

本文引用: 关晓娴, 于兴泰, 张馨雨, 王浩捷, 胡哲铭, 闫丽文, 王文艺, 孙萌, 陆洋. 化橘红水提物与醇提物药效差异比较及水煎工艺增效物质基础初步研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(7): 1387–1396.

化橘红水提物与醇提物药效差异比较及水煎工艺 增效物质基础初步研究

关晓娴, 于兴泰, 张馨雨, 王浩捷, 胡哲铭, 闫丽文, 王文艺, 孙萌, 陆洋*

北京中医药大学中药学院, 北京 102488

〔摘要〕 **目的** 比较化橘红水提物与醇提物的药效差异及化学成分组成, 初步探讨传统水煎工艺增效的物质基础。 **方法** 建立氨水诱导小鼠咳嗽模型和气管酚红排泄模型, 将小鼠随机分为模型对照组、阳性药物组及水/醇提物低、中、高剂量组(200、400、800 mg/kg)。评价镇咳祛痰活性; 采用 UPLC-MS 分析成分组成; HPLC 测定柚皮苷含量; 以人工胃液为溶出介质, 小杯法比较水提物、醇提物及果胶多糖-醇提物混合物的体外溶出; 使用动态光散射法、扫描电子显微镜法、荧光显微镜观察微观形貌, 激光粒度仪测定粒径分布与 Zeta 电位。 **结果** 水提物低剂量组镇咳效果优于醇提物低剂量组 ($P<0.05$); 水提物低、高剂量组祛痰效果均优于醇提物低、高组 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。化橘红水/醇提物的化学成分谱相似, 但水提物中柚皮苷含量较低; 体外溶出结果表明, 醇提物中柚皮苷释放快速, 添加果胶多糖的醇提物混合物溶出行为趋近于化橘红水提物 ($f_2>50$), 均呈现缓慢持续释放特征; 微观形貌及粒径提示, 水提物可形成稳定均一的纳米复合物, 而醇提物稳定性较差; 果胶修饰后醇提物颗粒特性接近水提物, 但均一性稍逊。 **结论** 化橘红水提物镇咳祛痰药效优于醇提物, 可能与果胶多糖和柚皮苷在水煎过程中形成自组装纳米复合物有关, 该纳米复合物改变柚皮苷释放速率以及改善其分散状态。

〔关键词〕 化橘红; 镇咳祛痰; 柚皮苷; 果胶; 分子间相互作用

〔中图分类号〕 R283

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.07.009

Comparative study on pharmacological differences between aqueous and ethanolic extracts of Huajuhong (Citri Grandis Exocarpium) and preliminary investigation of material basis for efficacy-enhancement of water decoction process

GUAN Xiaoxian, YU Xingtai, ZHANG Xinyu, WANG Haojie, HU Zheming, YAN Liwen, WANG Wenyi,
SUN Meng, LU Yang*

School of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

〔Abstract〕 **Objective** To compare the pharmacological differences and chemical composition between aqueous and ethanolic extracts of Huajuhong (Citri Grandis Exocarpium), and to preliminarily investigate the material basis for the efficacy-enhancement of

〔收稿日期〕 2026-01-12

〔基金项目〕 中国原子能科学研究院稳定性支持经费科研项目(CNNCWX-2023002); 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目(zyyzdxk-2023272)。

〔通信作者〕* 陆洋, 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, E-mail: luyang@bucm.edu.cn。

the traditional water decoction process. **Methods** An ammonia-induced cough model and a tracheal phenol red excretion model were established in mice. The mice were randomly divided into model control group, positive drug group, and low-, medium-, and high-dose groups (200, 400, 800 mg/kg) of the aqueous or ethanolic extracts, and the antitussive and expectorant activities were evaluated. Chemical composition was analyzed by UPLC-MS, and the content of naringin was determined by HPLC. Using simulated gastric fluid as the dissolution medium, the in vitro dissolution of the aqueous extract, the ethanolic extract, and a mixture of pectin polysaccharide and the ethanolic extract was compared by the small-cup method. The microscopic morphology was observed by dynamic light scattering, scanning electron microscopy, and fluorescence microscopy, while the particle size distribution and zeta potential were measured with a laser particle size analyzer. **Results** The low-dose aqueous extract group showed significantly better antitussive effects than the ethanolic extract group at the same dose ($P<0.05$). Both the low- and high-dose aqueous extract groups exhibited significantly superior expectorant effects compared to the corresponding ethanolic extract groups ($P<0.05$ or $P<0.01$). The chemical composition profiles of the aqueous and ethanolic extracts were similar, but the naringin content in the aqueous extract was lower. In vitro dissolution results indicated that naringin was released rapidly from the ethanolic extract, whereas the dissolution behavior of the ethanolic extract supplemented with pectin polysaccharide approached that of the aqueous extract (similarity factor $f_2>50$), with both showing slow and sustained release characteristics. Microscopic morphology and particle size analysis suggested that the aqueous extract could form stable and uniform nanocomplexes, while the ethanolic extract exhibited poor stability. After pectin modification, the particle characteristics of the ethanolic extract became similar to those of the aqueous extract, albeit with slightly inferior uniformity. **Conclusion** The superior antitussive and expectorant efficacy of the aqueous extract of Huajuhong (*Citri Grandis Exocarpium*) over the ethanolic extract may be attributed to the formation of self-assembled nanocomplexes between pectin polysaccharide and naringin during the water decoction process, which alter the release rate of naringin and improve its dispersion state.

