

## 小儿化积颗粒调节胃肠功能的药效学及质量控制研究

刘全国<sup>1</sup>, 宫辰<sup>2,3</sup>, 陈金鹏<sup>3,4,5</sup>, 刘毅<sup>3,4,5</sup>, 盖晓红<sup>3,4,5</sup>, 田成旺<sup>3,4,5\*</sup>, 陈常青<sup>3,4,5\*</sup>

1. 海南葫芦娃药业集团股份有限公司, 海口 570216
2. 天津中医药大学, 天津 301617
3. 天津药物研究院, 和光中药科技(天津)有限公司, 天津 300462
4. 天津市中药质量标志物重点实验室, 天津 300462
5. 药物成药性评价与系统转化全国重点实验室, 天津 300462

**摘要:** **目的** 研究小儿化积颗粒对幼龄大小鼠胃肠功能的影响, 并对其主要药效物质进行质量控制。 **方法** 采用幼龄小鼠肠推进、胃排空实验以及大鼠胃液分泌实验进行药效学研究; 采用高效液相色谱法和电位滴定法依次对小儿化积颗粒中药效物质槟榔碱和有机酸进行含量测定。 **结果** 小儿化积颗粒能够显著延长幼龄小鼠肠推进百分率 ( $P < 0.05$ ), 显著减少幼龄小鼠胃中酚红残留率 ( $P < 0.001$ ), 显著增加大鼠胃液体积和胃蛋白酶活性 ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ), 显著提高胃酸分泌速度 ( $P < 0.05, 0.01$ )。建立了槟榔碱以及有机酸含量测定的方法, 方法学研究结果均符合规定, 3批小儿化积颗粒中试样品含量稳定。 **结论** 小儿化积颗粒能够显著促进幼龄大小鼠胃排空, 增强肠推进, 改善胃液分泌功能以及胃蛋白酶活性, 其作用与同剂量的化积片相当; 建立的药效物质质量控制方法简单、专属性强, 重复性好, 可为小儿化积颗粒的临床应用提供保障。

**关键词:** 小儿化积颗粒; 胃肠功能; 槟榔碱; 有机酸; 质量控制

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)24-8135-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.24.018

## Pharmacodynamics and quality control of Xiaer Huaji Granules on regulating gastrointestinal function

LIU Quan-guo<sup>1</sup>, GONG Chen<sup>2,3</sup>, CHEN Jin-peng<sup>3,4,5</sup>, LIU Yi<sup>3,4,5</sup>, GAI Xiao-hong<sup>3,4,5</sup>, TIAN Cheng-wang<sup>3,4,5</sup>, CHEN Chang-qing<sup>3,4,5</sup>

1. Hainan Huluwa Pharmaceutical Group Co., Ltd., Haikou 570216, China
2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China
3. Huguang Science and Technology of Traditional Chinese Medicine (Tianjin) Co., Ltd., Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300462, China
4. Tianjin Key Laboratory of Quality Marker of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300462, China
5. National Key Laboratory of Druggability Evaluation and Systematic Translational Medicine, Tianjin 300462, China

**Abstract: Objective** To study the effect of Xiaer Huaji Granules (小儿化积颗粒) on gastrointestinal function of young rats and mice, and control the quality of its effective components. **Methods** Intestinal propulsion test, gastric emptying test in young mice and gastric secretion test in rats were used to study the pharmacodynamics; The content of arecoline in Xiaer Huaji Granules was determined by HPLC; The organic acid content was determined by potentiometric titration. **Results** Xiaer Huaji Granules could significantly prolong the percentage of intestinal propulsion in young mice ( $P < 0.05$ ), significantly reduce the residual rate of phenol red in the stomach of young mice ( $P < 0.001$ ), significantly increase the volume of gastric juice and pepsin activity in rats ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ), significantly increase the rate of gastric acid secretion ( $P < 0.05, 0.01$ ). The methods of arecoline and organic acid content determination were established. The results of methodology research were in line with the requirements, and the contents of three

收稿日期: 2023-08-07

基金项目: 国家重点研发计划“中医药现代化”重点专项 2022 年度项目: 儿童型中成药改良创新关键技术研究(2022YFC3501900)

作者简介: 刘全国(1966—), 男, 本科, 制药高级工程师, 从事药品研发工作。E-mail: 627055409@qq.com

\*通信作者: 田成旺(1978—), 男, 研究员。E-mail: tiancw@tjpr.com

陈常青(1963—), 男, 研究员。E-mail: chencq@tjpr.com

batches of Xiaer Huaji Granule samples were stable. **Conclusion** Xiaer Huaji Granules could significantly promote gastric emptying, enhance intestinal propulsion, and improve gastric juice secretion in young mice as well as the activity of pepsin. Its effect was equivalent to Huaji Tablets (化积片) at the same dose. The quality control method was simple, specific and reproducible. This study provide a reliable guarantee for the clinical application of Xiaer Huaji Granules.

