

中药有机酸类成分的提取与分离纯化研究进展

顾志荣¹, 刘菁², 郭燕², 葛斌^{1*}

1. 甘肃省人民医院 药剂科, 甘肃 兰州 730000

2. 甘肃中医药大学药学院, 甘肃 兰州 730000

摘要: 中药有机酸类成分种类繁多、化学结构多样且分布广泛, 具有多种生理活性和药用价值。中药有机酸类成分的提取及分离纯化是后续药理药效、分子机制、新药研发等的研究基础与难点, 目前相关研究的文献体量较大, 涉及的提取方法包括热回流提取、超声辅助提取、微波辅助提取等及这些技术的联合使用; 分离纯化主要依靠大孔树脂、硅胶、葡聚糖凝胶等传统色谱及色谱联用技术, 及高效的色谱新材料、分子印迹技术、膜分离技术、高速逆流色谱技术等新型分离技术。目前研究主要集中于已有技术的拓展性使用、联合使用及工艺参数优化, 未来应着力于开发及应用高效、绿色的提取及分离纯化新技术、新材料、新设备, 聚焦解决中药有机酸类成分新药转化存在的瓶颈问题, 为中药新药研发提供技术支撑。

关键词: 中药有机酸; 传统提取技术; 新型提取技术; 色谱分离技术; 新型分离技术; 技术联用

中图分类号: R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)08-2954-15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.08.029

Research progress on extraction, separation and purification of organic acid components in traditional Chinese medicine

GU Zhirong¹, LIU Jing², GUO Yan², GE Bin¹

1. Department of Pharmacy, Gansu Provincial People's Hospital, Lanzhou 730000, China

2. School of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

Abstract: Traditional Chinese medicine (TCM) had a wide variety of organic acid components with diverse chemical structures and widespread distribution, possessing various pharmacological activities and medicinal values. The extraction, separation and purification of organic acid components from TCM was the basis and difficulty of subsequent pharmacological activities, molecular mechanism, new drug development, etc. At present, there was a large volume of literature on related research, involving extraction methods such as heat reflux extraction, ultrasound-assisted extraction, microwave-assisted extraction, as well as the union of these techniques. The separation and purification of organic acid components from TCM mainly relied on traditional column chromatography such as macroporous adsorption resin, silica gel, dextran gel, and the union of chromatography techniques, as well as new separation technologies such as efficient new materials for chromatography, molecular imprinting technology, membrane separation technology, high speed counter-current chromatography. Current research mainly focused on the expansion use, joint use, and process parameter optimization of existing technologies. In the future, efforts should be made to develop and apply efficient and green new technologies, new materials, and new equipments of extraction, separation and purification, focusing on solving the bottleneck problems in new drug transformation of organic acid components from TCM, and providing technical support for the research and development of new drugs of TCM.

Key words: organic acid components in traditional Chinese medicine; traditional extraction technology; new extraction technology; chromatographic separation technology; new separation technology; technology integration

有机酸是指一类具有酸性的有机化合物, 最常见的有机酸是羧酸 (R-COOH), 此外磺酸 (R-

SO₃H)、亚磺酸 (R-SOOH)、巯羧酸 (R-SH) 等也属于有机酸。有机酸类成分普遍分布于中草药的

收稿日期: 2024-12-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82460867); 甘肃省药品监督管理局药品监管科学研究项目 (2023GSMPA046); 甘肃省中医药高水平重点课题 (GZKZ-2024-16); 甘肃省人民医院中西医结合优势病种科技专项 (23GSSYE-7)

作者简介: 顾志荣, 硕士, 副主任药师, 硕士生导师, 从事中药药效物质基础及作用机制研究。E-mail: guzr8817@163.com

*通信作者: 葛斌, 教授, 主任药师, 硕士生导师, 从事中药药效物质基础及作用机制研究。E-mail: gjy0630@163.com

叶、根特别是果实中，具有广泛的生物活性，是普遍认可的“天然抗氧化剂”。中药有机酸类成分的提取及分离纯化是后续药理药效、分子机制、新药研发等的基础步骤，是该领域的持续研究热点，同时也存在许多技术难点。有机酸类成分在不同溶剂中的溶解性差异不大，不同有机酸的理化性质相近，在水或稀碱液中能解离出离子，部分有机酸对热不稳定，这些因素使其提取及分离纯化的难度较大。近年来，随着提取、分离纯化及分析技术的不断提高，在中药中已经发现了种类繁多、数量丰富的有机酸类成分，其中部分有机酸类成分已开发为新药，在临床治疗中发挥了重要作用，如阿魏酸^[1]、丹参多酚酸^[2]等。本文系统归纳国内外对于中药有机酸类成分的提取及分离纯化的最新研究进展，为有机酸类成分的基础研究及新药开发提供参考。

1 中药有机酸类成分的提取

1.1 热回流提取 (heat reflux extraction, HRE)

HRE 是将粉碎处理的中药与挥发性溶剂在浸出容器中一起加热蒸馏，挥发性溶剂馏出后又被冷却，重复流回浸出容器中浸提原料，多次重复使有效成分尽可能被提取完全的方法，目前主要用于中药总有机酸的粗提取。HRE 的关键工艺参数包括溶剂种类及浓度、液料比、回流时间与次数。叶炳炳等^[3]采用正交试验优化桂枝总有机酸的 HRE 工艺，最佳参数为乙醇浓度 90%，液料比 8:1 (mL/g)，回流 3 次，每次 1 h，总有机酸得率为 1.49%。熊科元等^[4]采用星点设计-响应面法优化出的山楂总有机酸 HRE 最佳工艺为 75%乙醇为溶剂，液料比 18.5:1 (mL/g)，回流 2 次，每次 2 h，总有机酸得率为 5.22%。此外，采用 HRE 提取宣木瓜中的总有机酸^[5]，蒲公英中的绿原酸、咖啡酸、阿魏酸^[6]也取得了较好的效果。

HRE 是经典的中药总有机酸提取方法，最常用的溶剂是乙醇，绿色环保，经济节约，但存在提取时间长，大生产不方便，易造成热不稳定性有机酸成分损失等问题，因此用于中药有机酸提取的报道不多，已逐渐被其他更省时、高效的方法所取代。

1.2 超声辅助提取 (ultrasonic-assisted extraction, UAE)

UAE 是利用超声波的空化作用、机械效应和热效应等加速细胞内有效物质的释放、扩散和溶解，显著提高溶剂提取效率的方法，考察的关键工艺参数包括溶剂种类及浓度、液料比、超声频率、温度

与时间。Xia 等^[7]采用 UAE 提取女贞子中的齐墩果酸和熊果酸，单因素考察所得最佳工艺为 95%乙醇为溶剂，液料比 20:1 (mL/g)，超声频率 40 kHz，在 40 °C 提取 10 min，齐墩果酸和熊果酸的提取率分别为 (6.30±0.25) 和 (9.8±0.30) mg/g。Quan 等^[8]采用 UAE 提取当归中的阿魏酸，优化所得的最佳工艺为 100%乙醇为溶剂，液料比 8:1 (mL/g)，超声频率 50 kHz，在 25 °C 提取 30 min，该条件下提取率为 6.5%，提取物中阿魏酸含量近 1.0%，高于以乙醇为助溶剂的超临界流体萃取和渗滤法，并大幅缩短了提取时间。此外，采用 UAE 提取欧芹叶中的没食子酸、香草酸^[9]，乌梅中的总有机酸^[10-11]也取得了较好的效果。