[**Keywords**] Huajuhong (*Citri Grandis Exocarpium*); antitussive and expectorant; naringin; pectin; intermolecular interactions

中药活性成分的提取通常以成分含量为主要评价指标,对于水难溶性成分多采用乙醇等有机溶剂以提高提取效率^[1]。这一现代提取理念与传统中药的提取实践存在差异。化橘红为芸香科植物化州柚 *Citrus grandis Tomentosa* 或柚 *Citrus grandis* (L.) Osbeck 的未成熟或近成熟的干燥外层果皮,其质量控制指标成分柚皮苷虽具有显著的镇咳祛痰活性,但水溶性差的特性使传统水煎工艺面临技术挑战^[2-3]。然而,尽管提取效率局限,水煎法仍是化橘红制剂生产的首选方法,这一现象在《古代经典名方目录》收载方剂的开发中同样得到体现^[4-6]。《中华人民共和国药典》收载的质量控制指标成分中,类似柚皮苷的难溶性物质往往导致水煎液中成分转移率偏低^[7]。因此,需要深入研究传统水煎工艺与成分导向型工艺所得的提取物是否存在药效差异,及其背后的影响机制。

现代研究表明,中药治疗作用的发挥依赖于多成分的协同效应^[8-10]。在煎煮过程中,各组分间通过分子相互作用可形成特定复合物,这些相互作用会

显著影响活性成分的溶解特性、稳定性及生物利用度^[11-13]。已有研究证实,淫羊藿多糖能与淫羊藿苷形成复合物,显著改善其溶解性和生物利用度^[14]。作为芸香科柑橘属果皮药材,化橘红中含有大量果胶多糖,这类多糖在水煎过程中可充分溶出^[15]。基于多糖-活性成分相互作用的普遍性^[16-18],推测化橘红中的果胶多糖可能通过类似机制影响柚皮苷的溶出行为和生物利用度,这为阐释传统水煎工艺的独特优势提供了新的研究思路。研究发现,水煎过程中柚皮苷晶体与果胶等大分子通过分子间作用形成稳定的纳米复合物,该复合物可显著改善活性成分的溶解性和生物利用度^[19]。

基于此,本研究以化橘红为对象,系统比较了水提物与醇提物在镇咳祛痰药效、化学成分组成、柚皮苷含量及体外溶出行为等方面的差异,并进一步从粒径分布、Zeta 电位及微观形貌等角度考察两种提取物中活性成分的物理存在状态,以期揭示水煎工艺增效的物质基础提供实验依据。

1 材料

1.1 动物来源

SPF级雄性昆明种小鼠80只,体质量25~30 g,购于斯贝福(北京)生物技术有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(京)2010-0010。动物饲养环境为温度20~26℃,湿度40%~70%,正常喂,自由饮水;本实验经北京中医药大学动物实验伦理委员会批准(编号:BUCM-4-2022093002-3171)。

1.2 主要仪器

JM-B10002型电子天平(余姚市纪铭称重校验设备有限公司);BSA224S电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];402AI超声雾化器(江苏鱼跃医疗设备股份有限公司);G20型医用离心机(北京白洋医疗器械有限公司);UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS液质联用仪、Vanquish超高效液相色谱系统、Thermo UltiMate 3000高效液相色谱仪、MultiskanGo全自动酶标仪、ICS5000离子色谱仪(美国Thermo Fisher公司);Waters Acquity UPLC HSS T3色谱柱(美国Waters公司);Millipore Synergy UV型超纯水机(美国Millipore公司);Agilent ZORBAX SB-C₁₈色谱柱(美国安捷伦科技公司);SB25-12DTD超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);ZRS-8G智能溶出试验仪(天津市精拓仪器科技有限公司);Mastersizer 3000 马尔文激光粒度仪(英国Malvern公司);ECLIPSE Ts2R-FL型荧光倒置显微镜(日本Nikon公司);SIGMA-300扫描电子显微镜(德国ZEISS公司);BRT105-103-101串联凝胶柱(博睿糖生物科技有限公司)。

1.3 主要试剂

化橘红饮片(北京市双桥燕京中药饮片厂,批号:2010048);柚皮苷对照品(CAS#10236-47-2,上海源叶生物科技有限公司,批号:H24N9Z75896,纯度≥98%);氯化钠注射液(石家庄四药有限公司,批号:2205202006);羧甲基纤维素钠(国药集团化学试剂有限公司,批号:2013102);碳酸氢钠(NaHCO₃,天津市光复科技发展有限公司,批号:20210913);氢氧化钠、氨水(北京化工厂有限责任公司,批号:20160414,20141008);枸橼酸喷托维林片(国药集团容生制药有限公司,批号:20010411);酚红(上海麦

克林生化科技有限公司,批号:C14208924);盐酸氨溴索片(山东裕欣药业有限公司,批号:622052028);NaCl(天津市科密欧化学试剂有限公司,批号:20230520);三氟乙酸(比利时Acros Organics公司,批号:A0356762,分析纯);醋酸钠(美国Thermo Fisher公司,批号:191126,优级纯);硫酸(北京中医药大学管制品库房);超纯水。

2 方法

2.1 化橘红提取物制备

化橘红水提液和水提物:加水回流提取2次,第1次加入12倍量水回流提取1.5 h,第2次加入8倍量水回流提取1 h,2次滤过,合并2次滤液,调整体积到2 000 mL,即得化橘红水提液。取400 mL上述提取液,浓缩,并在真空条件下干燥,得化橘红水提物。

化橘红醇提液和醇提物:以70%乙醇为溶剂,通过上述方法制备,分别得到化橘红醇提液和浓缩干燥的化橘红醇提物。

2.2 镇咳祛痰活性评价

2.2.1 镇咳活性评价 采用氨水诱导小鼠咳嗽模型评估镇咳作用^[20]。将40只小鼠随机分为8组:模型对照组、阳性药物组、水提物低、中、高剂量组(200、400、800 mg/kg)及醇提物低、中、高剂量组(200、400、800 mg/kg),每组5只。经适应性喂养3 d后,模型对照组灌胃给予0.5%羧甲基纤维素钠溶液(0.5% CMC-Na)10 mL/kg,水/醇提取物给药组按小鼠体质量分别灌胃给予不同剂量的化橘红水提物、化橘红醇提物,阳性药物组灌胃给予枸橼酸喷托维林50 mg/kg,各组动物每日灌胃1次,连续给药7 d。

