

山西药科职业学院

横向科研项目合作协议书

项目名称及编号：通腑理气颗粒等制剂的质量控制研究

委托单位（甲方）：山西黄河中医药研究所

项目负责人：肖云飞

承担单位（乙方）：山西药科职业学院

项目负责人：甄会贤

起止日期：2020 年 11 月 20 日至 2022 年 12 月 30 日

本合同甲方委托乙方就通腑理气颗粒等的质量控制项目内容进行科学研究，并拨付项目实施测试化验加工指导经费。双方经过平等协商，在真实、充分地表达各自意愿的基础上，根据《中华人民共和国合同法》的规定达成如下协议，并由双方共同恪守。

第一条 主要研究内容、达到的技术指标、提交的成果。

1. 主要研究内容

通腑理气颗粒等制剂的质量控制研究

2. 提交的成果

建立通腑理气颗粒的性状、TLC 法鉴别、制剂常规检查（粒度、水分、干燥失重、溶化性）及含量测定的检测方法，为通腑理气颗粒的质量控制提供了理论依据和参考方法

第二条 计划进度目标

2020.12-2021.01 查阅文献及相关资料，了解通腑理气颗粒及其他剂型的处方及质量标准；

2020.02-2021.08 制定通腑理气颗粒的质量标准，与企业、医院沟通，根据检测结果改进药品生产工艺；

2021.09-2022.12 整理资料，保证资料、数据符合《药品注册管理办法》等相关法规的要求。

第三条 甲方向乙方拨付项目实施经费的方式

支付经费： 8.0 （万元）。

支付方式：

乙方开户银行：中国农业银行太原迎宾支行

纳税人识别号：121400004057004860

地址：太原市小店区民航南路 16 号

账号：04141601040009891

行号：103161014160

支付时间：合作协议书签订后一周内。

第四条 项目管理按照《山西药科职业学院横向科研项目管理办法（试行）》执行。

第五条 经费使用：本项目经费主要用于实验试剂材料的采购、设备维护、专业技术培训、专家咨询、科研劳务等，由项目负责人按照实际情况依规支出。具体报销办法依照《山西药科职业学院科研经费和科技活动经费管理办法（试行）》执行。

第六条 本合同一式三份,具有同等法律效力。

第七条 本合同经双方签字盖章后生效。

委托单位(甲方): (盖章)

项目负责人: (签字)



承担单位(乙方): (盖章)

项目负责人: (签字)



山西药科职业学院

教科研课题结题报告书

项目类别: ☒ 科研项目 ☐ 教研项目

项目名称: 通腑理气颗粒等制剂的质量控制研究

负责人: 甄会贤

承担部门: 药学系、山西黄河中医药研究所

项目起止年限: 2020 年 11 月至 2021 年 11 月

填报日期: 2021 年 11 月 03 日

山西药科职业学院
二〇一五年制

一、基本情况：

成 果 名 称		通腑理气颗粒剂的质量标准				
成 果 形 式		论 文（HPLC 法测定通腑理气颗粒中芍药苷的含量）				
立 项 时 间		2020 年 11 月				
完 成 时 间		2021 年 11 月				
项目负责人及主要参加人员简历						
负 责 人	姓名	甄会贤	性别	女	出生日期	1973 年 01 月
	所在单位	山西药科职业学院				
	行政职务	无			职 称	副教授
	学 历	本科			学 位	硕士
	研究专长	药物质量标准的研究				
主 要 参 加 人	姓 名	单 位				职 称
	杜学勤	山西药科职业学院				副教授
	药雅俊	山西药科职业学院				讲师
	王嘉琛	山西药科职业学院				助教
	宁素云	山西药科职业学院				副教授
	张 虹	山西药科职业学院				助教
	段小燕	山西黄河中药				高级实验师
	乔桂萍	山西黄河中药				助理

二、最终成果总结报告

1. 项目研究的必要性和意义 中医药是我国大健康产业的瑰宝，是中华民族的中药财富，2016 年通过的《中华人民共和国中医药法》使中医药事业发展又迎来了重要的机遇期。2020 年抗疫期间，中医药也发挥了不可替代的作用。中药的质量时保证中医临床用药安全有效的关键。加强中药的质量控制，对保障人民健康、促进中药产业持续发展，以及推广中医药事业的繁荣发展具有重要意义。 目前，我国已有 6 万多份批准的中成药上市文号，分为经典名方类、时方研制类及现代提取制剂等类型。其中很大一部分的批准文号是在 1985 年《新药审批办法》实施之前由各省、自治区、直辖市药政部门批准，于 2002 年直接上升为国家标准的药品，上市前要求低，上市后至今也缺乏
--