**Key words:** Xiaer Huaji Granules; gastrointestinal function; arecoline; organic acid; quality control

积滞是小儿常见的脾胃系疾病之一, 3~8 岁儿童高发, 未得到及时诊治会影响患儿的体格与智力发育。西医多采用针对病因的药物治疗, 但缺乏系统评价以支持其疗效。中医药治疗小儿积滞历史悠久, 经验丰富<sup>[1]</sup>。积滞的主要病机为中焦积而不化, 气滞不行。而化积组方对于积滞有良好的疗效。

小儿化积片为海南葫芦娃药业有限公司生产的明星产品, 具有消食化积的作用, 用于治疗小儿脾胃不和、停食停乳、积聚痞块、肚腹膨胀、四肢倦怠、面色萎黄、不思饮食等症, 有着多年的临床应用基础, 疗效确切。该方由山楂(焦)、麦芽(炒)、六神曲(麸炒)、槟榔(炒)、鸡内金(炒)、牵牛子(炒)组成。山楂具有消食健胃、行气散瘀和化浊降脂的功效, 为消食导积要药<sup>[2-3]</sup>, 其中的山楂中总黄酮类有促进胃肠功能、调节脂质代谢的作用<sup>[4]</sup>; 麦芽具有行气消食、健脾开胃、回乳消胀, 善消导米面诸果食积等功效; 六神曲具有健脾和胃、消食调中的作用, 用于脾胃虚弱、饮食停滞、胸痞腹胀、小儿食积等症<sup>[5]</sup>; 槟榔药效广泛, 具有驱杀寄生虫及助消化等药理作用<sup>[6-7]</sup>。其中的主要药效成分槟榔碱具有增加胃肠蠕动、增强唾液分泌、促进消化等功能<sup>[8]</sup>; 鸡内金具有健胃消食、涩精止遗、通淋化石的作用, 用于食积不消、呕吐泻痢、小儿疳积等症; 牵牛子具有泻水通便、消痰涤饮、杀虫攻积的作用, 用于消食化积等症。6 味药组方使用可消食化积, 理气行滞。

小儿化积片市售剂型为片剂, 该剂型对于幼儿来讲存在片重大、水送服用困难等情况; 另外口服药, 儿童不配合, 顺应差, 在一定程度上限制了患者的用药, 难以满足临床及市场需求。因此在临床和市场调研的基础上将小儿化积片改变为适合儿童服用的颗粒剂。本研究使用 ICR 幼龄小鼠以及 SD 大鼠进行化积颗粒的胃肠功能性实验, 观察其对小鼠的胃肠功能性影响, 效果良好, 并且提示毒性成分在安全有效范围内; 此外, 在原剂型小儿化积片中定量项为有机酸的基础上, 增加了药效成分槟榔碱的含量测定方法, 对其在化积颗粒中的含量测定、

方法学考察进行研究, 建立化积颗粒更完整、全面的质量控制方法, 为小儿化积颗粒的质量控制研究奠定基础, 临床应用提供可靠的保障。

## 1 材料

### 1.1 动物

SPF 级 ICR 幼龄小鼠 100 只, 体质量 12~14 g, 雌雄各半, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 生产许可证号 SCXK(京)2012-0001(用于小鼠肠推进实验)。

SPF 级 SD 大鼠 40 只, 体质量 50~70 g, 雌雄各半, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 生产许可证号 SCXK(京)2012-0001(用于大鼠胃酸分泌实验)。

本实验动物使用经机构实验动物管理与使用委员会(IACUC)批准(伦理批准号 2016040101)。温度、湿度、换气次数由中央系统自动控制, 温度 20~26 ℃, 相对湿度 40%~70%, 通风次数为 10~15 次/h 全新风, 光照为 12 h 明、12 h 暗。大鼠饲料由天津市华荣实验动物科技有限公司提供, 饮用多重微孔滤膜过滤系统制备的无菌水(四级过滤紫外灭菌)。

