSV 颜色空间模型^[14]是按照人眼对色彩的感知原理构建，由色相 (hue)、饱和度 (saturation) 和明亮度 (value) 3 个分量构成，它与人类感受色彩的方式相似且空间距离符合人眼的感知特性，具有能对颜色空间进行客观化描述的优点^[15]，可以用于面向用户直观描述色彩的参数。灰度值则是表示像素点的颜色深度。本研究通过 Visualizer 成像系统进行图像的稳定采集、存储和分析，以 Python 语言获取图片 RGB、HSV 和灰度值的颜色空间具体数据，进而进行颜色相似性计算。

供试品的制备和图像的获取：按照“(1) 色差计法”制备颗粒和溶液状态下的供试品，置于透明玻璃皿中，以 Visualizer 成像系统拍照，获得图像 (图 1)。

拍照参数：Visualizer 成像系统自带光源，曝光时间为 180 ms，自动焦距，曝光水平 87%。图片保存为 JPG 格式，分辨率为 300 dpi。

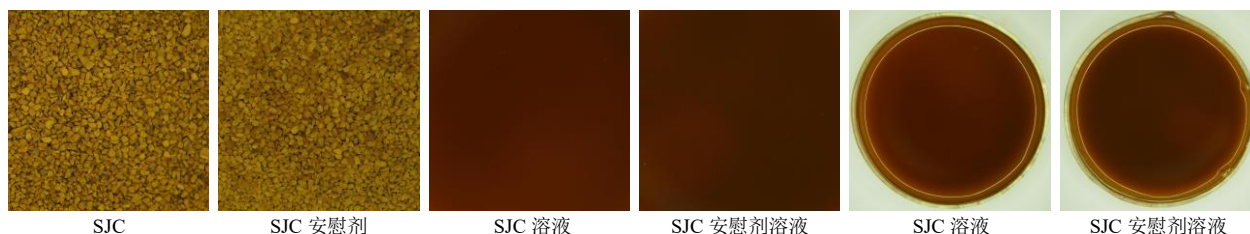


图 1 SJG 及其安慰剂的对比图

Fig. 1 Comparison of SJG and its placebo

颜色空间的测定：读取图片中央 250×250 像素大小的区域，采用 PyCharm 软件进行计算机视觉系统模拟，分析图像颜色，采集各个像素点的颜色空间数值 (RGB 颜色空间，HSV 空间和图像的灰度值)，并分别统计 RGB、HSV 以及灰度值的均值。

RGB 数值获取运行代码如下：

```
image1 = Image.open(image_path).convert("RGB")
pixels = np.array(image1)
red_average = np.mean(pixels[:, :, 0])
green_average = np.mean(pixels[:, :, 1])
blue_average = np.mean(pixels[:, :, 2])
```

HSV 数值获取运行代码如下：

```
def average_hue(image):
    hsv_image = cv2.cvtColor(image, cv2.COLOR_BGR2HSV)
```

```
h, s, v = cv2.split(hsv_image)
average = np.mean(h) * 2
return average
def average_saturation(image):
    hsv_image = cv2.cvtColor(image, cv2.COLOR_BGR2HSV)
    h, s, v = cv2.split(hsv_image)
    average = np.mean(s) / 255.0 * 100
    return average
def average_value(image):
    hsv_image = cv2.cvtColor(image, cv2.COLOR_BGR2HSV)
    h, s, v = cv2.split(hsv_image)
    average = np.mean(v) / 255.0 * 100
    return average
```

```
hue_average = average_hue(image)
saturation_average = average_saturation(image)
value_average = average_value(image)
灰度值数值获取方法如下:
gray_image = cv2.cvtColor (image, cv2.
COLOR_BGR2GRAY)
average_gray = gray_image.mean()
```

颜色相似性评价结果: 根据感官 CQAs 参数的相似性评价结果, 安慰剂与 SJG 的颜色评分均在 3 分以上, 具有较高的相似性, 因此, SJG 安慰剂与 SJG 在颜色上具有较高的相似性, 且主客观结果相一致。