足够的高质量临床价值评价证据支撑。中成药品种同质化低水平重复现象突出、有效批文少、新产品更少，整体创新能力薄弱。2017 年国务院颁发《关于深化审评审批制度改革鼓励药品医疗器械创新的意见》中，明确提出了经典名方类中药按简化标准审评审批。之后，国家又陆续颁布了一系列的相关政策和技术指南，旨在解决符合中药特点的较为复杂的全过程质量控制问题。但目前经典名方的研发存在部分问题亟待解决：处方剂量、度量衡考证；药材溯源/基原考证；提取工艺；物质基准；用法用量；安全性研究。且目前政策规定，开发的经典名方只能在医院内使用，企业研发积极性并不太高。而院内制剂相对来说，研发成本较低。

通腑理气颗粒由枳实、陈皮等 14 味中药组成，为医院制剂，具有清热理气、通腑消积的功效，临床上用于治疗术后胃肠功能的恢复，减少肠粘连、肠梗阻的发生，患者身体的快速恢复。方中芸香科植物枳实、陈皮等中的黄酮类成分具有抑制炎症因子释放的作用，可用于肠道炎症性疾病的预防和治疗。本课题组与山西黄河中医药研究所、颐圣堂从性状、TLC 法鉴别、醇溶性浸出物测定及含量测定等方面完善了通腑理气颗粒的质量标准。

2. 完成的研究内容、采用的新方法和技术路线、解决的关键问题、试验结果及结论、试验规模和主要指标，达到的目标及水平。

2.1 研究内容和解决的关键问题

研究内容：建立通腑理气颗粒的质量标准。建立了通腑理气颗粒的性状、TLC 法鉴别、醇溶性浸出物测定及含量测定的检测方法，为通腑理气颗粒的质量控制提供理论依据和参考方法。

拟解决的关键问题：

- (1) 性状：按 3 批样品的外观描述通腑理气颗粒的性状。
- (2) TLC 法鉴别：建立了薏苡仁、枳实、赤芍、甘草、大黄的鉴别方法。
- (3) 醇溶性浸出物测定：建立了醇溶性浸出物的限度。
- (4) 含量测定：通过方法学的考察，以芍药苷为指标性成分，建立了通腑理气颗粒的含量测定方法。

2.2 新方法和技术路线

首次建立了通腑理气颗粒的质量标准，为监测医院制剂质量提供科学依据。

2.3 试验结果及结论

通腑理气颗粒质量标准研究

2.3.1 薄层鉴别

2.3.1.1 薏苡仁薄层鉴别

取通腑理气颗粒 6g，研细，加入 25ml 石油醚，超声处理 30min，放冷，滤过，滤液蒸干后，残渣加乙酸乙酯-甲醇（2：1）混合溶液使溶解，定容至 2ml，作为供试品溶液。取薏苡仁对照药

材 1g，同法制成对照药材溶液。另取缺薏苡仁的通腑理气颗粒阴性样品，同法制备薏苡仁阴性对照溶液。照薄层色谱法（中国药典 2020 年版四部通则 0502）试验，分别吸取上述溶液 15 μ L、5 μ L、15 μ L，点于同一硅胶 G 板薄层上，以二氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸（20：0.4：0.1）为展开剂，展开，取出，挥干，喷以 10%硫酸乙醇溶液，在 105℃加热至斑点显色清晰，置紫外灯光（365nm）下检视，供试品色谱中在与对照药材色谱相应的位置上，显现相同颜色的斑点，且阴性对照无干扰，结果见图 1。

2.3.1.2 枳实薄层鉴别

取通腑理气颗粒 3g，研细，加入 25ml 甲醇，超声处理 30min，放冷，滤过，滤液蒸干后，残渣加甲醇使溶解，定容至 2ml，作为供试品溶液。取枳实对照药材 2g，同法制成对照药材溶液。另取缺枳实的通腑理气颗粒阴性样品，同法制备枳实阴性对照溶液。照薄层色谱法（中国药典 2020 年版四部通则 0502）试验，分别吸取上述溶液各 5 μ L、2 μ L、5 μ L，点于同一硅胶 G 薄层板上，以三氯甲烷-甲醇-水（14：6：2）为展开剂，展开，取出，挥干，喷以 3%三氯化铝乙醇溶液，在 105℃加热至斑点显色清晰，置紫外灯光（365nm）下检视，供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点，且阴性对照无干扰，结果见图 2。