从目前的文献报道来看，采用 UAE 提取中药有机酸应严格控制的因素包括提取温度、超声频率与超声时间。提取温度多控制在 50 °C 以下，超声频率多控制在 100 kHz 以下，因为高温和机械波作用会导致热不稳定有机酸成分的损失，且长时超声处理会导致挥发性有机酸成分损失，同时超声处理过程会有空气进入提取液，使有机酸类成分发生氧化、聚合等造成损失。当超声频率超过 100 kHz 时，提取液流动速度加快，减少了物料在超声场中的停留时间，细胞破碎作用减弱，提取率反而降低。

1.3 微波辅助提取 (microwave-assisted extraction, MAE)

MAE 是通过微波的热效应、电效应、磁效应加快目标成分的扩散溶出，以提高溶剂提取效率的方法，考察的关键工艺参数包括溶剂种类及浓度、液料比、微波功率、提取温度与时间等。Fang 等^[12]采用 MAE 提取墨旱莲中的酚酸类化合物，最优工艺为 50%乙醇为溶剂，微波功率 400 W，温度 70 °C，液料比 30:1 (mL/g)，提取 2 min，提取出的有机酸类化合物包括新绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A 及异绿原酸 C。与传统方法相比，MAE 可避免酚酸类化合物降解，提取时间更短，溶剂和能源消耗更少，提取效率更高，所得提取物抗氧化活性更佳。Sik 等^[13]对比研究了索氏提取法、浸渍法、连续搅拌浸渍法、HRE、MAE 提取唇形科中药（蜜蜂花、薄荷、牛至、迷迭香、鼠尾草和百里香）中迷迭香酸的提取效率，结果与其他溶剂系统相比，用酸化的乙醇水溶液（乙醇-水-盐酸 70:29:1）提取效果最佳，MAE 的最佳工艺为微波功率 400 W，在 50 或 80 °C 下提取 5 min；连续

搅拌浸渍法的最佳工艺为 25 °C 下提取 120 min, HRE 的最佳工艺为在沸点下提取 15 min。该研究选用绿色的含水乙醇即可获得较高的提取率, 溶剂酸度及提取时间对提取率有明显影响, 特别是在较高温度下; MAE 与连续搅拌浸渍法、HRE 等传统提取法的提取率相似, 但提取时间更短。显然, MAE 可明显减少提取时间、溶剂及能耗, 避免传统提取周期长、效率低等问题。

此外, 采用 MAE 提取咖啡中的绿原酸^[14]、铁棒锤中的脂肪酸类成分^[15]、紫胶中的紫胶桐酸^[16]也取得了较好的效果。

1.4 酶解辅助提取 (enzyme-assisted extraction, EAE)

EAE 是通过酶解细胞壁来促进活性成分释放以提高提取率的方法, 多与溶剂提取法配合使用, 具有省时高效、特异性强、操作简便、条件温和、反应过程易控制等优势, 考察的关键工艺参数包括酶的种类与比例、酶解温度、pH 及时间等。柠檬皮含有丰富的酚酸类化合物, Durmus 等^[17]采用 EAE 提取柠檬皮中的酚酸类化合物, 总酚酸含量、抗氧化活性及抑制 α 淀粉酶的活性均高于传统提取法, 且酚酸类化合物的数量增加了 2~4 倍。EAE 传统研究的焦点在于酶促进细胞壁降解, Liu 等^[18]提出了 EAE 提取植物活性成分的新观点, 即除了关注酶促进细胞壁降解外, 还应关注离子液体以改善提取溶剂的渗透性, 从而更高效的提取目标成分。该研究提出了一种基于离子液体的 EAE 新方法, 探讨了绿原酸在 8 种 1-烷基-3-甲基咪唑离子液体中的溶解度和纤维素酶活性, 及提取时间、pH、温度和酶浓度对杜仲叶中绿原酸提取率的影响, 最佳工艺为在 0.5 mol/L 离子液体使用 2 mg/mL 纤维素酶, 提取 2 h, pH 值为 3, 温度 50 °C, 绿原酸平均回收率达到 95.3%, 与传统技术相比提取时间更短, 提取效率更高。

1.5 低共熔溶剂 (deep eutectic solvents, DES) 提取

DES 是一种新型溶剂, 是将氢键受体 (hydrogen bond receptor, HBA) 和氢键供体 (hydrogen bond donor, HBD) 按一定比例混合加热搅拌至均一稳定所得的溶液。HBA 多为季铵盐, 常用氯化胆碱 (ChCl); HBD 多为酰胺、羧酸、多元醇等。DES 具有制备简便、成本低、熔点低、低蒸气压、溶解性好、低毒环保等优点。DES 考察的关键工艺参数包括 DES 的组成与比例、含水量、温度、时间、液料

比等。Kovač 等^[19]采用 DES 提取羽衣草中的没食子酸、鞣花酸及水解单宁, 单因素考察发现 ChCl-尿素 1:2 为 17 种溶剂中的最佳组合, 通过响应面法考察搅拌并加热、UAE、机械化学等不同辅助手段的最佳参数, 结果采用 DES 搅拌并加热提取的效果最佳, 没食子酸提取率可达 1.89 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 。Bayram 等^[20]采用 DES 从贯叶连翘中提取包括总酚、总黄酮、32 种酚类及 52 种有机酸在内的活性成分, 与 UAE 相比, DES 类型对酚类及有机酸类的提取率、抗氧化及抗微生物活性均有显著影响, 10 种 DES 中 ChCl-乳酸对有机酸表现出更高的提取率, 52 种有机酸总量达 7 843.70 mg/kg。总结可知, 基于 ChCl 的 DES 是一种前景较好、生态友好的提取介质, 也是相关研究的热点, 对中药有机酸类成分提取尤为适宜, 目前作为传统溶剂的替代而广泛使用。

1.6 负压空化提取 (negative-pressure cavitation extraction, NPCE)

空化作用是指存在于液体中的微气核 (空化泡) 在声波作用下振动, 当声压达到一定值时发生的生长和崩溃的动力学过程。NPCE 是利用负压空化作用所产生的气泡 (多使用氮气) 所导致的强烈的空化效应和机械振动, 造成样品细胞壁快速破裂, 加速胞内成分向溶剂介质释放、扩散和溶解, 以提高提取效率的技术^[21-22], 具有提取收率高、设备简单、易操作的特点, 可用于各类化学成分的提取, 是适宜于大生产的新兴提取技术。NPCE 考察的关键工艺参数包括负压压力、液料比、提取时间、温度、次数等。Kong 等^[23]采用 NPCE 技术提取木豆叶中的木豆素和乔松酮, 采用单因素实验和中心复合设计 (central composite design, CCD) 结合响应面法优化的最佳工艺为负压压力 -0.075 MPa, 温度 45 °C, 物料粒度 40 目, 乙醇浓度 80%, NPCE 时间 30 min, 液料比 30:1 (mL/g), 萃取 4 次, 该工艺下木豆素的提取率为 (5.675 \pm 0.127) mg/g, 高于 UAE 的 (5.594 \pm 0.084) mg/g, 具有设备费用低、产量高的优点。Wang 等^[24]采用自主设计的均质辅助 NPCE 装置提取金银花中的新绿原酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C、阿魏酸等 6 种有机酸, 采用单因素试验优化的最佳条件为均质时间 45 s, 负压压力 -0.07 MPa, 乙醇浓度 70%, 液料比 20:1 (mL/g), NPCE 时间 20 min, 6 种有机酸的提取率分别达到 0.213、32.474、0.442、10.826、0.271、0.193 mg/g, 均高于 UAE 及浸提法。