2.2.3 味道的相似性评价 以电子舌对溶液状态下样品的味道进行评价和区分。

(1) 样品溶液的制备: 称取颗粒, 加水溶解过滤。照此方法制备得到 SJG、SJG 安慰剂、SJG 安慰剂(无味道模拟辅料)、SJG 安慰剂(无气味模拟辅料)、SJG 安慰剂(无味道、气味模拟辅料)以及纯水。

(2) 测定条件的的方法学考察: 包括质量浓度考察和精密度考察。制备 1.0、0.1 mg/mL 的样品溶液进行测定, 优选电子舌区分能力更佳的浓度作为样品的测定浓度。在 0.1 mg/mL 的质量浓度水平上, 记录电极的响应值并计算 RSD。

(3) 测定条件和数据采集: 电子舌电极 ZZ、JE、BB、CA、GA、DA 和 JB, 共 7 枚电极。设置电子舌分析每个样品的采集时间为 120 s, 每秒采集 1 次, 每个样品在 100、120 s 的平均响应值作为测定数据, 纳入计算。样品每测定 1 次, 自动清洗 10 s, 每份样品重复测定 10 次, 选取响应值趋于稳定的最后 3 次数据用于计算。

(4) 数据分析: 根据传感器采集的原始响应数据, 采用系统自带的 Alphasoft 14.0 软件进行主成分分析(principal component analysis, PCA), 以 PCA 图上样品之间的距离判定样品之间味道的差异, 距离越小说明差异越小, 样品相似度越高。

(5) 测定结果: 在对 6 个样品的分析过程中, 7 枚电极的 RSD 均小于 2.0%, 有较好的重复性。结果(图 2)表明, 电子舌测定 PCA 图上的样品分布规律与实际的味道差异一致, 且安慰剂与 SJG 的味道具有较高的相似性, 与人工评价结果一致。

2.2.4 气味的相似性评价 以电子鼻对溶液状态下样品的气味进行评价和区分。

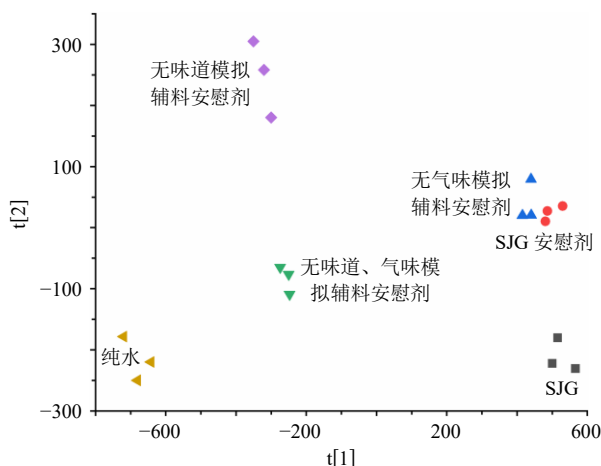


图 2 SJG 及其安慰剂电子舌测定 PCA 结果

Fig. 2 PCA result of SJG and its placebo in electronic tongue test

(1) 样品的制备: 精密称定颗粒 1 g, 以 50 mL 水溶解。照此方法制备得到 SJG、SJG 安慰剂、SJG 安慰剂(无味道模拟辅料)、SJG 安慰剂(无气味模拟辅料)、SJG 安慰剂(无味道、气味模拟辅料)以及纯水。

(2) 测定条件的的方法学考察: 记录供试品测定时 10 枚电极的响应值并计算 RSD。

(3) 测定条件和数据采集: 电子鼻电极 W1C、W5S、W3C、W6S、W5C、W1S、W1W、W2S、W2W、W3S, 共 10 枚电极。采样时间为 1 s/组, 传感器自清洗时间为 80 s, 传感器归零时间为 5 s, 样品准备时间为 5 s, 进样流量为 400 mL/min, 分析采样时间为 80 s。

(4) 数据分析: 根据传感器采集的原始响应数据, 采用 Origin 2022 软件进行 PCA, 以 PCA 图上样品之间的距离判定样品之间气味的差异, 距离越小说明差异越小, 样品相似度越高。