### 1.2 药品与试剂

小儿化积颗粒(批号 20151217, 相当于 8.93 g 生药/g 干膏粉)、小儿化积颗粒 3 批中试样品(批号 20160620、20160625、20160629)由天津药物研究院有限公司提供; 化积片(批号 150101)购自承德新爱民制药有限公司; 异氟烷(批号 C002150201)购自河北一品制药股份有限公司; NaOH(批号 20120202)购自天津市风船化学试剂科技有限公司; 阿拉伯胶(批号 20130507)购自天津市化学试剂批发公司; 印度墨汁(批号 20090115)购自国药集团化学试剂有限公司; 胃蛋白酶测试盒(批号 20160419)购自南京建成生物工程研究所; 对照品氢溴酸槟榔碱(批号 111684-200401, 质量分数 99.5%)、枸橼酸(批号 100396-201302, 质量分数 100.0%)购自中国食品药品检定研究院; 乙腈为色谱纯, 甲醇为分析纯, 磷酸为分析纯, 三乙胺为分

析纯, 水为娃哈哈纯净水。

### 1.3 仪器

AB204-N 型电子天平、DL53 型电位滴定仪[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; BT-25S 型电子天平(德国 Sartorius 公司); Varioskan Flash 酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); LXJ-IIIB 型低速大容量多管离心机(上海安亭科学仪器有限公司); 1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); PHS-25 型 pH 计(上海雷磁公司)。

## 2 方法

### 2.1 小儿化积颗粒调节胃肠功能的作用

**2.1.1 对幼龄小鼠肠推进运动的影响** 50 只 ICR 幼龄小鼠随机分为对照组及小儿化积颗粒高、中、低剂量(5.00、2.50、1.25 g/kg)组和化积片(2.5 g/kg)组, 每组 10 只, 雌雄各半。每天 ig 给药 1 次, 连续 3 d, 给药体积 20 mL/kg, 对照组 ig 等体积去离子水。于末次给药(给药前小鼠禁食 5 h)后 40 min, 各组小鼠 ig 2%印度墨汁(用 5%阿拉伯胶溶液配制), 20 min 后脱颈椎处死小鼠, 剖开腹部, 轻轻取出并分离整个胃至肛门的肠段, 平铺于蜡板上, 测量幽门到回盲部的长度, 作为小肠全长, 再测量幽门到墨汁推进前沿的长度为小肠推进长度, 计算肠推进率。将各给药组与对照组平均肠推进率比较, 进行统计学 *t* 检验。

肠推进率 = 小肠推进长度 / 小肠全长

**2.1.2 对幼龄小鼠胃排空的影响** 50 只 ICR 幼龄小鼠随机分为对照组及小儿化积颗粒高、中、低剂量(5.00、2.50、1.25 g/kg)组和化积片(2.5 g/kg)组, 每组 10 只, 雌雄各半。按“2.1.1”项下方法给药, 于末次给药前禁食 4 h、末次药后 40 min, ig 0.1%酚红溶液(0.2 mL/只), 20 min 后处死小鼠, 摘取胃, 置于烧杯中, 沿胃大弯剪开胃, 用 5 mL 蒸馏水冲洗胃内容物, 调 pH 值为 6.0~6.5, 3000 r/min 离心 10 min, 分离上清液。用酶标仪在波长 420 nm 下测定各样品中酚红的吸光度(*A*)值, 以 0.1%酚红 0.2 mL 加蒸馏水至 5 mL 溶液的 *A* 值作为酚红吸收基数, 计算各组动物胃中酚红残留率, 各给药组与对照组胃中酚红残留率进行统计学 *t* 检验。

