·中药工业·

星点设计-多指标评价优化六味地黄丸制备工艺△

屈云萍[1*]，李菲[1]，刘育强[1]，杨斯斯[1]，黄宁[1]，姜国志[2]

（1. 神威药业集团有限公司，河北　石家庄　051430；
2. 中药注射剂新药技术开发国家地方联合工程实验室，河北　石家庄　051430）

［摘要］　**目的：**采用单因素考察及星点设计-多指标评价优化六味地黄丸制备工艺。**方法：**采用四因素三水平星点设计，以浸膏相对密度、润湿剂用量、干燥温度、干燥时间为考察因素，以丸芯的水分、丹皮酚含量、溶散时限、外观质量分数为评价指标，建立二项式拟合方程，根据最佳模型绘制效应面和等高线图，选择最佳处方并进行验证试验。**结果：**考察因素和评价指标及总评“归一值”之间存在可信关系，二项式拟合方程相关系数 $r = 0.993\ 8$，经过优化后的最佳工艺参数为：浸膏相对密度 1.40（30 ℃）、润湿剂（纯化水∶乙醇 = 1∶2）用量（40 万丸用量）6.58 L、干燥温度 65 ℃、干燥时间 16 h。**结论：**星点设计-效应面法多指标评价简单可靠，所建立的数学模型具有良好的预测性和可靠性，优化后的制备工艺验证值与预测值偏差较小。

［关键词］　六味地黄丸；星点设计；多指标评价；优化制备工艺

Optimization of Preparation Technique of LiuWeiDiHuang Pills by Star Point Design-Multiple Indexes Evaluation

QU Yun-ping[1*], LI Fei[1], LIU Yu-qiang[1], YANG Si-si[1], HUANG Ning[1], JIANG Guo-zhi[2]

(1. *Shineway Pharmaceutical Group Ltd.*, *Shijiazhuang* 051430, *China*;
2. *Nation and Local Engineering Laboratory for the New TCM Injection Technology Development*, *Shijiazhuang* 051430, *China*)

［**Abstract**］　**Objective**: Using Single factor examination and star point design-Multiple indexes evaluation to optimize the preparation technique of LiuWeiDiHuang pills. **Methods**: Using four factors -three levels star point design, taking the relative density of paste, quantity of adhesives, drying temperature and drying duration as exploring factors, using water content in the pill core, content of paeonolum, dissolution time of the pill and appearance mass fraction as evaluation index, Binomial fitting equation was established based on the best model to draw the effect surface and contour map to choose the best formula and conduct the validation test. **Results**: The trusted relationship could be established between examination factors and evaluation index as well as normalized value. The relative coefficient for Binomial fitting equation was $r = 0.993\ 8$, the best technical parameters could be chosen after optimization, i. e. the relative density of paste was 1.40 at 30 ℃, quantity of adhesives (purified water∶ethanol = 1∶2) for 400, 000 pills was 6.58 L, the drying temperature is 65 ℃ and the drying duration was 16 h. **Conclusion**: Star point design-effect surface and multi indexes evaluation method is simple and reliable. The established mathematical model has good predictive and reliable properties. The deviation between optimized preparation technique validation parameters and predictive values is small.

［**Keywords**］　LiuWeiDiHuang pills; Star Point design; multiple indexes evaluation; preparation technique optimization
doi: 10.13313/j.issn.1673-4890.20171214001

六味地黄丸是最著名的经典方剂之一，滋阴补肾，用于头晕耳鸣、腰膝酸软、遗精盗汗，临床应用范围极其广泛。近年来，不少学者对六味地黄丸进行了广泛而深入地研究，并取得了较大的进展，文献[1]统计分析了 1995—2000 年以来六味地黄丸的研究，共计 544 篇，但其中的制药工艺研究仅有 7 篇，占总文献量的 1.29%，且六味地黄丸含量控制项中，丹皮酚的含量、丸芯溶散时限受干燥温度及

△［基金项目］　国家重大新药创制专项基金资助项目（2014ZX09301306-011）；河北省科技计划基金资助项目（14272504D）
*［通信作者］　屈云萍，高级工程师，研究方向：口服制剂品种工艺与质量标准研究；Tel：（0311）88030066-6503，E-mail：qyp218@163.com