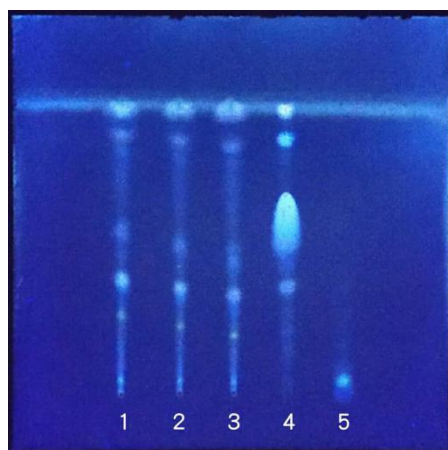


图 1 薏苡仁薄层色谱图

1、2、3 供试品溶液；4 对照药材溶液；5:薏苡仁阴性对照溶液

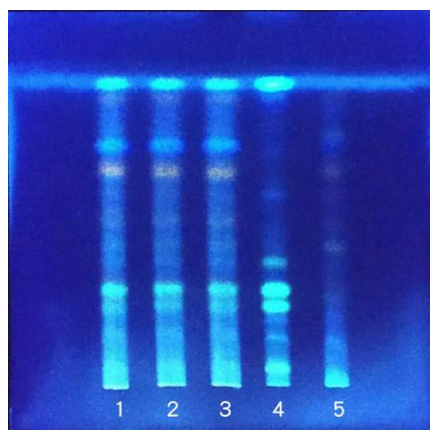


图 2 枳实薄层色谱图

1、2、3 供试品溶液；4 枳实对照药材溶液；5：枳实阴性对照溶液

2.3.1.3 赤芍薄层鉴别

取样品 6g，研细，加乙醇 50ml，超声提取 30 分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加水 10ml 溶解，用水饱和正丁醇萃取两次，每次 15ml，合并正丁醇液，蒸干，残渣加甲醇定容至 2ml 作为供试品溶液。取芍药苷对照品，加甲醇制成每 1ml 含 2mg 的溶液，作为对照品溶液。按处方比例及制法，配制不含赤芍、牡丹皮的阴性样品，水煎煮之后，参照供试品溶液方法制备，作为阴性对照溶液。照薄层色谱法（中国药典 2020 年版四部通则 0502）试验，分别吸取上述溶液各 2 μ l，点于同一硅胶 G 薄层板上，以二氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸（40：5：10：0.2）为展开剂展开，取出，晾干，喷以 5%香草醛硫酸溶液，在 105℃加热至斑点清晰，供试品色谱中与对照品色谱在相应的位置上显现相同的蓝紫色斑点，且阴性无干扰，结果见图 3。

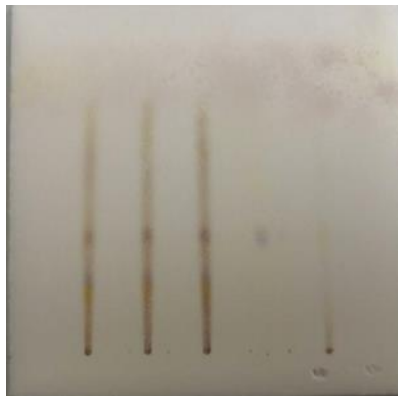


图 3 赤芍薄层鉴别色谱图

1. 2. 3 供试品溶液；4. 芍药苷对照品溶液；5. 赤芍、丹皮阴性对照溶液

2.3.1.4 甘草薄层鉴别

取样品 10g，加甲醇 100ml，超声提取 30 分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加水 15ml 使溶解，用水饱和正丁醇溶液振摇提取三次，每次 20ml，合并正丁醇液，蒸干，残渣加甲醇 2ml 使溶解，作为供试品溶液。取甘草对照药材 1g，参照供试品法制备方法，作为对照品溶液。按处方比例及制法，配制不含甘草的阴性样品，水煎煮之后，参照供试品溶液制备方法，制备阴性对照溶液。照薄层色谱法（中国药典 2020 年版四部通则 0502）试验，吸取供试品溶液 10 μ l，对照药材溶液 1 μ l，阴性对照品溶液 10 μ l，点于同一硅胶 G 薄层板上，以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水（4：9：5：3）的下层溶液为展开剂展开，取出，晾干，喷以 10%硫酸乙醇溶液，在 105℃加热至斑点显色清晰，供试品色谱与对照品色谱在相同位置上显相同橙黄色荧光斑点，且阴性无干扰，结果见图 4。