胃中酚红残留率 = 胃中酚红 *A* 值 / 酚红吸收基数

**2.1.3 对幼龄大鼠胃酸分泌以及胃蛋白酶活性的影响** 50 只幼龄 SD 大鼠随机分为对照组及小儿化积颗粒高、中、低剂量(3.2、1.6、0.8 g/kg)组和化积片(1.6 g/kg)组, 每组 10 只, 雌雄各半。每天 ig

给药 1 次, 连续 3 d, 对照组 ig 等体积去离子水。动物禁食不禁水 16 h, 末次给药后 1 h, 异氟烷麻醉, 仰位固定, 腹部剃毛, 常规消毒, 于剑突下沿正中中线剪 1 个约 1.5 cm 切口, 轻取胃, 在胃幽门与十二指肠结合部用手术线结扎胃幽门, 缝合切口。术后禁食、禁水 4 h 后, 用异氟烷麻醉后脱颈椎处死, 剖开切口, 结扎胃贲门, 取出胃, 沿胃大弯剖开, 收集胃液, 3000 r/min 离心 10 min, 吸取上清液, 测量胃液体积。取胃液 0.5 mL 置入小锥形瓶中, 加入酚酞指示剂 1 滴, 以 0.01 mol/L 氢氧化钠滴定至出现红色(颜色不再加深)为终点。计算胃酸分泌速度。用试剂盒测定胃液胃蛋白酶活性(比色法), 将各给药组与对照组的胃液体积、胃酸分泌速度及胃蛋白酶活性进行统计学 *t* 检验。

总酸度 = NaOH 浓度 × NaOH 体积 × 1000 / 滴定所取胃液体积

胃酸分泌速度 = 总酸度 × 胃液体积 / 收集胃液时间

**2.1.4 统计学分析** 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间对比用单因素方差分析(One-Way ANOVA)。

### 2.2 槟榔碱的含量测定

**2.2.1 色谱条件** Dikma Diamonsil-C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-三乙胺溶液(15:85, 2 mL 三乙胺加入 1000 mL 水中, 磷酸调节 pH 值至 7.0); 检测波长为 215 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 进样量 10 μL。

#### 2.2.2 溶液的制备

(1) 对照品溶液的制备: 精密称取氢溴酸槟榔碱对照品适量, 加流动相制成 0.360 4 mg/mL 的氢溴酸槟榔碱对照品储备液(即槟榔碱对照品储备液质量浓度为 0.236 9 mg/mL)。精密吸取氢溴酸槟榔碱对照品储备液 1.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得对照品溶液。

(2) 供试品溶液的制备: 取小儿化积颗粒, 研细, 取约 5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加乙醚 50 mL, 再加碳酸盐缓冲液(取碳酸钠 1.91 g 和碳酸氢钠 0.56 g, 加水溶解成 100 mL) 3 mL, 放置 30 min, 振摇; 加热回流 30 min, 取乙醚液, 残渣加乙醚加热回流提取 2 次, 50 mL/次, 每次 15 min, 合并 3 次乙醚液, 加入磷酸溶液 1 mL, 混匀, 回收乙醚, 残渣加 50%乙腈溶液溶解, 转移至 25 mL 量瓶中, 加 50%乙腈至刻度; 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

(3) 阴性供试品溶液的制备: 按小儿化积颗粒

处方制法，制得缺炒槟榔的阴性颗粒，按供试品的溶液的制备方法制备，即得阴性供试品溶液。

**2.2.3 HPLC 分析** 分别精密吸取氢溴酸槟榔碱对照品溶液、供试品溶液和阴性供试品溶液各 10 μL，注入液相色谱仪，测定，即得。

**2.3 有机酸的含量测定**

**2.3.1 溶液的制备**

(1) 枸橼酸对照品溶液制备：取枸橼酸对照品适量，精密称定，加水溶解制成质量浓度为 1.1204 mg/mL 的枸橼酸对照品溶液。

(2) 供试品溶液的制备：取小儿化积颗粒，研细，取约 2 g，精密称定，精密加水 50 mL，摇匀，密塞，称定质量，超声 30 min，取出，称定质量，用水补足减失的质量，滤过，精密量取续滤液 25 mL，照电位滴定法，用 0.05 mol/L 氢氧化钠滴定液进行滴定至 pH 8.7，即得。每毫升氢氧化钠滴定液 (0.05 mol/L) 相当于 3.202 mg 的枸橼酸。