干燥时间的影响较大[2]，同样的，软材的粘合性、成型性对压丸得率也有很大的影响。本文通过星点设计-效应面法多指标评价，对六味地黄丸制备工艺进行优化研究，旨在稳定产品质量。

星点设计[3-6]（central composite design，CCD）广泛应用于处方优化和制剂工艺，星点设计与常用的正交设计、均匀设计法相比，具有非线性拟合的特点，其结果可采用集数学和统计学方法于一体的效应面法进行优化，实验精度高，预测值更接近真实值，试验次数少，CCD-RSM 广泛应用于处方优化和制剂工艺，该实验设计法既能考察各自变量对因变量的影响及各自变量间交互作用，也能进行各自变量的最优化，建立数学模型并做出相应的三维因变量曲面图，对自变量与因变量的关系进行直观的量化分析，CCD-RSM 可较好地描述依赖变量和非依赖变量之间的关系。该方法直观性、方便性及预测性均比正交和均匀设计优化更好。

1　材料与仪器

六味地黄浸膏、药粉（神威药业集团有限公司中药提取车间提供）；丹皮酚对照品（中国食品药品检定研究院，批号 110708-201407）；甲醇（色谱纯，天津康科德公司），其余试剂（分析纯，市售）。

HC200C 槽形混合机（浙江温州化工机械厂）；中药自动制丸机（黑龙江制药机械厂）；荸荠式打光锅（宝鸡制药机械厂）；热风循环烘箱（常州范群干燥设备有限公司）；BJ-Ⅱ型智能崩解仪；紫外可见分光光度计。

2　方法与结果

2.1 六味地黄丸制备工艺

牡丹皮用水蒸气蒸馏法提取挥发性成分；药渣与部分酒萸肉、熟地黄、茯苓、泽泻加水煎煮二次，每次 2 h，煎液滤过，滤液合并，浓缩成稠膏；山药与剩余酒萸肉粉碎成细粉，过筛，混匀；与上述稠膏和牡丹皮挥发性成分混匀，制丸，干燥，打光，即得。

2.2 丹皮酚含量的测定

采用高效液相色谱法测定[7]。

2.3 质量评价指标

以水分、丹皮酚含量、溶散时限、外观质量分数为评价指标，采用单因素试验研究浸膏相对密度、润湿剂用量、干燥温度、干燥时间 4 个影响因素对六味地黄丸制备工艺的影响。

六味地黄丸为浓缩丸，为规避丸剂的粒径大小及重量对溶散时限的影响，本试验严格按规格控制在每 8 丸重 1.44 g（每 8 丸相当于饮片 3 g），即每丸重 0.18 g，且在试验阶段通过筛分、拣选出不符合粒径、丸重要求的丸子。

2.3.1 水分（Y_1）　按水分测定法（通则 0832 第四法）测定[8]103。

2.3.2 丹皮酚含量（Y_2）　按 **2.2** 项下方法测定。

2.3.3 溶散时限（Y_3）　取六味地黄丸 6 丸，选择孔径约 2.0 mm 筛网的吊篮，照溶散时限检查法（通则 0921）测定[8]118。

2.3.4 外观质量分数（Y_4）　随机取不同条件制备的丸芯各 50 丸，分别对各组丸芯的外观进行评分，设定圆整度、硬度、色泽等 3 个外观评价指标，分别占 45、25、30 分，满分为 100 分，将各指标评分相加作为丸芯的外观得分。

以 Y_1，Y_2，Y_3，Y_4 的总评“归一值”（overall desirability，OD）为评价指标[9]，根据 4 个指标对丸芯质量影响的重要性，设定各自权重分别为 40%、20%、30%、10%。

$$\text{OD 值} = (Y_1/Y_{1max}) \times 40\% + (Y_2/Y_{2max}) \times 20\% + (1-Y_3/Y_{3\,min}) \times 30\% + (Y_4/Y_{4max}) \times 10\% \quad (1)$$