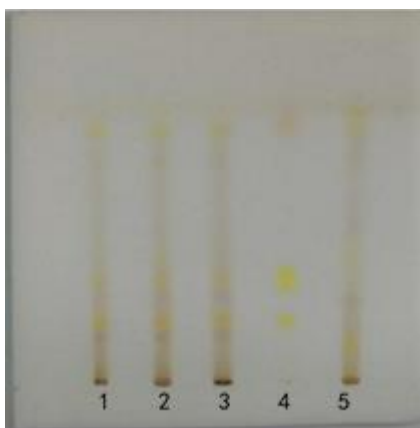


图 4 甘草薄层鉴别色谱图

1. 2. 3 供试品溶液；4. 甘草对照药材溶液；5. 甘草阴性对照溶液

2. 3. 1. 5 大黄薄层鉴别

取样品 4g，研细，加甲醇 50ml，静置 1 小时，滤过，滤液蒸干，残渣加水 10ml 再加盐酸 1ml，回流 30 分钟，立即冷却，用三氯甲烷萃取两次，每次 15ml，合并三氯甲烷液，蒸干，残渣加三氯甲烷定容至 2ml，作为供试品溶液。取对照药材 1g，参照供试品方法制备，制备对照药材溶液。按处方比例及制法，配制不含大黄的阴性样品，水煎煮之后，参照供试品方法制备阴性对照溶液。照薄层色谱法（中国药典 2020 年版四部通则 0502）试验，吸取供试品 15 μ l，对照药材溶液 4 μ l，阴性对照品 15 μ l，点于同一硅胶 G 板薄层板，以石油醚（30-60 $^{\circ}$ C）-乙酸乙酯-甲酸（5：：0.1）为展开剂展开，取出，晾干，在紫外光灯（365nm）下检视，供试品色谱与对照药材色谱在相应位置上显相同的橙黄色荧光斑点，且阴性无干扰，结果见图 5。

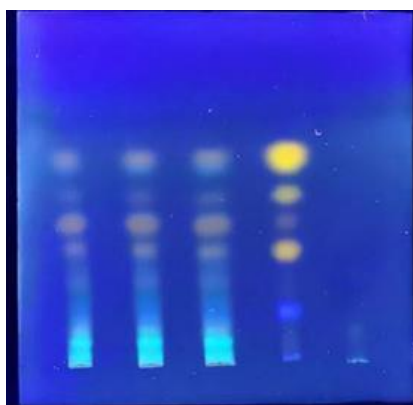


图 5 大黄薄层鉴别色谱图

1. 2. 3 供试品溶液；4. 大黄对照药材溶液；5. 阴性溶液

2. 3. 2 醇溶性浸出物测定

按照《中国药典》2020 年版四部通则 2201 浸出物测定法试验热浸法对其进行测定，将通腑理气颗粒研细，取 2g，精密称定，置 100ml 锥形瓶中，精密加入乙醇 50ml，密塞，称定重量，静置 1h，连接回流冷凝管，加热至沸腾，并保持微沸 1h。放冷后，取下锥形瓶，密塞，再称定重

量，用乙醇补足减失的重量，摇匀，用干燥滤器滤过，精密量取滤液 25ml，置已干燥恒重的蒸发皿中，在水浴上蒸干后，于 105℃干燥 4h，置干燥器中冷却 40min，迅速精密称定重量。结果见表 1。

表 1 醇溶性浸出物含量测定结果

样品编号	取样量 (g)	醇溶性浸出物 (%)
1 号	2.1247	28.85
2 号	2.0564	31.03
3 号	2.0148	30.16

2.3.3 含量测定

2.3.3.1 溶液的制备

2.3.3.1.1 对照品溶液的制备：精密称取芍药苷对照品 2.4mg，置 5mL 容量瓶中，加甲醇使溶解，并定容至刻度，摇匀，即得。（芍药苷对照品的浓度为 0.48mg/mL）

2.3.3.1.2 供试品溶液的制备：取通腑理气颗粒，研细，精密称定 1.6g，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 50ml,称重，超声提取 30 分钟，放冷，再次称重，用甲醇补足失重，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.3.3.1.3 赤芍阴性对照溶液的制备：按通腑理气颗粒处方取不含赤芍的所有药材，加 8 倍量水，煎煮，过滤，浓缩，干燥，研细，加 50ml 甲醇超声 30 分钟，滤过，蒸干，残渣加甲醇 10ml 溶解，即得。