(3) 氢氧化钠滴定液配制及标定：照《中国药典》2020 年版四部通则 8006 项下，依法配制 0.05 mol/L 氢氧化钠滴定液，并进行标定。

**2.3.2 测定方法** 照电位滴定法 (《中国药典》2020 年版四部通则 0701) 测定。

**3 结果**

**3.1 小儿化积颗粒对胃肠运动的作用**

**3.1.1 小儿化积颗粒对幼龄小鼠肠推进运动的影响** 如表 1 所示，与对照组比较，小儿化积颗粒高、中剂量组及化积片组能够显著延长幼龄小鼠肠推进率 ( $P < 0.05$ )。其中小儿化积颗粒中剂量组延长幼龄小鼠肠推进率与同剂量的化积片比较未见显著性差异。结果表明，小儿化积颗粒和化积片均有推动幼龄小鼠肠运动的作用，小儿化积颗粒的肠推进作用与同剂量的化积片相当。

**3.1.2 小儿化积颗粒对幼龄小鼠胃排空的影响** 如表 2 所示，与对照组比较，小儿化积颗粒各剂量组及化积片组能够显著减少幼龄小鼠胃中酚红残留率

( $P < 0.05$ )。其中小儿化积颗粒中剂量组减少幼龄小鼠胃中酚红残留率与同剂量的化积片比较未见显著性差异，结果表明，小儿化积颗粒和化积片均有推动幼龄小鼠胃排空的作用，小儿化积颗粒的胃排空作用与同剂量的化积片相当。

**3.1.3 小儿化积颗粒对幼龄大鼠胃酸分泌以及胃蛋白酶活性的影响** 如表 3 所示，与对照组比较，小儿化积颗粒各剂量组和化积片组均显著增加大鼠胃液体积和胃蛋白酶活性 ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ )，小儿化积颗粒高、中剂量组和化积片组显著提高胃酸分泌速度 ( $P < 0.05, 0.01$ )；小儿化积颗粒中剂量组增加大鼠胃液体积、胃蛋白酶活性和提高胃酸分泌速度与同剂量的化积片比较未见显著性差异。结果表明，小儿化积颗粒和化积片均有增加大鼠胃液体积、胃蛋白酶活性和提高胃酸分泌速度的作用，

表 1 小儿化积颗粒对幼龄小鼠肠推进运动的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Effect of Xiaoer Huaji Granules on intestinal propulsion in young mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	肠推进率/%
对照	—	56.7 ± 9.2
小儿化积颗粒	5.00	67.5 ± 11.3*
	2.50	67.0 ± 10.9*
	1.25	57.5 ± 9.1
化积片	2.5	65.6 ± 6.1*

与对照组比较：\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ ，下表同  
\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs control group, same as below tables

表 2 小儿化积颗粒对幼龄小鼠胃排空的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effect of Xiaoer Huaji Granules on gastric emptyin function in young mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	胃中酚红残留率/%
对照	—	28.381 ± 4.328
小儿化积颗粒	5.00	17.510 ± 3.821***
	2.50	15.227 ± 3.786***
	1.25	17.675 ± 3.111***
化积片	2.5	15.889 ± 3.954***

表 3 小儿化积颗粒对幼龄大鼠胃液分泌和胃蛋白酶活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Effects of Xiaoer Huaji Granules on gastric secretion and pepsin activity in young rats ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	胃液体积/mL	胃酸分泌速度/(mmol·h <sup>-1</sup> )	胃蛋白酶活性/(U·mL <sup>-1</sup> )
对照	—	2.0 ± 1.0	54.3 ± 27.1	19.70 ± 7.47
小儿化积颗粒	3.2	3.8 ± 0.9***	81.7 ± 17.1*	50.59 ± 22.64**
	1.6	3.4 ± 1.0**	101.4 ± 28.5**	36.24 ± 15.15*
	0.8	3.1 ± 0.6**	73.4 ± 21.1	29.78 ± 11.43*
	化积片	1.6	3.6 ± 1.0**	105.3 ± 37.0**

并且小儿化积颗粒的作用与同剂量的化积片相当。

### 3.2 槟榔碱的含量测定

**3.2.1 专属性实验** 分别精密吸取氢溴酸槟榔碱对照品溶液、供试品溶液、阴性供试品溶液各 10  $\mu\text{L}$ ，注入液相色谱仪，测定，记录色谱图。结果表明，该色谱条件下，对照品溶液中氢溴酸槟榔碱的色谱峰峰形良好，供试品溶液中氢溴酸槟榔碱相应保留时间处的色谱峰峰形良好，氢溴酸槟榔碱色谱峰与杂质峰的分离度大于 1.5，阴性供试品溶液中在氢溴酸槟榔碱色谱峰相应保留时间处无色谱峰出现，该色谱条件专属性良好。

