

低共熔溶剂在中药成分提取中的研究进展

周立锦, 董 哲, 杜会枝*

山西大学分子科学研究所, 山西 太原 030006

摘 要: 传统溶剂具有毒性大、易造成环境污染、易挥发及提取率低等缺点。近年来新型绿色溶剂低共熔溶剂 (deep eutectic solvents, DESs) 在中药领域的研究活跃, 尤其是在活性成分提取和改善不稳定化合物的稳定性等方面。主要对近年来国内外报道的 DESs 在中药领域的研究进展进行综述和梳理, 以期对 DESs 在中药领域的应用提供参考。

关键词: 低共熔溶剂; 中药; 活性成分; 提取; 稳定性

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)01-0236-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.01.031

Research progress on deep eutectic solvents in extraction of Chinese materia medica ingredients

ZHOU Li-jin, DONG Zhe, DU Hui-zhi

Institute of Molecular Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

Abstract: Traditional solvents have the shortcomings of toxic, easy to cause environmental pollution, volatile and low extraction rate. In recent years, there have been a lot of researches focusing on deep eutectic solvents (DESs) studies in the field of Chinese materia medica (CMM), especially in the extraction of active ingredients and improvement of stability of unstable compounds. This paper mainly reviews and sorts out the researches on DESs in the field of CMM reported at home and abroad in recent years, so as to provide references for the application of DESs in the field of CMM in the future.

Key words: deep eutectic solvents; Chinese materia medica; active ingredients; extraction; stability

现阶段我国在中药提取方面大多使用水、甲醇和乙醇等溶剂, 其中有些传统溶剂具有毒性大、易造成环境污染、易挥发及提取率低等缺点。随着人们的环境保护意识逐步加深, 特别是在食品、药品、化妆品领域对绿色健康有越来越高的要求, 探索代替传统溶剂的新型溶剂势在必行。2003 年 Abbott 教授提出了新型绿色溶剂——低共熔溶剂 (deep eutectic solvents, DESs) 的概念^[1], 一经提出立刻引起了相关领域广泛关注。目前 DESs 已成为绿色化学化工领域研究的热门课题之一。

1 DESs 简介

DESs 的概念^[1]是由英国莱斯特大学化学系教授 Andrew P. Abbott 于 2003 年提出的, 常用制备方法是將氢键受体 (HBAs) 和氢键供体 (HBDs) 按一定比例混合加热搅拌至均一稳定的 DESs 溶液。HBAs 多为季铵盐, 常用氯化胆碱 (ChCl), 而 HBDs

多为酰胺、羧酸、多元醇等。由于 DESs 制备简便、成本低、低蒸气压、低毒等优点, 在电化学、纳米材料制备、催化反应、分离过程、功能材料制备等方面被广泛作为代替传统溶剂的新型溶剂使用^[2]。而且 DESs 还具有一些特殊的理化性质^[3]: (1) 熔点低。ChCl 和尿素以物质的量比 1:2 制备的 DESs, 其熔点是 12 °C, 比 ChCl 和尿素各自的熔点低得多 (分别是 302 °C 和 133 °C)。目前所有报道的 DESs 的熔点都低于 150 °C^[3]。(2) 密度大于水。目前报道的大部分 DESs 密度都大于水, 因为 DES 的平均孔半径减小, 所以密度增大^[4]。(3) 黏度大^[5]。除了 ChCl-乙二醇体系, 大部分 DESs 的黏度都很大, 这是由于各组分之间有庞大的氢键网络和极小的空隙, 而且离子半径都较大, 再加之静电或范德华相互作用所致。由于其作为绿色介质的潜在应用, 开发低黏度的 DESs 很有必要, 如小型阳离子或氟化

收稿日期: 2019-09-23

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81403130); 山西省回国留学人员科研项目 (2017-021); 山西省自然科学基金项目 (201801D121290)

作者简介: 周立锦 (1993—), 女, 硕士研究生, 研究方向为生物无机化学。E-mail: 835645093@qq.com

*通信作者 杜会枝 E-mail: duhuizhi@sxu.edu.cn

氢键供体。(4) 离子传导率较差^[5]。由于高黏度, 大多数的 DESs 表现出较差的离子传导率。随着温度的升高, 其黏度降低, 离子传导率通常会显著增加。(5) HBDs 对 DESs 的酸碱度有很大影响^[6]。如 ChCl-尿素体系 DESs 呈弱碱性, 能够吸收二氧化碳等酸性气体。(6) 表面张力大。目前已报道的 DESs 表面张力都大于大多数分子溶剂的表面张力, 与咪唑基的离子液体和高温熔融盐相当。因为表面张力主要依赖于 DESs 组分的分子间相互作用的强度, 所以也遵循与黏度类似的趋势, 而且也与温度呈正相关^[7]。(7) 良好的溶解性。DESs 的组分不仅能够通过氢键相互联系, 而且能够提供或接受外部电子或质子与其他物质形成氢键, 后者可以使其溶解各种各样的物质, 包括盐、蛋白质、有机药物、氨基酸、表面活性剂、糖和多糖等^[8]。

综上所述, DESs 不仅可以通过选择不同 HBAs 和 HBDs 调节其结构与性质, 且具有价廉易制备、环保、可生物兼容等优势, 因此, 近年来 DESs 也被广泛应用于从天然植物材料中提取生物活性成分的研究^[9-12]。本文通过文献分析, 总结了 DESs 在中药提取方面的研究进展, 为新型绿色溶剂提取中药提供一定的参考。

2 DESs 在中药领域的应用

2.1 黄酮类化合物

黄酮类化合物是广泛存在于自然界的一大类化合物, 其基本母核为 2-苯基原色酮。中药中存在较多黄酮类化合物, 据统计已超过 8 000 个, 具有抗氧化、抗炎和抗癌等生物活性, 也可作为食品添加剂^[13]。

2.1.1 黄酮 黄酮即以 2-苯基原色酮为基本母核, 且在 3 位上无含氧基团的一类化合物, 中药中常见的黄酮类化合物有黄芩素和黄芩苷等。

Wei 等^[14]合成了 13 种 DESs, 通过微波提取法提取黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 中 4 种主要的黄酮类物质黄芩苷 (baicalin)、汉黄芩苷 (wogonoside)、黄芩素 (baicalein)、汉黄芩素 (wogonin), 其中由 ChCl 和乳酸组成的 DESs 黏度比较小、流动性好、扩散率较大, 样品在其孔隙中能更好地渗透, 实现了对黄酮类成分更好地提取。采用 Box-Behnken design (BBD) 设计法对工艺进行优化: ChCl-乳酸 1:2 (物质的量比), 含水量 20%, 温度 60 °C, 时间 12 min, 液固比 15:1 (mL/g)。用此优化工艺提取黄芩得到 4 种黄酮类物质的提取率比传统方法都有大幅提高, 最后经大孔