末次给药后0.5 h,将小鼠置于有盖玻璃容器中,雾化吸入25%的氨溶液20 s;关闭喷雾器并静置40 s,观察并记录3 min内咳嗽次数。以胸腹部收缩、张口为咳嗽判断标准,伴或不伴咳嗽声^[21]。自雾化开始至咳嗽发作的时间被记录为咳嗽潜伏期。

2.2.2 祛痰活性评价 将另40只小鼠按“2.2.1”项下方法随机分为8组,经适应性喂养3 d后,模型组灌胃给予0.5%CMC-Na溶液10 mL/kg,水/醇提取物给药组按小鼠体质量分别灌胃不同剂量化橘红水提物、化橘红醇提物,阳性药物组灌胃给予盐

酸氨溴索 90 mg/kg, 各组动物每日灌胃 1 次, 连续给药 7 d。

参照文献[22]的方法进行小鼠酚红排泌实验。末次给药后 0.5 h, 腹腔注射浓度为 1.25% 酚红生理盐水溶液 20 mL/kg (酚红剂量为 25 mg/kg)。脱颈椎处死小鼠, 仰位固定于手术板上, 分离气管, 于甲状软骨下方剪开约 1 mm 的创口, 插入 8 号灌胃针, 结扎固定, 灌胃针进入呼吸道的长度为 3~5 mm。取 1 mL 注射器抽取 5% NaHCO₃ 溶液 0.5 mL, 连接灌胃针, 反复冲洗肺部 10 次, 抽出冲洗液留存。同样方法冲洗 3 次, 收集冲洗液, 离心半径 5.9 cm, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 以酶标仪 558 nm 处测定吸光度值, 依据酚红标准曲线计算酚红排泄量。

2.3 化橘红提取物化学成分研究

2.3.1 供试品与对照品溶液的制备 本研究采用 70% 乙醇与超声处理, 作为破坏性提取与稀释溶剂进行供试品制备。

(1) 供试品溶液制备

液体样品: 精密量取“2.1”项下制备的化橘红水提液或醇提液 0.5 mL (超高效液相色谱-串联质谱分析, UPLC-MS 取 2 mL), 置于 10 mL 容量瓶中, 70% 乙醇定容, 摇匀, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得。

固体样品 (用于高效液相色谱测定): 精密称取化橘红水提物或醇提物粉末约 100 mg, 置于 50 mL 锥形瓶中, 精密加入 70% 乙醇 50 mL, 超声处理 (250 W, 40 kHz) 30 min。放冷, 称重, 用 70% 乙醇补足减失的重量, 摇匀, 静置, 取上清液, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

(2) 对照品溶液制备

精密称取柚皮苷对照品 5.43 mg, 置于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 得浓度为 532.14 μg/mL 的对照品储备液。精密吸取该储备液 1 mL 置于 10 mL 容量瓶中, 用 70% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得浓度为 53.214 μg/mL 的柚皮苷对照品溶液。

2.3.2 UPLC-MS 化学成分分析 取“2.3.1”项下制备的供试品溶液, 注入 UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 系统分析。

色谱条件: 色谱柱 Waters Acquity UPLC HSS T3 柱 (100 mm×3 mm, 1.8 μm); 流动相甲醇 (A)-0.1%

甲酸水溶液 (B); 梯度洗脱程序: 0~1 min, 5%~25% A; 1~10 min, 25%~55% A; 10~17 min, 55%~70% A; 17~30 min, 30% A; 流速 0.3 mL/min; 柱温 30 ℃; 进样量 3 μL。

质谱条件: HESI 离子源, 正、负离子同时扫描。Full MS/dd-MS² 模式, 全扫描分辨率为 70 000 (m/z 100~1000), MS² 分辨率 17 500。鞘气流速 35 任意单位 (arbitrary units, arb), 辅助气流速 10 arb, 毛细管温度 320 ℃。正、负离子模式喷雾电压分别为 3 500 V 和 3 000 V。碰撞能量设定为 20、40、60 eV。数据采集和分析采用 Xcalibur 4.1 质谱工作站。

2.3.3 HPLC 测定柚皮苷含量 取“2.3.1”项下制备的供试品与对照品溶液, 注入 Thermo UltiMate 3000 HPLC 系统进行测定。

色谱条件: 色谱柱 ZORBAX SB-C₁₈ 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相 甲醇-乙酸-水 (35:4:61); 流速 1.0 mL/min; 检测波长 283 nm; 柱温 30 ℃; 进样量 10 μL。

2.4 化橘红粗果胶多糖的制备、表征与重构混合物的构建

2.4.1 化橘红粗果胶多糖的制备 取化橘红水提液 400 mL, 在搅拌条件下缓慢加入 1.5 倍体积的 95% 乙醇溶液, 充分混匀后于 4 ℃ 静置过夜。次日抽滤, 收集沉淀物, 即得粗制果胶多糖。

2.4.2 化橘红粗果胶多糖的结构表征 总糖含量测定: 以葡萄糖为对照品, 采用苯酚-硫酸法于 490 nm 处测定吸光度, 计算总糖含量。

相对分子质量测定: 采用高效液相凝胶色谱法 (high-performance gel permeation chromatography, HPGPC) 测定多糖的分子量及其分布。以标准品保留时间为横坐标, 对应分子量的对数值 (lgM) 为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算样品的峰位分子量、重均分子量及数均分子量。

单糖组成测定: 采用高效阴离子交换色谱-电化学检测法 (high performance anion electronic chromatography, HPAEC) 测定单糖组成。以包含 16 种单糖的混合标准品建立标准曲线, 外标法计算各单糖含量及摩尔比。

2.4.3 果胶多糖-化橘红醇提物混合物的制备 取

化橘红醇提液 400 mL,60 ℃水浴挥去乙醇;取化橘红水提液 400 mL,经醇沉并真空干燥后得到果胶多糖;将化橘红醇提物与果胶多糖混合。补加 200 mL 蒸馏水,80 ℃加热回流 1 h,过滤,收集滤液。取 400 mL 的上述提取液,浓缩,并在真空条件下干燥,得果胶多糖-化橘红醇提物混合物。

