当归有机酸的低共熔溶剂提取工艺优化及机制研究Δ

陈丽元[1*]，陈志松[2]，钱加芬[1]，陈新利[1]，常伟宇[1]，吴　晖[1#]（1.昆明医科大学第一附属医院临床药学中心，昆明 650032；2.昆明医科大学第一附属医院心脏内二科，昆明　650032）

中图分类号　R284.2　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2025）22-2783-07
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2025.22.06

摘　要　目的　优化当归有机酸的低共熔溶剂（DESs）提取工艺，并进行表征、抗氧化活性评价和提取机制分析。**方法**　采用基于片段活度系数的真实溶剂化模拟的类导体屏蔽模型（COSMO-SAC）筛选DESs种类；以总有机酸含量为响应值，通过单因素实验和Box-Behnken响应面法对提取工艺进行优化。以当归饮片和（或）当归甲醇提取物为参照，利用扫描电子显微镜、傅里叶变换红外光谱（FTIR）仪对产物进行表征，并进行1，1-二苯基-2-苦肼基（DPPH）、2，2′-联氮-双（3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸）（ABTS）自由基清除能力检测。利用量子化学密度泛函理论分析DESs对阿魏酸、绿原酸的提取机制。**结果与结论**　最适DESs为氯化胆碱-丙二醇；当归有机酸最优提取工艺为氯化胆碱-丙二醇摩尔比为1∶1、DESs含水量70%、料液比1∶10、加热温度57 ℃、加热搅拌时间8 min。3次验证实验的总有机酸含量为2.92 mg/g，与预测值（2.91 mg/g）的相对误差为0.34%。与当归饮片、甲醇提取物相比，DESs提取物的团粒结构几乎消失，表面有类似肠壁的褶皱；与甲醇提取物相比，其FTIR特征峰强度及峰面积积分更高，对DPPH、ABTS自由基的清除能力均更强。DESs对当归有机酸的提取，是极性匹配、氢键作用及结构适配共同作用的结果。

关键词　当归；低共熔溶剂；阿魏酸；绿原酸；COSMO-SAC；Box-Behnken响应面法；工艺优化

Deep eutectic solvents-based extraction of organic acids from *Angelica sinensis*: process optimization and mechanistic insights

CHEN Liyuan[1], CHEN Zhisong[2], QIAN Jiafen[1], CHEN Xinli[1], CHANG Weiyu[1], WU Hui[1] (1. Clinical Pharmacy Center, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, China; 2. Dept. of Cardiology Ⅱ, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To optimize the extraction process of organic acids from *Angelica sinensis* using deep eutectic solvents (DESs), and conduct characterization, antioxidant activity evaluation, and extraction mechanism analysis. **METHODS** The conductor-like screening model for realistic solvation with segment activity coefficients (COSMO-SAC) was employed to screen the types of DESs. With total organic acid content as the response value, single-factor experiments and Box-Behnken response-surface methodology were used to optimize the extraction conditions. Using *A. sinensis* decoction pieces and/or *A. sinensis* methanol extract as references, scanning electron microscope and Fourier transform infrared spectrometer (FTIR) were applied to characterize the products. Additionally, the 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2, 2′-azino-*bis* (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) free radical scavenging capacities were determined. Density functional theory (DFT) was used to analyze the extraction mechanism of ferulic acid and chlorogenic acid by the DESs. **RESULTS & CONCLUSIONS** The optimal DESs was choline chloride-propanediol. The optimal extraction conditions for organic acids from *A. sinensis* were as follows: choline chloride-propanediol molar ratio of 1∶1, DESs water content of 70%, solid-liquid ratio of 1∶10, heating temperature of 57 ℃, and heating and stirring time of 8 min. In three validation experiments, the total organic acid content was 2.92 mg/g, yielding a relative error of 0.34% compared to the predicted value (2.91 mg/g). Compared with *A. sinensis* decoction pieces and methanol extracts, the agglomerated structure of the DESs extract powder almost disappeared, showing the presence of lamellar structures similar to those of the intestinal wall. Compared with the methanol extract, the DES extract exhibited higher FTIR characteristic peak intensity and peak area integration, as well as stronger scavenging capacities against DPPH and ABTS free radicals. The extraction of organic acids from *A. sinensis* by DESs is the result of the combined effects of polarity matching, hydrogen bonding, and structural adaptation.

KEYWORDS　*Angelica sinensis*; deep eutectic solvents; ferulic acid; chlorogenic acid; COSMO-SAC; Box-Behnken response-surface methodology; process optimization

Δ**基金项目**　云南省科技厅科学技术项目-中青年学术和技术带头人后备人才项目（No.202305AC160016）；云南省临床药学中心建设单位项目（No.2023LCYXZ013）

＊**第一作者**　主管药师，硕士。研究方向：制剂研发、医院药学。E-mail：1070162150@qq.com

\# **通信作者**　主任药师，硕士。研究方向：医院药学。E-mail：kyz_ggyx@163.com

当归是伞形科植物当归 *Angelica sinensis*（Oliv.）Diels的干燥根，始见于《神农本草经》，性温，味甘、辛，归心、脾、肝经，有“血中圣药”之称，可用于血虚、月经不调、便秘、腹痛、风湿痹痛等症[1]。现代研究显示，当归具有改善免疫、调节造血、降血压/血脂、镇痛抗炎、抗肿瘤、保肝护肾等药理活性[2]；其主要活性成分包括有机酸和多糖，以阿魏酸、绿原酸为关键质量指标[3]。

