# 不同厂家六味地黄丸溶散与释药特性的比较

翁夏蒙，石森林*，吴素香，郭菲，熊阳
（浙江中医药大学，杭州 310053）

［摘要］ **目的**：评价六味地黄丸物质组释放动力学特性、溶散特征及其相关性。**方法**：选择甲乙丙 3 个厂家的六味地黄丸，其中甲厂家采集了 3 个批号的样本，采用中药物质组释放度评价技术与方法，参照 2010 年版《中国药典》，以桨法测定各时间点释放度，拟合释放曲线，计算释放动力学特征参数；检测各厂家批号六味地黄丸的溶散时间；分析六味地黄丸释药特征参数与其溶散时间的相关性。**结果**：六味地黄丸具有一定的缓释特征，动力学特征符合 Weibull 释放模型，计算各 Weibull 分布参数 $T_{50}$ 和 $T_d$。甲、乙、丙三厂家丸剂的 $T_{50}$ 分别为 107.01，134.33，13.01 min，$T_d$ 分别为 234.11，292.33，37.66 min，均有显著性差异（$P<0.01$）；厂家甲 3 个批号丸剂的 $T_{50}$ 分别为 107.01，125.93，194.44 min，$T_d$ 分别为 234.11，385.42，206.17 min，批次间也有显著差异（$P<0.01$）；厂家甲（3 个批号）、乙、丙六味地黄丸的溶散时间依次为 32，43，37，35，21 min，符合《中国药典》要求，但存在一定差异；六味地黄丸的释药速率参数 $T_{50}$，$T_d$ 与其溶散时间之间均具有显著的正线性相关关系（$P<0.05$）。**结论**：六味地黄丸的物质组释放动力学特征存在显著的厂间、批间差异，其释药速率与溶散时间具有相关性。

［关键词］ 六味地黄丸；中药物质组；释放度；溶散
［中图分类号］ R284.1；R283.6 ［文献标识码］ A ［文章编号］ 1005-9903(2015)02-0044-05
［doi］ 10.13422/j.cnki.syfjx.2015020044

**Comparative of Dissolution and Drug Releasing Characteristics of Liuwei Dihuang Pills Produced by Different Manufacturers**

WENG Xia-meng, SHI Sen-lin*, WU Su-xiang, GUO Fei, XIONG Yang
(*Zhejiang Chinese Medical University*, *Hangzhou* 310053, *China*)

［**Abstract**］ **Objective**: To study materiomic of release kinetics and dissolution characteristics of Liuwei Dihuang pills and correlation of them. **Method**: Choosing Liuwei Dihuang pills from three manufacturers and different batches produced by manufacturer A. According to *Chinese Pharmacopia*, using the evaluation methods of release kinetics of traditional Chinese Medicine to determining the materiomics release kinetics and the release characteristic of Liuwei Dihuang pills by the paddle method, determining the dissolution time, and analyzing the correlation between the characteristic parameter of drug release and dissolution of Liuwei Dihuang pills. **Result**: $T_{50}$ of Liuwei Dihuang pills of the three manufacturers are 107.01, 134.33, and 13.01 min, respectively while $T_d$ are 234.11, 385.42, and 206.17 min. The materiomic release kinetics had significant difference among three different manufacturers ($P<0.01$); $T_{50}$ of Liuwei Dihuang pills of three different batches produced by manufacturer A are 107.01, 125.93, 194.44 min and $T_d$ of them are 234.11, 385.42, 206.17 min. The materiomic release kinetics had significant difference among different batches produced by manufacturer A ($P<0.01$). Their disintegration time are 32, 43, 37, 35, 21 min, there was high lever of linear correlation between the release curve fitting parameter as $T_{50}$, $T_d$ and disintegration time trials result ($P<0.05$). **Conclusion**: There were significant difference among Liuwei Dihuang pills of different manufacturers or different batches produced by manufacturer A under the evaluation methods of materiomic release kinetics. And the release rate has correlation with the disintegration time.

