[13] 乔佛晓，禹玉洪，李 燕. 荜茇的药理作用与毒性作用研究概述[J]. 环球中医药，2015，8(4)：507-512.
[14] 蔡 霞，李聪颖，张雨欣，等. 石榴皮、石榴子质量标准提高研究[J]. 世界科学技术（中医药现代化），2015，17(5)：1007-1011.
[15] 郑玉忠，张振霞，董婷霞，等. 余甘子药材 HPLC 指纹图谱及其没食子酸和鞣花酸含量分析[J]. 中国实验方剂学杂志，2013，19(23)：94-99.

丹参总酚酸滴丸的制备及质量评价

何银舟[1]， 胡正明[1]， 潘 旻[2]， 嵇 晶[2]， 程建明[2*]
(1. 淮安市淮安医院，江苏 淮安 223001；2. 南京中医药大学，江苏 南京 210023)

摘要：目的 制备丹参总酚酸滴丸，并对其进行质量评价。**方法** 以外观、成型性为评价指标，单因素试验考察冷却剂种类、基质配比、药物与基质配比、滴距、滴速、料温对制备工艺的影响。然后，HPLC 法测定丹酚酸 B、迷迭香酸含有量，TLC 法定性鉴别，药典法检测重量差异限度、溶散时限。**结果** 最佳条件为冷却剂二甲基硅油，基质配比 3∶1，药物与基质配比 1∶5，滴距 6 cm，滴速 60 滴/min，料温 65 ℃，所得滴丸圆整均一，无拖尾和粘连。丹酚酸 B、迷迭香酸分别在 19.01～190.12 μg/mL（R^2=0.999 6）、1.49～14.90 μg/mL（R^2=0.999 8）范围内线性关系良好，平均加样回收率分别为 97.92%、96.58%，RSD 分别为 2.45%、1.64%；TLC 斑点清晰，重复性好；重量差异限度、溶散时限符合药典要求。**结论** 该方法合理、可行、稳定，可用于制备丹参总酚酸滴丸。

关键词：丹参总酚酸；滴丸；制备；丹酚酸 B；迷迭香酸；单因素试验；HPLC；TLC
中图分类号：R944 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-1528(2019)10-2319-05
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.10.007

Preparation and quality evaluation for dropping pills of total salvianolic acids

HE Yin-zhou[1], HU Zheng-ming[1], PAN Min[2], JI Jing[2], CHENG Jian-ming[2*]
(*1. Huai'an Hospital of Huai' an City, Huai' an 223001, China; 2. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China*)

ABSTRACT: AIM To prepare the dropping pills of total salvianolic acids and to make quality evaluation. **METHODS** With appearance and formability as evaluation indices, the effects of coolant type, matrix ratio, drug-matrix ratio, dropping distance, dropping speed and material temperature on preparation process were investigated by single factor test. Subsequently, HPLC was adopted in the content determination of salvianolic acid B and rosmarinic acid, TLC was used for qualitative identification, and pharmacopeia method was applied to detecting weight difference degree and dissolving time. **RESULTS** The optimal conditions were determined to be dimethicone as coolant, 3∶1 for matrix ratio, 1∶5 for drug-matrix ratio, 6 cm for dropping distance, 60 drops/min for dropping speed, 65 ℃ for material temperature, the obtained round and uniform dropping pills displayed no tailing and adhesion. Salvianolic acid B and rosmarinic acid showed good linear relationships within the ranges of 19.01-190.12 μg/mL (R^2=0.999 6) and 1.49-14.90 μg/mL (R^2=0.999 8), whose average recoveries were 97.92% and 96.58% with the RSDs of 2.45% and 1.64%. The clear TLC spots were reproducible. Both weight difference degree and dissolving time accorded with the pharmacopoeia requirements. **CONCLUSION** This reasonable, feasible and stable method can be used for the preparation of total salvianolic acids dropping pills.