吸附树脂法富集分离, ME-2 树脂对 4 种物质的总体回收率最高, 均达 80%。

Wang 等^[15]制备了 9 种疏水性季铵盐类 DESs, 用微波辅助 DESs 提取黄芩中的黄芩苷, 并通过响应面法优化了提取条件: 癸酸-四丁基氯化铵 N₄₄₄₄-Cl (物质的量比 1:2), 含水量为 33%, 反应温度 85 °C, 提取时间 10 min, 液固比为 22.74 mL/g。在该条件下, 提取率达到 10.696%, 比传统有机溶剂的提取效率更优。然后又制备了 5 种亲水性 ChCl 类 DESs^[16], 用超高压辅助 DESs 提取黄芩中的黄芩苷, 并采用响应面设计法优化了提取条件: ChCl-乳酸物质的量比 1:1, 含水量 40%, 提取压力 400 MPa, 反应时间 4 min, 液固比 110 mL/g, 提取率达到 11.68%。通过扫描电镜观察黄芩粉末提取前后的微结构, 发现在超高压提取后样品的细胞结构完全破裂, 这可能是提高提取率的另一个原因。此外, 本课题组还利用 ChCl-尿素 DESs 作为媒介, 发明了一种酶法水解黄芩苷制备黄芩素的方法。用 DESs 代替水溶解黄芩粗酶粉, 再加入黄芩苷, 酶转化完毕后, 用乙醇除去不溶物, 得到精制黄芩素。黄芩苷转化率达 90% 以上, 黄芩素质量分数达 75% 以上^[17]。

Qi 等^[18]制备了多种 DESs 提取犬问荆 *Equisetum palustre* L. 中主要黄酮类成分山柰酚-3,7-二-O-β-D-葡萄糖苷 (kaempferol-3,7-di-O-β-D-glucoside)、木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷 (luteolin-7-O-β-D-glucoside)、槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖苷 (quercetin-3-O-β-D-glucoside)、芫花素-5-O-β-D-葡萄糖 (genkwanin-5-O-β-D-glucoside)。ChCl 基 DESs 对极性相对较大的前 3 个化合物提取效果较好, 而甜菜碱盐酸盐 DESs 对极性相对较小的另一个成分有较好的提取率。经组合制备的 ChCl-甜菜碱盐酸盐-乙二醇 DESs (物质的量比 1:1:2, 含水量 20%) 是最佳提取溶剂, 对 4 种黄酮类化合物都有最优提取效率。DESs 结合负压空化辅助提取方法对这些化合物的平均提取率优于乙醇溶剂和超声辅助 DESs 的提取率, 表明 DESs 具有很好的提取潜能, 也可以看出负压空化提取器是一种提高提取率的反应器, 提取工艺简单、易操作, 具有更加广阔的发展前景。

Ma 等^[19]用多种 DESs 对油茶 *Camellia oleifera* Abel. 花中黄酮类成分槲皮素-3-O-鼠李糖苷 (quercetin-3-O-rhamnoside)、槲皮素 (quercetin)、山柰酚 (kaempferol)、山柰酚-3-O-鼠李糖苷

(kaempferol-3-*O*-rhamnoside) 进行提取, 其中 ChCl-乳酸体系提取效果最好。

Zhuang 等^[12]定向制备了 12 种 DESs, 超声辅助提取侧柏 *Platycladus orientalis* (L.) Franco 叶中杨梅苷 (myricitrin)、槲皮苷、穗花杉双黄酮 (amentoflavone)、扁柏双黄酮 (hinokiflavone) 4 种黄酮类成分。结果表明, 与水和甲醇相比, 所有 DESs 对杨梅苷和槲皮苷的提取都具有明显的优势, 其中酸、酰胺、醇基乙酸乙酯 DESs 的萃取效率优于糖基乙酸乙酯 DESs, 因为后者具有较高的黏度。对穗花杉双黄酮和扁柏双黄酮的提取率随 DESs 类型的不同而有较大差异, 某些 DESs 优于水和甲醇。ChCl-乙酰丙酸 DESs 是同时提取极性和非极性化合物的最有效溶剂。通过单因素实验优化了提取条件, 也发现大孔树脂 LX-38 从 DESs 中回收目标化合物具有最佳回收率。

许霞芬^[20]用 11 种 ChCl 基 DESs 对金钱草 *Lysimachia christinae* Hance 中的槲皮素、芦丁 (rutin)、金丝桃苷 (hyperin) 等黄酮类化合物进行了提取研究, 发现 ChCl-羧酸体系 DESs 提取效果较优, 槲皮素在 ChCl-柠檬酸 DESs 中的提取率是传统提取溶剂 50% 甲醇溶液的 2 倍。随后采用化学反应动力学方法初步研究了芦丁和金丝桃苷在 DESs 中的降解规律, 结果证明, 它们在 DESs 中的降解遵循一级动力学过程, 且降解过程呈温度依赖性, 此研究可用于指导天然产物的提取。

2.1.2 黄酮醇 黄酮醇类化合物的结构特点是在黄酮基本母核的 3 位上连有羟基或其他含氧基团。常见中药中黄酮醇类化合物有槲皮素和芦丁等。

崔琦^[21]通过微波辅助 DESs 提取沙棘 *Hippophae rhamnoides* L. 中芦丁、槲皮苷-3-*O*-葡萄糖苷 (quercetin-3-*O*-glucoside)、槲皮素、山柰酚、异鼠李素 (isorhamnetin) 等黄酮醇类物质, 对工艺参数进行系统优化, 结合大孔吸附树脂对提取液中的黄酮醇类物质进行分离富集, 最后对富集物进行了抗氧化活性评估。结果显示, 微波辅助 DESs 的提取效果优于 DESs 超声辅助提取和热回流辅助提取, AB-8 型号树脂总体回收率最高。除了 DESs 对目标化合物的良好溶解性外, 还可能是由于微波辐射可以提高目标化合物在溶剂中的传质速度, 与其他方法相比可以在短时间内使反应快速达到平衡并达到最佳提取效果, 同时, 也可以在短时间内加热提取溶剂, 降低所使用的 DESs 的黏度与表面张力,