［**Key words**］ Liuwei Dihuang pills; materiome of traditional Chinese medicine; release; dissolution

［收稿日期］ 20140425(012)
［基金项目］ 国家自然科学基金项目(81274090, 81202926)
［第一作者］ 翁夏蒙，在读硕士，从事中药制剂新技术和新剂型的研究，Tel：15158191823，E-mail：1025982291@qq.com
［通讯作者］ *石森林，博士，教授，从事中药制剂新技术和新剂型的研究，Tel：0571-86613524，E-mail：pjstone@163.com

六味地黄丸最早记载于宋代名医钱乙的《小儿药证直诀·卷下》,称地黄圆;由熟地黄、山茱萸、淮山药、泽泻、茯苓、丹皮 6 味药组成,具有滋阴补肾的功效,是经典的传统丸剂,被称为“千年补肾良药,补阴方药之祖”。现已制成口服液、硬胶囊、软胶囊等多种剂型[1],广泛应用于心脑血管、内分泌、泌尿生殖等临床疾病的治疗[2-4]。

目前六味地黄丸有 662 个生产文号,临床应用以丸剂居多,其中有将近 200 家厂家生产六味地黄丸(水蜜丸)[5]。但 2010 年版《中国药典》制剂通则/丸剂项仅以溶散时限等指标间接控制质量,不足以控制其内在质量。鉴于此,许多学者对六味地黄丸进行了质控方面的研究,但多是以某个或少数组分为指标的含量检测[6-8]及溶出度/释放度研究[9-10],单个或少数组分的溶出度/释放度与制剂疗效的相关性并不明确,针对单个或少数组分的研究并不能体现中药多组分、整体性作用的特点。

为评价中药(复方)丸剂的整体释药特征,本课题组前期建立了基于中药物质组理论的释放动力学评价技术与方法[11-13]。本文基于此技术,比较了国内 3 个厂家和同一厂家不同批号六味地黄丸(水蜜丸)的物质组释放动力学特征,并研究与其溶散时限的关联性,以期为其质量控制和临床应用提供参考。

## 1 仪器与试药

UV-Vis2450 型紫外-可见分光光度仪(日本岛津),ZRS-6G 型智能溶出试验仪(天津天大天发科技有限公司),LB-2D 型崩解时限仪(上海黄浦仪器责任有限公司),六味地黄丸[厂家甲,批号 12032412(甲 1),12032379(甲 2),12030373(甲 3);厂家乙,批号 6420086;厂家丙,批号 20121204]。

## 2 方法与结果

### 2.1 方法学考察

**2.1.1** 标准物质组储备液的制备 取六味地黄丸 30 丸(1 次给药量),精密称定为 6.045 g,投入溶出杯,加脱气后的蒸馏水 900 mL,于(37 ± 0.5) ℃桨法 100 $r \cdot min^{-1}$的条件下搅拌 12 h,使各组分充分释放,以蒸馏水补足至 900 mL。取溶出液过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液 15 mL,置 100 mL 量瓶内,用蒸馏水稀释至刻度,即得标准物质组储备液。

**2.1.2** 检测方法 用紫外-可见分光光度仪对标准物质组溶液进行检测,以蒸馏水为空白对照,在 220 ~ 400 nm 紫外波长扫描,即得六味地黄丸标准物质组紫外光谱,见图 1。

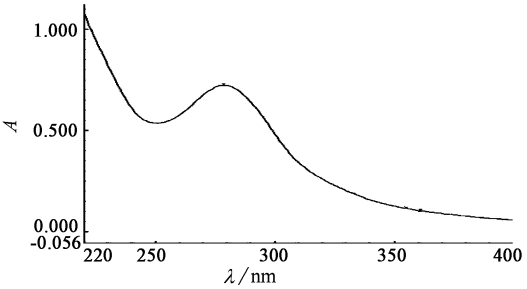


**图 1 六味地黄丸的标准物质紫外光谱**

**Fig. 1 Standard spectrum of Liuwei Dihuang pills**

**2.1.3** 线性关系考察 精密移取标准物质组储备液 1,2,3,5,7,10 mL 于 10 mL 量瓶内,加蒸馏水稀释至刻度,混匀,得 0.101,0.202,0.302,0.504,0.705,1.008 $g \cdot L^{-1}$的溶液。依法测定得紫外吸收谱图,以 Kalman 滤波法计算获得标准物质组系列溶液的浓度。以生药量浓度与标准物质组浓度进行最小二乘法线性回归,得回归方程为 $Y = 0.772\ 9X + 0.067\ 6$ ($r = 0.999\ 4$),结果显示标准物质组在 0.101 ~ 1.00 8 $g \cdot L^{-1}$线性关系良好。