KEY WORDS: total salvianolic acids; dropping pills; preparation; salvianolic acid B; rosmarinic acid; single factor test; HPLC; TLC

收稿日期：2019-01-07
基金项目：江苏省高校自然科学基金项目（13KJD360004）
作者简介：何银舟（1964—），男，副主任药师，研究方向为药剂学。Tel：13915117666，E-mail：czyyybk@163.com
*通信作者：程建明（1965—），男，博士，研究员，研究方向为药物新剂型与新技术开发。Tel：13585206999，E-mail：cjm7895@163.com

丹参为唇形科鼠尾草属多年生草本植物丹参 *Salvia miltiorrhiza Bge.* 的干燥根及根茎，是临床上较为常用的中药，在治疗心血管疾病、抗肿瘤、抗氧化等方面的应用日益广泛[1-3]。大量药理研究表明[4-6]，丹参水溶性成分丹酚酸可用于心脑血管疾病的治疗，已成功研发出了注射用丹参多酚酸、多酚酸盐等相关制剂，临床疗效良好，目前以注射剂为主，虽然起效迅速，生物利用度较高，但也存在给药不方便、患者顺应性差的问题，同时直接入血，对生产工艺要求高，一旦出现质量问题将引起严重的不良反应，而且该类成分吸收消除快，无法维持长时间较高血药浓度，也导致相关注射剂只适合临床急救。目前，丹参总酚酸常用剂型主要有颗粒剂、片剂、脂质体、滴丸、磷脂复合物等，但由于该类成分大多不耐热，给相关生产工艺带来了难度。

滴丸是指将固体或液体药物与适当基质加热熔化混匀后，滴入不相混溶的冷凝液中，收缩冷凝而成的小丸状制剂[7-8]，具有生产工艺简单、生物利用度高、起效迅速、稳定性好的特点，发展前景广阔。因此，本实验以丹酚酸中主要活性物质丹酚酸 B、迷迭香酸为指标，对丹参总酚酸滴丸制备工艺和质量标准进行研究，以期为该类成分深入研究和相关制剂开发提供参考。

1 材料

1.1 仪器 滴丸机由南京中医药大学药学院中药药剂教研室提供；Waters E2695 高效液相色谱仪，配置 Waters 2489 UV 检测器（美国 Waters 公司）；BT125D 型电子分析天平（德国赛多利斯公司）；DW-2 型调温电热器（南通市通州申通电热器厂）；FA2004 型电子分析天平（上海上平仪器有限公司）；YP6002 型电子天平（上海光正医疗仪器有限公司）；Unique-s15 型超纯水系统（北京佰亿新创科技有限公司）。

1.2 试药 丹参总酚酸中间体（自制，批号 20170304）。液体石蜡、二甲基硅油（上海泰坦科技股份有限公司）；聚乙二醇 4000、聚乙二醇 6000（无锡市亚泰联合化工有限公司，批号 20170301）。丹酚酸 B（含有量 98%，批号 Y26O7H23683）、迷迭香酸对照品（含有量 98%，批号 P26A7F13802）（上海源叶生物科技有限公司）。毛细管（华西医科大学仪器厂）；硅胶 G 薄层板（青岛海洋化工有限公司）。甲醇（美国赛默飞世尔科技公司，批号 LOT18055159）、乙腈（德国默克公司，AS1122-801），以及磷酸（批号 D629033）、冰醋酸（批号 E1702076）［阿拉丁试剂（上海）有限公司］均为色谱纯；乙酸乙酯（批号 14061411310）、三氯化铁（批号 14071210994）、铁氰化钾（批号 15100210410）、盐酸（批号 160912100825）（南京化学试剂有限公司）；甲酸（批号 10014128，国药集团化学试剂有限公司）。