**3.2.2 柱效及分离度测定** 在选定色谱条件下，对供试品溶液中氢溴酸槟榔碱色谱峰的理论塔板数和分离度进行测定，氢溴酸槟榔碱色谱峰的理论塔板数为 6625（以氢溴酸槟榔碱色谱峰计）。氢溴酸槟榔碱色谱峰可达基线分离，且与其相邻的色谱峰的分离度大于 1.5，符合要求。

**3.2.3 标准曲线的绘制** 分别精密吸取氢溴酸槟榔碱对照品储备液 0.2、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 置 10 mL 量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀，按上述色谱条件测定，分别进样 10  $\mu\text{L}$ ，记录色谱图，读取峰面积。以槟榔碱进样量为横坐标 ( $x$ )，峰面积为纵坐标 ( $y$ )，绘图，得标准曲线。结果表明，在进样量为 0.047 38~1.184 5  $\mu\text{g}$ ，槟榔碱呈良好的线性关系（回归方程为  $y=3\ 424.352x-2.591\ 8$ ， $r=1.000\ 0$ ）。

**3.2.4 稳定性实验** 取小儿化积颗粒，制备供试品溶液和氢溴酸槟榔碱对照品溶液分别于室温放置 0、2、4、8、12、24 h 后分别进样，测定，记录氢溴酸槟榔碱色谱峰面积，结果表明，供试品溶液在室温放置 24 h 内稳定，峰面积 RSD 为 0.47%；对照品溶液在室温放置 24 h 内稳定，峰面积 RSD 为 0.35%，稳定性良好。

**3.2.5 重复性实验** 取小儿化积颗粒约 5 g，精密称定，按供试品溶液制备方法制备，制备 6 份，测定，记录氢溴酸槟榔碱色谱峰面积，计算小儿化积颗粒中氢溴酸槟榔碱的含量，结果表明，槟榔碱质量分数平均值为 0.115 8 mg/g，RSD 为 0.56%，重复性良好。

**3.2.6 加样回收率实验** 取小儿化积颗粒 9 份，每份约 2.5 g，精密称定，平行 9 份，分别置于 9 个锥形瓶中，各取 3 份，分别精密加入氢溴酸槟榔碱对照品储备液 0.6、1.2、1.8 mL，加入乙醚 50 mL，分别再加碳酸盐缓冲液 3 mL，制备 9 份供试品溶液，

进样，测定，计算回收率。结果表明，平均回收率为 103.35%，RSD 为 3.76%，符合要求。

**3.2.7 耐用性实验** 液相色谱的变动因素有体积流量、波长、酸度、流动相比比例、柱温、色谱柱。取供试品溶液，结果表明，液相色谱条件如体积流量、波长、酸度、流动相比比例、柱温有所变动均对测定结果无明显影响；色谱柱品牌改变对测定结果无明显影响，同品牌不同批号的色谱柱无影响。

**3.2.8 3 批中试样品的含量测定** 取 3 批小儿化积颗粒中试样品，按供试品溶液制备方法制备得供试品溶液，测定，结果表明，3 批小儿化积颗粒中试样品中槟榔碱质量分数分别为 0.11、0.10、0.11 mg/g。由此可知不同批次的小儿化积颗粒中槟榔碱含量稳定，为临床使用提供了可靠的保障。

### 3.3 有机酸的含量测定

**3.3.1 绘制滴定曲线** 取小儿化积颗粒，研细，取约 2 g，精密称定，精密加水 50 mL，摇匀，密塞，称定质量，超声 30 min，取出，称定质量，用水补足减失的质量，滤过，精密量取续滤液 25 mL，照电位滴定法，用 0.05 mol/L 氢氧化钠滴定液进行滴定。记录消耗氢氧化钠滴定液的体积及相应的 pH 值，以消耗氢氧化钠滴定液体积为  $x$ ，以 pH 值为  $y$ ，在 Originlab originPro 软件中作图，绘制  $\Delta\text{pH}/\Delta V-V$  的滴定曲线，对曲线上的任一点计算其一阶导数值，一阶导数最大值对应的 pH 值为突跃点，即滴定终点。据此确定滴定终点的 pH 值为 8.7。