2.5 提取物体外特性考察

2.5.1 体外溶出度评价 采用小杯法,以人工胃液(参照《中华人民共和国药典(2025 年版)》通则配制)为溶出介质,体积 250 mL,温度 37 ℃,转速 50 r/min。待温度恒定后,分别加入精密称取的 500.00 mg 化橘红水提物、醇提物及果胶多糖-醇提物混合物粉末,立即计时。于 0.5、1、2、3、4、5、7、10、15、20 min 取样 2 mL(同时补加等温介质 2 mL),0.45 μm 滤膜滤过后进样,通过“2.3.2 中高效液相色谱法”测定柚皮苷浓度。计算各时间点累积溶出量(M_t)和累积溶出率(R_t),并采用相似因子(f_2)法评价溶出曲线相似性。

2.5.2 粒径与 Zeta 电位评价 取化橘红水提物、化橘红醇提物、果胶多糖-化橘红醇提物混合物溶液,过 0.8 μm 滤膜后,离心半径 5.9 cm,8 000 r/min 离心 10 min,取上清液测定粒径和电位。

2.5.3 微观形态评价 取各组样品,干燥后喷金处理,采用扫描电子显微镜观察微观形貌。另取上述离心所得上清液,置于荧光倒置显微镜下观察其微观形态。

2.6 统计学分析

采用 GraphPad Prism 9.5 软件进行数据分析。数据以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 $LSD-t$ 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 镇咳活性评价

与模型组相比,阳性药物组、化橘红水提物各剂量组和醇提物各剂量组咳嗽潜伏期延长,咳嗽次数降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。在相同剂量下对比,水提物低剂量组咳嗽潜伏期长于醇提物低剂量组($P<0.05$);两组间同剂量的咳嗽次数未见显著性差异($P>0.05$)。详见表 1。

表 1 镇咳实验结果($\bar{x}\pm s, n=5$)

Table 1 Results of antitussive experiments ($\bar{x}\pm s, n=5$)		
分组	咳嗽潜伏期/s	咳嗽次数/次
模型组	9.20±1.64	48.60±9.42
阳性药物组	17.60±3.78**	16.40±2.97**
水提物低剂量组	20.00±2.83** ^a	18.50±3.11**
水提物中剂量组	30.40±4.62**	14.20±3.42**
水提物高剂量组	27.75±3.59**	13.50±2.52**
醇提物低剂量组	14.20±4.09*	16.20±4.97**
醇提物中剂量组	27.25±3.86**	13.75±2.99**
醇提物高剂量组	23.00±3.16**	13.25±0.95**

注:与模型组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与同剂量醇提物组相比,^a $P<0.05$ 。

3.2 祛痰活性的差异

与模型组相比,阳性药物组及水提物高剂量组小鼠酚红排泄量显著增加($P<0.01$),水提液低、中剂量组以及醇提物各剂量组酚红排泄量无显著性差异($P>0.05$)。在相同剂量对比下,水提物低、高剂量组酚红排泄量高于对应同剂量醇提物组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。详见表 2。

表 2 不同提取物各剂量下小鼠酚红排泄量($\bar{x}\pm s, n=5$)

Table 2 Phenol red excretion in mice treated with different extracts at various doses ($\bar{x}\pm s, n=5$)	
分组	酚红排泄量/(μg/mL)
模型组	4.575±0.814
阳性药物组	6.589±1.011**
水提物低剂量组	5.273±0.608 ^a
水提物中剂量组	5.887±1.675
水提物高剂量组	7.450±1.240** ^{a&}
醇提物低剂量组	4.225±0.546
醇提物中剂量组	4.063±1.110
醇提物高剂量组	4.715±0.811

注:与模型组相比,** $P<0.01$;与同剂量醇提物组相比,^a $P<0.05$,^{a&} $P<0.01$ 。

3.3 UPLC-MS 分析

采用色谱-质谱联用技术对化橘红不同提取物进行成分分析。结果发现,醇提物中共鉴定出 21 个化学成分,包括 10 个黄酮类(如柚皮苷、橙皮苷等)、6 个香豆素类(如橙皮内酯、环氧香柠檬素等)、4 个柠檬苦素类及 1 个酚类成分;水提物中检出 19 个成分,除芹菜素(黄酮类)和环氧香柠檬素(香豆素类)

未检出外,其余成分与醇提物一致。定量分析表明,水提物中仅圣草次苷、橙皮内酯水合物和宜昌橙苦素 3 种成分的含量略高于醇提物,其余成分含量均显著低于醇提物。详见图 1。