(5) 测定结果: 在对 6 个样品的分析过程中, W1C、W5S 和 W3C 等 10 枚电极的 RSD 均小于 4.0%, 有较好的重复性。结果表明, 电子鼻测定 PCA 图(图 3)上的样品分布规律与实际的气味差异一致, SJG 安慰剂与 SJG 在气味上具有较高的相似性, 与人工评价结果一致。

2.2.5 物理性质参数的测定方法

(1) 含水量: 照《中国药典》2020 年版水分测定法(通则 0832 第四法甲苯法)。

(2) 休止角: 采用 BT-1000 型粉体特性测定仪测定样品的休止角。

(3) 松密度、振实密度与豪斯纳比: 采用 BT-

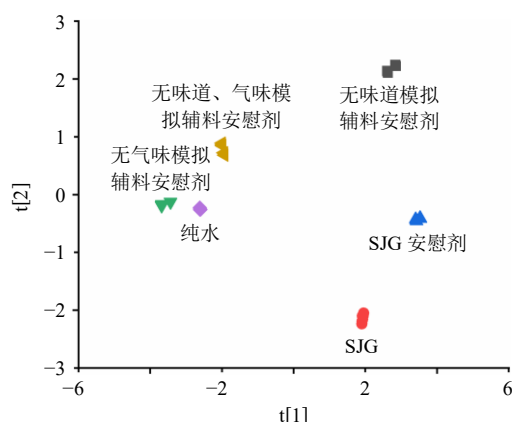


图 3 SJG 安慰剂电子鼻检测结果 PCA 结果
Fig. 3 PCA result of Shufeng Jiedu Granules and placebo in electronic nose test

1000 型粉体综合特性测定仪测定样品的松密度 (bulk density, ρ_b)、振实密度 (tap density, ρ_t)，并计算豪斯纳比值 (Hausner ratio, HR) [16]。公式如下所示。

$$HR = \rho_t / \rho_b$$

(4) 短时引湿性：将称量瓶置于底部放有饱和氯化铵溶液的恒温干燥器中 (温度为 25 ℃、相对湿度为 80%)，24 h 后精密称定质量 (m_1)。取 SJG 和安慰剂各 2 g，置上述称量瓶中并平铺于称量瓶内，精密称定质量 (m_2)。将称量瓶敞口，3 h 后盖好称量瓶盖，精密称定质量 (m_3) [16]。引湿率的计算公式如下所示。

$$H = (m_3 - m_2) / (m_2 - m_1)$$

(5) PCC 计算相似性：本研究采用 PCC 作为评价安慰剂和模拟对象相似度的形式，PCC 是利用协方差除以标准差的形式，以消除数据偏移的影响，能够反映 2 个变量各单位变化时的情况，一定程度上规避了数据偏移对夹角余弦相似度 (cos) 带来的影响。

PCC 接近 1 时，表示 2 个变量之间存在正相关，当相关系数接近-1 时，表示 2 个变量之间存在负相关。一般认为，当 PCC 在 (0.8, 1.0] 时，2 组数据极强相关；当 PCC 在 (0.6, 0.8] 时，2 组数据强相关；当 PCC 在 (0.4, 0.6] 时，2 组数据中等程

度相关；当 PCC 在 (0.2, 0.4] 时，2 组数据弱相关；当 PCC 在 [0, 0.2] 时，2 组数据极弱相关或无相关 [17]。

本实验中，使用 PyCharm 软件计算 PCC，评价 SJG 安慰剂与模拟对象各项系数之间的相似性。

PCC 的运行代码如下：

```
import numpy as np
data1 = [XXX, XXX, XXX, .....]
data2 = [XXX, XXX, XXX, .....]
Data1 = np.array(data1)
Data2 = np.array(data2)
correlation = np.corrcoef(Data1, Data2) [0, 1]
print("Pearson 相关系数：", correlation)
```