式中 Y_3 越小越好。

3　结果与分析

3.1 单因素试验结果

3.1.1 浸膏相对密度的影响　处方中六味地黄浸膏的量占比较大，与药材原粉及其余物料混合搅拌制备软材后压丸，本试验分别考察 4 个不同相对密度的浸膏按照 **2.1** 的方法压制丸芯，考察软材的性状、压制成条性、丸重差异及丸芯成型，结果见表 1。

结果表明：相对密度 1.38、1.40 时，软材黏性适中，压丸容易成条，丸重差异小且丸面光滑，成型较圆整，因此可以选用 1.39 为中线做进一步考察。

3.1.2 润湿剂的选择　制备软材时用到的润湿剂为纯化水和乙醇，两者以不同的比例进行配合，另外乙醇用量比例较大时，能很好的改善丸芯的溶散，

但同时软材黏性就会降低，导致压丸不易，本试验考察以纯化水、乙醇为润湿剂，按 **2.1** 的方法制备丸芯，考察软材的性状、压制成条性、丸重差异及溶散时限，结果见表 2。

表 1　浸膏相对密度的影响

相对密度(30 ℃)	软材性状	压制成条性	丸重差异	丸芯成型
1.35	较软、且黏性一般	不易成条、条面不光滑	−5% ~ +9%	丸面不光滑、成型扁圆
1.38	黏性适中	易成条、条面光滑	−4% ~ +5%	丸面光滑、成型较圆
1.40	黏性适中	易成条、条面光滑	−3% ~ +3%	丸面光滑、成型圆整
1.42	较硬、黏性较大	不易成条、易断	−1% ~ +10%	丸面光滑、成型较圆

表 2　润湿剂的选择

润湿剂	软材的性状	压制成条性	丸重差异	溶散时限/min
纯化水	较软、黏性很大	易成条、条面不光滑、易断	−9% ~ +9%	118
纯化水:乙醇 1:1	较软、黏性适中	易成条、条面光滑、易断	−7% ~ +8%	92
纯化水:乙醇 1:2	软材适宜、黏性适中	易成条、条面光滑	−4% ~ +3%	64
纯化水:乙醇 1:3	软材适宜、黏性一般	不易成条、易断	−10% ~ +4%	40
乙醇	较松散、黏性较差	不易成条、条面不光滑、易断	−10% ~ +9%	32

结果表明：纯化水:乙醇为 1:2 时，软材硬度适宜、黏性适中，压制易成条、条面光滑，丸重差异小，且溶散时限合格，因此选择纯化水:乙醇为 1:2 为润湿剂，后续做用量的进一步考察。

3.1.3 干燥温度的影响　用浸膏相对密度为 1.39(30 ℃)、选择润湿剂为纯化水:乙醇 1:2，按照 **2.1** 的方法制备丸芯，放入热风循环烘箱内干燥，根据经验分别选择 55、60、65、70 ℃的干燥温度，干燥相同的时间，考察丹皮酚含量、水分、溶散时限，结果见表 3。

表 3　干燥温度的影响

干燥温度/℃	丹皮酚含量(mg/丸)	水分(%)	溶散时限/min
55	0.41	8.0	62
60	0.42	7.6	68
65	0.41	7.5	65
70	0.43	7.0	63

结果表明：不同的干燥温度，干燥相同的时间，丹皮酚及溶散时限差异不明显，但 70 ℃干燥的丸芯含水量较低，对丸芯的质量保证更加可靠，因此后续选择 70 ℃为中线做进一步考察。

3.1.4 干燥时间的影响　按照 **2.1** 的方法制备丸芯，用浸膏相对密度为 1.39(30 ℃)、选择润湿剂为纯化水:乙醇为 1:2，干燥温度为 70 ℃，选择不同的干燥时间，考察丹皮酚含量、水分、溶散时限、丸芯外观，结果见表 4。

表 4　干燥时间的影响

干燥时间/h	丹皮酚含量(mg/丸)	水分(%)	溶散时限/min	丸芯外观
15	0.40	7.8	65	光滑、无裂隙、色泽均一
17	0.42	7.4	64	光滑、无裂隙、色泽均一
19	0.41	6.8	71	光滑、无裂隙、色泽均一
21	0.39	6.7	86	有轻微裂隙、色泽均一