有助于植物材料中有效成分的溶出。

Zhao 等^[11]用 20 种 ChCl 基 DESs 水浴提取槐 *Sophora japonica* L. 花中芦丁, 提取率为 (194.17±2.31) mg/g。Nam 等^[22]使用冷冻法制备的 DESs 提取槐花中黄酮醇类化合物槲皮素、山柰酚和异鼠李素, 产率比传统方法提高 14%。进一步对 DESs 槐花提取液进行抗氧化活性评估, 结果显示 DESs 槐花提取液展现了良好的抗氧化活性。张玉坤^[23]制备了 9 种 ChCl 基 DESs, 采用超声微波辅助协同蒸馏提取技术提取了苘麻 *Abutilon theophrasti* Medic. 叶中黄酮类化合物, 结果表明此方法对槲皮素、山柰酚和异鼠李素的提取率略高于乙醇热回流提取法。付玉杰课题组应用一系列醇基 DESs 提取鹿蹄草 *Pyrola incarnata* Fisch. 中金丝桃苷、2'-*O*-没食子酰基金丝桃苷 (2'-*O*-galloylhyperin)、槲皮苷、槲皮素-*O*-鼠李糖苷 (quercetin-*O*-rhamnoside)、持马紫醌 (chimaphilin)。其中 ChCl-1,4-丁二醇 (1:4) 是最佳提取溶剂, 微波辅助提取比热搅拌和超声提取更加有效^[24]。BBD 结合响应面法优化了提取条件: 30% 含水量, 70 °C, 反应时间 20 min, 液固比 10 mL/g^[25-26]。

2.1.3 二氢黄酮 二氢黄酮的结构可视为黄酮基本母核的 2 位和 3 位双键被氢化。中药中常见的二氢黄酮类化合物有橙皮中的橙皮素和橙皮苷等。

Othman 等^[27]将醇基 DESs 与乙腈组成二元提取溶剂提取鱼藤 *Derris elliptica* (Roxb.) Benth. 中鱼藤酮 (rotenone), 与传统溶剂甲醇相比, 提取率大约提高了 10%。

2.1.4 异黄酮 异黄酮类化合物的母核为 3-苯基色原酮, 中药中常见的异黄酮有大豆素、大豆苷等。

Li 等^[28]研究了负压空化辅助 ChCl-乙二醇 DESs 提取降香 *Dalbergia odorifera* T. Chen 叶中异黄酮类物质 樱黄素 (prunetin)、鸢尾黄酮 (tectorigenin)、染料木素 (genistein)、鹰嘴豆芽素 (biochanin A) 的最优工艺参数, 提取率分别为 1.204、1.057、0.911、2.448 mg/g, 优于超声提取和热回流提取; 还确定了直接从 DESs 提取液中快速富集分离这些化合物的工艺, 回收率大幅提高。将此技术应用于木豆 *Cajanus cajan* (L.) Millspaugh 根中提取染料木苷 (genistin)、染料木素、芹黄素 (apigenin), 提取效率明显高于传统方法^[29]。

2.1.5 查耳酮 查耳酮类化合物是二氢黄酮 C 环的 1 位和 2 位键断裂生成的开环衍生物, 其 2'-羟基衍

生物为二氢黄酮的异构体。常见的查耳酮类化合物有红花 *Carthamus tinctorius* L. 中的红花苷和新红花苷等。Dai 等^[30]研究了红花中 3 种主要活性物质红花黄色素 (carthamin)、羟基红花黄色素 A (hydroxysafflor yellow A)、卡托他明 (cartormin) 在多种 DESs 中的热稳定性和光稳定性, 证明它们在 DESs 中的稳定性远高于其他溶剂 (如水、40% 乙醇)。采用傅里叶变换红外光谱, 研究了 DESs 提高槲皮素稳定性的机制, 结果显示溶剂和化合物之间形成了更多氢键, 可能是提高其稳定性的原因。

2.1.6 总黄酮 李梅等^[31]使用微波辅助 ChCl 基 DESs 法提取薏苡 *Coix lacryma-jobi* L. var. *mayuen* (Roman.) Stapf 叶中总黄酮, 筛选出 ChCl-乙二醇 DESs 为最佳提取溶剂, 并对其微波提取工艺参数进行正交试验优化。熊苏慧等^[32]用多种 DESs 超声提取玉竹 *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce 中总黄酮, 其中由醋酸钠和乳酸制备的 DESs 提取率最高, 对提取工艺进行优化、对溶剂回收率进行考察, 最终总黄酮提取率为 20.13 mg/g, 显著高于文献报道的传统方法, 是乙醇提取法和丙酮提取法的 2.26 倍和 1.51 倍, NAK-9 对总黄酮的吸附效率为 88.67%。

2.2 苯丙素类

苯丙素类化合物是母核具有一个或几个 C_6-C_3 单元的化合物, 广泛存在于中药中。常见的苯丙素类化合物有咖啡酸和阿魏酸等。

Park 等^[33]以咖啡酸 (caffeic acid) 和绿原酸 (chlorogenic acid) 的提取率为指标, 从多种 DESs 中筛选出了以四甲基氯化铵作为氢键受体和尿素作为氢键供体的 DESs (1:4) 为最佳溶剂, 采用超声辅助 DESs 提取法提取茵陈蒿 *Artemisia capillaries* Waldst. et Kit., 结果显示咖啡酸和绿原酸的提取率比传统溶剂提取增加了 77% 和 38%。

Chen 等^[34]制备了 25 种 ChCl 类 DESs, 利用微波辅助提取法评价了其对于丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 中主要成分迷迭香酸 (rosmarinic acid)、紫草酸 (lithospermic acid)、丹酚酸 A (salvianolic acid A) 及丹酚酸 B (salvianolic acid B) 的提取效果, 其中 ChCl-1,2-丙二醇效果较好, 结合优化的提取条件, 对丹参中不同极性的活性成分均可以同时有效提取, 且提取效果与传统有机溶剂相当或更优。还对水溶性活性成分丹酚酸 B 在不同溶剂中的稳定性进行研究^[35], 结果表明, 丹酚酸 B 在 DESs 中稳定性

高于传统溶剂甲醇、水和乙醇, 其中在 ChCl-甘油 DES (物质的量比为 1:2) 中的稳定性最佳, 保质期分别是甲醇、水和乙醇中的 1.83、4.52 和 2.61 倍。各因素中, 使 DESs 增强化合物稳定性能的主要因素是 DESs 中的含水量, 其次是氢键供体的结构, 影响最小的是氢键供体和氢键受体的比例。通过小鼠 ig 给药, 评估了 ChCl-甘油 DESs 的急性毒性, 半数致死剂量为 7 733 mg/kg, 说明其几近无毒^[36]。