目前，当归有机酸的提取主要依赖于传统溶剂提取法、超声辅助提取法和微波辅助提取法等技术[4－5]。其中，传统溶剂提取法虽操作简便，但存在提取时间长、热敏性成分易分解等局限；超声和微波辅助提取法虽在一定程度上提高了提取效率，却难以克服有机溶剂残留和提取选择性欠佳等问题[6]。因此，开发绿色、高效且选择性优良的提取方法已成为当归有机酸提取领域亟待突破的关键科学问题。低共熔溶剂（deep eutectic solvents，DESs）是近年来新兴的一种绿色溶剂，是由氢键受体（hydrogen-bond acceptor，HBA）和氢键供体（hydrogen-bond donor，HBD）通过氢键相互作用形成的具有低共熔特性的混合物[7]，已在黄酮类、生物碱类等中药活性成分的提取领域得以广泛应用[8－9]。近年来，研究者基于量子化学密度泛函理论（density functional theory，DFT）提出，可建立基于片段活度系数的真实溶剂化模拟的类导体屏蔽模型（conductor-like screening model for realistic solvation with segment activity coefficients，COSMO-SAC），通过计算分子的屏蔽电荷预测体系性质来筛选DESs[10]。基于此，本研究利用COSMO-SAC快速筛选提取当归有机酸的DESs，通过Box-Behnken响应面法优化其提取工艺；对所得提取物进行扫描电子显微镜（scanning electron microscope，SEM）观察、傅里叶变换红外光谱仪（Fourier transform infrared spectrometer，FTIR）检测和抗氧化活性评估；结合DFT挖掘DESs提取当归有机酸的机制，以期为当归有机酸的高效、绿色提取提供参考。

1　材料

1.1　主要仪器

本研究所用主要仪器包括U3000型高效液相色谱（HPLC）仪（美国Thermo Fisher Scientific公司）、Milli-Q EQ 7008型超纯水制备仪（美国Millipore公司）、Feyond-A3000型酶联免疫分析仪（杭州奥盛仪器有限公司）、ZEISS Sigma 300型SEM（德国Carl Zeiss AG公司）、Bruker Tensor 27型FTIR仪（德国Bruker公司）、SCI280-pro型加热磁力搅拌器（美国Scilogex公司）、ME204E型电子分析天平（瑞士Mettler Toledo公司）等。

1.2　主要药品与试剂

当归饮片（批号YPLJ20240503）购自云南白药集团太安生物科技产业有限公司，经昆明医科大学第一附属医院临床药学中心周谛克副主任药师鉴定为真品。

阿魏酸对照品（批号2421314，纯度99.8%）、绿原酸对照品（批号2418321，纯度99.7%）均购自上海安谱实验科技股份有限公司；1，1-二苯基-2-苦肼基（1，1-diphenyl-2-picrylhydrazyl，DPPH）自由基检测试剂盒（批号0207A25）购自北京雷根生物技术有限公司；2，2′-联氮-双（3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸）[2，2′-azino-bis（3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid），ABTS]自由基检测试剂盒（批号20241225）购自南京建成生物工程研究所；HBA包括氯化胆碱、L-脯氨酸、甜菜碱、乳糖、薄荷醇（编号A1～A5），HBD包括柠檬酸、D-苹果酸、尿素、丙二醇、1，4-丁二醇、乳酸、乙二醇、草酸、甘油、儿茶酚、丙二酸、木糖醇、乙酰丙酸（编号D1～D13），均为分析纯；甲醇为色谱纯，水为自制超纯水。

2　方法与结果

2.1　DESs中HBA、HBD的初筛

利用COSMO-SAC初步筛选DESs中的HBA、HBD。

2.1.1　绿原酸、阿魏酸的屏蔽电荷分布函数曲线绘制及静电势分析

从ChemSpider数据库检索绿原酸、阿魏酸、HBA、HBD的初始结构，并将其导入Materials Studio 2019软件中的“Materials Visualizer”模块，进行结构优化和能量计算，生成“COSMO”文件。根据所得“COSMO”文件，利用FORTRAN 90程序运算生成每个分子的屏蔽电荷分布函数（σ-profile），绘制σ-profile曲线并进行分子表面静电势分析。

σ-profile曲线（图1A）显示，绿原酸和阿魏酸在HBD、HBA区域均表现出高极性，提示二者易与极性DESs相互作用；分子表面静电势分析结果（图1B、1C）显示，二者的静电势极值集中于极性官能团，且绿原酸极值范围（－51.77～64.09 kcal/mol，1 kcal＝4.184 kJ）大于阿魏酸（－38.67～60.96 kcal/mol），提示DESs可用于提取两种有机酸，且DESs与绿原酸的静电相互作用更强。

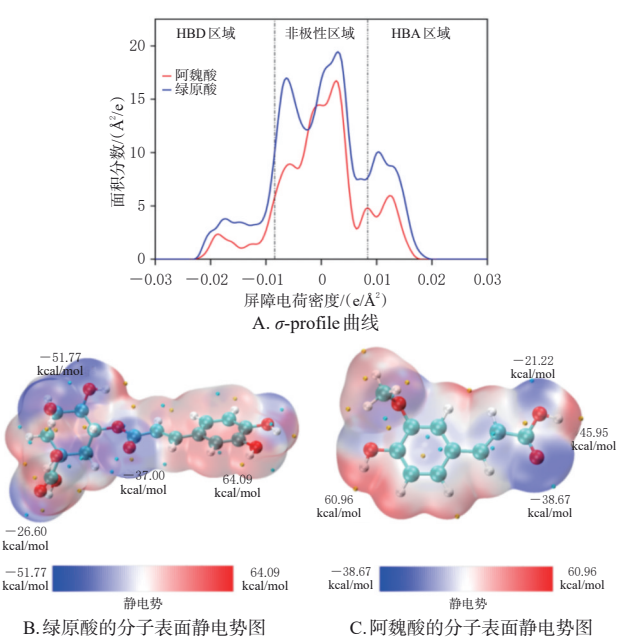


图1　绿原酸和阿魏酸的σ-profile曲线及分子表面静电势图

2.1.2　DESs中HBA、HBD的初筛

基于σ-profile，DESs的无限稀释活度系数（γ^{∞}）与其无限稀释溶解度（K_i^{∞}）的关系为：$K_i^{\infty}=\frac{1}{\gamma^{\infty}}$。其中，$\gamma^{\infty}$值越小，表明溶质对溶剂的亲和力越强；$K_i^{\infty}$则反映溶质的最大溶解能力，其值越大表明溶解度越高[11]。本研究将5种HBA（A1～A5）和13种HBD（D1～D13）按摩尔比1∶1一一配对，通过绘制K_i^{∞}热图来筛选K_i^{∞}值较大的DESs。