结果表明：随着干燥时间的延长，丹皮酚含量稍有下降，且溶散时限及丸芯外观受很大的影响，因此选择 18 h 为中线做后续的进一步考察。

3.2 星点设计试验优选六味地黄丸制备工艺

在单因素试验的基础上，应用星点设计-响应曲面法多指标对六味地黄丸制备工艺进行优化。以浸膏相对密度 1.39(30 ℃)(A)、润湿剂用量 6L(40 万丸用量)(B)、干燥温度 70℃(C)、干燥时间 18 h(D)为考察因素的中线，以水分(Y_1)、丹皮酚含量分数(Y_2)、溶散时限分数(Y_3)、外观质量分数(Y_4)为评价指标，计算 OD 值。

每个因素选择 3 个水平，响应曲面试验因素水平编码见表 5。

表 5　响应曲面试验因素水平编码

水平	因素			
	A 浸膏相对密度	B 润湿剂用量/L	C 干燥温度/℃	D 干燥时间/h
−1	1.37	4	65	16
0	1.39	6	70	18
1	1.41	7	75	20

3.3 响应曲面试验结果分析

利用 Design-Expert 8.0.6 软件进行试验设计，本试验共含有 29 个试验点，其中 29 个为析因点，5 个为零点。析因点为自变量取值在所构成的三维顶点，零点为区域的中心点，其中零点试验重复 5 次，用以估算试验误差。Box-Behnken 试验方案及结果见表 6。

采用 Design-Expert 8.0.6 软件对综合评分结果进行二次多元回归拟合，回归方程 $Y = 0.39 - 0.032A - 0.027B - 0.088C - 0.16D - 0.025AB - 0.045AC - 0.095AD - 0.055BC - 0.015BD - 5 \times 10^{-3} CD - 0.083A^2 - 0.021B^2 - 0.071C^2 - 0.033D^2$，相关系数 $r = 0.993\ 8$，接近 1，说明所建模型与试验拟合较好。详细见表 7。

对该回归方程进行方差分析，该模型具有极显著水平足以拟合试验数据。对回归方程进行检验，$r = 0.9938$，说明回归方程回归效果好，R^2_{Adj} 为 0.9752，说明此模型能解释 97.52% 响应值的变化。失拟项不显著（$P > 0.05$），说明实测数据和理论数据拟合度很高，试验误差小，可信度高，因此可以用于六味地黄丸制备工艺的分析和预测。

表 6　Box-Behnken 试验设计及结果

序号	A	B/L	C/℃	D/h	Y_1（%）	Y_2（mg/丸）	Y_3/min	Y_4	OD 值
1	0	0	0	0	7.1	0.44	64	90	0.37
2	0	0	1	−1	7.5	0.32	56	60	0.37
3	−1	0	0	−1	7.0	0.39	60	43	0.33
4	−1	1	0	0	8.5	0.39	70	52	0.32
5	−1	0	1	0	6.2	0.34	67	58	0.23
6	0	1	0	−1	7.3	0.41	41	40	0.50
7	1	0	0	1	4.8	0.41	87	40	0.01
8	0	1	0	1	5.4	0.39	75	63	0.15
9	1	1	0	0	5.4	0.41	70	49	0.19
10	0	1	−1	0	6.8	0.40	52	43	0.39
11	−1	0	−1	0	8.9	0.39	69	39	0.33
12	0	0	1	1	4.9	0.32	80	31	0.02
13	0	0	0	0	7.1	0.46	62	92	0.40
14	0	1	1	0	5.1	0.40	76	46	0.12
15	0	0	0	0	6.7	0.45	64	90	0.36
16	1	0	−1	0	7.9	0.40	65	52	0.34
17	0	−1	0	1	5.4	0.40	68	56	0.21
18	0	−1	−1	0	8.5	0.41	68	54	0.35
19	−1	−1	0	0	6.4	0.36	58	67	0.33
20	1	0	0	−1	6.2	0.41	36	35	0.49
21	0	0	0	0	6.9	0.43	58	92	0.41
22	0	0	−1	−1	9.0	0.40	46	43	0.54
23	0	−1	1	0	6.0	0.37	60	68	0.30
24	1	−1	0	0	4.8	0.37	52	51	0.30
25	0	0	0	0	6.8	0.44	59	91	0.40
26	1	0	1	0	4.5	0.38	80	54	0.06
27	0	0	−1	1	5.5	0.40	70	67	0.21
28	0	−1	0	−1	7.2	0.41	41	40	0.50
29	−1	0	0	1	6.2	0.43	71	58	0.23