3.4 HPLC 测定柚皮苷含量分析

柚皮苷作为化橘红提取物的关键质控指标,实验中发现醇提物与醇提液中柚皮苷含量显著高于水提物与水提液($P<0.01$)。醇提物液体和粉末中的

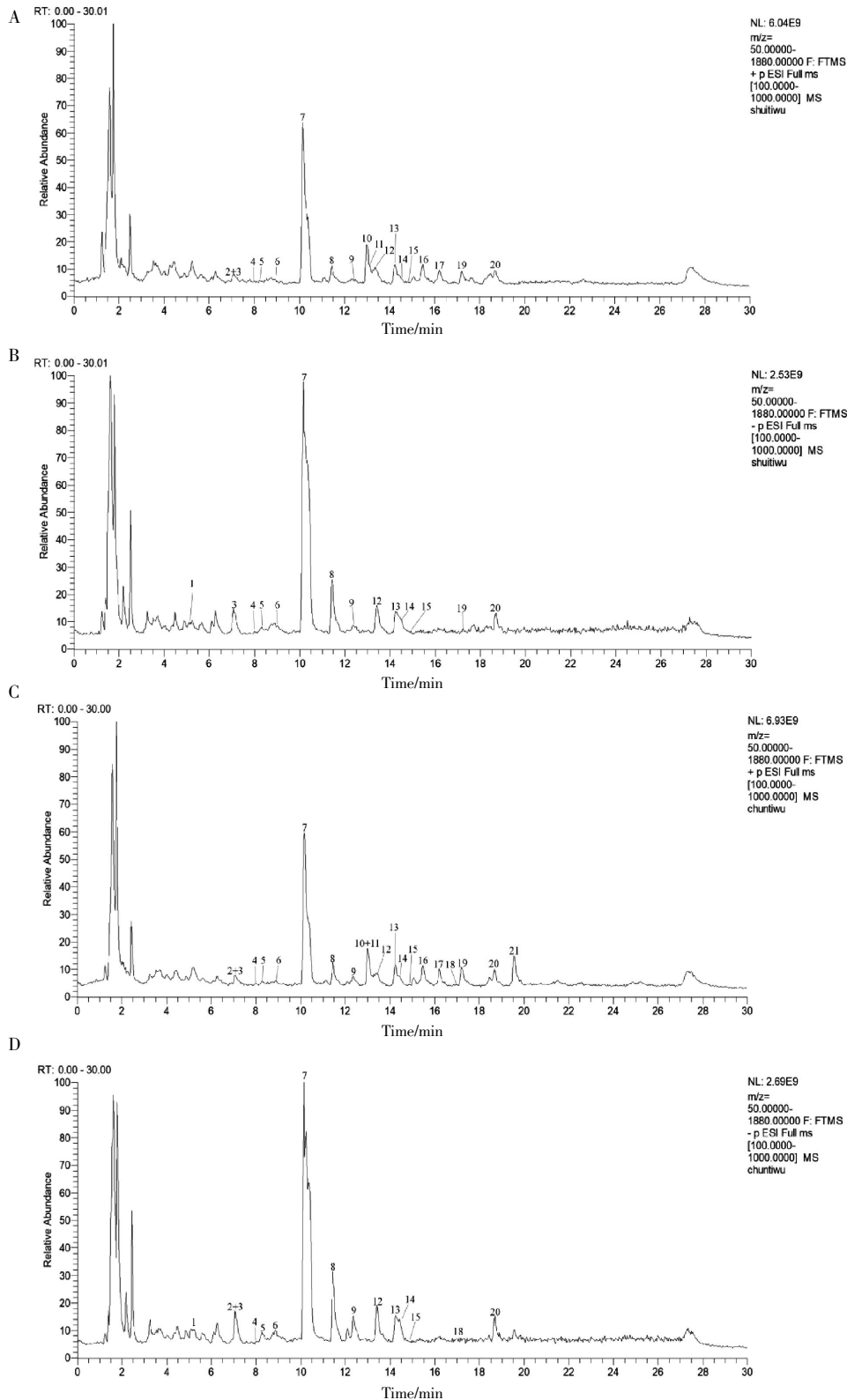


图 1 化橘红水提物与醇提物的一级质谱图

Fig.1 Primary mass spectra of aqueous and ethanolic extracts of Huajuhong (Citri Grandis Exocarpium)

注:A.水提物正离子模式;B.水提物负离子模式;C.醇提物正离子模式;D.醇提物负离子模式。

柚皮苷含量分别为 (77.11 ± 0.54) mg/g 和 (166.89 ± 1.83) mg/g, 而水提物中相应含量仅为 (44.85 ± 0.05) mg/g 和 (121.33 ± 0.89) mg/g。

3.5 化橘红果胶多糖的理化表征

3.5.1 化橘红粗果胶多糖总糖含量测定 以苯酚硫酸法在 490 nm 处测葡萄糖吸光度, 葡萄糖浓度作为横坐标, 吸光度作为纵坐标, 并绘制葡萄糖标准曲线, 线性回归方程分别为 $y = 6.064x + 0.07365$ ($R^2 = 0.9985$), 表明方法可靠。经计算化橘红粗果胶多糖中总糖含量为 $45.55\% \pm 0.07\%$ 。

3.5.2 相对分子质量分析 标准曲线显示, $\lg M_w$ 与保留时间均呈良好线性关系, 回归方程为 $y = -0.1927x + 11.333$ ($R^2 = 0.9984$), 表明方法可靠。在保留时间 32.81 min 处洗脱出一个宽峰, 该组分是样品的主体, 占总峰面积的 92.49%。根据标准曲线计算, 该主

要多糖组分重均分子量(M_w)为 102 359 Da。详见图 2。

3.5.3 单糖组成分析 混合标准品色谱图中各单糖分离良好, 线性关系符合要求。样品经酸水解后检测出 7 种单糖, 主要组成(按含量降序)为: 葡萄糖($99.99 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$, 摩尔比 0.375)、果糖($57.74 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$, 摩尔比 0.217)、阿拉伯糖($40.79 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$, 摩尔比 0.184)、鼠李糖($32.97 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$, 摩尔比 0.136)、半乳糖($14.59 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$, 摩尔比 0.055)、半乳糖醛酸($3.30 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$, 摩尔比 0.012)及少量甘露糖、木糖与氨基葡萄糖。葡萄糖为优势单糖, 果糖与阿拉伯糖次之, 未检出岩藻糖、氨基半乳糖、N-乙酰氨基葡萄糖、核糖及糖醛酸类(古洛糖醛酸、葡萄糖醛酸、甘露糖醛酸)。结果表明, 该多糖为由多种中性糖和少量糖醛酸组成的杂多糖。样品的单糖组成。详见图 3。