(6) 测定结果：绘制两者的物性指纹图谱，并计算得到剂型特征属性 CQAs 参数的相似性。结果 (图 4 和表 4) 表明，两者在物理特征属性上具有较高的相似性。

2.3 基于感官模拟辅料定量的 SJG 安慰剂的质量研究

在中药安慰剂的质量标准研究中 [3]，还应该针对安慰剂中的关键辅料进行质量控制。在 SJG 安慰剂的质量标准研究中，针对处方中的颜色与味道感官模拟辅料，建立了 HPLC 含量测定方法，并在稳定性研究过程中，对这些指标成分的稳定性进行了考察。

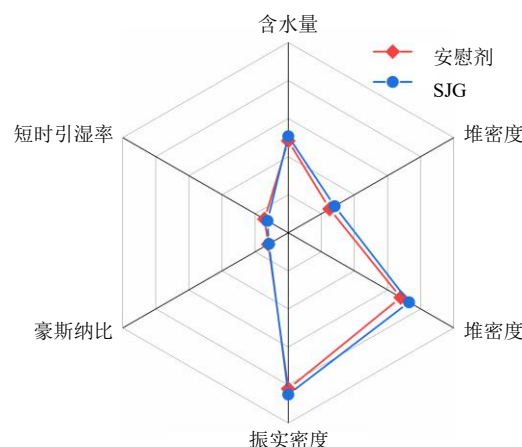


图 4 SJG 及其安慰剂的物性指纹图谱
Fig. 4 Physical fingerprint of SJG and its placebo

表 4 SJG 及其安慰剂的物理特征属性相似性

Table 4 Similarity of physical characteristics of SJG and its placebo

样品名称	含水量/%	休止角/(°)	松密度/(g·mL ⁻¹)	振实密度/(g·mL ⁻¹)	短时引湿率/%	豪斯纳比	PCC
安慰剂	4.83	25	0.68	0.82	1.44	1.21	0.999 9
模拟对象	5.07	28	0.73	0.85	1.26	1.17	

2.3.1 HPLC 法同时测定柠檬黄、苋菜红和亮蓝

(1) 色谱条件: 色谱柱为 Kromasil 100-5 C₁₈ 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 波长 254、630 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 进样量 5 μL; 流动相为 20 mmol/L 乙酸铵水溶液-甲醇, 梯度洗脱: 0~2 min, 10% 甲醇; 2~10 min, 10%~26% 甲醇; 10~15 min, 26%~90% 甲醇; 15~18 min, 90% 甲醇; 18~25 min, 90%~10% 甲醇。

(2) 对照品溶液的制备: 精密称量对照品适量, 加甲醇溶解, 制成含柠檬黄 50.0 μg/mL、苋菜红 10.0 μg/mL 和亮蓝 10.0 μg/mL 的混合对照品溶液。

(3) 供试品溶液的制备: 取 SJG 安慰剂 100 mg, 加水 10 mL, 水浴加热 10 min, 12 000 r/min 离心 (离心半径 58 mm) 10 min, 取上清液, 即得供试品溶液。

取 SJG 安慰剂阴性样品 (不含柠檬黄、苋菜红和亮蓝) 100 mg, 同法制备阴性样品溶液。

(4) 方法学考察: 按照《中国药典》2020 年版分析方法验证指导原则规定, 对柠檬黄、苋菜红和亮蓝的 HPLC 检测方法进行专属性、线性关系、精密度、重复性、稳定性和加样回收率的考察, 结果均符合《中国药典》2020 年版规定。

(5) 专属性试验: 柠檬黄和苋菜红的出峰时间分别为 4.7、8.0 min, 亮蓝的出峰时间为 17.0 min。阴性样品不干扰上述 3 个成分的测定, 测定方法的专属性良好。色谱图见图 5。