2 方法与结果

2.1 滴丸制备工艺

2.1.1 冷却剂种类 固定药物与基质配比 1∶5，取丹参总酚酸冻干粉 1.5 g，加入混合基质 7.5 g（PEG4000∶PEG6000=4∶1），65 ℃水浴熔融并搅拌混匀，80 ℃下分别滴入二甲基硅油、液体石蜡中，以滴丸下降速度、成型情况为指标考察冷却剂。结果，二甲基硅油处理时滴丸下降速度合适，丸形规则圆整；液体石蜡处理时滴丸下降速度过快，部分带有小尾巴，可能与其密度较小有关，故选择前者作为冷却剂。

2.1.2 基质配比 PEG4000 具有良好的分散力及较大的内聚力，符合滴丸对基质的要求，再加入一定比例黏度较大的 PEG6000 以调整基质成型。两者按 1∶1、2∶1、3∶1、4∶1、5∶1 比例混合熔融后滴入二甲基硅油中，制备空白滴丸，以易滴程度、空白滴丸成型情况为指标进行筛选，结果见表 1。由表可知，随着 PEG4000 比例增大滴速变快，不易控制；当 PEG4000、PEG6000 比例为 3∶1 时，基质较易滴出，而且空白滴丸成型性较好，滴丸圆整，硬度适宜，故选择其作为基质。

表 1 基质配比考察结果

Tab. 1 Results of matrix ratio investigation

PEG4000∶PEG6000	易滴程度	成型性
1∶1	滴出较慢	差
2∶1	滴出较慢	差
3∶1	合适	良好
4∶1	合适	良好
5∶1	滴出较快	较好

2.1.3 药物与基质配比 滴丸中药物与基质的配比一般在 1∶1~1∶10 范围内，但其过高时易导致滴丸成型困难，而过低时又会使载药量偏低，故在 1∶1~1∶6 范围内进行考察，结果见表 2。由表可知，1∶5 时效果最理想，故选择其作为药物与基质配比。

表 2 药物与基质配比考察结果

Tab. 2 Results of drug-matrix ratio investigation

药物：基质	混匀程度	成型性
1∶1	不能混匀	难滴出
1∶2	不能完全混匀	差,丸形不圆整
1∶3	能混匀	差,丸形不圆整
1∶4	能混匀	较好
1∶5	能混匀	良好
1∶6	能混匀	良好

2.1.4 滴距、滴速 滴距过小时，液滴到达二甲基硅油中后来不及收缩，导致滴丸不圆整；滴距过大时，液滴容易呈扁形，或者因重力作用而被跌散生小丸[9]，本实验筛选空白滴丸时发现，滴距为 6 cm时滴丸圆整度较好。滴速过快时，滴丸连续下沉到冷却剂中，容易相互粘连，圆整度不佳；滴速过慢时，虽然滴丸圆整度好，成型性符合要求，但混合基质易凝固，导致滴口堵塞，并且容易增加丸重差异，从而影响滴丸质量，本实验在不影响成型效果、圆整度的情况下适度提高滴速，控制在60 滴/min。

2.1.5 料温 料温过低时，滴丸易出现拖尾现象，圆整度差；料温过高时，滴丸圆整度降低，若滴制过快则易粘连。本实验发现，混合基质在 58 ℃时开始熔融，65 ℃时全部熔融，由于丹酚酸类成分高温不稳定，故选择 65 ℃作为料温。

2.1.6 其他滴制条件 根据滴丸成型性和圆整度，确定冷却剂温度为上常温下低温，滴口内、外径为 3、4.5 mm。

2.1.7 工艺验证 根据上述优化工艺参数，制备 3 批滴丸（批号 20170410、20170411、20170412），发现其丸形圆整，色泽均一，硬度较好，无拖尾、粘连现象，表明工艺稳定可行。

2.2 滴丸质量评价

2.2.1 HPLC 法测定丹酚酸 B、迷迭香酸含有量

2.2.1.1 色谱条件 Waters XBridge C_{18} 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相乙腈（A）-1% 醋酸（B），梯度洗脱，程序见表 3；体积流量 1.0 mL/min；检测波长 280 nm；柱温 30 ℃；进样量 10 μL。