Peng 等^[37]使用 12 种 DESs 对金银花 *Lonicera japonica* Thunb. 中 5 种苯丙素类有机酸活性成分绿原酸 (chlorogenic acid)、咖啡酸 (caffeic acid)、3,5-二咖啡酰奎尼酸 (3,5-dicaffeoylquinic acid)、3,4-二咖啡酰奎尼酸 (3,4-dicaffeoylquinic acid)、4,5-二咖啡酰奎尼酸 (4,5-dicaffeoylquinic acid) 进行微波辅助提取, 当 1,3-丁二醇-ChCl DESs 物质的量为 6:1 时, 对金银花中 5 种有机酸有着最高的提取效果, 提取率高于传统的热回流和超声辅助 DESs 提取法。使用 NKA-9 大孔树脂对 5 种化合物进行回收, 回收率均在 80% 以上。

Li 等^[38]合成了以咖啡酸为模板的印迹分子聚合物和无模板分子聚合物, 结合固相萃取法纯化山楂 *Crataegus pinnatifida* Bge. 提取物中的咖啡酸, 分别用 2 种 ChCl 基 DESs 和甲醇混合作为洗脱剂, 优化了固相萃取过程。将甘油基 DESs 和甲醇体积比为 3:1 混合时, 表现出最好的洗脱能力, 咖啡酸的回收率为 82.32%。

2.3 蒽醌类化合物

蒽醌类化合物是一类具有醌式结构的化合物, 具有多种生物活性, 如丹参中丹参醌类化合物可用于治疗冠心病和心肌梗死等^[39]。传统溶剂提取蒽醌类化合物多采用长时间加热回流法, 易破坏蒽醌类化合物结构。Chen 等^[34-35]用 25 种 DESs 结合微波辅助提取了丹参中蒽醌类物质丹参酮 II_A (tanshinone II_A), 提取率为 5.89 mg/g, 略高于传统溶剂甲醇的提取率 (1.12 倍), 同时大幅缩短了提取时间, 减少了对丹参酮 II_A 结构的破坏。Wang 等^[40]用 6 种 ChCl-醇基 DESs 结合球磨辅助提取丹参中丹参酮类物质, 包括隐丹参酮 (cryptotanshinone)、丹参酮 I (tanshinone I)、丹参酮 II (tanshinone II), 提取效率更高, 而且省时环保。Wu 等^[41]用 13 种 DESs 对大黄 *Rheum palmatum* L. 中 5 种蒽醌类物质芦荟大黄素 (aloe-emodin)、大黄酸 (rhein)、大黄素 (emodin)、大黄酚 (chrysophanol)、大黄素甲醚

(physcion) 进行超声辅助提取, 乳酸-葡萄糖 DESs (5:1) 提取效果最佳。在最优提取条件下, 总蒽醌提取量达 25.27 mg/g。

2.4 糖类化合物

糖类化合物是多羟基醛或多羟基酮及其衍生物、聚合物的总称。糖类化合物的结构通式为 $C_x(H_2O)_y$, 因此又称碳水化合物。糖及其衍生物是中药中的重要活性物质之一, 具有很多重要的生物活性, 如香菇多糖具有抗肿瘤活性^[42], 黄芩多糖具有抗氧化活性^[43]。多糖的提取工艺多为热水浸提法, 耗时长, 糖类物质结构容易被破坏。

Zhang 等^[44]用 4 种 DESs 对山药 *Dioscorea opposita* Thunb. 进行提取, 以多糖为目标化合物优化提取工艺, 最佳提取条件为 $CHCl_3$ -1,4-丁二醇 DESs, 30%含水量, 提取温度 94 °C, 提取时间 45 min, 最终得到山药多糖 (polysaccharide) 的产率为 15.98%, 比传统溶剂水增加了 10%。张继等^[45]发明了一种 DESs/盐双水相萃取分离锁阳多糖的方法。在冰浴条件下 DESs 超声提取锁阳 *Cynomorium songaricum* Rupr., 得到锁阳多糖粗提液, 后加入磷酸氢二钾形成双水相萃取体系, 冷冻干燥得到锁阳多糖, 提高了其得率。

2.5 苷类化合物

苷类化合物是糖 (或糖的衍生物) 与另一非糖物质通过糖的端基碳原子连接而成的一类化合物。苷类化合物数量众多、分布广泛, 中药材的根和茎是苷类化合物分布最多的部位。常见的苷类化合物有三七皂苷和强心苷等。

Tan 等^[46]合成了多种 $CHCl_3$ 基 DESs 并以其作为提取剂, 通过对加热超声提取条件的优化, 对蛹虫草 *Cordyceps militaris* Link 中虫草素 (cordycepin) 的提取方法展开研究, 并与传统提取溶剂水和甲醇进行提取效果对比, 结果表明 DESs 对虫草素的提取率明显高于后者, 该提取方法简捷有效, 充分发挥了 DESs 优异的提取性能与性质可调控的特点。该实验还在系统探讨 DESs 组分种类、DESs 浓度和柱温等条件的基础上, 构建了乙腈-1.0% DESs 改性反相色谱流动相体系, 并证明由于 HBAs 和 HBDs 的协同作用显著提高了结构相似的生物碱黄连碱 (coptisine)、血根碱 (sanguinarine)、小檗碱 (berberine) 和芹菜碱 (chelerythrine) 的分离。

由于野生红景天 *Rhodiola rosea* L. 过度采挖、资源匮乏、不耐高温、无法人工大面积栽培等原因,

限制了从红景天中大量提取红景天苷的可行性。目前主要通过愈伤组织悬浮培养和化学合成的方法获取红景天苷, 这些方法的主要缺点是化学合成红景天苷大多需要选择性保护或活化, 或使用昂贵的金属催化剂, 且产率低、纯度低、成本高以及反应时间长, 因而难以投入实际应用。程启斌等^[47]将 $CHCl_3$ -甘油 DESs 作为反应溶剂, 采用 β -D-葡萄糖苷酶催化糖基的方法, 合成红景天苷, 底物转化率可达 30% 以上。刘永峰等^[48]利用 DESs 的乳化、润湿和助溶等特点, 发明了一种从红景天中同步分离制备红景天苷和络塞维的方法, 其中 HBAs 为四乙基氯化铵, HBDs 为木糖醇或葡萄糖。用含 DESs 和乙醇的混合水溶液加热回流红景天, 通过 2 次大孔树脂膨胀床并浓缩, 得到络塞维和红景天苷粗提物, 质量分数分别为 30%~70% 和 40%~80%, 回收率为 65%~85%。