2.3.3.1.4 牡丹皮阴性对照溶液的制备：按通腑理气颗粒处方取不含牡丹皮的所有药材，按上述赤芍阴性对照溶液方法制备牡丹皮阴性对照溶液。

2.3.3.1.5 双阴性对照溶液的制备：按通腑理气颗粒处方取不含赤芍、牡丹皮的所有药材，按上述赤芍阴性对照溶液方法制备双阴性对照溶液。

2.3.3.2 色谱条件

色谱柱 Diamonsil C₁₈ 柱(200 mm × 4.6 mm, 5μm); 流动相：乙腈(B)-0.1%乙酸溶液(D)，梯度洗脱，洗脱程序见表 1；流速 1.0 mL /min；检测波长 230nm；柱温 25℃；进样量 10μL。在此条件下芍药苷与样品中其它成分达到完全分离，阴性对照无干扰。对照品溶液色谱图、供试品溶液色谱图、阴性对照溶液及空白溶液色谱图，见图 6-11。

表 2 梯度洗脱表

时间 (min)	A% (乙腈)	B% (0.1%乙酸)
----------	---------	-------------

0	12	88
20	12	88
28	35	65
33	50	50
38	80	20
40	80	20

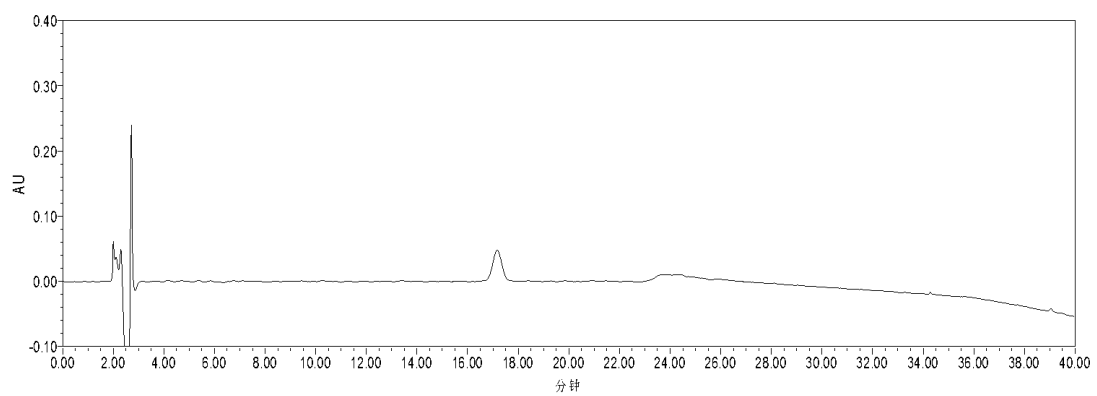


图 6 芍药苷对照品溶液 HPLC 色谱图