**3.3.2 专属性实验** 按小儿化积颗粒处方制法，制得空白辅料颗粒，按供试品的制备方法制备，即得阴性供试品溶液。照电位滴定法，用 0.05 mol/L 氢氧化钠滴定液电位滴定至 pH 8.7，即得。每毫升氢氧化钠滴定液（0.05 mol/L）相当于 3.202 mg 的枸橼酸。结果表明，滴定中阴性供试品溶液消耗的氢氧化钠滴定液的体积极微，因此，阴性供试品溶液无干扰。

**3.3.3 稳定性实验** 取小儿化积颗粒 12 g，精密加水 300 mL，制备供试品溶液，于室温放置 0、2、4、8、12 h 后分别滴定，相似度计算结果显示，0~12 h 测得的色谱图与 0 h 色谱图相似度分别为 1.000、0.996、1.000、1.000，结果表明，峰面积 RSD 为 0.18%，供试品溶液在室温放置 12 h 内稳定。

**3.3.4 重复性实验** 取小儿化积颗粒约 2 g，精密称定，按供试品溶液制备方法制备，制备 6 份，依法滴定，各成分峰面积 RSD 为 0.28%；用相似度评价

软件计算, 各色谱图与其所得共有模式的相似度分别为 1.000, 结果表明该方法重复性良好。

**3.3.5 加样回收率实验** 取小儿化积颗粒 6 份, 每份约 1.0 g, 精密称定, 分别置于 6 个锥形瓶中, 分别精密加入 1.120 4 mg/mL 枸橼酸对照品储备溶液 6 mL, 再精密加水 50 mL, 摇匀, 密塞, 称定质量, 超声 30 min, 取出, 称定质量, 用水补足减失的质量, 滤过, 精密量取续滤液 25 mL, 照电位滴定法, 用 0.05 mol/L 氢氧化钠滴定液电位滴定至 pH 8.7, 即得。每毫升氢氧化钠滴定液 (0.05 mol/L) 相当于 3.202 mg 的枸橼酸, 结果表明, 平均回收率为 97.37%, RSD 为 0.91%, 符合要求。

**3.3.6 3 批中试样品的含量测定** 取 3 批中试样品, 按供试品溶液制备方法制备供试品溶液, 依法测定, 结果表明, 3 批小儿化积颗粒中试样品中有机酸质量分数分别为 7.24、7.1、7.23 mg/g。结果表明, 不同批次小儿化积颗粒中有机酸含量稳定, 为临床上的使用提供了有效保障。

#### 4 讨论

积滞是一类以食欲较差甚至不思饮食、脘腹部胀满疼痛、大便酸臭稀溏或秘结、暖气酸腐或呕吐为主要特征的脾胃系疾病, 中医治疗以消食化积、理气行滞为基本原则<sup>[1]</sup>。中医认为积滞的病机为乳食停而不化, 积而不消, 气滞不行。积滞若迁延不愈易发展为“疳证”, 二者有接续关系, 故有时合称疳积。本病相当于现代医学中的功能性消化不良。其中 3~8 岁儿童高发, 未得到及时诊治会影响患儿的体格与智力发育<sup>[2]</sup>。因此对小儿积滞的治疗研究有很大的意义。

胃肠的推进作用和胃液的分泌情况可以判断药物的消食化积能力, 其中胃液中所含的胃酸、胃蛋白酶是参与消化的主要成分, 对营养物质起到初步消化作用, 并为后来的吸收创造了条件<sup>[9]</sup>; 本研究通过幼龄小鼠和大鼠的胃排空实验、胃肠推进实验和胃液分泌实验验证了化积组方的消食化积能力, 其中化积片与小儿化积颗粒均有较好的胃肠推进、胃排空以及胃液分泌作用, 并且相同剂量的化积片和小儿化积颗粒作用一致。结果表明了化积组方良好的消食化积疗效。

山楂中的有机酸类成分可以通过促进消化酶分泌增强小鼠的胃肠运动, 并可拮抗阿托品引起的肠平滑肌松弛, 有机酸具有抗炎症反应, 抗氧化、抑制血小板聚集的药理作用<sup>[10]</sup>, 对心血管疾病的防治