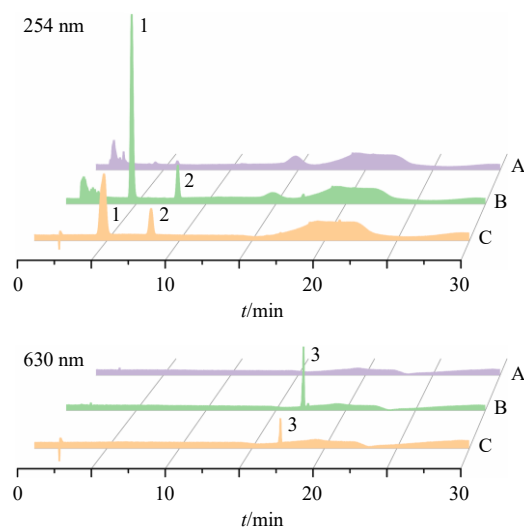
(6) 线性关系考察: 柠檬黄进样质量在 0.010~0.503 μg 时, 柠檬黄的峰面积与进样质量均呈现良好的线性关系, 标准曲线 $Y=3\,451.56X+3.774$, $R^2=0.999\,7$; 苋菜红进样质量在 0.010~0.498 μg 时, 苋菜红的峰面积与进样质量均呈现良好的线性关系, 标准曲线 $Y=2\,789.60X+2.365$, $R^2=0.999\,8$; 亮蓝进样质量在 0.001~0.051 μg 时, 亮蓝的峰面积与进样质量均呈现良好的线性关系, 标准曲线 $Y=8\,833.89X+3.008$, $R^2=0.999\,4$ 。

(7) 供试品测定: SJG 安慰剂中柠檬黄、苋菜红和亮蓝的质量分数分别为 3.34、0.85、0.15 mg/g。

2.3.2 HPLC 法测定蔗糖八醋酸酯

(1) 色谱条件: 色谱柱为 Kromasil 100-5 C₁₈ 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 波长 210 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 进样量 5 μL; 流动相为甲醇-水 (55:45)。

(2) 对照品溶液的制备: 精密称量对照品适量,



A-阴性供试品溶液; B-供试品溶液; C-混合对照品溶液; 1-柠檬黄; 2-苋菜红; 3-亮蓝。

A-negative test solution; B-test solution; C-mixed reference substances solution; 1-tartrazine; 2-amaranth; 3-bright blue.

图 5 SJG 安慰剂中柠檬黄、苋菜红和亮蓝的专属性试验
Fig. 5 Specificity test of tartrazine, amaranth and bright blue in placebo

加甲醇溶解, 制成质量浓度为 1.0 mg/mL 的蔗糖八醋酸酯对照品溶液。

(3) 供试品溶液的制备: 取 SJG 安慰剂 5.2 g, 加入甲醇 20 mL, 水浴加热 15 min, 滤过, 取续滤液 12.5 mL, 回收至干, 以甲醇定容至 2 mL, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 即得供试品溶液。

取 SJG 安慰剂阴性样品 (不含蔗糖八醋酸酯) 5.2 g, 同法制备阴性样品溶液。

(4) 方法学考察: 按照《中国药典》2020 年版分析方法验证指导原则, 对蔗糖八醋酸酯的 HPLC 检测方法进行专属性、线性关系、精密度、重复性、稳定性和加样回收率的考察, 结果均符合《中国药典》2020 年版规定。

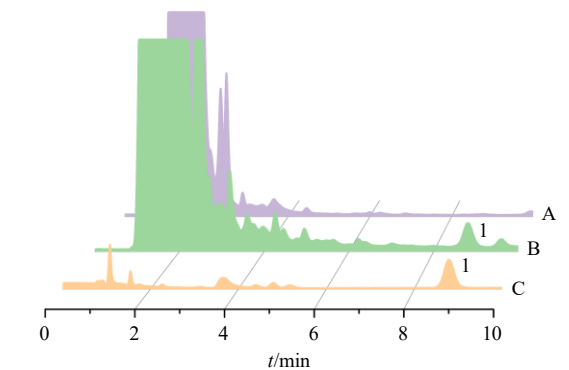
(5) 专属性试验: 蔗糖八醋酸酯的出峰时间为 8.8 min。阴性样品不干扰测定, 测定方法的专属性良好。色谱图见图 6。