在工业化生产中，负压相较于超声更容易放大，有利于大量药材的提取，该方法仅需调节压力即可将容器内的提取液压出，省去了滤过步骤，方便多次提取，且在实际提取过程中可通入氮气等保护性气体以防止有效成分氧化。此外，该技术易与其他技术联合使用，如匀浆-NPEC、低共熔溶剂-双水相体系-NPEC、超声波-NPEC、微波-NPEC、酶解-NPEC 等。

1.7 加压液体提取 (pressurized liquid extraction, PLE)

PLE 是利用高压溶剂对样品中的目标成分进行提取的技术。该法常需要同时施加高压与高温，高压可使高温下的溶剂保持液态，而提高温度使溶液黏度降低，扩散率升高，细胞壁渗透性增加，目标化合物与组织的相互作用降低，因此溶解度增加^[25]。PLE 考察的关键工艺参数包括压力、温度、时间、提取次数及溶剂种类与浓度等。Souza 等^[26]采用 PLE 与吸附剂在线耦合提取分离技术，制得了高浓度没食子酸提取物，浓度可达 (78.97 ± 5.49) mg/L，最佳工艺为采用多孔聚合物吸附剂 (PoraPak)，萃取温度 80 °C，压力 1 500 psi (10.3 MPa)，以水和乙醇作为溶剂，该技术使用的溶剂环保且用量小，提取时间短，目标成分产量高，收率高于 UAE、搅拌提取和索氏提取等传统方法。Olejar 等^[27]采用 PLE 对大麻素酸进行脱羧提取，压力 11.0 MPa，以水作为第 1 步提取溶剂，随后用乙醇提取，实现大麻素酸的热化学转化，确定了将 6 种大麻素酸转化为中性大麻素的温度在 120~140 °C，脱羧过程只需 6 min，为该技术的进一步工业化应用奠定了基础。大麻素正日益成为医学界关注的化合物，可用于治疗癫痫、慢性疼痛、止吐等^[28]，但大麻植物只产生羧基化的大麻素酸，因此在提取过程在必须去除羧基，多采用加热原料或提取物来进行，但大麻素遇热易降解、蒸发或转化成其他产物^[27]。PLE 在一定压力和温度下使用一个假封闭系统进行操作，操作过程短，是对大麻素酸快速脱羧的理想系统，同时最大限度减少了传统热脱羧法的损失。此外，采用 PLE 提取当归中阿魏酸^[29]也取得了较好的效果。

PLE 是新兴的提取技术之一，与索氏提取和 UAE 等传统提取方法相比，具有操作简单、高效、溶剂消耗低、能够自动化处理等明显优势，适用于工业化大生产，应用前景广阔。

1.8 多技术联用

随着对提取效率、节能环保的要求越来越高，发现单一提取技术往往难以满足要求，而将不同提取技术联合使用，可以达到“1+1>2”的协同效果。多技术联合使用是目前提取中药有机酸类成分的主要研究热点与发展趋势，常用的联合技术较多，如酶解-超声波辅助双水相萃取法 (enzyme and ultrasonic co-assisted aqueous two-phase extraction, EUA-ATPE)、UAE-EAE 预处理提取、超声微波辅助提取 (ultrasonic-microwave-assisted extraction, UMAE)、微波辅助-三元低共熔溶剂萃取 (microwave-assisted ternary deep eutectic solvent extraction, TDES-MAE)、MAE-旋转回流提取等。

Song 等^[30]耦合了 EAE、UAE 及双水相萃取技术 (aqueous two-phase extraction, ATPE) 开发了一种可持续的提取方法——EUA-ATPE，来同时提取和分离当归中的阿魏酸和藁本内酯，通过单因素实验和 CCD 优化所得最佳提取工艺为以 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -乙醇作为双水相萃取剂，酶组合及配比为纤维二糖酶-半纤维素酶 160:280 (U/g)，pH=4.4，温度 33 °C，液料比 35:1 (mL/g)，水解 65 min，超声 25 min，此时阿魏酸的最大提取率为 0.78 mg/g，明显高于 UAE-ATPE、EAE-ATPE 和 UAE。EUA-ATPE 的协同作用有利于植物细胞壁的破裂和酶解，释放更多与细胞壁结合的阿魏酸；另一方面，超声波能更有效地破坏原料的外部结构，使溶剂更好地渗透到原料中，提高提取率，并且 EUA-ATPE 提取物清除自由基、抗氧化及抗炎能力更强。ATPE 是近年新兴的提取技术，其中醇/盐体系可用于分离天然来源的高分配系数的目标产品，对于中药有机酸提取较为契合。此外，EUA-ATPE 有机溶剂和能源消耗较少，符合绿色化学及可持续发展目标，为其他植物有机酸提取提供一种新的思路。

从米糠中提取阿魏酸是一项艰难的任务，因为阿魏酸与半纤维素的交联较难打破，目前多采用酶解处理。Gadalkar 等^[31]建立了一种 UAE-EAE 预处理提取米糠中阿魏酸的新方法，使用固定在磁性纳米粒子 (magnetic nano particle, MNP) 上的阿魏酸酯酶 (ferulic acid esterase, FAE) 在超声波下对脱脂米糠进行预处理，MNP 固定化提高了 FAE 的可重复使用性，采用 CCD 优化的最佳工艺为液料比 32:1 (mL/g)，温度 42.2 °C，FAE 加酶量 2.82%，超声功率 84.85 W，该工艺下阿魏酸的最大产量可

达到 3.69 mg/g。

鳄嘴花含有较高的酚酸类成分, Chamutpong 等^[32]采用 UMAE 新技术提取鳄嘴花酚酸类成分, 发现咖啡酸和阿魏酸的提取率随微波功率增加和提取时间延长而降低, 最佳工艺为超声功率 150 W, 微波功率 50 W, 提取 3 min, 提取温度低于 60 °C。与 HRE 相比, UMAE 的提取率提高了 4 倍, 提取时间缩短了 60 倍, 说明超声波和微波的协同作用能够显著提高提取效率, 有利于制备高质量的鳄嘴花酚酸类原料, 目前已用于保健品、制药和化妆品等行业。Liu 等^[33]基于 ChCl 制备了 15 种 DES 并与 MAE 联合使用, 用于提取金花葵中包括新绿原酸、绿原酸、咖啡酸在内的 10 种天然抗氧化剂, 从 15 种 HBD 中筛选出水含量为 20% 的 1,4-丁二醇 (ChCl/1,4-丁二醇 = 1/2 mol/mol) 的提取率最高, 是传统提取介质和方法的 1.42~1.94 倍, 高于 DES 与 UAE、HRE 等联合使用, 并且提取时间更短, DES 至少可以循环使用 4 次, 有助于其进一步工业放大。

此外, 采用 TDES-MAE 提取杜仲叶中的绿原酸、京尼平苷酸^[34], 采用 MAE-旋转回流提取叶下珠中的丁二酸、原儿茶酸、没食子酸、咖啡酸、阿魏酸^[35], 采用 DES-UAE 提取 8 种唇形科植物 (迷迭香、柠檬香膏、鼠尾草、夏枯草、罗勒、牛至、薰衣草、野百里香) 中的迷迭香酸^[36], 采用 DES-双水相体系-NPEC 提取蓝莓叶中的绿原酸^[37], 采用匀浆辅助-NPEC 提取棕榈藤叶片中的总酚酸^[38]等均取得了较好的效果。