表 7　回归模型和方差分析

来源	平方和	自由度	均方	*F* 值	*P* 值	显著性
Model	0.54	14	0.039	79.75	<0.000 1	**
A-浸膏相对密度	0.012	1	0.012	24.85	0.000 2	**
B-润湿剂用量	0.008 533 333	1	0.008 533 333	17.62	0.000 9	**
C-干燥温度	0.094	1	0.094	193.34	<0.000 1	**
D-干燥时间	0.30	1	0.30	621.19	<0.000 1	**
AB	0.002 5	1	0.002 500 00	5.16	0.039 4	*
AC	0.008 1	1	0.008 100 00	16.73	0.001 1	**
AD	0.036	1	0.036	74.54	<0.000 1	**
BC	0.012	1	0.012	24.99	0.000 2	**
BD	0.000 9	1	0.000 9	1.86	0.194 3	
CD	0.000 1	1	0.000 1	0.21	0.656 5	
A^2	0.045	1	0.045	92.64	<0.000 1	**
B^2	0.002 770 45	1	0.002 770 45	5.72	0.031 4	*
C^2	0.032	1	0.032	66.89	<0.000 1	**
D^2	0.007 135 315	1	0.007 135 15	14.73	0.001 8	**
残差	0.006 78	14	0.000 484 286			
失拟项	0.004 9	10	0.000 49	1.04	0.529 5	
纯误差	0.001 88	4	0.000 47			
总误差	0.55	28				

$r = 0.993\ 8$，$R^2_{Adj} = 0.975\ 2$

注：*. 差异显著（$P < 0.05$）；**. 差异极显著（$P < 0.01$）。

3.4　各因素间相互作用对结果的影响

响应曲面图是根据回归方程绘制的，是响应值在各试验因素交互作用下得到的结果构成的一个三维空间曲面，可以预测和检验变量的响应值以及确定变量的相互关系。AB、AC、AD 和 BC 之间均存在交互作用，根据回归方程做出模型的响应曲面及等高线，见图 1。

由图 1 可知，软件最终筛选出的最佳工艺参数为：浸膏相对密度 1.40（30 ℃）、润湿剂（纯化水∶乙醇为 1∶2）用量（40 万丸用量）6.58 L、干燥温度 65 ℃、干燥时间 16 h，此状态 OD 值为 0.570 8。

3.5　最佳工艺参数的验证

按照响应面法优化的工艺条件进行 3 批验证，三批丹皮酚含量分别为 0.47、0.45、0.42 mg/丸；水分分别为 6.8%、6.5%、6.2%；溶散时限分别为 39、36、34 min；将数据用 2.3.4 的方法计算 OD 值，分别为 0.571 9、0.571 1、0.571 5，与预测 OD 值比较，偏差为 −0.19%、−0.05%、−0.12%。因此，实践结果与模型预测值基本一致，所以利用响应面法得到的六味地黄丸制备工艺参数稳定可靠，具有一定的应用价值。

3.6　丸芯整形、打光及结果

将丸芯置打光锅中，启动打光锅，用 95% 乙醇及纯化水适量润湿丸粒，然后交替将药汁和 50% 左右乙醇喷洒至丸芯表面，直至丸芯表面平整，加入滑石粉和药用炭的混合粉末整形至丸面光滑、细腻，撒虫白蜡继续打光 40 ~ 60 min，然后加入 2% 硅油蜡打光至光亮，并考察丸子外观、丸重差异、检测丹皮酚含量、溶散时限、水分，结果见表 8。