**2.1.4** 精密度考察 取低、中、高剂量的供试品溶液,剂量分别为 0.101,0.504,1.008 $g \cdot L^{-1}$,各平行取样 6 份,依法测定其物质组浓度。结果表明,低、中、高 3 种剂量的供试液中标准物质组浓度分别为 0.124 0,0.522 6,1.036 $g \cdot L^{-1}$,各水平物质组浓度的 RSD 分别为 2.8%,0.4%,0.3%,表明物质组浓度测定方法精密度良好。

**2.1.5** 稳定性考察 取低、中、高剂量的供试品溶液,剂量分别为 0.101,0.504,1.00 8 $g \cdot L^{-1}$,避光密封,常温下放置,分别于 0,2,4,6,8,10,12 h 取样,依法测定其标准物质组浓度。结果表明,低、中、高 3 种浓度供试液在室温放置 12 h 内物质组浓度变化较小,各水平物质组浓度的 RSD 分别为 3.0%,1.6%,0.8%,说明六味地黄丸物质组溶液在 12 h 内稳定。

**2.2** 测定方法选择 各称取六味地黄丸 6 份,每份 30 丸,精密称定,分别按 2010 年版《中国药典》二部溶出度检查方法附录 Xc 第一法(转篮法)和第二法(桨法)装置操作[14],溶出介质脱气蒸馏水 900 mL,介质温度(37 ± 0.5) ℃,取样时间 0.5,1,2,4,6,8,10,12 h,分别取样 5 mL,并立即补充 5 mL 同温度的脱气蒸馏水,溶出液过 0.45 μm 微孔滤膜,精密移取续滤液 1.5 mL,于 10 mL 量瓶内,用蒸馏水稀释至刻度,依法测定其物质组释放度,并绘制释放动力学曲线图,见图 2。