(6) 线性关系考察: 蔗糖八醋酸酯进样质量在 1.05~50.3 μg 时, 峰面积与进样质量均呈现良好的线性关系, 标准曲线 $Y=37\,663.12X-14.68$, $R^2=0.999\,4$ 。

(7) 供试品测定: SJG 安慰剂中蔗糖八醋酸酯的质量分数为 0.54 mg/g。

2.4 SJG 安慰剂的稳定性考察

将 SJG (批号 Z230401) 及其安慰剂 (批号



A-阴性供试品溶液; B-供试品溶液; C-混合对照品溶液; 1-蔗糖八醋酸酯。
A-negative test solution; B-test solution; C-mixed reference substances solution; 1-sucrose octaacetate.

图 6 SJG 安慰剂中蔗糖八醋酸酯的专属性试验

Fig. 6 Specificity test of sucrose octaacetate in the placebo

230701) 进行长期稳定性 [(25±2)℃, RH (60±10)%] 和加速稳定性 [(40±2)℃, RH (75±5)%] 考察, 基于 CQAs 参数 (见“2.2.1”和“2.2.5”项) 分别于 0、1、2、3、6 个月对两者的相似性进行考察, 并按照“2.3”项下方法对 SJG 安慰剂中的感官模拟指标性成分进行含量测定。

2.4.1 颜色和味道模拟辅料的稳定性考察结果 柠檬黄、苋菜红、亮蓝和蔗糖八醋酸酯 6 个月的含量稳定性考察结果见表 5。结果表明, SJG 安慰剂中的柠檬黄、苋菜红、亮蓝和蔗糖八醋酸酯在 6 个

表 5 SJG 安慰剂中柠檬黄、苋菜红、亮蓝和蔗糖八醋酸酯含量的稳定性考察

Table 5 Stability investigation of tartrazine, amaranth, bright blue, and sucrose octaacetate content in placebo

稳定性	t/月	质量分数/(mg·g ⁻¹)			
		柠檬黄	苋菜红	亮蓝	蔗糖八醋酸酯
长期实验	0	3.34	0.85	0.15	0.54
	1	3.41	0.82	0.15	0.52
	2	3.27	0.84	0.15	0.54
	3	3.34	0.89	0.15	0.55
	6	3.53	0.89	0.14	0.53
加速实验	1	3.38	0.82	0.15	0.53
	2	3.29	0.84	0.14	0.53
	3	3.33	0.90	0.15	0.56
	6	3.49	0.88	0.14	0.52

月的长期和加速稳定性试验中, 含量下降均不超过 7%, 稳定性较好。这是安慰剂颜色和味道感官指标稳定性以及模拟对象相似性的关键化学基础。

2.4.2 CQAs 参数稳定性考察结果 感官 CQAs 参数 6 个月的相似性评价稳定性考察结果见表 6。结果表明, 在 1~6 个月的长期和加速稳定性考察中, SJG 安慰剂 6 个感官 CQAs 参数的稳定性较好, 与颜色和味道模拟辅料的化学稳定性结果保持一致, 也有效保证了 SJG 安慰剂的感官品质及与其模拟对象的相似性, 进而确保临床试验中盲法的实施。

表 6 SJG 安慰剂感官 CQAs 参数相似性的长期稳定性和加速稳定性考察 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 6 Stability examination of CQAs similarity between SJG and placebo ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