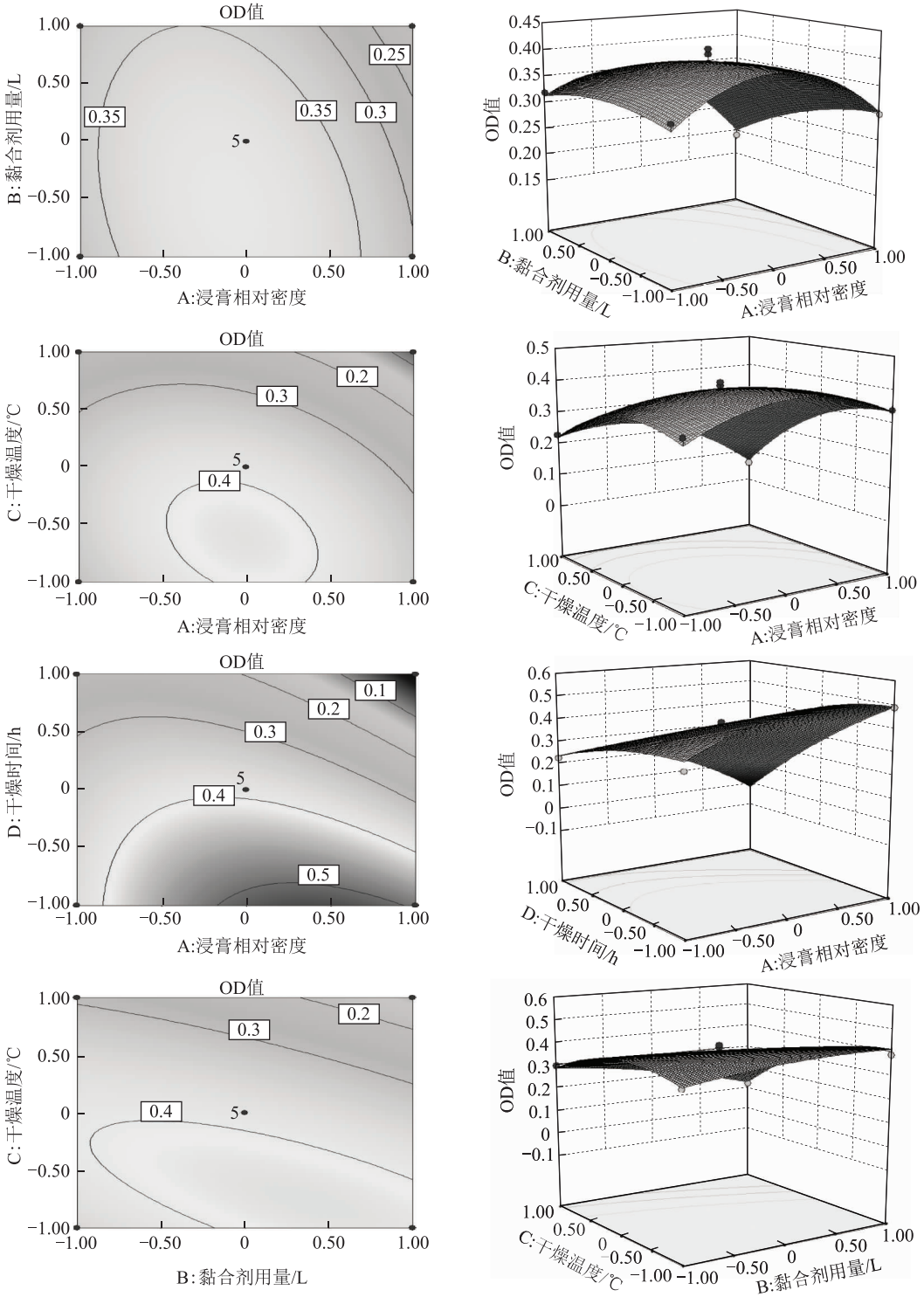

图 1　等高线和响应面图

表 8　3 批验证丸芯整形、打光后结果

验证批次	丸子外观	丸重差异	丹皮酚含量(mg/丸)	溶散时限/min	水分(%)
1	丸面光滑、无裂隙、色泽均一	-3% ~ +4%	0.41	49	5.1
2	丸面光滑、无裂隙、色泽均一	-4% ~ +4%	0.42	51	5.9
3	丸面光滑、无裂隙、色泽均一	-3% ~ +2%	0.40	54	6.2