结果（图2）显示，对绿原酸和阿魏酸均具有较好提取效果的HBA为A3、A1，HBD为D12、D5、D4、D7。

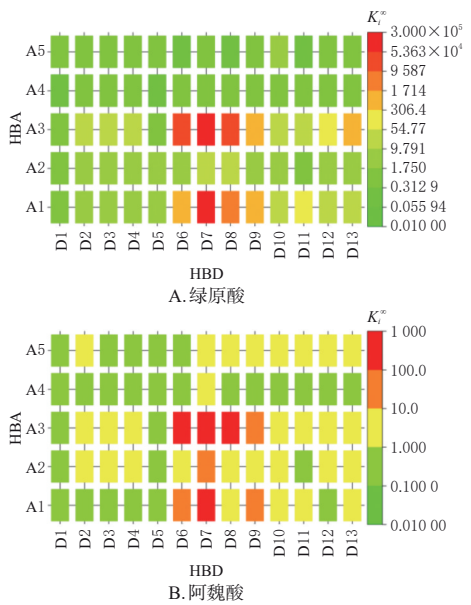


图2　绿原酸及阿魏酸在各DESs中的K_i^{∞}热图

2.2　最适DESs的筛选

2.2.1　DESs的制备

选择“2.1.2”项下初筛所得HBA、HBD，以加热搅拌法制备DESs：精密称取相应HBA、HBD（具体组成见表1），按摩尔比1∶1混合，置于烧杯中，于80 ℃下用加热磁力搅拌器以500 r/min搅拌，直至形成澄清透明的液体，随后冷却至室温，即得DESs。为降低所得液体的黏度，加入20%的水，现制现用。

表1　不同类型DESs的组成

DESs	HBA	HBD	DESs	HBA	HBD
DESs-1	氯化胆碱	丙二醇	DESs-5	甜菜碱	丙二醇
DESs-2	氯化胆碱	1,4-丁二醇	DESs-6	甜菜碱	1,4-丁二醇
DESs-3	氯化胆碱	乙二醇	DESs-7	甜菜碱	乙二醇
DESs-4	氯化胆碱	木糖醇	DESs-8	甜菜碱	木糖醇

2.2.2　最适DESs的筛选

取当归饮片，粉碎，过80目筛；精密取粉末0.5 g，分别加入“2.2.1”项下8种DESs 10 mL，于80 ℃下用加热磁力搅拌器以500 r/min搅拌5 min。所得提取物以70%甲醇溶解并定容至50 mL容量瓶中。取上述样品，过滤后，采用HPLC法检测其中绿原酸、阿魏酸及总有机酸（绿原酸+阿魏酸）的含量。色谱条件如下：以JADE-PAK®KM-C_{18}（250 mm×4.6 mm，5 μm）为色谱柱，以甲醇（A）-0.1%磷酸溶液（B）为流动相进行梯度洗脱（0～15 min，85%B；15～25 min，85%B→81%B；25～30 min，81%B；30～35 min，81%B→85%B；35～40 min，85%B）；检测波长为360 nm；柱温为25 ℃；流速为1 mL/min；进样量为10 μL。该法中，绿原酸、阿魏酸检测质量浓度的线性范围分别为16.57～165.7、32.18～193.08 μg/mL，精密度、准确度、稳定性等方法学考察均符合2020年版《中国药典》（四部）的相关要求。

结果（图3）显示，与以甜菜碱为HBA的DESs相比，以氯化胆碱为HBA的DESs的提取效果更好，且DESs-1（氯化胆碱-丙二醇）、DESs-3（氯化胆碱-乙二醇）的提取效果最优。考虑到乙二醇有微毒，丙二醇的毒性较弱且常被应用于食品、化妆品领域[12]，故本研究选择DESs-1为最适DESs。

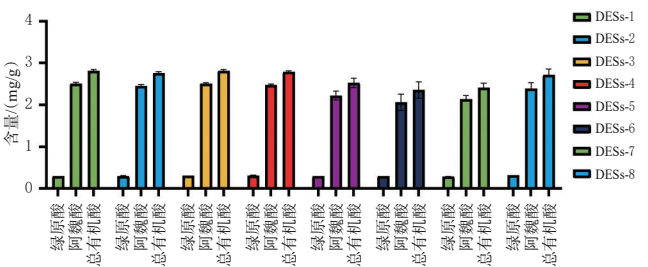


图3　不同DESs对当归有机酸含量的影响

2.3　提取工艺优化

2.3.1　单因素实验

研究指出，DESs的摩尔比、含水量、液料比及提取时的加热温度、加热时长会明显影响提取效率[13—14]。本研究参照“2.2.2”项下提取方法，以DESs-1（氯化胆碱+丙二醇）为溶剂，考察不同DESs含水量（10%、30%、50%、80%）、加热搅拌时间（5、10、15、20 min）、加热搅拌温度（20、40、60、80 ℃）、料液比（1∶5、1∶10、1∶15、1∶20，g/mL）、HBA与HBD摩尔比（2∶1、1∶1、1∶2、1∶4）对当归总有机酸含量的影响，各条件平行操作3次，结果见图4。