2 中药有机酸类成分的分离纯化

2.1 大孔吸附树脂色谱法

大孔吸附树脂 (简称“大孔树脂”) 是一类无交换基团、结构为大孔状的新型有机高分子交联聚合物, 孔径通常在 20~1 200 μm; 含水量较高, 常在 40%~75%; 在酸、碱及有机溶剂中理化性质稳定; 在 105 °C 下具有热稳定性; 在强离子、低分子化合物及无机盐中吸附性不受干扰; 比表面积大, 以物理吸附的方式形成分子间作用力 (范德华力、氢键), 使不同相对分子质量的有机物在不同分子间作用力下通过不同的溶剂得到洗脱分离 (图 1)。大孔树脂具有选择性好、适用范围广、吸附容量大、纯化效率高、操作简便、成本低、污染小、可再生等优点, 目前已实现工业化生产, 广泛用于大规模分离纯化中药有机酸成分。Charpe 等^[39]对比了采用 5 种不同的大孔树脂从甘草提取物中分离甘草酸,

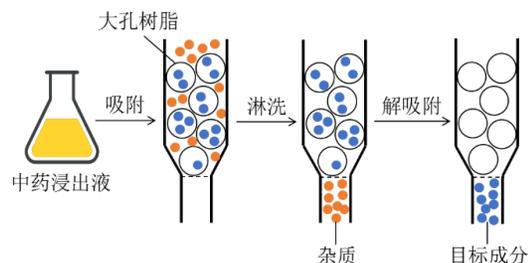


图 1 大孔吸附树脂色谱法示意图

Fig. 1 Schematic diagram of macroporous adsorption resin chromatography

结果 Indion 810 树脂的吸附/解吸性能最佳, 通过 60%乙醇动态脱附, 甘草酸的纯度从 14.3%提高到 71.5%, 回收率为 63.6%, 该研究为工业化大规模制备甘草酸奠定了基础。Zheng 等^[40]开发了一种联合使用聚酰胺和大孔吸附树脂从甘草粗提物中大规模生产甘草酸的绿色高效方案, 整个制备过程由 2 个简单的分离步骤组成, 第 1 步用聚酰胺树脂去除甘草粗提物中的甘草黄酮, 第 2 步用大孔树脂纯化甘草酸, 结果 HPD-400 树脂显示出最佳的吸附/解吸性能, 以乙醇-水为溶剂, 20 kg 原料可生产 0.43 kg 甘草酸, 纯度从 11.40%提高到 88.95%, 回收率为 76.53%, 有望将其扩展应用到从中药中大规模生产其他三萜类皂苷。Fan 等^[41]将丹参叶作为一种可再生的迷迭香酸来源, 建立了一种高效的大孔树脂富集技术富集迷迭香酸, 选取对迷迭香酸具有最高吸附/解吸能力的 X-5 树脂, 在吸附阶段, 迷迭香质量浓度、加载体积流量和样品量分别为 0.24 mg/mL、3 BV/h (BV 即柱体积) 和 12 BV; 在解吸阶段, 洗脱剂类型、洗脱体积流量和体积分别为 50%乙醇、3 BV/h 和 9 BV; 该研究在最佳参数下进行了工艺放大, 结果迷迭香酸的含量从 12.41%提高到 45.30%, 回收率达到 80.17%。此外, 采用大孔吸附树脂色谱法分离纯化紫草中的迷迭香酸^[42], 紫苏子中的迷迭香酸^[43], 杜仲叶中的绿原酸^[44], 金花葵中的新绿原酸、绿原酸、咖啡酸^[33]等也取得了较好的效果。

2.2 离子交换色谱法

有机酸在水或稀碱水中呈解离状态, 因此可采用离子交换树脂进行分离纯化。将中药浸出液通过强碱型阴离子交换树脂, 然后用水将树脂洗净, 再用稀酸洗脱, 即可得到游离的有机酸; 或将中药浸出液先通过强酸型阳离子交换树脂, 则氨基酸类和碱性成分交换于树脂上, 酸性成分和中性成分流

出, 再将流出液通过强碱性阴离子交换树脂, 则有有机酸根离子被交换在树脂上, 而其他杂质则被除

去, 再用水洗净树脂, 最后以稀酸或稀碱冲出交换在树脂上的有机酸^[45-46]。如图 2 所示。

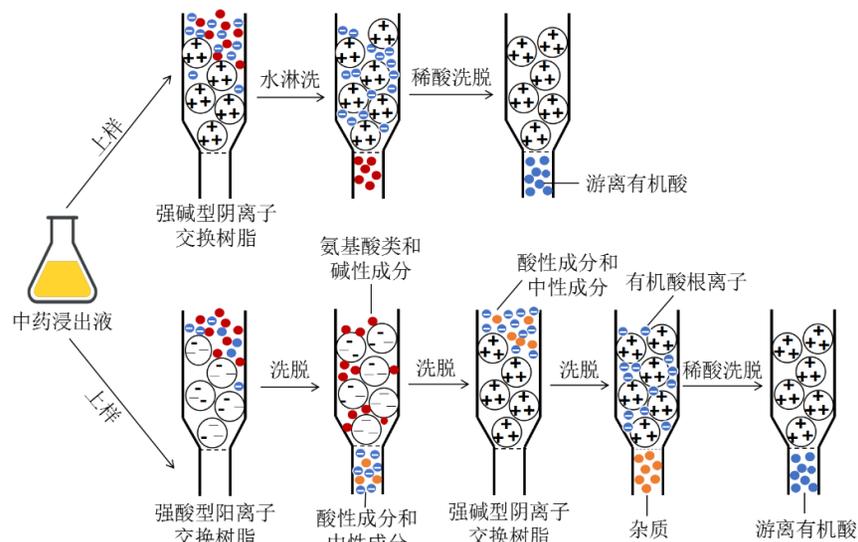


图 2 离子交换树脂分离纯化中药有机酸类成分

Fig. 2 Separation and purification of organic acid components in traditional Chinese medicine by ion exchange resin

李娜等^[47]以有机酸的收率为指标, 筛选分离纯化宣木瓜总有机酸的最佳离子交换树脂及洗脱剂浓度, 发现 717 型强碱性阴离子交换树脂交换能力最强, 最佳洗脱剂为 0.3 mol/L 盐酸, 纯化后有机酸纯度为 65.15%; 周亚菁等^[5]考察上样溶液质量浓度、pH 值、盐酸洗脱液浓度和体积流量对强碱型阴离子交换树脂纯化宣木瓜总有机酸的影响, 所得最佳纯化工工艺为上样溶液质量浓度 1 g/mL, 样品溶液 pH 值为 10, 盐酸洗脱液浓度为 0.3 mol/L, 体积流量为 3 mL/min, 所得总有机酸质量分数可达 67.66%。尹莲等^[48]比较了强碱型阴离子交换树脂法、石-硫法及大孔树脂法分离纯化加味四妙丸总有机酸提取物的方法, 结果表明强碱型阴离子交换树脂法最好, 提取液通过强碱型阴离子交换树脂柱, 以水洗脱至无色, 取树脂晾干, 用 5% 乙酸酸化, 正丁醇提取, 提取物纯度为 88.9%, 纯化得率为 89.1%。

2.3 色谱联合使用

将不同的纯化色谱联合使用, 可得到比单一色谱更好的纯化效果, 实现多种有机酸成分的同时分离, 这也是目前中药有机酸分离纯化的主要手段与研究方向, 如常将大孔树脂与聚酰胺色谱联合使用, 阴离子交换树脂与阳离子交换树脂联合使用, 硅胶、大孔树脂、小孔树脂 (即聚苯乙烯基的反相树脂填料, MCI)、凝胶、十八烷基硅烷键合硅胶填料 (octadecyl silane, ODS) 柱色谱及制备 HPLC 等