张喜峰^[49]发明了一种盐诱导 DESs 萃取肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma 中苯乙醇苷的方法, 用 DESs 水溶液提取肉苁蓉粉末, 再向提取液中加入磷酸盐得到双水相体系, 用其萃取肉苁蓉中苯乙醇苷, 收率可达 20%。

段莉^[50]用 $CHCl_3$ 和 $CHBr_3$ 基 DESs 提取金莲花 *Trollius chinensis* Bge. 中黄酮碳苷类物质, 包括茛菪苷、茛菪素-2"-O- β -L-半乳糖苷和牡荆苷等。相比于传统的甲醇溶剂, 不仅能够提高提取率, 而且提取物中杂质少, 无需反复使用硅胶柱分离, 可以大大减少分离纯化步骤、降低分离纯化成本。

Jeong 等^[51]用 DESs 从高丽参 *Panax ginseng* C. A. Meyer 中提取极性皂苷 (polar ginseng saponins)。通过将 DESs 的组分相互组合, 定向合成了 3 相 DESs, 其中丙三醇-脯氨酸-蔗糖 9:4:1 的 3 相 DESs 提取效果最优, 而且对提取液的生物活性没有负面影响。

本实验室用微波方法在 $CHCl_3$ 基 DESs 中提取连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl, 所得提取液中含有连翘主要成分, 并在细胞水平评价了 DESs 溶剂的毒性和提取液的生物活性, 实验表明 DESs 提取溶剂对细胞基本无毒, 提取液具有抗炎、抗氧化活性。初步证明该 DESs 提取溶剂可应用于连翘口服制剂的制备^[52]。

2.6 萜类

萜类化合物是一类由甲戊二羟酸衍生而成的化合物, 多存在于中药材的叶子和挥发油中。常见萜

类化合物有芍药苷和薄荷酮等。

Wang 等^[53]合成 12 种 ChCl 基 DESs, 结合机械化学方法提取青蒿 *Artemisia annua* Linn. 中 3 种热不稳定的萜类化合物青蒿素 (artemisinin)、青蒿素 B (arteannuin B)、青蒿酸 (artemisinic acid)。提取在室温下进行, 目标化合物在几秒钟内释放到 DESs 中, 通过实时质谱 (DART-MS) 直接分析提取液中 3 种萜类化合物含量, 再结合液相色谱进行验证检测。该实验建立了一种通过高效样品预处理和复杂基质快速化学分析的方法, 省去耗时的分离程序。该方法显示出多种优势, 可以在几分钟内完成从原材料到定量检测的过程, 可广泛用于研究和工业领域中。张继^[54]发明了一种 DESs/盐双水相体系作为提取溶剂萃取锁阳中熊果酸的方法。先利用 DESs 对锁阳粉末进行超声萃取, 再采用反胶团溶液进行前萃取, 最终经减压浓缩, 得到熊果酸粉末。经检测, 熊果酸得率为 37.24 mg/g, 质量分数为 97.49%。

2.7 其他

也有研究将 DESs 应用于中药其他成分的提取。倪玉娇等^[55]通过超声辅助 DESs 提取沙棘 *Hippophae rhamnoides* L. 籽粕中多酚成分, 通过 Folin-ciocalteu 比色法测定 DESs 提取液中多酚含量, 结果表明总酚质量分数约为 3.32%, 是传统溶剂提取的 1.6 倍。以超临界 CO₂ 萃取沙棘籽油后的沙棘籽渣为研究对象, 在优化沙棘籽渣抗氧化物质的超声辅助 DESs 提取及纯化工艺基础上, 制备了具有强抗氧化活性和原花青素高含量的沙棘籽渣提取物。初步对沙棘籽渣富集物进行定性, 并研究了其体外抗氧化活性以及对 HepG2 细胞免受 H₂O₂ 损伤的保护作用。Dai 等^[56]用多种 DESs 提取长春花 *Catharanthus roseus* (L.) G. Don 中花青素 (anthocyanins), 结果发现用乳酸和葡萄糖制备的 DESs 提高了花青素的稳定性, 至少是乙醇的 3 倍, 这有利于其提取和分离。另外, ChCl 基 DESs 还被用于从黑枸杞 *Lycium ruthenicum* Murr. 中提取总花青素, 其中 ChCl 和 1,2-丙二醇制备的 DESs 提取效果最佳, 提取液中包括 15 种花青素^[57]。夏莲^[58]利用超声辅助 ChCl 基 DESs 提取石榴 *Punica granatum* L. 皮中多酚类物质。在提取体系中加入酸性缓冲液, 使整个体系 pH 值保持在 3.0~3.2, 提取完毕后加入乙醇稀释, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 最终得到含多酚类物质绿原酸和鞣花酸的混合液, 其得率均显著高于目前常用的乙醇超声提取方法。付玉杰课题组

将多种 DESs 应用于木豆叶中多酚类活性成分的提取, 9 种酚类化合物被同时提取出来^[59]。

陈志刚^[60]利用天然 DESs 特性, 以姜黄 *Curcuma longa* L. 根茎为原料, 使用 1,2-丙二醇和丙氨酸 (1:2) 制备的 DESs 高度选择性地萃取姜黄素 (curcumin), 离心, 去除上清液并真空干燥, 得到姜黄素粉末, 纯度大于 98.0%。该方法采用无毒的天然 DESs 和水为萃取剂及沉淀剂, 生产过程简单、高效、安全、绿色; 克服了传统姜黄素生产需要大量有机溶剂及复杂的柱分离过程的缺点。

唐雪平^[61]发明了一种利用 DESs/盐双水相体系高效提取黄连抗菌成分的方法。通过超声辅助 DESs 提取黄连 *Coptis chinensis* Franch., 向提取液中加入乙醇和一定量的盐溶液, 萃取, 将上相减压浓缩干燥, 得到黄连提取物, 其中抗菌成分—总生物碱质量分数不低于 97%。该方法不需要使用特殊的分离膜以及柱色谱就可以得到高纯度的抗菌提取物; 萃取流程简单、萃取时间短、易工业化生产; 得到的黄连抗菌成分可以直接作为食品防腐剂使用。