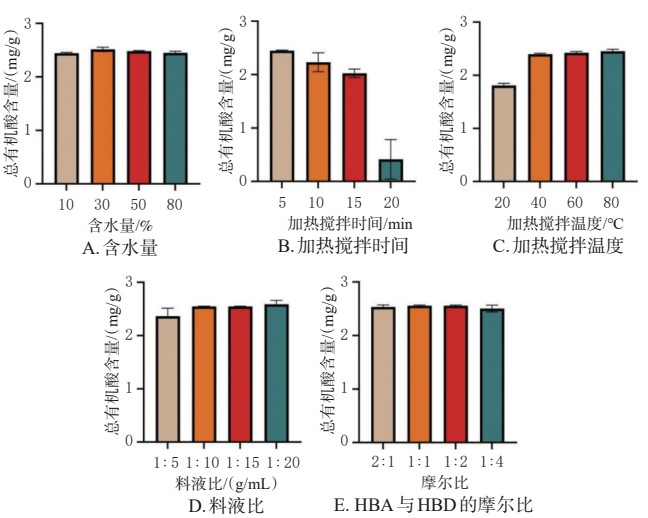


图4　单因素对当归中有机酸含量的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

结果显示，当DESs含水量为30%～80%时，总有机酸含量较高；但与含水量50%相比，含水量80%时的总有机酸含量有所降低，提示过高的含水量可能会破坏氢键，从而导致有机酸的提取量下降。当加热搅拌温度为40～80 ℃时，总有机酸含量较高；但随着加热搅拌时间的延长，总有机酸含量呈下降趋势。当料液比在1∶10、1∶15、1∶20时，总有机酸含量变化不大；当料液比为1∶5时，总有机酸含量较低。当HBA与HBD的摩尔比为1∶1、1∶2时，总有机酸含量较高。

2.3.2　Box-Behnken响应面法优化工艺

根据单因素实验结果，以及实际操作中料液比、HBA与HBD摩尔比可取范围有限（本研究将这两个参数分别确定为1∶10、1∶1），本研究以含水量（*A*）、加热搅拌时间（*B*）、加热搅拌温度（*C*）为考察因素，以总有机酸含量（*Y*）为响应值，应用Box-Behnken响应面法优化当归有机酸的DESs提取工艺。因素与水平见表2，实验设计方案与结果见表3。

表2　Box-Behnken响应面实验的因素与水平

水平	*A*/%	*B*/min	*C*/℃
−1	30	5	40
0	55	10	60
1	80	15	80

表3　Box-Behnken响应面实验设计方案与结果

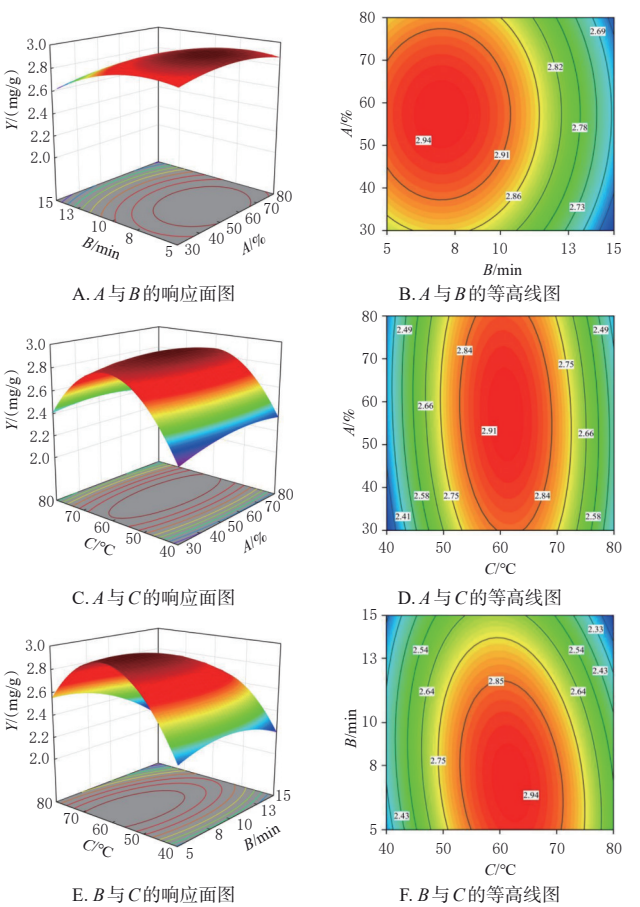
实验号	*A*/%	*B*/min	*C*/℃	*Y*/(mg/g)	实验号	*A*/%	*B*/min	*C*/℃	*Y*/(mg/g)
1	30	5	60	2.82	10	55	15	40	2.18
2	80	5	60	2.84	11	55	5	80	2.58
3	30	15	60	2.63	12	55	15	80	2.09
4	80	15	60	2.65	13	55	10	60	2.97
5	30	10	40	2.23	14	55	10	60	2.88
6	80	10	40	2.33	15	55	10	60	2.92
7	30	10	80	2.41	16	55	10	60	2.94
8	80	10	80	2.37	17	55	10	60	2.89
9	55	5	40	2.29					

本研究采用Design Expert 13.0软件对表3数据进行拟合，得二次多元回归方程为 $Y=-3.275\ 200+0.016\ 580A+0.126\ 500B+0.171\ 225C-0.000\ 070AC-0.000\ 950BC-0.000\ 108A^2-0.004\ 700B^2-0.001\ 294C^2$。方差分析结果（表4）显示，模型的*F*值为97.320 0，*P*<0.000 1，提示该模型拟合度良好。模型的决定系数（R^2）为0.992 1，调整决定系数（R^2_{Adj}）为0.981 9，说明该模型能较好地反映各考察因素与响应值之间的关系，可用于工艺参数的预测。由各一次项的*F*值可知，各因素对当归总有机酸含量的影响由大到小依次为*B*（加热搅拌时间）>*C*（加热搅拌温度）>*A*（含水量）。