联合使用。Tang 等^[49]采用 UAE 法提取紫苏子中的迷迭香酸, 再采用大孔树脂联合聚酰胺柱色谱法进行纯化, 从 9 种大孔树脂中优化出 SP825 树脂最佳, 迷迭香酸的含量从原始提取物中的 0.27% 增加到 50% 乙醇馏分中的 16.58%, 增加了 61.4 倍; 采用聚酰胺树脂进一步纯化, 在 70% 的乙醇馏分中得到纯度达 90.23% 的迷迭香酸; 最后通过一次结晶后获得纯度更高 (>95%) 的迷迭香酸。该技术方法简单、易操作、成本-效益高、环境友好, 适用于大规模生产迷迭香酸和废物管理。赵彦巧等^[50]在纯化玫瑰茄提取物中的玫瑰茄花色苷的过程中, 采用 D301 弱碱性阴离子交换树脂与 001x7 强酸性氢型阳离子交换树脂联合法回收有机酸流出液, 所得有机酸部位对 2,2-二苯基-1-苦味肼自由基、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐自由基、羟基自由基的清除率分别达到 96.24%、99.23% 和 95.77%。邹奇缘等^[51]联合使用硅胶柱、ODS 柱、Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱、RP-C₁₈ 柱、MCI gel 柱及半制备 HPLC 分离狭叶茴香果实中的有机酸成分, 醋酸乙酯部位用硅胶柱 (100~200 目) 分离, 二氯甲烷-甲醇梯度洗脱, 所得 G5 馏分经 ODS 柱分离, 甲醇-水梯度洗脱, 所得 G5-2 馏分经 MCI 柱色谱分离, 所得 G5-2-1 馏分经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离得到水杨酸; 所得 G5-1 馏分经甲醇重结晶得到原儿茶酸; 所得 G5-1-5 馏分经 Sephadex LH-

20 凝胶柱色谱分离, 所得 G5-1-5-20 馏分为邻羟基肉桂酸。

此外, 采用色谱联合技术分离纯化马齿苋中的 oleraceacid A、B^[52], 多裂黄檀中的 3-(3,4-dihydroxybenzoyl) propionic acid、3-*O*-乙酰基齐墩果酸、齐墩果酸、香草酸、原儿茶酸、亚油酸^[53], 贯叶金丝桃中的模绕酮酸、白桦脂酸^[54], 红景天中的对羟基桂皮酸、咖啡酸、1-feruloyloxy-2-methoxy cinnamic acid^[55], 青钱柳叶中的 arjunolic acid^[56], 瓜蒌皮中的对羟基苯甲酸、香草酸、烟酸^[57], 灯笼草中的 2 α ,3 α -二羟基齐墩果酸、山楂酸、2 α ,3 α -二羟基熊果酸^[58], 红紫珠中的 13,14,15,16-四降碳-3-克罗-12,18-二羧酸、对映异海松烷-8(14),15-烯-19-羧酸、15-去甲基半日-8(20)12*E*-二烯-14-甲醛-19-羧酸、粘叶菝葜酸、amphiacric acid A、patagonic acid、去甲基左旋哈氏豆属酸、15-羟基-16-羧基-15,16*H*-左旋哈氏豆属酸^[59], 覆盆子中的阿江榄仁酸、野鸦椿酸、fupenzic acid^[60], 中麻黄中的苯甲酸、5-(4-羟基苯基)-2-戊烯酸、原儿茶酸、3,5-二羟基-4-甲氧基苯甲酸、丁香酸、3-hydroxy-4-methoxy-benzene carboxylic acid、香草酸^[61], 北方枸杞中的菜豆酸、2*E*,4*Z*-脱落酸、(*E*)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl) acrylic acid、阿魏酸、3-甲氧基-4-羟基苯丙酸、反式对羟基肉桂酸^[62], 莲须中的 2 α -羟基齐墩果酸、齐墩果酸^[63], 刺山柑果实中的二氢菜豆酸、表二氢菜豆酸、异香草酸、2-甲基苯并恶唑-7-羧酸、反式肉桂酸、对羟基苯甲酸、吡啶乙酸、香草酸^[64], 交趾黄檀中的棕榈酸、亚油酸^[65], 越橘中的酚酸类成分^[66]等也取得了较好的效果。

2.4 新材料色谱技术

目前, 已有的分离纯化材料并不能完全满足中药有机酸的分离纯化需求, 近年来研究界已开发出了一些高效分离纯化中药有机酸的色谱新材料。Zhang 等^[67]通过醛和酰肼单体缩合成功构建了一系列掺杂不同比例 (*X*) 季铵盐单体的阴离子交换共价有机骨架材料 (命名为 AECOF-42-B_{*x*}, *x*=0~100) 用来分离甘草酸, 其中 AECOF-42-B50 由于其阳离子骨架、适宜的孔径及高结晶度而表现出快速和选择性吸附性能, 甘草酸在该材料上吸附的主要作用力是离子交换为主的静电力; 使用盐酸/乙醇作为洗脱剂, 被吸附的甘草酸的解吸率可达 100%, 并在洗脱时实现 AECOF 再生; 以 AECOF-42-B50 为分离介质的固相萃取柱还成功实现了甘

草酸在生物发酵系统中的提取分离, 提取率超过 90%, 纯度高于 99%, 且经过 50 次吸附循环、洗脱和再生后, 该柱仍可保持其初始效率。该新材料优异的吸附/分离性能和高稳定性, 适宜作为甘草酸的高性能分离介质, 为纯化天然产物提供了一种新的材料。

Zhang 等^[68]开发了一种新的改性纤维素微球来代替大孔树脂, 用于桑叶提取物中绿原酸的富集, 改性纤维素微球的制备过程类似滴丸, 将纤维素溶液滴入油溶液中处理后得到微球, 在微球表面沉淀纳米氧化铝颗粒作为配体, 并使用不同的离子液体进行修饰, 得到 7 种不同的离子液体修饰的纤维素微球 (CM-IL), 以 50% 甲醇与 5% 乙酸为溶液进行解吸, 结果显示 7 种不同的 CM-IL 对绿原酸的吸附能力相近 (约 90 mg/g), 但均较 3 种商用大孔树脂的吸附能力 (约 30 mg/g) 高 3 倍以上, 同时 CM-IL 在 40 min 内即达到吸附平衡, 而大孔吸附树脂则需要 150 min。该 CM-IL 材料实现高效富集绿原酸的技术原理可能在于: (1) 绿原酸与表面基团之间的强相互作用; (2) 经离子液体修饰后微球的亲水性有较大提升, 可充分分散到绿原酸水溶液中, 大大增加了接触面积, 从而加快提取速率; (3) 现有的大孔吸附树脂通常由苯乙烯和乙烯聚合而成, 虽然这些官能团与有机酸具有很强的 π - π 相互作用力, 但却牺牲了大孔吸附树脂的亲水性。

2.5 分子印迹技术

分子印迹技术是新兴发展起来的一种基于仿生识别原理的高选择性分离技术, 其分离原理是通过模板分子、功能单体和交联剂的定向聚合, 形成具有特定三维空穴结构的聚合物——分子印迹聚合物 (molecularly imprinted polymer, MIP), MIP 的空穴在去除模板分子后可实现对目标分子的特异性识别, 其作用机制类似于“锁-钥”匹配模型, 具有高选择性、高稳定性及可重复使用等优点^[69], 见图 3。Baydemir 等^[70]合成了一种基于甲基丙烯酸-2-羟乙酯的单宁酸印迹粒子嵌入式低温凝胶 (2-hydroxyethyl methacrylate-based tannic acid-imprinted particle embedded cryogel, TA-MIP), 用于分离纯化石榴皮中的单宁酸, 并与合成的非印迹粒子嵌入式低温凝胶 (non-imprinted particle embedded cryogel, NIP) 及对照非嵌入式低温凝胶进行比较, TA-MIP、NIP 的颗粒包埋柱比表面积分别为 29、25 m²/g, 显著高于对照非嵌入式低温凝胶 (9 m²/g);