胡娟^[62]利用 DESs 的绿色无毒等特性, 发明了一种太子参 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm. 提取液的制备方法, 并将其应用于抗皱化妆品中。采用由甜菜碱与丙三醇制备的 DESs 超声辅助提取太子参, 获得功效成分 (多糖、氨基酸、环肽、脂肪酸等) 含量高的太子参提取液, 作为原料制备化妆品, 并对纤维细胞增殖活性进行检测, 结果表明太子参提取液对紫外照射引起的纤维细胞损伤具有预防和修复作用, 具有皮肤抗皱功能, 太子参提取液最佳作用质量浓度为 1.7 mg/mL。

金莲花碱是从金莲花 *Trollius chinensis* Bunge. 中首次发现的一种异喹啉类生物碱成分。段莉^[63]还利用 ChCl 基 DESs 对金莲花中金莲花碱进行了提取, 与传统的甲醇溶剂提取相比, 提取率提高 3 倍以上, 可以大大提高原料利用率, 降低金莲花碱纯品的制备成本。

3 结语与展望

将 DESs 应用于中药有效成分提取有很多优点, DESs 提取方法对于中药的大多数活性成分提取效率更高, 提取条件温和, 操作简便, 而且不燃爆、不挥发、损耗小和耗能低。再加之微波等方法的辅助, 提取效率更好。这可能是由于微波辐射可以提高目标化合物在溶剂中的传递速度, 与其他方法相比可以在短时间内使反应快速达到平衡并达到

最佳提取效果,同时,还可以在短时间内加热提取溶剂,降低所使用的 DESs 的黏度与表面张力,有助于植物材料中有效成分的溶出。

本文着重对 DESs 在中药成分提取方面进行综述,但现阶段对 DESs 提高中药目标化合物提取率的机制还没有研究透彻。若想更好地了解其原理,就必须对 DESs 的物理性质进行研究。2016 年, Zhu 等^[64]通过红外、紫外等手段研究了胆碱类 DESs 的形成机制,实验表明 HBAs 和 HBDs 是 DESs 形成的主要影响因素。2017 年, Page 课题组利用量子力学和分子动力学模拟法(QM/MD)检测 ChCl/尿素、ChCl/甘油、ChCl/乙二醇 DESs 的纳米结构,显示 ChCl/尿素 DESs 中有更加完善的氢键网络,导致熔点更低、黏度更高。而 2 种醇基 DESs 中 ChCl-甘油 HBAs 基团过度饱和,使 HBAs 之间本身相互作用形成氢键,使甘油内部有更强的内聚力,黏度更大^[65]。Valvi 等^[66]对 DESs 的极性参数极化率、偶极性、酸度、碱度进行了研究,并试图找出极性参数与 Reichardt's dye 探针归一化极性值(E_T^N)的关系并拟合出方程,但拟合结果与实际测量值有较大误差。所以,氢键的形成是 DESs 提高中药目标化合物提取率的主要原因之一。

使用 DESs 提取中药中目标化合物,几乎都比传统溶剂有更高的提取率,且目标化合物种类广泛,证明 DESs 作为新型溶剂的应用潜力。但若想将 DESs 用于食品和药品等方面还需要对 DESs 溶剂自身的毒性进行探究。Radošević 等^[10,67]评估了 DESs 对斑点叉尾鮰卵巢细胞系(CCO)、人乳腺癌细胞(MCF-7)和宫颈癌细胞(HeLa)的细胞毒性,结果显示糖基和醇基 DESs 的半数最大效应浓度(EC_{50})大于 2 000 mg/L,具有较低毒性;而酸基 DESs 的 EC_{50} 值在 100~2 000 mg/L,具有中度细胞毒性,因为酸基 DESs 改变了细胞生长环境的 pH 值,影响了细胞的存活。Zhao 等^[11]利用 2 种革兰阳性菌(金黄色葡萄球菌和单核细胞增多性李斯特菌)和 2 种革兰阴性菌(大肠杆菌和肠炎沙门氏菌)检测了 DESs 的生物毒性。结果表明醇基 DESs 毒性近乎可以忽略,而酸基 DESs 毒性较大,但仍然可以认为酸基 DESs 是一种绿色溶剂,因为其毒性低于传统溶剂和离子液体。Wen 等^[68]利用 3 种不同生物体大肠杆菌、大蒜和无脊椎动物水螅研究 DESs 的毒性,结果表明低浓度下的醇基 DESs 对大肠杆菌生长抑制率低于 10%, DESs 对大肠杆菌的生长

无明显抑制作用;在对大蒜和水螅的实验中发现 DESs 对大蒜和水螅的毒性较强, DESs 及其组分对不同生物体的影响机制可能与它们与细胞膜的相互作用有关。Chen 等^[36]选用 4~5 周龄小鼠,采用 ig 给药的方式,对 ChCl-甘油(1:2)的 DESs 在动物体内的急性毒性进行探讨,实验结果表明小鼠 LD_{50} 为 7 733 mg/kg,表明 DESs 近乎无毒。

DESs 在中药活性成分提取方面的应用迅速扩大。然而,在这一过程中,必须考虑几个重要的因素,如 DESs 成分和物质的量比、温度、含水量,因为这些与黏度、pH 值、极性及其表面张力密切相关。通过调控这些因素,活性成分的产量可能会增加。此外, DESs 的可回收性是另一个必须考虑的因素,在它们被食品和制药工业用于提取活性成分之前,从效率、活性成分的稳定性、成本以及它们对人类健康和安全的潜在影响方面,也需要进行进一步的研究。

参考文献

- [1] Abbott A P, Capper G, Davies D L, *et al.* Novel solvent properties of choline chloride-urea mixtures [J]. *Chem Commun*, 2003, 1: 70-71.
- [2] 张盈盈, 陆小华, 冯 新, 等. 胆碱类低共熔溶剂的物性及应用 [J]. *化学进展*, 2013, 25(6): 881-892.
- [3] Zhang Q, De Oliveira Vigier K, Royer S, *et al.* Deep eutectic solvents: Syntheses, properties and applications [J]. *Chem Soc Rev*, 2012, 41(21): 7108-7146.
- [4] Abbott A P, Barron J C, Ryder K S, *et al.* Eutectic-based ionic liquids with metal-containing anions and cations [J]. *Chem Eur J*, 2007, 13(22): 6495-6501.
- [5] Abbott A P, Boothby D, Capper G, *et al.* Deep eutectic solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: Versatile alternatives to ionic liquids [J]. *J Am Chem Soc*, 2004, 126(29): 9142-9147.
- [6] Abbott A P, Ttaib K E, Frisch G, *et al.* Electrodeposition of copper composites from deep eutectic solvents based on choline chloride [J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2009, 11(21): 4269-4277.
- [7] Abbott A P, Capper G, Gray S. Design of improved deep eutectic solvents using hole theory [J]. *Chemphys Chem*, 2006, 7(4): 803-806.
- [8] Abbott A P, Harris R C, Ryder K S, *et al.* Glycerol eutectics as sustainable solvent systems [J]. *Green Chem*, 2011, 13(1): 82-90.
- [9] Zainal-Abidin M H, Hayyan M, Hayyan A, *et al.* New horizons in the extraction of bioactive compounds using deep eutectic solvents: A review [J]. *Anal Chim Acta*, 2017, 979: 1-23.
- [10] Radošević K, Čurko N, Srček V G, *et al.* Natural deep