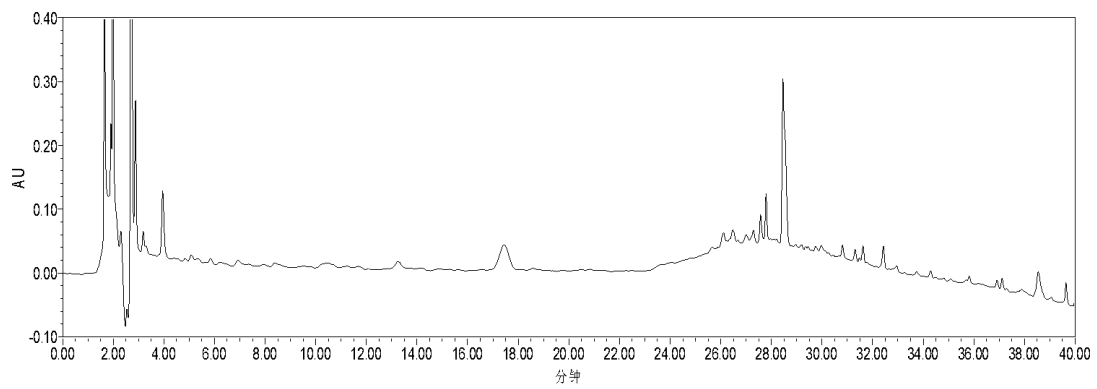


图 7 供试品溶液 HPLC 色谱图

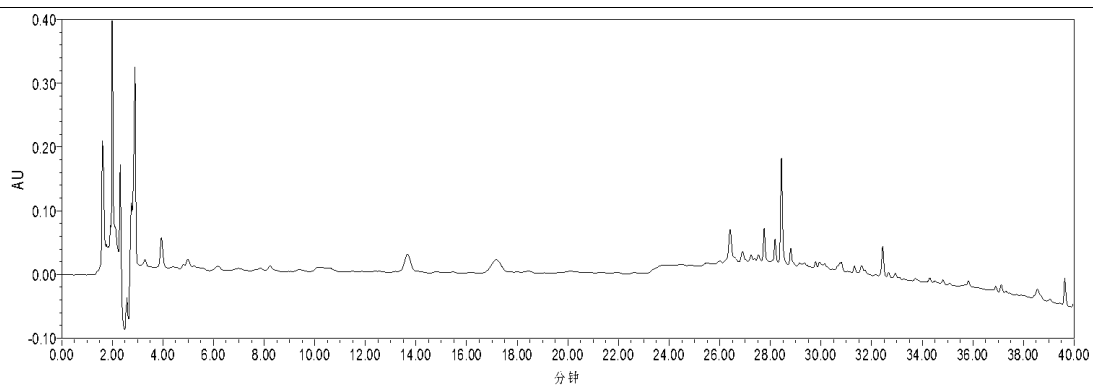


图 8 赤芍阴性溶液 HPLC 色谱图

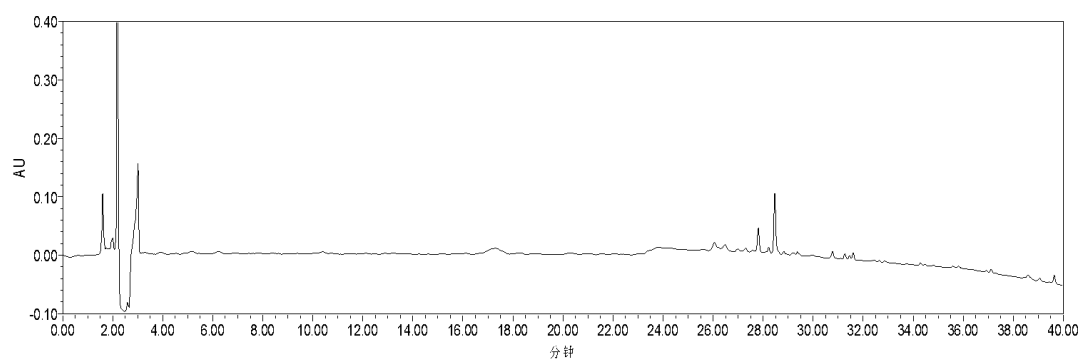


图 9 牡丹皮阴性溶液 HPLC 色谱图

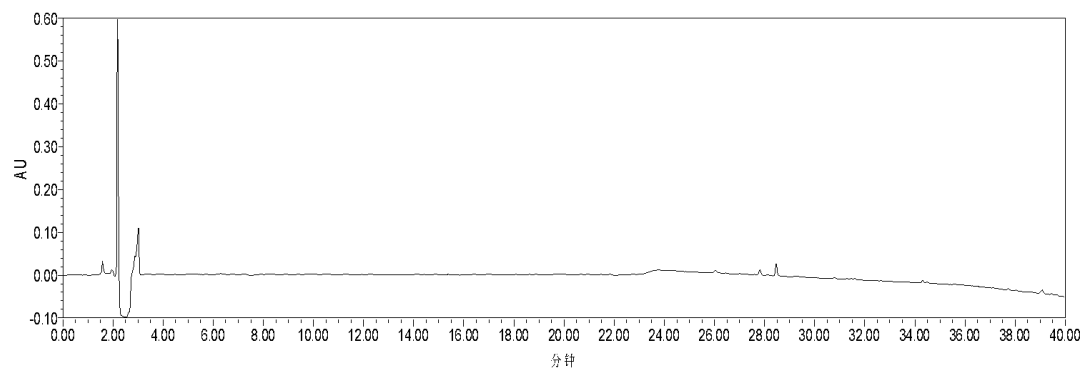


图 10 赤芍、丹皮双阴性溶液 HPLC 色谱图

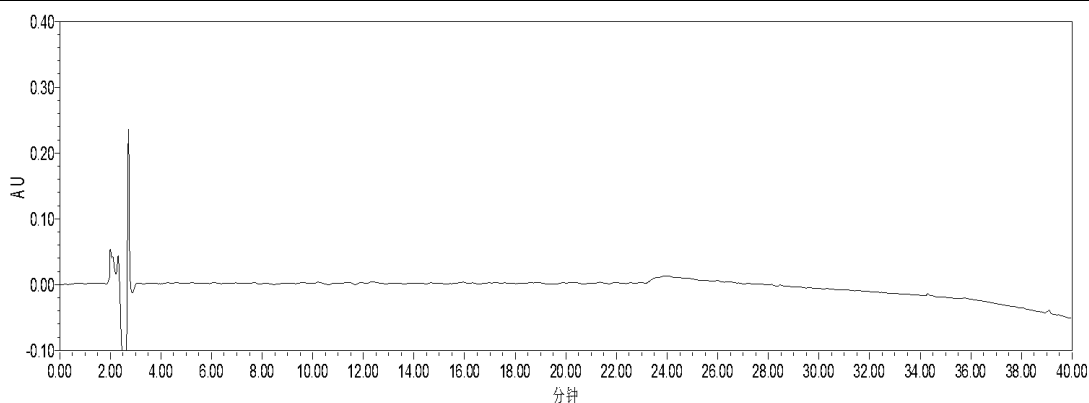


图 11 空白溶液对照色谱图

2.3.3.3 方法学考察

2.3.3.3.1 线性关系的考察

按 2.3.3.2 项下的色谱条件，精密称取芍药苷对照品 0.48mg，置 5mL 量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，即得对照品溶液，分别进样 2、4、8、12、16、20 μ L，测定峰面积值。