4　结论

效应面法是采用多元二次回归方程来拟合效应值与因素之间关系的一种优化统计方法，该设计法具有精度高、预测性好的特点，现已广泛用于药学研究领域[10]。本试验通过单因素考察和响应曲面分析对六味地黄丸制备工艺进行优化，最终筛选出的最佳工艺参数为：浸膏相对密度 1.40(30 ℃)、润湿剂用量(40 万丸用量)6.58 L、干燥温度 65 ℃、干燥时间 16 h，此状态 OD 值为 0.570 8。

5　讨论

目前针对浓缩丸的干燥方式有很多中，据文献[11-12]报道的有微波干燥、烘箱干燥，本试验是按照热风循环烘箱开展的研究，优化的制备工艺，待后续继续开展等其他的干燥方式，尤其是微波干燥时对丸子内部成分的影响，以提高产能和效率。另外浓缩丸的生产工艺不同，可能会导致体外溶出度的差异性，如浓缩丸药材的粉碎程度[13]，药粉混合的均匀性，成药的硬度等都对其有一定的影响，故制作工艺的标准化是提高药品质量的重要方面[14]，在本试验的基础上要持续优化其他影响质量稳定性的因素。

参考文献

[1]　虞学军，林齐鸣，曹小玉. 近年研究六味地黄丸的文献分析. 成都中医药大学学报. 2001，12(4)：58-59.

[2]　曹小勇，江海，秦公伟. 三个不同厂家浓缩六味地黄丸中丹皮酚含量分析[J]，时珍国医国药，2009，20(9)：2189-2190.

[3]　杨涛，盛欢欢，程雪梅等. 星点设计-效应面法优化穿心莲内脂固体脂质纳米粒处方[J]. 中国医药工业杂志. 2012，43(9)：752-755.

[4]　吴伟，崔光华. 星点设计-效应面优化法及其在药学中的应用[J]. 国外医学药学分册，2000，27(5)：292-298.

[5]　Madgulkar A R，Bhalekar M R，Kolhe V J，et al. Formulation and optimization of sustained release tablets of venlafaxine resinates using response surface methodology[J]. Indian J Pharm Sci，2009，71(4)：387-394.

[6]　屈云萍，蔡向杰，王娇等. 星点设计-响应面法优化血塞通滴丸成型工艺及冷凝液指纹图谱研究[J]. 中国药房. 2016，27(34)：4829-4832.

[7]　国家药典委员会. 中华人民共和国药典：一部[M]. 北京：中国医药科技出版社，2015：705-706.

[8]　国家药典委员会. 中华人民共和国药典：四部[M]. 北京：中国医药科技出版社，2015.

[9]　吴伟，崔光华，陆彬. 试验设计中多指标的优化：星点设计和总评"归一值"的应用[J]. 中国药学杂志，2000，35(8)：530-533.

[10]　包侠萍. 芪骨胶囊浸膏干燥工艺的研究[J]. 海峡药学，2015，27(2)：67-70.

[11]　卢鹏伟，杨晨华，单雯，等. 六味地黄丸(浓缩丸)微波干燥工艺的验证[J]. 河南大学学报(医学版)2005，24(2)：31-33.

[12]　汤宗武. 微波干燥在中药丸剂生产中的应用[J]. 海峡药学，2010，22(9)：83-84.

[13]　肖绍玲，马燎原. 浓缩六味地黄丸制备工艺的优化[J]. 中成药，2009，31(2)：299-300.

[14]　白林，方旬，任韡. 不同厂家六味地黄丸质量比对分析[J]. 中国药物应用与监测，2011，8(5)：278-282.

(收稿日期　2017-12-14)