为进一步评价各因素交互作用对当归总有机酸含量的影响，本研究采用Design Expert 13.0软件绘制各因素交互作用的响应面图和等高线图（响应面坡度越陡、轮廓线越密集、椭圆曲率越大，表明两个因素间交互作用越显著[15]）。结果（图5）显示，*A*与*B*交互作用较弱，*A*与*C*、*B*与*C*交互作用较强，与方差分析结果一致。

表4　Box-Behnken响应面实验的方差分析结果

方差来源	平方和	自由度	均方	*F*	*P*
模型	1.450 0	9	0.160 6	97.320 0	<0.000 1
A	0.001 2	1	0.001 2	0.757 6	0.412 9
B	0.120 1	1	0.120 1	72.760 0	<0.000 1
C	0.022 1	1	0.022 1	13.360 0	0.008 1
AB	0	1	0	0	1.000 0
AC	0.004 9	1	0.004 9	2.970 0	0.128 5
BC	0.036 1	1	0.036 1	21.880 0	0.002 3
A^2	0.019 2	1	0.019 2	11.630 0	0.011 3
B^2	0.058 1	1	0.058 1	35.230 0	0.000 6
C^2	1.130 0	1	1.130 0	683.400 0	<0.000 1
残差	0.011 6	7	0.001 7		
失拟项	0.006 1	3	0.002 0	1.520 0	0.339 0
纯误项	0.005 4	4	0.001 4		
总和	1.460 0	16			



A. *A*与*B*的响应面图　B. *A*与*B*的等高线图

C. *A*与*C*的响应面图　D. *A*与*C*的等高线图

E. *B*与*C*的响应面图　F. *B*与*C*的等高线图

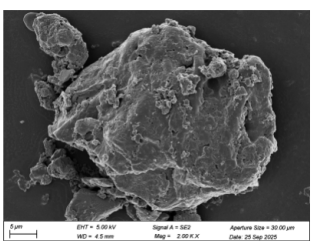
图5　各因素交互作用对当归总有机酸含量影响的响应面图和等高线图

本研究采用Design Expert 13.0软件对上述二次多元方程求解，得最优提取工艺为DESs含水量70%、加热搅拌温度57 ℃、加热搅拌时间8 min。结合单因素实验结果及实际生产情况，本研究将当归有机酸最优提取工艺设定为料液比1∶10、HBA与HBD的摩尔比1∶1、DESs含水量70%、加热搅拌温度57 ℃、加热搅拌时间8 min。按此工艺进行3次验证实验，得平均总有机酸含量为2.92 mg/g，与预测值（2.91 mg/g）的相对误差为0.34%。

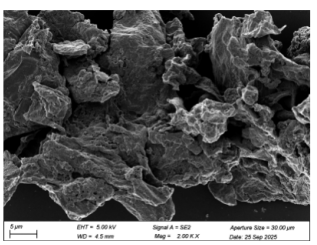
2.4 当归有机酸提取物的表征及抗氧化活性检测

2.4.1 SEM观察

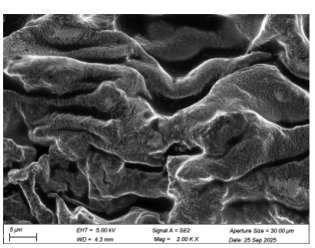
取当归饮片，以70%甲醇回流提取（100 ℃、30 min），抽滤，滤液经冷冻干燥，得甲醇提取物。取等量当归饮片，按“2.3”项下最优工艺提取，抽滤，滤液经冷冻干燥，得DESs提取物。取当归饮片和上述各提取物适量，分别置于铜网上，进行SEM观察。结果显示，当归饮片表面光滑（图6A）；甲醇提取物的团聚度降低，表面松散（图6B）；DESs提取物的团粒结构几乎消失，且颗粒表面有类似肠壁的褶皱（图6C）。



A. 当归饮片



B. 甲醇提取物



C. DESs提取物

图6 当归饮片及其有机酸提取物的SEM图

2.4.2 FTIR扫描

取“2.4.1”项下当归的甲醇提取物和DESs提取物各适量，进行FTIR扫描。结果（图7）显示，3 397、3 207 cm^{-1}处的峰分别为绿原酸、阿魏酸中羟基的伸缩振动峰，2 868 cm^{-1}处的峰归属于亚甲基的伸缩振动峰，1 643、1 482 cm^{-1}处的峰分别为阿魏酸、绿原酸苯环骨架中碳-碳双键的骨架振动峰，1 143、1 057 cm^{-1}处的峰分别归属于阿魏酸羧基、甲氧基的伸缩振动峰，1 005 cm^{-1}处的峰为绿原酸奎尼酸酯键的伸缩振动峰，956 cm^{-1}处的峰反映阿魏酸反式肉桂酸中烯烃碳-氢面内的摇摆振动。根据各特征峰强度及峰面积积分推测，与70%甲醇提取相比，DESs提取当归有机酸更具优势。