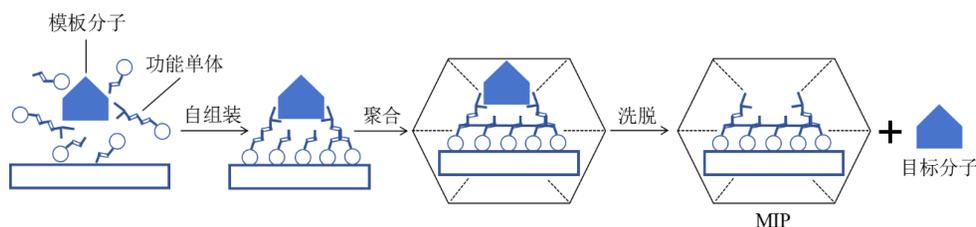


图 3 分子印迹技术示意图

Fig. 3 Schematic diagram of molecular imprinting technology

吸附研究发现,TA-MIP 的最大单宁酸吸附量为 34.4 mg/g, NIP 为 3.9 mg/g, 对照凝胶为 2.8 mg/g, 并且对单宁酸有较高的选择性;此外, TA-MIP 凝胶柱可以重复使用,且不会显著减少鞣质酸的吸附量。Xu 等^[71]以齐墩果酸为模板分子,以丙烯酰胺为功能单体,以乙二醇二甲基丙烯酸酯为交联剂,以偶氮二异丁腈为引发剂,以氯仿为致孔溶剂,合成了一种用于选择性分离齐墩果酸的 MIP,能够在 2 h 内达到对齐墩果酸的吸附平衡,吸附容量高达 124.68 mg/g;将该 MIP 装入固相萃取柱中,从女贞子提取物中富集齐墩果酸,用 0.5 mL 甲苯淋洗,用 4 mL 甲醇洗脱,可使提取物中齐墩果酸的富集率达到 76%。该研究为从复杂基质中分离和富集齐墩果酸提供了一种有效的方法,也为其他三萜类化合物的分离和富集提供了新思路。Fu 等^[72]合成了一种以磁性碳纳米管 (magnetic carbon nanotubes, MCNTs) 为载体的 MIP (MCNTs@FA-MIPs),并结合 HPLC 法用于分离、富集和测定川芎提取物中阿魏酸,结果表明,制备的 MCNTs@FA-MIPs 具有优异的磁性能和均匀外观,表现出较好的吸附动力学性能,吸附平衡时间 2 h,吸附容量 50 mg/g,分离因子为 1.73,实现了阿魏酸的高特异性和快速分离。此外,采用分子印迹技术分离纯化紫苏及迷迭香中的迷迭香酸^[73],迷迭香中的迷迭香酸^[74],越橘中的齐墩果酸^[75],蒲公英、金银花、杜仲叶中的绿原酸、咖啡酸^[76],五倍子中的没食子酸^[77],鱼腥草中的马兜铃酸^[78]等也取得了较好的效果。

MIP 与材料科学密切交叉,磁性分子材料、碳基纳米材料等前沿热点材料为 MIP 提供了广阔、先进的发展空间。MIP 用于分离中药有机酸类成分有多种应用情景,如可作为分离色谱的固定相,作为固相萃取柱的填充物,还可将 MIP 和膜分离技术结合制成分子印迹聚合物分离膜等,但是也存在操作过程繁琐,需要大量洗脱剂,易造成二次污染及再生性能差等不足。

2.6 膜分离技术

膜分离技术是利用半透膜作为选择障碍层进行成分分离的技术,膜两侧的能量差是分离的推动力,各组分透过膜的迁移率不同而达到分离(图 4)。膜分离技术同时兼有分离、浓缩、纯化及精制的功能,具有环保、操作简单、效率高、节能等特点。目前已实现商用的分离膜主要有微滤膜、超滤膜、纳滤膜、反渗透膜、电渗析膜、液膜分离等,其中微滤膜、超滤膜、纳滤膜在有机酸分离中应用较多^[79]。Neagu 等^[80]采用微滤和超滤对苦艾及青蒿提取物进行分离制备,并评估了所得成分的抗糖尿病和抗炎活性,使用孔径为 0.45 μm 的再生纤维素微滤膜进行微滤,去除常规过滤对应的最小限度 (5 μm) 和超滤最大限度 (0.1 μm) 之间的极细胶体颗粒,微滤液用再生纤维素膜进行超滤,截留相对分子质量为 3 000,结果在苦艾超滤物中鉴定出绿原酸及迷迭香酸,在青蒿超滤物中鉴定出绿原酸。周博等^[81]建立了一种采用超滤-络合萃取技术从甘草提取物中制备甘草酸的新工艺,提取液用 10 nm 无机陶瓷膜在 25 °C、0.12 MPa 压强下超滤;最佳络合萃取工艺条件为超滤液 pH 值为 2,萃取剂为三烷基氧化膦-磺化煤油 5 : 95,有机相与水相体积比为 1 : 1,甘草酸平均萃取率达到 99.2%;甘草酸最佳反萃取工艺条件为 22.5 mmol/L NaOH 水溶液为反萃取剂,

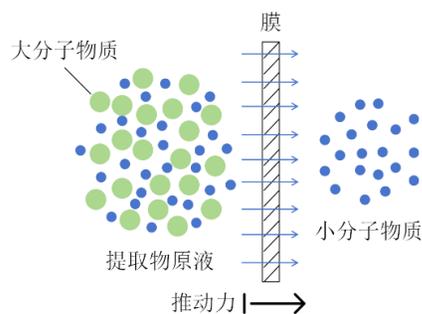


图 4 膜分离技术示意图

Fig. 4 Schematic diagram of membrane separation technology

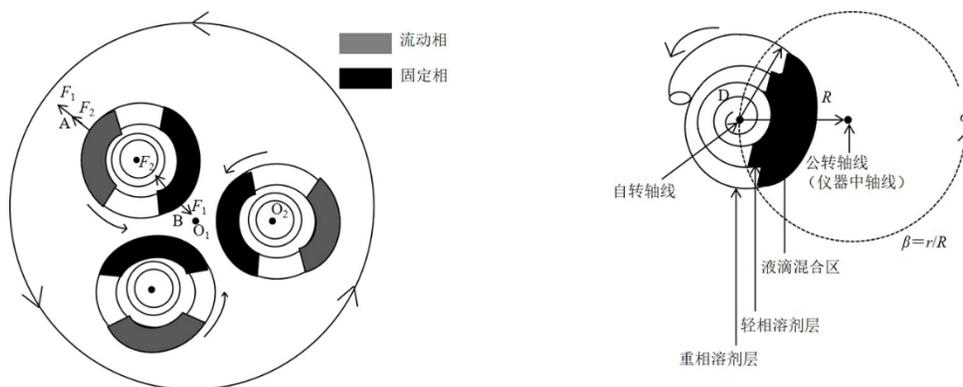
有机相与反萃取剂体积比 1 : 1, 甘草酸单次反萃取率达到 98.8%, 甘草酸总转移率为 98.1%。超滤膜对不同有机酸具有一定的选择性, 不完全遵守膜孔径的相对分子质量通过规律, 可能受膜材料结构、膜结构与成分结构间的相互作用等因素影响。陈雅萍等^[82]研究表明, 经聚醚砜膜超滤后丹参滴注液中的 9 个酚酸类活性成分相对超滤前无明显变化; 经聚砜膜超滤后丹参素钠、原儿茶醛、咖啡酸、异阿魏酸、迷迭香酸等成分含量无明显变化, 而丹酚酸 D、丹酚酸 B、紫草酸含量均下降了约 20%, 丹酚酸 A 含量明显降低, 平衡时最终含量仅有原液中的 20% 左右; 在超滤过程中 2 种膜均会造成丹酚酸 A 损失, 而在聚砜膜中损失更多, 主要是吸附作用所引起。此外, 配伍会影响有机酸成分的超滤分离。吴鑫等^[83]研究表明, 绿原酸与碱性较强的生物碱配伍后, 其超滤分离性能下降 15%, 二者解离常数差值越大, 越倾向于形成复合盐, 膜截留特征越明显。章莲等^[84]基于纳滤溶解扩散理论探索了热毒宁注射液醇沉浓度对绿原酸分子态比例及传质行为的调控规律, 建立的纳滤传质数学模型分析表明, 醇沉浓度为 60%~80% 时, 以分子态形式存在的绿原酸比例为 22.21%~82.43%, 随着醇沉浓度升高, 绿原酸的主要存在状态由离子态、缔合态向分子态过渡, 纳滤分离行为可通过“溶解扩散-孔道位阻”效应协同调控分离, 为有机溶液环境下的成分有序分离提供了研究思路。此外, 采用超滤技术分离纯化