**2.3** 六味地黄丸物质组释放度测定 按 **2.2** 项下条件,采用桨法,随机取六味地黄丸样品 6 份,分别测定

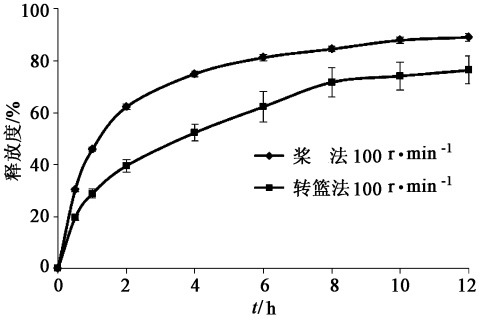


**图 2　六味地黄丸的释放动力学曲线**

**Fig. 2　Materiomic release of Liuwei Dihuang pills**

50,75,100 r·min$^{-1}$转速下各六味地黄丸的物质组释放度,并绘制释放动力学曲线图,结果见图 3 ~7。

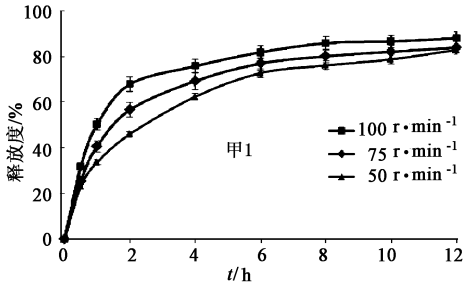


**图 3　甲 1 在不同转速下的释放曲线**

**Fig. 3　Materiomic release of the first batch from manufacturer A in different rotation speeds**

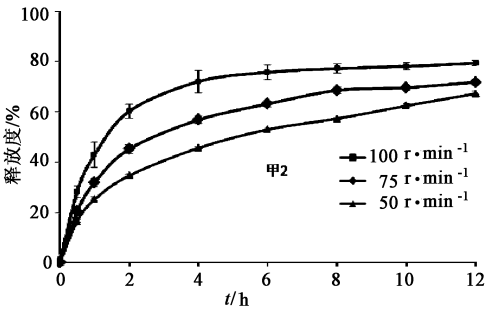


**图 4　甲 2 在不同转速下的释放曲线**

**Fig. 4　Materiomic release of the second batch from manufacturer A in different rotation speeds**

**2.4**　不同厂家与批号六味地黄丸物质组释放特征比较　将 3 个厂家及甲厂不同批号的丸剂在 75 r·min$^{-1}$转速下物质组释放度对时间作图,结果见图 8,9。

运用零级动力学模型、一级动力学模型、Higuchi 模型 Peppas 模型及 Weibull 模型方程 5 种释放特征缓控释模型[15-16]对六味地黄丸物质组释放度进行拟合,结果显示,六味地黄丸的释放曲线与 Peppas 模型、Weibull 模型拟合度最高,见表 1。

计算其 Weibull 分布参数 $T_{50}$和 $T_d$,见表 2。

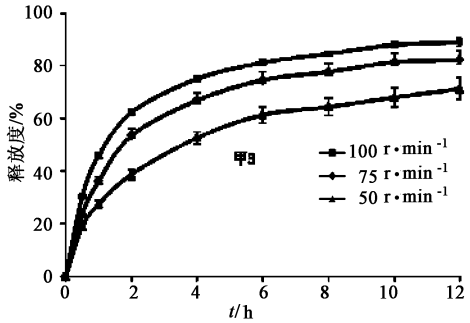


**图 5　甲 3 在不同转速下的释放曲线**

**Fig. 5　Materiomic release of the third batch from manufacturer A in different rotation speeds**

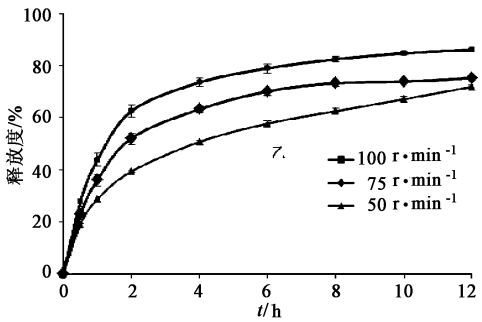


**图 6　乙在不同转速下的释放曲线**

**Fig. 6　Materiomic release of manufacturer B in different rotation speeds**

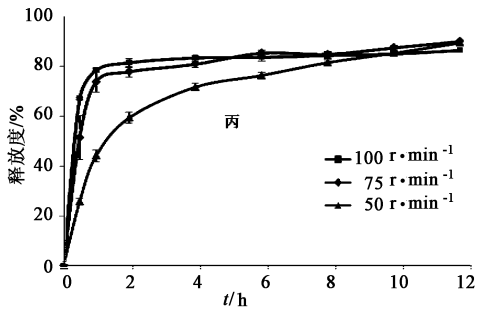


**图 7　丙在不同转速下的释放曲线**

**Fig. 7　Materiomic release of manufacturer C in different rotation speeds**

$T_{50}$和 $T_d$ 的方差分析结果见表 3,4。表明 3 个厂家丸剂之间,及甲厂 3 个批号之间的 $T_{50}$和 $T_d$ 存在均存在显著性差异。

**2.5**　六味地黄丸溶散时间测定　按 2010 年版《中国药典》中溶散时限测定方法[14],取样品 6 丸,置规定孔径筛网的吊篮中,加上挡板,于水浴温度(37 ± 1) ℃的崩解时限测定仪中检查溶散时间。随机取各厂六味地黄丸样品 6 丸,分别置于吊篮的玻璃管中,放入后立即计时,至丸剂溶散完全,结果见表 5。