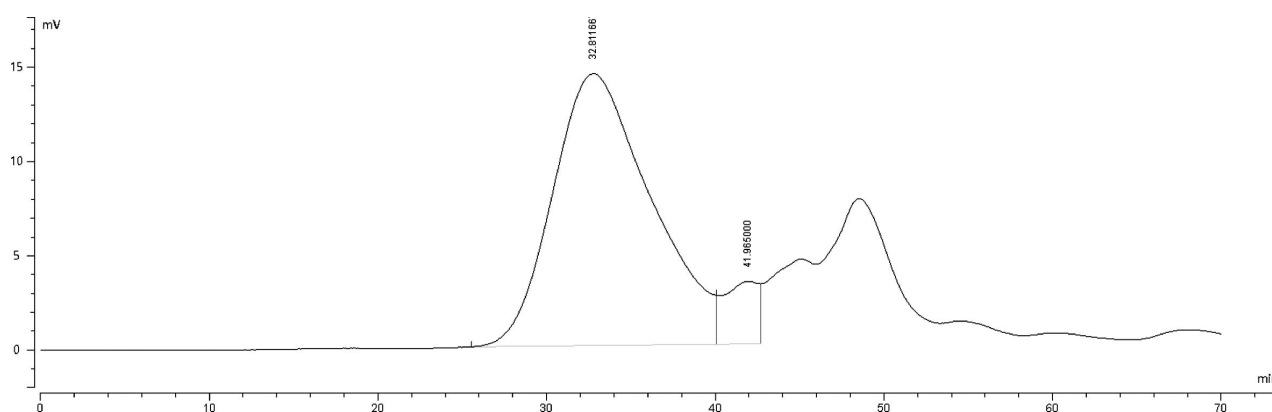


图2 化橘红粗多糖的 HPGPC 色谱图

Fig.2 HPGPC chromatogram of crude polysaccharides from Huajuhong (Citri Grandis Exocarpium)

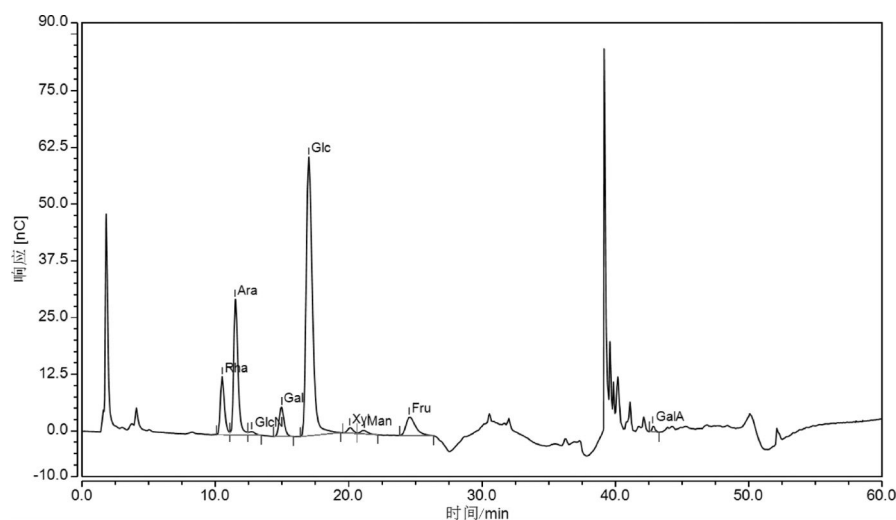


图3 化橘红粗多糖的高效离子色谱图

Fig.3 High-performance ion chromatogram of crude polysaccharides from Huajuhong (Citri Grandis Exocarpium)

3.6 体外溶出实验分析

体外溶出结果显示,醇提物组呈现释放快速,5 min 内即释放 85%以上的柚皮苷,20 min 达 90%以上;水提物组释放缓慢且持续,5 min 释放46.97%,20 min 释放 69.25%;果胶多糖-化橘红醇提物混合物组介于两者之间(5 min 43.89%,20 min 78.62%)。相似性因子分析表明,水提物与醇提物($f_2=22.13$)及化橘红醇提物与果胶多糖-化橘红醇提物混合物($f_2=21.21$)的溶出曲线相似性较差,而果胶多糖-化橘红醇提物混合物与化橘红水提物的相似性显著提高($f_2=69.31$)。详见图 4 和表 3。

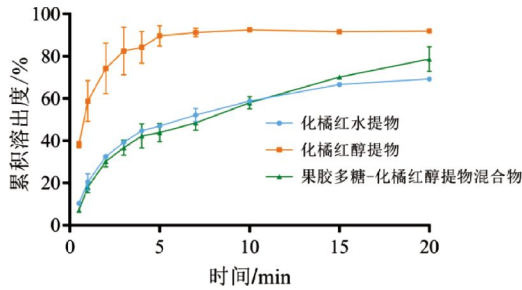


图 4 化橘红水提物、醇提物和果胶多糖-化橘红醇提物混合物的溶解曲线($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Fig.4 Dissolution curves of aqueous extract, ethanolic extract, and pectin polysaccharide-ethanolic extract mixture from Huajuhong (Citri Grandis Exocarpium) ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

表 3 不同样品溶出行为相似性

Table 3 Similarity of dissolution behavior among different samples

参比样品	供试样品	f_2 相似因子
化橘红水提物	化橘红醇提物	22.13
化橘红醇提物	果胶多糖-化橘红醇提物混合物	21.21
化橘红水提物	果胶多糖-化橘红醇提物混合物	69.31

3.7 纳米颗粒特性

粒径分析结果显示,离心半径5.9 cm,8 000 r/min 离心 10 min 条件下,醇提物上清液颗粒较小(约 200 nm),沉淀分散液颗粒较大(约 800 nm);水提物上清液与沉淀粒径均一(分别约 400 nm 和 580 nm)。当醇提物与果胶复合后,上清液颗粒增大至 300~400 nm,沉淀颗粒减小至约 600 nm,粒径分布趋近水提物。

Zeta 电位结果表明,水提物上清液与沉淀的电位分别为-15.30 mV 和-22.93 mV,醇提物上清液与

沉淀的电位分别为-21.03 mV 和-37.03 mV;果胶修饰后复合物的电位值趋近水提物水平(上清液-14.50 mV,沉淀-34.10 mV)。

3.8 微观形态分析

扫描电子显微镜和荧光显微镜观察显示,化橘红水提物中的柚皮苷晶体分散均匀,表面覆盖膜状基质未见明显聚集;醇提物中柚皮苷晶体相互堆叠形成粗大团聚颗粒,图中红圈专门标记典型晶体团聚区域。经果胶修饰后,果胶多糖-化橘红醇提物混合物聚集程度较醇提物减轻,分散性改善。详见图 5—6。