甘草中的甘草酸^[85], 金银花中的绿原酸^[86], 迷迭香中的迷迭香酸^[87]也取得了较好的效果。

膜分离技术在中药有效成分的高效分离中具有较好的应用前景, 并且可与其他提取技术, 大孔树脂、电渗析等分离技术, 及液相色谱、质谱等检测技术联用, 但也存在易发生膜污染与通量衰减, 被分离物分子量重叠会导致选择性不足, 截留率与透过率存在矛盾, 高性能膜价格昂贵, 工业放大受限等问题。

2.7 高速逆流色谱 (high speed counter-current chromatography, HSCCC) 技术

HSCCC 是 20 世纪 80 年代发展起来的一种无固体载体的液-液分配色谱技术, 分离原理是基于物质在互不相溶的两相溶剂系统中分配系数的差异, 通过特殊的螺旋管柱设计, 在高速行星式运动中形成稳定的流体动力学平衡 (图 5), 实现复杂混合物中目标成分的高效分离^[88], 如图 6 所示。HSCCC 完全采用液态分离体系, 有效避免了传统色谱填料对样品的不可逆吸附, 尤其适于分离热敏性等不稳定成分, 且可与大孔树脂、质谱、HPLC、超临界流体萃取、膜分离等技术耦合使用。Yang 等^[89]分离橄榄中的齐墩果酸和熊果酸, 将橄榄渣粉碎并用石油醚进行索氏提取以去除粗脂肪, 再将脱脂橄榄渣进行高剪切提取, 所得滤液以 HSCCC 进行分离, 以正己烷-二氯甲烷-甲醇-水 2 : 1 : 2 : 1 为溶剂体系, 温度 25 °C, 转速 950 r/min, 体积流量 2 mL/min,



O_1 -公转轴; O_2 -自转轴; F_1 -公转时产生的离心力; F_2 -自转时产生的离心力; A- F_1 、 F_2 方向一致, 固定相、流动相分层; B- F_1 、 F_2 方向相反, 固定相、流动相混合; D-螺旋管直径; R-螺旋管柱自转轴与公转轴距离; ω -角速度; r-螺旋管半径; β -分配比。

O_1 -revolution axis; O_2 -rotation axis; F_1 -centrifugal force generated during revolution; F_2 -centrifugal force generated during rotation; A-directions of F_1 and F_2 are consistent, and stationary phase and mobile phase are layered; B-directions of F_1 and F_2 are opposite, and stationary phase and mobile phase are mixed; D-spiral tube diameter; R-distance between rotation axis and revolution axis of spiral tube; ω -angular velocity; r-spiral tube radius; β -partition ratio.

图 5 HSCCC 的 2 种分离原理

Fig. 5 Two separation principles of HSCCC

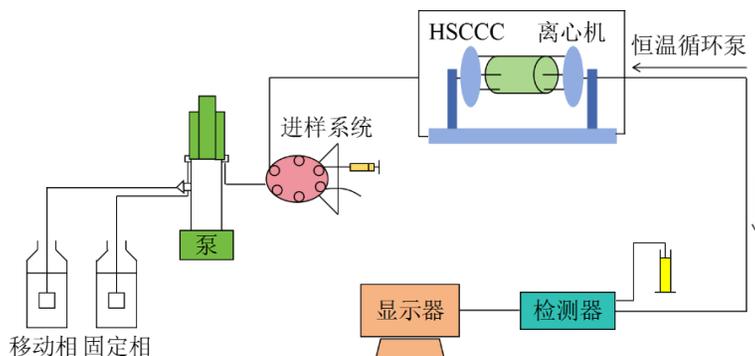


图6 HSCCC技术示意图

Fig. 6 Schematic diagram of HSCCC

检测波长 210 nm, 从 3.3 g 脱脂橄榄渣中分离得到 7.2 mg 质量分数为 93.8% 的齐墩果酸和 2.3 mg 质量分数为 90.1% 的熊果酸。Tan 等^[90]采用 D101 大孔树脂结合 HSCCC 分离纯化山茱萸提取物中的没食子酸, D101 大孔树脂以 55% 乙醇洗脱, 初步纯化提取物, 去除杂质; HSCCC 分离以正己烷-醋酸乙酯-甲醇-水 1:5:1:5 为溶剂体系, 转速 900 r/min, 体积流量 1.5 mL/min, 检测波长 254 nm, 最终没食子酸的纯度达到 98.72%。Li 等^[91]采用 HSCCC 结合半制备 HPLC 从益母草中成功分离并鉴定了 3 种葡萄糖二酸, 首先采用阳离子交换色谱除去生物碱并富集葡萄糖二酸组分; 再采用 HSCCC 进一步分离和纯化, 以醋酸乙酯-正丁醇-甲酸-水 1:1:0.01:2 为溶剂体系, 上相作为固定相, 下相作为流动相, 转速 850 r/min, 体积流量 1.5 mL/min, 检测波长 296 nm; 最后采用半制备 HPLC 得到 2-丁香基葡萄糖二酸、2,4-二丁香基葡萄糖二酸和 3,4-二丁香基葡萄糖二酸 3 种单体成分, 质量分数分别为 90.0%、91.0% 和 95.3%。此外, 采用 HSCCC 技术分离纯化竹叶中的绿原酸^[92], 石榴皮中的鞣花酸^[93], 甘草中的甘草酸^[94], 紫苏叶中的迷迭香酸、咖啡酸^[95]也取得了较好的效果。

2.8 其他分离技术

除了上述几种技术外, 目前还报道了分散液-液微萃取 (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME) 技术用于中药有机酸分离。Liu 等^[96]开发了一种基于反胶束的三相 DLLME 技术, 用于分离中药中肉桂酸类成分的质量标志物 (咖啡酸、对羟基肉桂酸、阿魏酸和肉桂酸), 三相萃取体系以正己烷为萃取溶剂, 含反胶束的水相作为分散相, 反胶束由丁二酸二异辛酯磺酸钠在有机溶剂中形成, 提取物作为水相; 将萃取溶剂和含反胶束的分散相混合, 形成微小的液滴分散在水相中, 在剧烈搅拌下