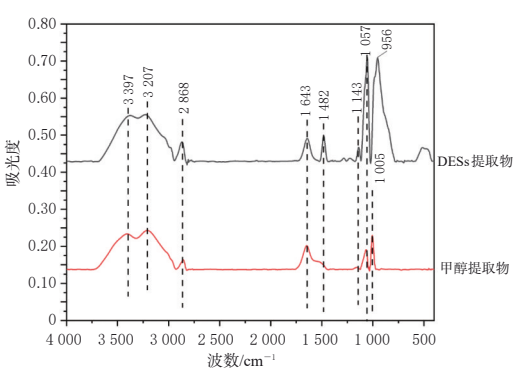


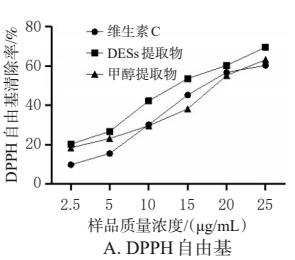
图7 当归有机酸提取物的FTIR图

2.4.3 抗氧化活性检测

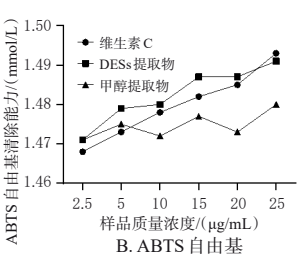
按照Yamauchi等[16]的方法，检测DESs提取物的DPPH自由基清除能力：将DPPH工作液225 μL与不同质量浓度的DESs提取物溶液（以乙醇为溶剂，下同）50 μL混匀，于暗处反应30 min后，使用酶联免疫分析仪于517 nm波长处测定其吸光度（A_i）；将无水乙醇225 μL分别与不同质量浓度的当归有机酸提取物溶液50 μL混匀，于暗处反应30 min后，使用酶联免疫分析仪于517 nm波长处测定其吸光度（A_j）；将DPPH工作液225 μL与无水乙醇50 μL混匀后，使用酶联免疫分析仪于517 nm波长处测定其吸光度（A_0）。按下式计算当归有机酸提取物的DPPH自由基清除率：DPPH自由基清除率＝$[A_0-(A_i-A_j)]/A_0\times100\%$。以维生素C为阳性对照，以甲醇提取物为参照，同法检测两者的DPPH自由基清除率。

参考Kut等[17]的方法（Trolox标准曲线法）并略作修改，检测DESs提取物的ABTS自由基清除能力：先配制ABTS自由基储备液，再配制0～1.0 mmol/L的Trolox系列液。取Trolox系列液10 μL与试剂盒工作液1 mL混匀，避光放置15 min，使用酶联免疫分析仪于725 nm波长处检测吸光度，并绘制吸光度-溶液浓度的标准曲线；再取DESs提取物样品10 μL，加入ABTS自由基储备液1 mL，混匀，避光放置15 min，使用酶联免疫分析仪于725 nm波长处检测吸光度，代入上述标准曲线计算得Trolox等效浓度，用以反映ABTS自由基清除能力。以维生素C为阳性对照，以甲醇提取物为参照，同法检测两者的ABTS自由基清除能力。

结果（图8）显示，当样品质量浓度为2.5～25 μg/mL时，各样品的DPPH、ABTS自由基清除率均随其质量浓度增加而增大；DESs提取物对上述自由基的清除能力均较甲醇提取物强，且普遍与阳性对照相当，提示其具有一定的抗氧化活性。



A. DPPH自由基



B. ABTS自由基

图8 当归有机酸提取物的抗氧化活性折线图

2.5 提取机制分析

基于DFT程序ORCA 5.0.3在相同泛函和基组水平下分别对阿魏酸、绿原酸、HBA、HBD进行分子结构优化，并采用Multiwfn 3.8 dev软件和VMD 1.9.3可视化程序探究分子单体的表面静电势。随后，借助Molclus平台构建DESs、DESs与阿魏酸、DESs与绿原酸的团簇构型（初始构象均为1 000个），选出能量最低的作为后续优化的初始构象；进一步参考表面静电势极值及分子间

相互作用[如形成“X—H···O(X=C、N、O)型氢键”“C—H···Cl非经典氢键”],通过比较不同无虚频分子团簇构型的单点能来获得最稳定的分子团簇初始构型,随后在“B3LYP-D3BJ/6-311+G**”水平对上述最稳定分子团簇结构进行分子结构优化和频率计算,在“wB97X-2-D3(BJ)/def2-TZVPP”水平进行分子相互作用的微观分析。结合Multiwfn3.8 dev软件进行分子表面静电势分析、分子间相互作用能分析、基于Hirshfeld分割的独立梯度模型(简称“IGMH模型”)分析及分子中原子量子理论分析。在计算弱相互作用能时,需考虑“counterpoise”校正,以消除基组重叠误差(basis set superposition error,BSSE);分子间相互作用能(E_{QC})的计算公式如下:$E_{QC}=E_{AB}(AB)-E_A(A)-E_B(B)+E_{BSSE}$;$E_{BSSE}=E_A(A)+E_B(B)-E_{AB}(A)-E_{AB}(B)$[式中,$E_{AB}(AB)$:$AB$复合物的总能量;$E_{AB}(A)$:$AB$复合物中$A$组分的能量;$E_{AB}(B)$:$AB$复合物中$B$组分的能量;$E_A(A)$:$A$单组分的能量:$E_B(B)$:$B$单组分的能量]。

图9A～9C分别展示了氯化胆碱-丙二醇、DESs-绿原酸、DESs-阿魏酸分子间的相互作用:DESs分别与绿原酸、阿魏酸形成的两个蓝绿色的混合等值面,分别对应H—O···Cl型氢键、O—H···O型氢键,且在散点图中分别对应最高峰和次高峰,进一步说明了DESs与绿原酸、阿魏酸的主要作用位点在羟基等亲核性较强的基团周围,且基于此产生的分子间氢键作用是DESs有效提取绿原酸、阿魏酸的关键。