具有重要的临床应用价值。有机酸是山楂健胃消食、改善血液循环、降低高血压和改善高脂血症的关键生物活性成分之一<sup>[11]</sup>。由于山楂中的强极性有机酸类 (如枸橼酸、苹果酸) 等在常规 C<sub>18</sub> 反相色谱柱分离较困难, 结合文献报道<sup>[12]</sup>, 本研究采用电位滴定法对小儿化积颗粒中的有机酸含量进行测定。但是有机酸存在于多种药材中, 专属性差。

研究表明, 槟榔碱可以显著增加胃底、胃体对食物的推动力, 并能加强胃窦部碾磨食糜的能力, 促进胃各部位动力效应协调, 显著提高胃动力低下大鼠的胃排空率和小肠推进率。槟榔碱为槟榔药材的药效成分, 并且也是毒性成分, 选择槟榔碱作为小儿化积颗粒质量控制指标成分, 既可以对小儿化积颗粒进行质量控制, 也可以对其毒性成分进行限定, 保证其毒性成分在安全限定范围内, 提高了其安全性和有效性。因此, 小儿化积颗粒在对有机酸进行质量控制的基础上增加了药效成分槟榔碱的测定, 建立了槟榔碱含量的方法, 并进行方法学研究, 包括供试品溶液的制备方法考察、系统适用性实验、线性关系考察、稳定性、重复性和加样回收率实验等, 结果均符合规定。该方法具有分离效果好、灵敏、准确等优点, 可以用于小儿化积颗粒质量标准中的定量控制, 以保证小儿化积颗粒质量均一性及疗效的稳定性。

本研究通过幼龄小鼠和大鼠的胃排空、肠运动、胃液分泌以及胃蛋白酶活性实验, 证明小儿化积颗粒对幼龄小鼠以及大鼠具有消食化积的功效, 与剂量呈正相关, 对于小儿积滞的治疗具有重大意义; 并且对其中的药效成分进行质量控制研究, 不同批次间的有效成分含量稳定, 为小儿化积颗粒的质量控制研究奠定基础 and 临床应用提供安全有效的保障。然而, 现有文献多集中于临床应用及联合用药的报道, 缺乏对于具体药效机制的研究。因此, 在后续研究中, 应借助分子生物学、蛋白质组学等现代研究手段, 阐明小儿化积颗粒调节胃肠功能的作用机制, 从而更好地服务于临床。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 崔正九, 高桂萍, 王欣欣, 等. 小儿积滞中医外治法治疗进展 [J]. 实用中医内科杂志, 2023, 37(6): 31-34.
- [2] 王云, 吕敏, 梁杰, 等. 山楂饮片及类黑素对双歧杆菌和大肠杆菌体外生长的影响 [J]. 药学实践杂志, 2020, 38(2): 135-137.

- [3] 张良, 姜思凡, 万军, 等. 炮制对山楂主要化学成分的影响 [J]. 长春中医药大学学报, 2014, 30(1): 31-34.
- [4] 董嘉琪, 陈金鹏, 龚苏晓, 等. 山楂的化学成分、药理作用及质量标志物(Q-Marker)预测 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2801-2818.
- [5] 明·李时珍. 本草纲目大辞典: 校点本 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 953.
- [6] 策力木格, 许良. 槟榔化学成分、药理、毒性研究进展及质量标志物预测分析 [J]. 天然产物研究与开发, 2023, 35(8): 1431-1441.
- [7] 刘小靖, 王鹏龙, 项嘉伟, 等. 以中医药思维理解“食用槟榔”与“药用槟榔” [J]. 中草药, 2021, 52(1): 248-254.
- [8] 张新华, 高峰, 严祥, 等. 中药单体氢溴酸槟榔碱对糖尿病胃轻瘫大鼠胃动力的影响 [J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(10): 975-980.
- [9] 杨玉奇. 胃舒颗粒对胃肠运动及对胃液分泌的影响 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5(81): 173-174.
- [10] 张祺嘉钰, 赵佩媛, 孙静, 等. 山楂的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 西北药学杂志, 2021, 36(3): 521-523.
- [11] 汤喜兰, 刘建勋, 李磊. 中药有机酸类成分的药理作用及在心血管疾病的应用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 243-246.
- [12] 徐殊红, 周慧, 王慧英, 等. HPLC 指纹图谱结合一测多评的山楂与野山楂有机酸比较研究 [J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(6): 261-267.

[责任编辑 李亚楠]