2.2.1.2 对照品溶液制备 精密称取丹酚酸 B 对照品 4.85 mg、迷迭香酸对照品 3.80 mg，分别置于 25、250 mL 棕色量瓶中，80% 甲醇稀释，即得（190.12、14.90 μg/mL）。

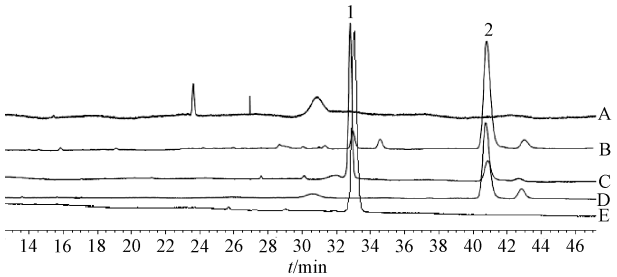
表 3 梯度洗脱程序

Tab. 3 Gradient elution programs

时间/min	A 乙腈/%	B 1% 醋酸/%
0	5	95
15	13	87
60	19	81

2.2.1.3 供试品溶液制备 取滴丸 10 粒，置于 100 mL 具塞锥形瓶中，精密称定质量，加入50 mL 80% 甲醇，超声（功率 140 W、频率 42 kHz）20 min，放冷，80% 甲醇补足减失的质量，滤过，即得。

2.2.1.4 专属性考察 取空白滴丸、含药滴丸适量，按“2.2.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.2.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 1。由表可知，PEG4000、PEG6000 对测定无干扰，方法专属性良好。



注：A～E 分别为空白滴丸、含药滴丸、丹参酚酸 B 和迷迭香酸混合对照品、迷迭香酸对照品、丹酚酸 B 对照品

1. 丹酚酸 B 2. 迷迭香酸

1. salvianolic acid B 2. rosmarinic acid

图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of various constituents

2.2.1.5 线性关系考察 精密量取 190.12 μg/mL 丹酚酸 B 对照品溶液、14.90 μg/mL 迷迭香酸对照品溶液各 1、2、4、6、8、10 mL，80% 甲醇定容至 10 mL，在“2.2.2.1”项色谱条件下进样测定。以溶液质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，得到丹酚酸 B、迷迭香酸方程分别为 $Y=6\ 216.4X-1\ 019.6$（$R^2=0.999\ 66$）、$Y=10\ 996X-153.46$（$R^2=0.999\ 8$），分别在 19.01～190.12、1.49～14.90 μg/mL 范围内线性关系良好。

2.2.1.6 精密度试验 取 152.10 μg/mL 丹酚酸 B 对照品溶液、8.94 μg/mL 迷迭香酸对照品溶液适量，在“2.2.2.1”项色谱条件下各进样测定 6 次，测得丹酚酸 B、迷迭香酸峰面积 RSD 分别为 0.88%、1.62%，表明仪器精密度良好。

2.2.1.7 重复性试验 取同一批滴丸，按“2.2.2.3”项下方法制备 6 份供试品溶液，在“2.2.2.1”项色谱条件下进样测定，测得丹酚酸 B、迷迭香酸含有量 RSD 分别为 1.72%、1.17%，表明该方法重复性良好。

2.2.1.8 稳定性试验 取同一批滴丸，按“2.2.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.2.1”项色谱条件下于 0、3、6、9、12、24 h进样测定，测得丹酚酸 B、迷迭香酸含有量 RSD 分别为 1.72%、1.17%，表明溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.2.1.9 加样回收率实验 分别取同一批滴丸 25、100 粒，置于 100 mL 具塞锥形瓶中，加入相当于滴丸中成分含有量 80%、100%、120% 的对照品后进行提取，取续滤液，在“2.2.2.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，丹酚酸 B、迷迭香酸平均加样回收率分别为 97.92%、96.58%，RSD 分别为 2.45%、1.64%。