溶散时限试验结果表明,丙厂样品能在 30 min

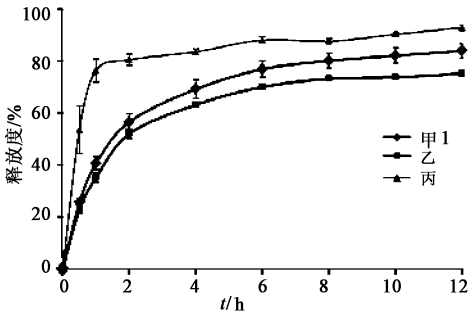


**图 8　三厂丸剂的物质组释放率-时间曲线**

**Fig. 8　Materiomic release percentage-time curve of Liuwei Dihuang pills from three manufacturers**

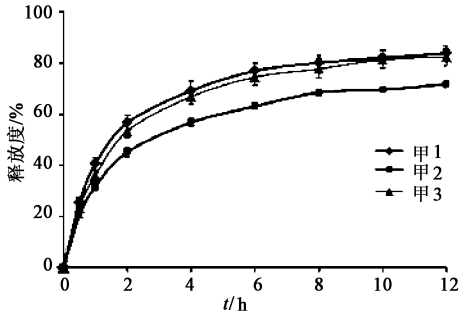


**图 9　甲厂 3 个批号丸剂组释放率-时间曲线**

**Fig. 9　Materiomic release percentage-time curve of Liuwei Dihuang pills of three different batches of manufacturer A**

**表 1　不同批次六味地黄丸释放曲线拟合($n=6$)**

**Table 1　Results of curve fiting($n=6$)**

| 模型 | $R^2$ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 甲 1 | 甲 2 | 甲 3 | 乙 | 丙 |
| 零级动力学模型 | 0.783 5 | 0.823 1 | 0.873 6 | 0.760 7 | 0.618 0 |
| 一级动力学模型 | 0.908 2 | 0.904 6 | 0.943 7 | 0.854 6 | 0.846 8 |
| Higuchi 模型 | 0.904 5 | 0.932 4 | 0.963 8 | 0.888 2 | 0.734 8 |
| Peppas 模型 | 0.967 3 | 0.978 9 | 0.991 3 | 0.965 3 | 0.896 7 |
| Weibull 模型 | 0.989 4 | 0.990 5 | 0.989 7 | 0.981 1 | 0.944 0 |

**表 2　各样品物质组释放曲线的 Weibull 分布参数($\bar{x} \pm s, n=6$)**

**Table 2　Weibull distribution parameter of *in vitro* release curve of Liuwei Dihuang pills from different manufactuers($\bar{x} \pm s, n=6$)　min**

| 厂家 | 批号 | $T_{50}$ | $T_d$ |
|---|---|---|---|
| 甲 | 12032412 | 107.01 ± 12.03 | 206.17 ± 27.74 |
| | 12032379 | 194.44 ± 12.27 | 385.42 ± 20.57 |
| | 12030373 | 125.93 ± 18.01 | 234.11 ± 35.90 |
| 乙 | 6420086 | 134.33 ± 7.71 | 292.33 ± 13.19 |
| 丙 | 20121204 | 13.01 ± 9.54 | 37.66 ± 10.09 |

内溶散完全,其他厂家样品在 1 h 内溶散完全,均符合药典规定。经 spss 分析,各丸剂溶散时间总体有显著性差异,甲 1、甲 3 与乙没有显著性差异。

**表 3　不同厂家六味地黄丸物质组溶出参数 $T_{50}$, $T_d$ 的方差分析($r=3, n=18$)**

**Table 3　Results of variance analysis of *in vitro* release parameter $T_{50}$, $T_d$ of Liuwei Dihuang pills from different manufacturers($r=3, n=18$)**

| 溶出参数 | 方差来源 | 自由度 | 离差平方和 | 均方差 | $F$ | $P$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $T_{50}$ | 组间 | 2 | 54 994.333 | 27 497.167 | 275.308 | <0.01 |
| | 组内 | 15 | 1 498.167 | 99.878 | | |
| $T_d$ | 组间 | 2 | 201 344.111 | 100 672.056 | 219.632 | <0.01 |
| | 组内 | 15 | 6 875.500 | 458.367 | | |