4 讨论

煎煮法作为中医药最核心的传统制剂方法,直接影响药效的发挥。现代中医临床及经典名方的开发也多遵循古籍记载,选用水煎煮工艺^[23-25]。然而《中华人民共和国药典》^[3]规定的指标性成分多含水难溶性物质,水煎不利于水难溶性成分的提取,这与现代以活性成分为单一物质基础的理论相反。因此,传统水煎工艺是否有利于中药药效的发挥,又是通过何种方式发挥其作用,是值得深入探究的一个问题。

本研究发现,化橘红水提物的镇咳祛痰药效显著优于醇提物,但主要活性成分柚皮苷含量反而低于醇提物,呈现“含量与药效相悖”的现象。该矛盾提示,药效差异可能不取决于小分子成分含量,而与其物理状态或释放行为相关。然而,传统水煎工艺是否能够通过改变活性成分的物理存在形式进而影响药效,目前尚缺乏直接的实验证据。

UPLC-MS 分析显示,水提物与醇提物的小分子成分谱高度相似,水提物中未检出醇提物所无的独特小分子活性成分。但水提物富含果胶多糖,而醇提物中果胶极少。多糖易溶于水,难溶于乙醇,因此热水提取可获得更高的多糖提取率^[26]。而化橘红果胶作为其主要多糖成分,其含量差异是两种提取物的关键区别之一^[15]。

体外溶出实验表明,醇提物中柚皮苷呈快速释放特征(5 min 释放 85%以上),水提物呈缓慢持续释放(5 min 释放 46.97%)。向醇提物回补果胶后,其释放曲线趋近水提物($f_2=69.31$),进一步证实,果

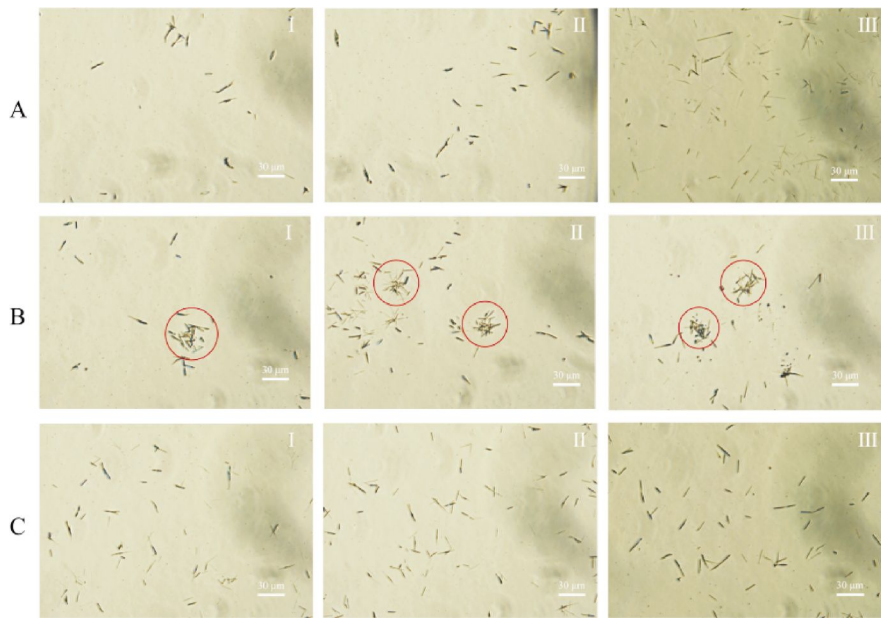


图 5 化橘红不同样品显微镜下观察结果($\times 400$)

Fig.5 Microscopic observation ($\times 400$) of different samples of Huajuhong (Citri Grandis Exocarpium)

注:化橘红水提取物(A);化橘红醇提取物(红圈标注柚皮苷针状微晶团聚块)(B);果胶多糖-化橘红醇提取物混合物(C)。

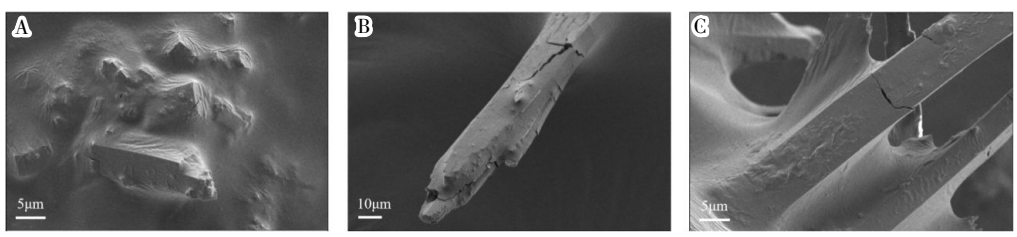


图 6 化橘红不同样品水溶液扫描电子显微镜图

Fig.6 SEM images of aqueous solutions of different samples of Huajuhong (Citri Grandis Exocarpium)

注:化橘红水提取物($\times 5\ 000$)(A);化橘红醇提取物($\times 2\ 000$)(B);果胶多糖-化橘红醇提取物混合物($\times 5\ 000$)(C)。

胶可有效调控柚皮苷释放行为。粒径与电位分析结果显示,水提取物可形成粒径均一、电位稳定的纳米颗粒,扫描电子显微镜可见柚皮苷晶体被膜状基质包裹;醇提取物则颗粒不均、易聚集。果胶修饰后醇提取物的颗粒特性与分散状态部分趋近水提取物,提示共煎煮过程更有利于多糖与小分子的自然组装。已有研究发现,草药水提取物中存在多糖和活性成分自组装形成的纳米颗粒^[27],与本研究的观察结果一致;Liu等^[28]报道黄芪多糖与黄芪苷的相互作用可有效增强其溶解性与稳定性,进一步支持多糖-黄酮复合物形成的普遍性。