2.2.1.10 样品含有量测定 取 3 批滴丸，按“2.2.2.3”项下方法制备供试品溶液，平行 3 份，在“2.2.2.1”项色谱条件下进样测定，计算含有量，结果见表 4。以平均值的-20% 为下限，初步确定丹酚酸 B、迷迭香酸含有量分别不得低于 5.45%、0.46%。

表 4 各成分含有量测定结果（$n=3$）

Tab. 4 Results of content determination of various constituents（$n=3$）

批号	丹酚酸 B/%	迷迭香酸/%
20170410	6.91	0.58
	6.90	0.59
	6.74	0.59
20170411	6.67	0.57
	6.81	0.59
	6.82	0.59
20170412	6.78	0.57
	6.82	0.58
	6.81	0.57
平均值	6.81	0.58

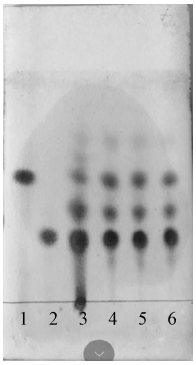
2.2.2 TLC 法定性鉴别

2.2.2.1 供试品溶液制备 取滴丸 15 丸，加水 1 mL、稀盐酸 2 滴，充分振摇，再加乙酸乙酯 3 mL振摇 1 min，离心 2 min，上清液蒸干至 2 mL，即得。

2.2.2.2 对照药材溶液制备 取丹参对照药材，按“2.2.2.1”项下方法制备，即得。

2.2.2.3 展开条件 硅胶 G 薄层板；展开剂乙酸乙酯-水-甲酸（14∶2∶3）上层溶液；显色剂 1% 三氯化铁-1% 铁氰化钾（1∶1）溶液，临用时配制。

2.2.2.4 鉴别方法 取 3 批滴丸，按“2.2.2.1”项下方法制备供试品溶液，按照 2015 年版《中国药典》薄层色谱法（通则 0502）试验，结果见图 2。



1. 丹酚酸 B 2. 迷迭香酸 3. 对照药材 4~6. 滴丸

1. salvianolic acid B 2. rosmarinic acid 3. reference medicinal material 4-6. dropping pills

图 2 各成分 TLC 色谱图

Fig. 2 TLC chromatogram of various constituents

2.2.3 重量差异限度检查 精密称取滴丸 20 粒，计算其总重和每粒丸重，根据 2015 年版《中国药典》一部附录判断重量差异是否符合要求。结果，20 粒滴丸丸重分别为 25.56、25.51、25.43、25.57、25.48、25.48、25.43、25.49、25.51、25.54、25.39、25.55、25.62、25.58、25.53、25.53、25.61、25.47、25.45、25.51 mg，平均 25.51 mg<0.03 g，RSD 为 0.24%。药典规定，重量差异限度应±15%，每粒滴丸丸重应在 21.68~29.33 mg 范围内，超出标准限度的不得多于 2 丸，不得有 1 丸超出标准限度的 1 倍，由此可知，本实验所制滴丸符合相关要求。

2.2.4 溶散时限检查 取 6 粒滴丸于溶出仪的吊篮中，温度设定为 37 ℃，发现所有滴丸在 5 min 内均完全溶解，符合 2015 年版《中国药典》一部滴丸剂项下溶散时限不得超过 30 min 的规定。

3 讨论

目前，丹酚酸类成分的缓控释制剂仍处于实验室阶段，未见市售产品。张丽红等[10]以大豆卵磷脂制备丹参总酚酸长循环脂质体，发现它可减缓丹酚酸在体内的消除，延长体内滞留时间，提高生物利用度；咸银库等[11]以丹参总酚酸为原料制备速释的口腔崩解片，可提高生物利用度；Jin 等[12]通过制备丹参总酚酸磷脂复合物，改善了脂溶性差的