t/月	长期稳定性					
	颗粒颜色	溶液颜色	颗粒气味	溶液澄明度	溶液味道	溶液气味
0	3.28±0.22	3.97±0.27	3.38±0.26	4.47±0.31	4.53±0.31	4.80±0.20
1	3.33±0.27	4.03±0.21	3.17±0.22	4.63±0.30	4.67±0.27	4.40±0.27
2	3.27±0.16	4.20±0.30	3.27±0.16	4.67±0.22	4.50±0.17	4.45±0.23
3	3.28±0.22	4.33±0.33	3.23±0.18	4.58±0.28	4.50±0.33	4.50±0.17
6	3.27±0.16	4.00±0.17	3.25±0.25	4.58±0.28	4.62±0.26	4.53±0.16
t/月	加速稳定性					
	颗粒颜色	溶液颜色	颗粒气味	溶液澄明度	溶液味道	溶液气味
0	3.28±0.22	3.97±0.27	3.38±0.26	4.47±0.31	4.53±0.31	4.80±0.20
1	3.28±0.22	4.15±0.15	3.20±0.20	4.37±0.18	4.77±0.18	4.53±0.31
2	3.32±0.18	4.17±0.22	3.33±0.22	4.75±0.25	4.23±0.18	4.42±0.28
3	3.03±0.06	4.25±0.25	3.25±0.25	4.50±0.33	4.27±0.16	4.33±0.22
6	3.37±0.18	4.23±0.18	3.20±0.20	4.45±0.08	4.60±0.13	4.40±0.27

3 讨论

中药安慰剂的研究中, 与液体制剂和片剂或散剂等其他固体制剂相比, 颗粒剂的模拟难度最大,

因为既要保证在颗粒状态又要保持其在溶液状态与模拟对象的相似性。本研究中的 SJG 安慰剂大致工艺与处方如下: 焦糖色素、柠檬黄色素、可可棕

色素、枸橼酸、三氯蔗糖溶解,蔗糖八醋酸酯溶解,与糊精混合,干燥,粉碎,干法制粒。本研究以 SJG 为模型,建立了基于 CAQs 指标的相似性评价方法,并使用了色差计和基于 Python 软件的图像评价法,综合提取多种颜色空间用于对安慰剂与模拟对象的相似性评价。

3.1 颜色的量化测定和相似性评价方法

颗粒或溶液状态下中药的颜色量化测定方法有多种。与其他感官指标(味道、气味、口腔质地等)或类似或不同,颜色属于非线性感官指标,其相似性的评价方法包括以人工评价法为代表的主观评价和以色差计法为代表的客观评价方法。本实验在色差计法和实验室前期研究的基础上^[2-3],将 Python 语言引入安慰剂的相似性图像评价法,使用 RGB、HSV 和灰度值,对颜色在色彩、亮度和颜色深度等方面进行了量化,以丰富的颜色特征属性参数对安慰剂和模拟对象的颜色相似性进行评价。

3.2 基于关键辅料质控的安慰剂质量标准及稳定性研究

在近年来的工艺和质量研究中,一般通过相似性、适用性和安全性等内容的研究,获得质量稳定和相似性高的中药安慰剂;而在后续的稳定性的研究过程中,主要通过质量标准中的相似性评价方法,确保安慰剂与其模拟对象的相似性和稳定性。但是部分颜色模拟、味道模拟和气味模拟成分因其化学结构的特点具有不稳定性,例如作为甜味剂的阿斯巴甜的热稳定性较差^[18],常用颜色模拟辅料靛蓝在酸性环境下稳定性较差^[19]。

模拟辅料用量少、变化小,难以被相似性评价方法有效指示和反映,建立定量测定方法,以精确量化阐明安慰剂感官指标的稳定性变化规律。在 SJG 安慰剂的制剂处方中,柠檬黄、苋菜红、亮蓝和蔗糖八醋酸酯用量少但对产品的感官相似性具有关键影响。且中药安慰剂中的色素和苦味模拟辅料的测定方法鲜有文献报道^[20]。

本研究建立了 SJG 安慰剂中 3 种色素的 HPLC 同时测定方法以及蔗糖八醋酸酯的 HPLC 测定方法,并结合长期和加速稳定性考察试验展示了这 4 种感官模拟辅料在 SJG 安慰剂中的稳定性规律,具有典型的新颖性和价值。

本实验还将颜色和味道模拟辅料含量稳定性考察结果与感官 CQAs 参数相似性的变化进行了对照。长期稳定性与加速稳定性样品中,柠檬黄、苋

菜红和亮蓝具有一致的含量变化趋势,感官 CQAs 参数中,颗粒颜色和溶液颜色的变化趋势也一致;而蔗糖八醋酸酯的含量变化趋势差异较大,感官 CQAs 参数中,溶液味道的变化趋势可以体现出加速稳定性样品的味道变化趋势与长期稳定性样品的变化趋势差异较其他感官 CQAs 参数大。