**表 4　甲厂 3 个批号六味地黄丸物质组溶出参数 $T_{50}$, $T_d$ 的方差分析($r=3, n=18$)**

**Table 4　Results of variance analysis of *in vitro* release parameter $T_{50}$, $T_d$ of Liuwei Dihuang pills of three different batches from manufacturer A($r=3, n=18$)**

| 溶出参数 | 方差来源 | 自由度 | 离差平方和 | 均方差 | $F$ | $P$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $T_{50}$ | 组间 | 2 | 25 348.111 | 12 674.056 | 61.201 | <0.01 |
| | 组内 | 15 | 3 106.333 | 207.089 | | |
| $T_d$ | 组间 | 2 | 110 902.778 | 55 451.389 | 69.900 | <0.01 |
| | 组内 | 15 | 11 899.500 | 793.300 | | |

**表 5　六味地黄丸溶散时间测定**

**Table 5　Disintegration time determination results of Liuwei Dihuang pills**

| 样品 | 溶散时间/min | | | | | | | RSD/% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 平均 | |
| 甲 1 | 30 | 35 | 35 | 26 | 29 | 34 | 32 | 11.84 |
| 甲 2 | 46 | 39 | 34 | 40 | 52 | 49 | 43 | 15.69 |
| 甲 3 | 36 | 28 | 38 | 40 | 31 | 49 | 37 | 19.93 |
| 乙 | 36 | 35 | 33 | 38 | 37 | 30 | 35 | 8.40 |
| 丙 | 20 | 18 | 23 | 21 | 25 | 19 | 21 | 12.42 |

**2.6　六味地黄丸释放度与溶散时间相关性评价**

根据六味地黄丸释放度试验与溶散时限试验结果,对其物质组溶出参数 $T_{50}$, $T_d$ 与溶散时间进行相关性分析,计算相关系数,并进行相关系数的显著性检验,见表 6。结果表明,六味地黄丸物质组溶出参数 $T_{50}$, $T_d$ 与其溶散时间的相关系数分别为 0.989 4, 0.968 3,均 >0.8, $P<0.05$,可见 $T_{50}$, $T_d$ 与溶散时间之间具有明显相关性。

## 3　讨论

本试验考察了不同释放装置、转速对药物释放度的影响,结果显示,转篮法测定时,丸剂易堵住篮

**表 6　六味地黄丸物质组溶出参数与溶散时间的相关性分析($n=30$)**

**Table 6　Results of correlation analysis between materiomic release parameter and dissolution of Liuwei Dihuang pills($n=30$)**　min

| 厂家 | $T_{50}$ | 溶散时间 | $T_d$ | 溶散时间 |
|---|---|---|---|---|
| 甲 1 | 107 | 32 | 206 | 32 |
| 甲 2 | 194 | 43 | 385 | 43 |
| 甲 3 | 126 | 37 | 234 | 37 |
| 乙 | 134 | 35 | 292 | 35 |
| 丙 | 13 | 21 | 38 | 21 |

孔,仅篮外层部分与释放介质接触,易导致丸与丸间释放不均匀;考虑到释放的均一性,故选择桨法。为区分不同来源丸剂内在品质的差异,本试验选择了 50,75,100 $r\cdot min^{-1}$ 3 个不同转速,对不同厂家、批号六味地黄丸的物质组释放度进行考察。结果表明,在不同转速下,厂家甲(3 个批号)、乙、丙丸剂的释放速度和程度有明显差异。

50 $r\cdot min^{-1}$的搅拌速度被看作与中老年人体胃肠道蠕动强度相当,且由于患者多为中老人群,为首选转速。然而在 50 $r\cdot min^{-1}$的转速下,溶出 12 h 后六味地黄丸标准物质组溶出量仍较低。但考虑到转速提高过多(如 100 $r\cdot min^{-1}$),将弱化对不同制剂溶出行为的区分力。故选择搅拌速度 75 $r\cdot min^{-1}$。