问题；此外，也有关于丹参总酚酸滴丸、胃滞留缓释片的报道[13-15]，为相关制剂研究提供了参考。

本实验以滴丸成型性和圆整度为依据，考察了冷却剂、基质配比、药物与基质配比等影响滴丸成型工艺的因素，最终确定最优工艺为将丹参总酚酸冻干粉研细混匀备用，以 PEG4000、PEG6000 为成型基质，按 3∶1 比例混合，65 ℃水浴加热熔融，按药物与基质配比 1∶5 分次加入冻干粉，搅拌均匀，在滴距 6 cm，滴口内、外径 3、4.5 mm，滴速 60 滴/min 的条件下滴入二甲基硅油冷凝剂（上常温下低温）中，冷却，固化成丸，取出，滤纸吸干表面冷却剂，即得，所得滴丸外观圆整、硬度适宜，制备工艺合理可行。其中，丹酚酸 B、迷迭香酸平均含有量分别为 6.81%、0.58%，平均丸重为 25.51 mg，重量差异限度、溶散时限均符合药典要求。由此可知，该工艺操作简单，生物利用度高，起效迅速，稳定性好，具有广阔的发展前景，可为丹参酚酸类成分研究和相关制剂开发提供参考。

参考文献：

[1] 陈昕琳，顾仁樾，章怡祎. 丹参多酚酸 B 对动脉粥样硬化大鼠炎症细胞因子的影响[J]. 上海中医药大学学报，2011，25(1)：63-67.

[2] 朱海林，张大伟，孙隆儒，等. 白花丹参总酚酸提取物对大鼠血栓闭塞性脉管炎的影响[J]. 中草药，2012，43(8)：1565-1569.

[3] 刘 娟，刘 颖. 丹参药理活性成分研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报，2010，12(7)：15-17.

[4] 王 洁，吴俊芳，张均田. 总丹酚酸的抗脑缺血研究[J]. 中国药理学通报，1999，15(2)：164-166.

[5] 高 枫，孙桂波，任小宇，等. 丹酚酸 B 对大鼠离体心脏缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国中药杂志，2012，37(3)：358-361.

[6] 唐 浩，张双彦. 注射用丹参多酚酸对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用及机制研究[C]//第十五届中国中西医结合学会微循环专业委员会暨第二届中国微循环学会痰瘀专业委员会学术会议资料汇编. 泸州：中国中西医结合学会，2015：61.

[7] 宁 路. 白花丹参滴丸的研制及药效学研究[D]. 泰安：泰山医学院，2012.

[8] 杨春梅. 眠而安滴丸的制剂工艺及质量标准研究[D]. 北京：北京中医药大学，2004.

[9] 彭九嫚，柴 尧，潘 旻，等. 丹参中酚酸类成分在不同工艺条件下转化关系[J]. 中国实验方剂学杂志，2016，22(5)：67-70.

[10] 张丽红，张志荣，韩丽妹，等. 丹参总酚酸脂质体的制备和药剂学性质[J]. 复旦学报（医学版），2007，34(3)：391-395.

[11] 咸银库. 丹参多酚酸口腔崩解片的研究[D]. 广州：广东药学院，2008.

[12] Li J，Liu P，Liu J P，*et al*. Bioavailability and foam cells permeability enhancement of Salvianolic acid B pellets based on drug-phospholipids complex technique[J]. *Eur J Pharm Biopharm*，2013，83(1)：76-86.

[13] 熊红仔，刘 昀，伍振峰，等. 总丹酚酸滴丸的成型工艺研究[J]. 广东药学院学报，2008，24(1)：44-46.

[14] 张向荣，王 岩，尹凤强，等. 总丹酚酸胃内滞留缓释片的研制[J]. 中成药，2003，25(5)：349-351.

[15] 高东雁，吴 航，刘 健，等. 丹参酚酸磷脂复合物自乳化给药系统治疗大鼠肝纤维化作用[J]. 中药药理与临床，2012，28(5)：50-52.