按 2.3.3.2 项下的色谱条件，以对照品进样量 (μ g) 为横坐标，以峰面积为纵坐标，作图，得一直线（图 12）。回归方程为 $y=1270941.01x-20950.98$ ， $r=0.9993$ ，故芍药苷进样量在 0.192~1.92 μ g 范围内线性关系良好。

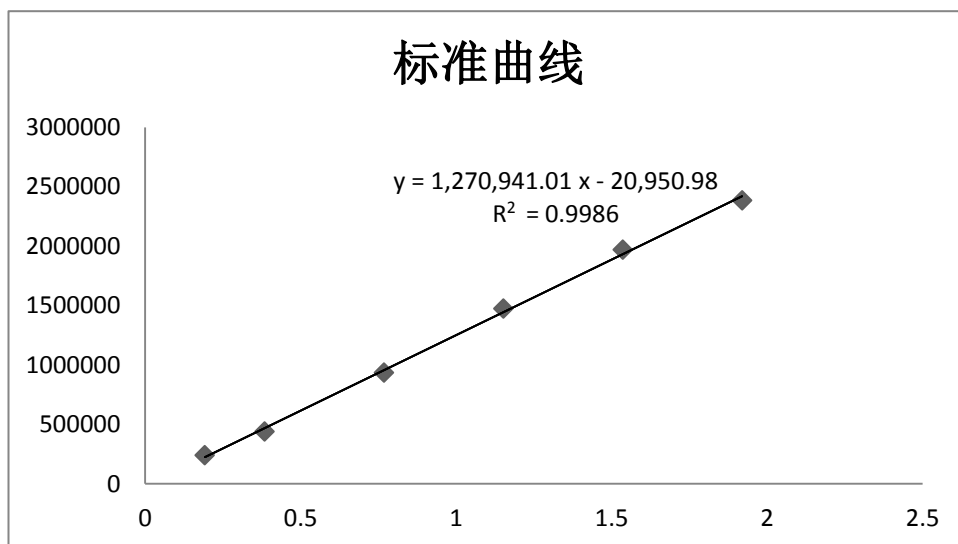


图 12 芍药苷标准曲线图

2.3.3.3.2 精密度考察

按 2.3.3.2 项下的色谱条件，精密吸取同一对照品溶液 10 μ L，连续进样 6 次，依法测定芍药苷峰面积值，计算 RSD 值，见表 3。

表 1 精密度试验结果

编号	峰面积	平均峰面积	RSD (%)
1	1165104	1158714	1.65
2	1154196		
3	1192646		
4	1140661		
5	1158180		
6	1141498		

试验结果表明，仪器精密度良好。

2. 3. 3. 3 稳定性考察

取同一份供试品溶液，分别于 0、2、4、8、12h 分别进样 10 μ L，依法测定样品芍药苷峰面积值，计算 RSD 值，结果见表 3。

表 3 稳定性试验结果

时间 (h)	峰面积	平均峰面积	RSD (%)
0	1009445	1012330	0.41
2	1013321		
4	1007105		
8	1014081		
12	1017698		