- eutectic solvents as beneficial extractants for enhancement of plant extracts bioactivity [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2016, 73: 45-51.
- [11] Zhao B Y, Xu P, Yang F X, *et al.* Biocompatible deep eutectic solvents based on choline chloride: characterization and application to the extraction of rutin from *Sophora japonica* [J]. *ACS Sustain Chem Eng*, 2015, 3(11): 2746-2755.
- [12] Zhuang B, Dou L L, Li P, *et al.* Deep eutectic solvents as green media for extraction of flavonoid glycosides and aglycones from *Platycladi Cacumen* [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 134: 214-219.
- [13] Jin S L, Yin Y G. *In vivo* antioxidant activity of total flavonoids from indocalamus leaves in aging mice caused by D-galactose [J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(10): 3814-3818.
- [14] Wei Z F, Wang X Q, Peng X, *et al.* Fast and green extraction and separation of main bioactive flavonoids from *Radix Scutellariae* [J]. *Ind Crop Prod*, 2015, 63: 175-181.
- [15] Wang H, Ma X, Cheng Q, *et al.* Deep eutectic solvent-based microwave-assisted extraction of baicalin from *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. *J Chem*, 2018, Article ID 9579872.
- [16] Wang H, Ma X, Cheng Q, *et al.* Deep eutectic solvent-based ultrahigh pressure extraction of baicalin from *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. *Molecules*, 2018, 23(12): E3233.
- [17] 王 慧, 张立伟, 陈娟娟. 一种用黄芩苷制备黄芩素的方法: 中国, CN 104710392 B [P]. 2016-06-01.
- [18] Qi X L, Peng X, Huang Y Y, *et al.* Green and efficient extraction of bioactive flavonoids from *Equisetum palustre* L. by deep eutectic solvents-based negative pressure cavitation method combined with macroporous resin enrichment [J]. *Ind Crop Prod*, 2015, 70: 142-148.
- [19] Ma Y, Liu M, Tan T, *et al.* Deep eutectic solvents used as extraction solvent for the determination of flavonoids from *Camellia oleifera* flowers by high-performance liquid chromatography [J]. *Phytochem Anal*, 2018, 29(6): 639-648.
- [20] 许霞芬. 金钱草化学成分分析及槲皮素等黄酮类化合物的低共熔溶剂提取研究 [D]. 杭州: 浙江工业大学, 2018.
- [21] 崔 琦. 沙棘叶中主要黄酮类成分的提取富集工艺研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2016.
- [22] Nam M W, Zhao J, Lee M S, *et al.* Enhanced extraction of bioactive natural products using tailor-made deep eutectic solvents: application to flavonoid extraction from *Flos sophorae* [J]. *Green Chem*, 2015, 17(3): 1718-1727.
- [23] 张玉坤. 苘麻叶挥发油和黄酮的同步提取及黄酮抗氧化活性研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2017.
- [24] Yao X H, Zhang D Y, Duan M H, *et al.* Preparation and determination of phenolic compounds from *Pyrola incarnata* Fisch. with a green polyols based-deep eutectic solvent [J]. *Sep Purif Technol*, 2015, 149: 116-123.
- [25] 姚晓慧, 段喜华, 段明慧, 等. 鹿蹄草中 2"-O-没食子酰基金丝桃苷的提取工艺研究 [J]. 植物研究, 2012, 32(4): 497-500.
- [26] 金 彦, 姚晓慧, 段明慧, 等. 金丝桃苷双水相提取工艺研究 [J]. 植物研究, 2013, 33(3): 367-370.
- [27] Othman Z S, Hassan N H, Zubairi S I. Alcohol based-deep eutectic solvent (DES) as an alternative green additive to increase rotenone yield [A] // AIP Conference Proceedings [C]. Selangor: University Kebangsaan Malaysia, 2015.
- [28] Li I, Liu J Z, Luo M, *et al.* Efficient extraction and preparative separation of four main isoflavonoids from *Dalbergia odorifera* T. Chen leaves by deep eutectic solvents-based negative pressure cavitation extraction followed by macroporous resin column chromatography [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2016, 1033: 40-48.
- [29] Cui Q, Peng X, Yao X H, *et al.* Deep eutectic solvent-based microwave-assisted extraction of genistin, genistein and apigenin from pigeon pea roots [J]. *Sep Purif Technol*, 2015, 150: 63-72.
- [30] Dai Y, Verpoorte R, Choi Y H. Natural deep eutectic solvents providing enhanced stability of natural colorants from safflower (*Carthamus tinctorius*) [J]. *Food Chem*, 2014, 159: 116-121.
- [31] 李 梅, 卢秋榕, 韦迎春, 等. 微波辅助低共熔溶剂提取薏苡叶总黄酮的工艺研究 [J]. 中国食品添加剂, 2017, (5): 49-53.
- [32] 熊苏慧, 唐 洁, 李诗卉, 等. 一种新型天然低共熔溶剂用于玉竹总黄酮的绿色提取 [J]. 中草药, 2018, 49(10): 2378-2386.
- [33] Park H E, Tang B, Row K H. Application of deep eutectic solvents as additives in ultrasonic extraction of two phenolic acids from herba *Artemisiae Scopariae* [J]. *Anal Lett*, 2014, 47(9): 1476-1484.
- [34] Chen J, Li S, Yao Z, *et al.* Improved stability of salvianolic acid B from *Radix Salviae Miltiorrhizae* in deep eutectic solvents [J]. *Anal Methods*, 2016, 8(11): 2502-2509.
- [35] Chen J, Liu M, Wang Q, *et al.* Deep eutectic solvent-based microwave-assisted method for extraction of hydrophilic and hydrophobic components from *Radix Salviae miltiorrhizae* [J]. *Molecules*, 2016, 21(10): 1383-1396.
- [36] Chen J, Wang Q, Liu M, *et al.* The effect of deep eutectic solvent on the pharmacokinetics of salvianolic acid B in rats and its acute toxicity test [J]. *J Chromatogr B Anal Technol Life Sci*, 2017, 1063: 60-66.
- [37] Peng X, Duan M H, Yao X H, *et al.* Green extraction of five target phenolic acids from *Lonicerae japonicae* Flos with deep eutectic solvent [J]. *Sep Purif Technol*, 2016, 157: 249-257.
- [38] Li G, Tang W, Cao W, *et al.* Molecularly imprinted