运用各释放模型对六味地黄丸的释放曲线进行拟合,结果显示 3 个厂家的六味地黄丸均与 Peppas 释放模型拟合度最高,且 $n$ 均小于 0.45,表明其释放机制可能是 Fick 扩散。说明六味地黄丸具有一定的缓释特征,但还未完全具备是现代缓控释给药系统的雏形。

溶出度测定结果表明,3 个厂家及甲厂 3 个批号之间的物质组释放特征存在显著性差异,这提示着不同厂家、批号的六味地黄丸可能存在质量差异。但是它们的溶散时间均符合《中国药典》要求。根据本文对六味地黄丸的溶出参数 $T_{50}$,$T_d$ 与溶散时间相关性研究结果,三个厂家六味地黄丸的溶散时间与 $T_{50}$,$T_d$ 具有正线性相关,提示溶散时间可在一定程度上反映释放情况。

中药丸剂的溶散并不代表其所含有效成分已经全部溶出,仅依靠溶散时限检查作为丸剂在体内吸收的评定标准是不够的。各厂家制备工艺虽都参照《中国药典》所收载该品种的制法,但工艺中各制备单元的控制标准却不一致,如药材粉碎的粒度控制,药粉混合的均匀性,软材的含水量,干燥时的温度等,使得不同厂家、批次间的质量一致性难以保证,而这些质量差异往往会直接影响治疗效果。故有必要对六味地黄丸的内在质量进行深入的研究和严格的控制,制定更全面的质量控制标准,加强六味地黄丸工艺的规范化研究,制定并逐步完善其行业工艺标准,以提高丸剂的内在质量,保证疗效的一致性。

**[参考文献]**

[1] 周京燕,韩立新. 六味地黄丸的现代研究与进展[J]. 中国药师,2008,11(6):710-711.
[2] 徐柳,张树峰. 六味地黄丸的药理作用及临床应用研究[J]. 河北医药, 2013, 19(4):616-619.
[3] 谢奇. 六味地黄丸在 2 型糖尿病治疗中的作用与研究[J]. 中医临床研究,2013,5(1):116-118.
[4] 杜标炎,郭玉荣,易华,等. 六味地黄丸含药血清对自杀基因治疗黑色素瘤增效作用的缝隙连接机制初探[J]. 中国中西医结合杂志,2013,33(5):651-658.
[5] 国家食品药品监督管理总局. 六味地黄丸药品数据查询[EB/OL]. http://app1. sfda. gov. cn/datasearch/face3/base. jsp. 2013-12-03.
[6] 覃晓,饶伟文,周文杰. 六味地黄丸质量考察[J]. 药物鉴定,2008,17(2):39-40.
[7] 郭小红,樊敏,魏春婉,等. 分析紫外分光光度法测定六味地黄丸中丹皮酚的含量[J]. 甘肃医药,2012,31(4):304-306.
[8] 吴静澜,何晴. 六味地黄丸方药四种提取液有效成分含量的比较研究[J]. 贵阳中医学院学报,2013,35(2):37-39.
[9] 周灿. 基于 HPLC 法测定不同六味地黄丸中丹皮酚溶出度的研究[J]. 中国实用医药,2009,4(5):155-156.
[10] 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):278-281.
[11] 陈立兵,张继稳,顾景凯,等. 中药制剂及给药系统的物质组释放/溶出动力学原理[J]. 中草药,2008,39(11):1578-1581.
[12] 张继稳,陈立兵,顾景凯,等. 多组分中药化合物组释放同步性评价方法[J]. 药学学报,2008,43(6):647-644.
[13] 相秉仁. 计算药学[M]. 北京:中国医药科技出版社,1990.
[14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:附录 Xc.
[15] 储成顶,王世亮,刘飞,等. 体外释放拟合模板编程及应用实例[J]. 中国新药杂志,2005,14(2):179-181.
[16] 张宇,刘雨东,计钊. 向量相似度测度方法[J]. 声学技术,2009(4):532-536.

[责任编辑　顾雪竹]