试验结果表明，供试品溶液在 12 小时内稳定性良好。

2. 3. 3. 3. 4 重复性试验

按拟定的含量测定方法，取同一批样品（样品 2）分别制备 6 份供试品溶液，精密吸取 10 μ L，进样，测定峰面积积分值并计算含量、RSD 值，结果见表 4。

表 4 样品重复性试验结果

实验号	样重 (g)	含量 (mg/g)	平均含量 (mg/g)	RSD (%)
1	1.6026	2.79	2.77	2.11
2	1.6027	2.77		
3	1.5937	2.80		

4	1.6100	2.67
5	1.5987	2.84
6	1.5987	2.74

试验结果表明, 本方法重复性良好。

2.3.3.3.5 加样回收率试验

采用加样回收率试验，取通腑理气颗粒（样品 2），研细，精密称取 0.8 g，加入甲醇定容至 50 mL，加入芍药苷对照品 2.2mg，超声 30 min，以甲醇补足失重，按照 4.2 项下的色谱条件进行进样测定，按样品测定项下操作，计算回收率。

结果见表 5。

表 5 回收率试验结果表

编号	取样量 (g)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.8014	2.2199	2.2	4.3423	96.47	100.91	2.85
2	0.806	2.2326	2.2	4.5193	103.94		
3	0.8022	2.2221	2.2	4.4092	99.41		
4	0.8046	2.2287	2.2	4.4213	99.66		
5	0.8054	2.231	2.2	4.4942	102.87		
6	0.8102	2.2442	2.2	4.5126	103.11		

平均加样回收率为 100.91% , RSD 为 2.85% 。

2.3.3.3.6 含量测定

取三批样品，按“2.3.3.1.2”项下供试品溶液制备方法制备，进样，测定，结果见表5。

表 6 样品含量测定结果表

样品批号	芍药苷含量 (mg/g)	芍药苷平均含量 (mg/g)
样品 1-1	2.83	2.74
样品 1-2	2.66	
样品 2-1	2.79	
样品 2-2	2.77	
样品 3-1	2.69	

根据三批结果下浮20%，暂定制剂中含芍药苷（ $C_{23}H_{28}O_{11}$ ）每克不得少于2.19mg。

2.4 试验主要指标

- （1）薄层色谱鉴别：通腑理气颗粒中薏苡仁、枳实、赤芍、甘草、大黄的鉴别。
- （2）醇溶性浸出物测定：建立了醇溶性浸出物的限度。
- （3）含量测定：通过方法学的考察，以芍药苷为指标性成分，建立了 HPLC 法测定通腑理气颗粒含量测定方法及含量限度。

2.5 达到的目标及水平

本项目建立通腑理气颗粒的鉴别、醇溶性浸出物测定及含量测定方法，简便可行、准确，可用于医院控制通腑理气颗粒的质量。

3. 研究成果的创新性或突破性贡献

首次为医院建立了通腑理气颗粒的质量标准，具有科学性、先进性和实用性，并符合简便、灵敏、准确和可靠的要求。为保障人民用药安全、有效保驾护航。

4. 研究成果及应用情况（包括科学意义和经济社会意义等）

- （1）校刊发表论文《HPLC 法测定通腑理气颗粒中芍药苷的含量》1 篇；
- （2）建立了通腑理气颗粒的质量标准并形成了完整的文字资料供医院申报资料；
- （3）提高了教师的专业技能及对医药行业中药物质量存在的问题及解决办法；
- （4）掌握了药品质量标准的规范格式及专业术语的描述方法。

5. 比照研究工作计划，分析超过或未达到预定目标、进度和研究内容的原因。

- （1）建立的含量测定方法是单指标芍药苷，未能建立目前大力提倡的一测多评的含量测定方法。
- （2）未能建立指纹/特征图谱。

6. 本项目研究工作存在的问题或不足，改进设想及建议。

本项目虽然制定了通腑理气颗粒一套完整的质量标准，但质量标准与药物的安全性、有效性关联度仍需进一步提高。今后需进一步探索临床试验及非临床研究结果与试验样品中各指标成份的相关性，开展与中药安全性、有效性相关的质量研究，为质量标准中各项指标确定的合理性提供充分的依据。

三、经费支持情况

企业实拨经费	8 万	自 筹 经 费	0
项目研究经费（合计）	8 万		
负责人（签章） 2021 年 11 月 07 日			

四、审核审批意见

部门意见：

负责人（签字）：

（公章）

年月日



科研中心意见：

负责人（签字）：

同意

张

（公章）

年月日



学术委员会审定意见：

负责人（签字）：

张震

（公章）

年月日