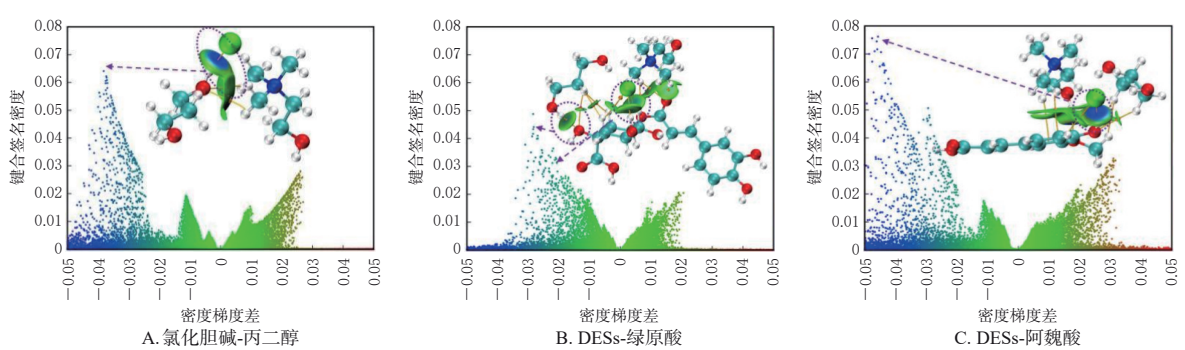
定量分析结果(表5)显示,氯化胆碱与绿原酸的相互作用能(−153.611 kJ/mol)强于其与阿魏酸的相互作用能(−145.291 kJ/mol),可能是因为绿原酸的羧酸基、多羟基及咖啡酰基形成了密集的负电势区(O^-),与氯化胆碱羟基的正电势区(H^+)互补,从而通过多重氢键和静电吸附形成强结合;而阿魏酸仅含有单一羧酸基和甲氧基,负电势较弱,其羧酸基虽是关键作用位点,但结合能力略弱。此外,绿原酸因咖啡酰基而引入额外的羟基和疏水区域,其羧酸基静电势极小值(约−51.77 kcal/mol)高于阿魏酸(约−38.67 kcal/mol),故绿原酸能扩展氢键网络,并可通过π-π堆积增强吸附作用;而阿魏酸甲氧基的孤对电子屏蔽使其负电势的贡献有限。因此,绿原酸与DESs的结合能普遍高于阿魏酸。丙二醇为辅助供体,其与阿魏酸、绿原酸的相互作用(E_{QC}分别为−42.606、−56.479 kJ/mol)远弱于氯化胆碱,亦弱于DESs(氯化胆碱-丙二醇)与上述有机酸的相互作用(E_{QC}分别为−123.944、−131.742 kJ/mol)。这可能与氯化胆碱的胆碱羟基和氯离子可通过氢键而主导分子间的相互作用有关。综合表5数据可知,DESs的整体性能是其各组分间相互作用(氯化胆碱-丙二醇、DESs-有机酸、氯化胆碱-有机酸、丙二醇-有机酸)、相互竞争的综合体现。E_{BSSE}校正能较小(最大为3.69×10^{-3} au,1 au≈2 625.5 kJ/mol),占E_{QC}的5%～8%,表明BSSE对相互作用能的影响有限,DFT计算结果可靠。

表5 HBA、HBD、DESs与绿原酸/阿魏酸分子间相互作用能的定量分析结果

组合	E_{QC}/(kJ/mol)	E_{BSSE}/($\times10^{-3}$)/au	$E_{AB}(AB)$/au	$E_{AB}(A)$/au	$E_{AB}(B)$/au
氯化胆碱-丙二醇	−70.534	1.97	−1 058.578	−789.013	−269.538
氯化胆碱-阿魏酸	−145.291	2.87	−1 476.970	−789.013	−687.899
氯化胆碱-绿原酸	−153.611	3.69	−2 086.533	−789.012	−1 297.459
丙二醇-阿魏酸	−42.606	1.33	−957.463	−269.538	−687.907
丙二醇-绿原酸	−56.479	1.36	−1 567.035	−269.539	−1 297.473
DESs-阿魏酸	−123.944	2.52	−1 746.533	−1 058.576	−687.907
DESs-绿原酸	−131.742	2.99	−2 356.099	−1 058.575	−1 297.471

3 讨论

DESs具有低凝固点、高溶解能力、强设计性及绿色环保等独特优势,近年来在绿色化学、天然产物提取及药物制剂等领域备受学界关注[8—9]。在提取当归有机酸的DESs筛选中,传统试错法需大量配制不同DESs并进行实验验证,耗时长、效率低。本研究首先通过COSMO-SAC筛选提取当归有机酸的DESs种类,该模型能通过预测DESs与有机酸的相互作用,快速排除无效组合,将筛选范围从数十种压缩到数种;同时,该模型还能同步评估HBA-HBD类型、摩尔比等多个参数,把筛选周期从传统的数周缩短至数天,为后续实验节省时间。随后,本研究结合单因素实验及Box-Behnken响应面法,确定了当归有机酸的最优提取工艺:以氯化胆碱-丙二醇(摩尔比1∶1、含水量70%)为DESs,料液比为1∶10,于57 ℃下加热搅拌8 min。经验证,该工艺具有操作简便、耗时较短的特点;同时,本研究所用HBD为