通过对比结果可以判断,感官模拟辅料的含量变化对安慰剂的感官 CQAs 参数相似性有着一定的影响,可以为安慰剂的相似性模拟和质量控制提供一定的指导。在安慰剂的开发、生产以及质量标准建立等流程中,感官模拟辅料的含量测定和稳定性研究有重要的指导意义和价值。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 国家药品监督管理局药品审评中心.《中药新药临床试验用药品的制备研究技术指导原则(试行)》(2023 年第 41 号)[EB/OL]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/c36e5f39426b9a402be39c89016be7c>.
- [2] 吴梅,吴飞,张继全,等.藁芩生肌颗粒质量标准研究[J].中国医药导报,2019,16(34):31-36.
- [3] 郭宁,郭成杰,吴梅,等.中药藁芩生肌颗粒安慰剂的质量标准探讨[J].中国新药杂志,2021,30(15):1421-1427.
- [4] Wu M, Guo C J, Guo N, et al. Similarity evaluation on the compound TCM formulation "Huoling Shengji Granule" and its placebo by intelligent sensory evaluation technologies and the human sensory evaluation method based on critical quality attributes [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 6637326.
- [5] Guo N, Wu F, Wu M, et al. Progress in the design and quality control of placebos for clinical trials of traditional Chinese medicine [J]. *J Integr Med*, 2022, 20(3): 204-212.
- [6] 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,2018,27(11):1254-1261.
- [7] 中国药典[S].四部.2020:6.
- [8] 余欣彤,黎桃敏,施文婷,等.干燥方式对板蓝根浸膏粉 HPLC 及物理指纹图谱的影响[J].现代中药研究与实践,2022,36(1):66-71.
- [9] 国家技术监督局.感官分析 方法学 检测和识别气味方面评价员的入门和培训:GB/T 15549—2022[S].北京:中国标准出版社,1-19.
- [10] 感官分析 味觉敏感度的测定方法[S].GB/T 12312—2012.2012:1-24.
- [11] 王琪,胡佳亮,杜若飞,等.基于化学谱峰匹配和图像感官评价的小儿感冒宁合剂稳定性研究[J].中国中

- 药杂志, 2022, 47(6): 1573-1581.
- [12] 于淼, 代悦, 刘涛涛, 等. 基于物质基础与颜色变化相关性分析的制何首乌古今炮制方法探讨 [J]. 中草药, 2023, 54(11): 3480-3488.
- [13] 赵宇杰, 姚娟文, 赵彦敏. 基于 Matlab 的数字图像色彩空间转换与应用 [J]. 电子技术与软件工程, 2015(5): 113.
- [14] 付长斐, 叶宾, 李会军. 基于 HSV 颜色空间的运动目标识别 [J]. 控制与信息技术, 2020(2): 70-74.
- [15] 黄春艳, 杨国胜, 侯艳丽. 基于颜色直方图和空间信息融合的图像分割算法 [J]. 计算机工程与应用, 2005, 41(3): 85-87.
- [16] 李哲. 中药复合粒子设计及其压片关键性能改善与机理研究 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2019.
- [17] 董立朋, 聂清浩, 孙晓坤, 等. 基于皮尔逊相关系数法的盾构掘进参数对地表沉降影响分析 [J]. 施工技术: 中英文, 2024, 53(1): 116-123.
- [18] 王继荣, 申淑琦. 食品甜味剂及其应用 [J]. 食品安全导刊, 2019(9): 183.
- [19] 李建晴. 赤藓红合成色素稳定性的研究 [J]. 运城学院学报, 2022, 40(3): 41-45.
- [20] 金诚, 杜若飞, 王权, 等. HPLC 法同时测定康儿灵颗粒中新橙皮苷二氢查耳酮和纽甜的含量 [J]. 上海中医药大学学报, 2023, 37(5): 47-54.

[责任编辑 郑礼胜]