综合微观形态学研究结果,柑橘皮煎剂中存在由果胶包裹的柚皮苷晶体组成的软物质,这是柑橘

皮煎剂发挥镇咳祛痰药效的重要物质之一;推测果胶包裹可能影响药物晶体间作用、改善分散性及表面溶解行为,煎剂中丰富的果胶形成了较厚的保护层,影响其在体内的吸收和释放,并延长药物在吸收部位的滞留时间,为中药选择古法煎煮工艺提供了依据。

本研究从宏观药效比较到微观形貌表征的系统性分析,为“多糖-黄酮自组装增溶增效”提供了初步的实验依据。然而,果胶包裹结构对柚皮苷体内吸收行为的具体影响仍有待进一步的药代动力学研究予以阐明。未来研究可深入探究该纳米复合物在体内的命运轨迹,包括肠道吸收、组织分布及代谢特征等关键问题。

参考文献

- [1] 绰尔鹏, 孟苓凤, 李聪, 等. 阿胶糕提取物对小鼠黑色素瘤细胞代谢的影响[J]. 食品科技, 2025(4): 222-230.
- [2] 邹慕菡, 吴灏, 胡双飞, 等. 化橘红化学成分、药理作用及毒理学研究进展[J]. 世界中医药, 2024, 19(24): 3889-3897.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: (2020 年版)一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1888.
- [4] 汤瑜晨, 胡云飞, 郭抒博, 等. Box-Behnken 响应面法结合基准关联度和 AHP-EWM 优化经典名方清金化痰汤的提取工艺[J]. 分析测试学报, 2024, 43(11): 1794-1802, 1812.
- [5] 苏旭. 经典名方养胃汤的历史沿革与关键信息考证[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2024.
- [6] 戴秀丽, 秦佳慧, 陈泽宇, 等. 半夏白术天麻汤临床应用及药理机制研究进展[J]. 中国中医药图书情报杂志, 2025, 49(1): 197-200.
- [7] 周泽琴, 蔡延渠, 张雄飞, 等. 中药水提取有效成分转移率低的问题分析[J]. 中草药, 2014, 45(23): 3478-3485.
- [8] 周引梅, 马玲玲, 杜源中, 等. 黄芪、红芪炮制历史沿革及现代炮制比较研究[J]. 中国中药杂志, 2025, 50(19): 5353-5362.
- [9] 王竞凰, 易志文, 封宽瀚, 等. 中草药囊泡: 调控代谢增效免疫的肿瘤治疗新策略[J]. 药学报, 2025, 60(9): 2730-2739.
- [10] 苏薇薇, 李沛波, 吴灏, 等. 中山大学南药资源的开发与利用: 以化橘红为例[J]. 中山大学学报(自然科学版中英文), 2025, 64(6): 1-6.
- [11] Shi P Y, Lin X H, Yao H. A comprehensive review of recent studies on pharmacokinetics of traditional Chinese medicines (2014-2017) and perspectives[J]. Drug Metabolism Reviews, 2018, 50(2): 161-192.
- [12] 林晓钰, 田学浩, 黄雪梅, 等. 基于中药超分子化学探究大黄-黄连配伍平和“苦-寒”之性物质基础[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(22): 6066-6075.
- [13] 王琪, 郭小萌, 倪乾坤, 等. 中药水煎液自组装聚集体研究面临的问题初探[J]. 药学报, 2024, 59(1): 94-104.
- [14] 李畅, 陈菲菲, 贾晓斌, 等. 淫羊藿多糖对淫羊藿苷和宝藿苷 I 溶解的影响及机制研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(22): 5825-5831.
- [15] 陈美桢. 化橘红多糖的分级醇沉、结构表征及糖代谢相关生物活性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2024.
- [16] 管庆霞, 周小影, 吕邵娃, 等. 中药复方汤剂多成分自组装纳米相态的形成原理及现状探析[J]. 海南医学院学报, 2023, 29(11): 872-880.
- [17] 胡静雯, 贾国香, 董亚倩, 等. 从中药全过程视角探析纳米颗粒自组装行为及应用[J]. 中草药, 2022, 53(22): 7307-7316.
- [18] 沈成英, 胡菲, 朱君君, 等. 中药自组装纳米粒的形成及应用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(19): 4875-4880.
- [19] 彭凤栖. 传统中药化橘红中果胶成分的天然递送功能及其对黄酮类成分生物利用度的影响[C]//2025 年基层感染质量管理提升学术研讨会论文集(二). 2025: 601-605.
- [20] 王萌萌. 山蜡梅叶的药效学物质基础及质量控制研究[D]. 南昌: 江西科技师范大学, 2020.
- [21] 李丽. 芥子和莱菔子炮制前后镇咳、祛痰药效学筛选及炒莱菔子 PK-PD 相关性分析[D]. 北京: 中国中医科学院, 2020.
- [22] 白娟, 张海宇, 段世英, 等. 院内制剂红花浸提液在增强 CT 对比剂外渗中的应用效果[J]. 河南医学研究, 2024, 33(6): 1104-1107.
- [23] 赵翔, 何沙, 杨悟新. 胃常安颗粒制备工艺的建立及初步质量评价[J]. 中国当代医药, 2025, 32(15): 22-26.
- [24] 汪鑫, 陈媛媛, 杨俊豪, 等. 经典名方大黄附子汤关键信息考证及药理作用分析[J]. 辽宁中医药大学学报, 2026, 28(1): 103-113.
- [25] 张属民, 丁海军, 李凤玲, 等. 中药多糖的制备及生物活性研究进展[J]. 临床合理用药, 2025, 18(14): 177-180.
- [26] Iitsuka H, Koizumi K, Inujima A, et al. Discovery of a sugar-based nanoparticle universally existing in boiling herbal water extracts and their immunostimulant effect[J]. Biochemistry and Biophysics Reports, 2018, 16: 62-68.
- [27] Liu F, Sun L L, You G J, et al. Effects of Astragalus polysaccharide on the solubility and stability of 15 flavonoids[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 143: 873-880.

(本文编辑 苏 维)