- polymers combination with deep eutectic solvents for solid-phase extraction of caffeic acid from hawthorn [J]. *Chin J Chromatogr*, 2015, 33(8): 792-798.
- [39] 匡海学. 中药化学 [M]. 北京: 全国中医药出版社, 2011.
- [40] Wang M, Wang J, Zhang Y, *et al.* Fast environment-friendly ball mill-assisted deep eutectic solvent-based extraction of natural products [J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1443: 262-266.
- [41] Wu Y C, Wu P, Li Y B, *et al.* Natural deep eutectic solvents as new green solvents to extract anthraquinones from *Rheum palmatum* L. [J]. *RSC Adv*, 2018, 8(27): 15069-15077.
- [42] Wang J, Li W, Huang X, *et al.* A polysaccharide from *Lentinus edodes* inhibits human colon cancer cell proliferation and suppresses tumor growth in athymic nude mice [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(1): 610-623.
- [43] 刘梦杰, 王飞, 张燕, 等. 黄芩多糖的体内抗氧化活性 [J]. 中国食品学报, 2016 16(7): 52-58.
- [44] Zhang L, Wang M. Optimization of deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from *Dioscorea opposita* Thunb [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 95: 675-681.
- [45] 张继. 一种低共熔溶剂/盐双水相萃取分离锁阳多糖的方法: 中国, CN107602720A [P]. 2018-01-19.
- [46] Tan T, Zhang M, Wan Y, *et al.* Utilization of deep eutectic solvents as novel mobile phase additives for improving the separation of bioactive quaternary alkaloids [J]. *Talanta*, 2016, 149: 85-90.
- [47] 程启斌. 一种酶法制备红景天苷的方法: 中国, CN106222218A [P]. 2016-12-14.
- [48] 刘永峰. 一种从红景天中同步分离制备红景天苷和络塞维的方法: 中国, CN107312047A [P]. 2017-11-03.
- [49] 张喜峰. 一种盐诱导低共熔溶剂萃取肉苁蓉中苯乙醇苷的方法: 中国, CN106749442B [P]. 2019-04-19.
- [50] 段莉. 胆碱类低共熔溶剂、制备方法和在提取金莲花黄酮碳苷中的应用: 中国, CN107628959A [P]. 2018-01-26.
- [51] Jeong K M, Lee M S, Nam M W, *et al.* Tailoring and recycling of deep eutectic solvents as sustainable and efficient extraction media [J]. *J Chromatogr A*, 2015, 1424: 10-17.
- [52] 杜会枝. 一种连翘抗炎抗氧化成分的提取方法: 中国, CN108030809A [P]. 2018-05-15.
- [53] Wang J, Zhou Y, Wang M, *et al.* High throughput analysis for artemisinins with deep eutectic solvents mechanochemical extraction and direct analysis in real time mass spectrometry [J]. *Anal Chem*, 2018, 90(5): 3109-3117.
- [54] 张继. 利用低共熔溶剂/盐双水相体系萃取锁阳中熊果酸的方法: 中国, CN107936080A [P]. 2018-04-20.
- [55] 倪玉娇, 赵春建, 李春英, 等. 超声辅助低共熔溶剂提取沙棘籽粕多酚的工艺优化 [J]. 植物研究, 2017, 37(3): 474-480.
- [56] Dai Y, Rozema E, Verpoorte R, *et al.* Application of natural deep eutectic solvents to the extraction of anthocyanins from *Catharanthus roseus* with high extractability and stability replacing conventional organic solvents [J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1434: 50-56.
- [57] Sang J, Li B, Huang Y, *et al.* Deep eutectic solvent-based extraction coupled with green two-dimensional HPLC-DAD-ESI-MS/MS for the determination of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. fruit [J]. *Anal Methods*, 2018, 10(10): 1247-1257.
- [58] 夏莲. 采用低共熔溶剂提取石榴皮中多酚类物质的方法: 中国, CN106518590B [P]. 2018-11-23.
- [59] Wei Z, Qi, X Li T, *et al.* Application of natural deep eutectic solvents for extraction and determination of phenolics in *Cajanus cajan* leaves by ultra performance liquid chromatograph [J]. *Sep Purif Technol*, 2015, 149: 237-244.
- [60] 陈志刚. 一种高纯度天然姜黄素产品制备方法: 中国, CN106046850B [P]. 2017-07-18.
- [61] 唐雪平. 一种黄连抗菌成分的高效提取方法: 中国, CN107373281A [P]. 2017-11-24.
- [62] 胡娟. 一种太子参提取液的制备方法及其在抗皱化妆品中的应用: 中国, CN107929127A [P]. 2018-04-20.
- [63] 段莉. 胆碱类低共熔溶剂、制备方法和在提取金莲花中金莲花碱方面的应用: 中国, CN107814732A [P]. 2018-03-20.
- [64] Zhu S, Li H, Zhu W, *et al.* Vibrational analysis and formation mechanism of typical deep eutectic solvents: An experimental and theoretical study [J]. *J Mol Graph Model*, 2016, 68: 158-175.
- [65] Stefanovic R, Ludwig M, Webber G B, *et al.* Nanostructure, hydrogen bonding and rheology in choline chloride deep eutectic solvents as a function of the hydrogen bond donor [J]. *Phy Chem Chem Phy*, 2017, 19(4): 3297-3306.
- [66] Valvi A, Dutta J, Tiwari S. Temperature-dependent empirical parameters for polarity in choline chloride based deep eutectic solvents [J]. *J Phys Chem B*, 2017, 121(50): 11356-11366.
- [67] Radošević K, Bubalo M C, Srček V G, *et al.* Evaluation of toxicity and biodegradability of choline chloride based deep eutectic solvents [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2015, 112: 46-53.
- [68] Wen Q, Chen J X, Tang Y L, *et al.* Assessing the toxicity and biodegradability of deep eutectic solvents [J]. *Chemosphere*, 2015, 132: 63-69.