绿色区域:以色散力为主的范德华力;蓝色区域:分子间形成了氢键;红色区域:分子间存在一定的排斥力。

图9 DESs及其与当归有机酸分子间弱相互作用的可视化分析

丙二醇（毒性较低），HBA为氯化胆碱（无毒），该组合为工业化生产中绿色溶剂的应用提供了可行方案。

本研究通过微观结构、红外吸收、氧化活性多维度评价了DESs的提取效果。SEM观察显示，DESs提取物表面具有明显的褶皱及孔隙结构，而甲醇提取物表面仅呈轻微肿胀，提示DESs可通过破坏当归细胞壁的致密结构来增加有机酸的溶出，这可能是DESs具有更高提取效率的原因。FTIR分析显示，DESs提取物特征峰的强度及峰面积积分均较甲醇提取物高，这可能是因为DESs具有较强的氢键相互作用，能破坏植物细胞中有机酸与其他成分的氢键结合，从而促进有机酸游离；相比之下，甲醇作为极性有机溶剂，虽能溶解极性物质，但氢键作用较弱，对复杂基质中有机酸的解离能力有限。由此可知，DESs对当归有机酸的选择性提取能力更强、目标成分富集度更高。通过DPPH、ABTS自由基清除实验结果可知，DESs提取的总有机酸的抗氧化活性较传统方法（70%甲醇回流提取法）强，表明DESs提取可获得更强活性的当归有机酸提取物。可见，DESs提取当归有机酸的效果优于传统70%甲醇回流提取法。

本研究还基于DFT理论初步揭示了DESs高效提取当归有机酸（绿原酸和阿魏酸）的分子机制，即极性匹配及静电作用使得绿原酸、阿魏酸与DESs的极性特征高度匹配，其中绿原酸与DESs的静电相互作用更强；氢键驱动的特异性结合使得氯化胆碱与绿原酸的相互作用能力强于阿魏酸，丙二醇可通过协同极性匹配与静电作用、氢键驱动的特异性结合、π-π堆积的结构适配性作用来增强DESs的稳定性；绿原酸可借助结构适配性作用和π-π堆积与DESs发生相互作用。由此可见，DESs用于当归有机酸的提取，是极性匹配、氢键作用及结构适配共同作用的结果，这为理性设计高选择性DESs提供了分子层面的理论指导。

综上所述，本研究成功优化了当归有机酸的DESs提取工艺；与甲醇提取物相比，最优工艺所得有机酸的FTIR特征峰强度及峰面积积分更高，对DPPH、ABTS自由基的清除能力均更强。DESs对当归有机酸的提取，是极性匹配、氢键作用及结构适配共同作用的结果。

参考文献

[1] 武晏屹，苗明三. 中国药典2015年版一部含当归中成药特点综述[J]. 中国药师，2020，23(4)：730-732.

[2] 方春秋，潘志. 当归补血汤现代药理作用及作用机制的研究进展[J]. 中药材，2024，47(10)：2650-2656.

[3] SHINJYO N，FUCHINO H，KAWAHARA N，et al. Determination of(E)-ferulic acid content in the root of *Angelica acutiloba*：a simple chemical evaluation method for crude drug quality control[J]. J Nat Med，2018，72(3)：774-778.

[4] QUAN C，SUN Y Y，QU J. Ultrasonic extraction of ferulic acid from *Angelica sinensis*[J]. Can J Chem Eng，2009，87(4)：562-567.

[5] WU H W，HUANG Q Q，CHAO S J，et al. Determination of ferulic acid in *Angelica sinensis* by temperature-controlled hydrophobic ionic liquids-based ultrasound/heating-assisted extraction coupled with high performance liquid chromatography[J]. Molecules，2020，25(15)：3356.

[6] MASOTA N E，VOGG G，HELLER E，et al. Comparison of extraction efficiency and selectivity between low-temperature pressurized microwave-assisted extraction and prolonged maceration[J]. Arch Pharm（Weinheim），2020，353(10)：e2000147.

[7] REN S H，MU T C，WU W Z. Advances in deep eutectic solvents：new green solvents[J]. Processes，2023，11(7)：1920.

[8] AGUILAR N，BOL-ARREBA A，ATILHAN M，et al. Theoretical insights into flavonol solubilization by deep eutectic solvents[J]. ACS Food Sci Technol，2023，3(11)：1931-1947.

[9] HAO Y，PEI F X，HUANG J J，et al. Application of deep eutectic solvents on extraction of flavonoids[J]. J Sep Sci，2024，47(9/10)：e2300925.

[10] HUANG L，GUO Y J，JIN T Q，et al. Extraction of triterpene acids from loquat leaves via a novel hydrophobic deep eutectic solvent screened by COSMO-SAC model[J]. J Clean Prod，2023，427：139274.

[11] 努尔比亚·亚力坤，李园，王鑫，等. 基于反气相色谱技术研究煤表面性质和热力学参数[J]. 现代化工，2024，44(增刊1)：138-144.

[12] LEE H I，KWON R Y，CHOI S J. Food additive solvents increase the dispersion，solubility，and cytotoxicity of ZnO nanoparticles[J]. Nanomaterials（Basel），2023，13(18)：2573.

[13] 周志红，胡勤，肖明明. 田基黄总黄酮提取工艺优化、降血糖活性评价及成分分析[J]. 中国药房，2024，35(16)：1972-1978.

[14] 董佳妮，赵龙山，薄彧坤，等. 响应曲面法联合遗传算法优化天然低共熔溶剂提取肉苁蓉中苯乙醇苷类成分的工艺[J]. 中国药房，2022，33(13)：1605-1611.

[15] YAO Q，SHEN Y F，BU L，et al. Ultrasound-assisted aqueous extraction of total flavonoids and hydroxytyrosol from olive leaves optimized by response surface methodology[J]. Prep Biochem Biotechnol，2019，49(9)：837-845.

[16] YAMAUCHI M，KITAMURA Y，NAGANO H，et al. DPPH measurements and structure-activity relationship studies on the antioxidant capacity of phenols[J]. Antioxidants(Basel)，2024，13(3)：309.

[17] KUT K，BARTOSZ G，SOSZYŃSKI M，et al. Antioxidant properties of hispidulin[J]. Nat Prod Res，2022，36(24)：6401-6404.

（收稿日期：2025-05-13　修回日期：2025-10-15）
（编辑：张元媛）