目标化合物从水相转移到反胶束中, 并最终富集在萃取相中, 静置分层后分离出萃取相用于 HPLC 分析, 该分离方法的富集因子为 110~189, 并成功应用于多种单味中药及复方, 具有操作简单、快速、环保等优点。

3 结语与展望

中药有机酸类成分在中药乃至天然药物的基础研究、产品开发、生产实践中均具有重要价值, 其有效部位及单体成分的提取及分离纯化, 是相关领域的持续研究热点, 也是中药有机酸类新药研发的重要技术支撑。随着现代提取、分离纯化及分析技术的不断发展, 新的有机酸类成分及潜在生物活性不断被发现, 为中药现代化发展提供了重要的支撑。中药为有机酸类成分提供了丰富的天然来源, 成分结构与药理作用也呈现多样化, 为候选化合物筛选及新药研发提供了巨大的“宝库”, 因此兼具基础研究、新药研发、产业转化等多重价值, 应用前景广阔。

目前针对中药有机酸类成分的提取及分离纯化方法有很多, 但每种方法各有其适用范围及优缺点, 应根据目标成分理化性质及其他成分的干扰等因素, 选用一种技术或多技术联合使用, 以达到最佳的提取及分离纯化效果。当前, 中药有机酸的提取及分离纯化相关研究的文献体量较大, 但主要是已有技术的拓展性使用、联合使用及工艺参数优化, 而新材料、新技术、新设备则研究较少。目前, 研究界已开发出了数种能够高效分离纯化中药有机酸的色谱新材料, 如新型有机骨架材料、分子印迹凝胶、改性纤维素微球等, 分离纯化效率明显高于传统色谱材料。未来, 应基于材料学、化学、生物学等交叉学科技术, 积极开发、应用能够高效、绿色分离纯化中药有机酸的新材料与新技术, 助力

中药有机酸候选化合物发现及新药研发。

当前,新的提取及分离纯化技术正在不断地被开发出来,提取、分离、纯化之间的界限也越来越模糊,而是更侧重于多种技术的集成与耦合使用,同步实现提取、分离、纯化、检测,这也是目前研究的热点之一。联合国《2030 年可持续发展议程》设想在所有技术过程中合理使用能源和资源^[97],这在中药成分的提取分离纯化中同样重要。目前,在相关研究中迫切需要减少有机溶剂尤其是有毒溶剂的使用,提高能源使用效率,节能减排。多项研究证实,多技术联合使用及新型技术用于中药有机酸类成分提取及分离纯化,表现出更省时高效、节约溶剂、降低能耗、适合大生产、效率高于单一技术等优势,更符合可持续发展、绿色发展、节能减排等新发展理念。

人工智能 (artificial intelligence, AI) 辅助中药研究,尤其是精确、靶向的提取、分离纯化、鉴定等是未来发展的大势所趋。随着 AI 时代的到来,中药研究必将经历从经验驱动到数据驱动、从盲目筛选到精准定位的范式革新。在中药有机酸的提取及分离纯化中, AI 可通过基于机器学习、深度学习和大数据分析的等新型研究范式,整合历史实验数据及多维数据,预测最优工艺方案,减少试错实验次数,缩短研发周期,优化试剂种类及用量,减少有机试剂使用和废弃物排放,降低成本,显著提高目标成分提取、分离纯化效率与精准度。可通过 AI 构建有机酸的提取溶剂数据库,自动匹配及推荐高亲和力、低成本的提取及分离纯化溶剂,预测有机酸与溶剂的相互作用路径,优化萃取或吸附过程。AI 通过分析历史实验数据,可辅助建立提取、分离效率与工艺参数的关联模型,推荐最佳工艺路线。在自动化提取及分离纯化设备中集成 AI 算法,通过传感器数据实时调整工艺参数,可确保工艺过程稳定,还可实现从原料预处理、提取、分离纯化、分析鉴定的全链条无人操作。目前, AI 用于中药有机酸的精确、靶向的提取、分离纯化、鉴定等的报道不多,是未来研究的重要方向之一。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Shen Z N, Wu Y, Zhou L, *et al.* The efficacy of sodium ferulate combination therapy in coronary heart disease: A systematic review and Meta-analysis [J]. *Phytomedicine*, 2023, 115: 154829.
- [2] Zhang W, Zhang S, Yang H G, *et al.* Salviolic acids for injection alleviates cerebral ischemia-induced neurodegeneration by inhibiting endoplasmic reticulum stress and neuroinflammation [J]. *Pharmacol Res Mod Chin Med*, 2023, 6: 100211.
- [3] 叶炳炳, 石森林. 正交试验优化桂枝总有机酸乙醇回流提取工艺 [J]. *中国现代应用药学*, 2016, 33(4): 428-431.
- [4] 熊科元, 万丹娜, 邵峰, 等. 星点设计-响应面法优化山楂有机酸的提取工艺 [J]. *中国药房*, 2017, 28(16): 2241-2243.
- [5] 周亚菁, 查日维, 谢晓梅, 等. 宣木瓜总有机酸的提取和纯化工艺优化 [J]. *中成药*, 2015, 37(3): 664-666.
- [6] 焦红军, 许真真. 响应面分析法对蒲公英药材中有机酸类成分提取工艺的优化 [J]. *山东医药*, 2016, 56(18): 92-93.
- [7] Xia E Q, Yu Y Y, Xu X R, *et al.* Ultrasound-assisted extraction of oleanolic acid and ursolic acid from *Ligustrum lucidum* Ait [J]. *Ultrason Sonochem*, 2012, 19(4): 772-776.
- [8] 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.
- [9] Ebrahimi P, Bayram I, Lante A N, *et al.* Acid-hydrolyzed phenolic extract of parsley (*Petroselinum crispum* L.) leaves inhibits lipid oxidation in soybean oil-in-water emulsions [J]. *Food Res Int*, 2024, 187: 114452.
- [10] 薄晓玮, 杨志萍, 綦国红. 乌梅有机酸提取条件优化及其对生物膜形成的抑制作用 [J]. *湖北农业科学*, 2020, 59(13): 118-122.
- [11] 张丹丹, 姜修婷. 乌梅有机酸的提取工艺及其抑菌活性 [J]. *生物加工过程*, 2018, 16(3): 47-52.
- [12] Fang X S, Wang J H, Hao J F, *et al.* Simultaneous extraction, identification and quantification of phenolic compounds in *Eclipta prostrata* using microwave-assisted extraction combined with HPLC-DAD-ESI-MS/MS [J]. *Food Chem*, 2015, 188: 527-536.
- [13] Sik B, Hanczné E L, Kapcsándi V, *et al.* Conventional and nonconventional extraction techniques for optimal extraction processes of rosmarinic acid from six Lamiaceae plants as determined by HPLC-DAD measurement [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 184: 113173.
- [14] Upadhyay R, Ramalakshmi K, Jagan Mohan Rao L. Microwave-assisted extraction of chlorogenic acids from green coffee beans [J]. *Food Chem*, 2012, 130(1): 184-188.
- [15] Qu W X, Mou Z L, Cui H Y, *et al.* Analysis of fatty acids

- in *A. szechenyianum* Gay. by microwave-assisted extraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Phytochem Anal*, 2011, 22(3): 199-204.
- [16] Ali M, Hazra D K, Naiya H, *et al.* Microwave-assisted extraction and purification of aleuritic acid from seedlac: A fast, eco-friendly and cost-effective single process for enhanced yield and purity [J]. *Chem Eng Process Process Intensif*, 2024, 197: 109716.
- [17] Durmus N, Kilic-Akyilmaz M. Bioactivity of non-extractable phenolics from lemon peel obtained by enzyme and ultrasound assisted extractions [J]. *Food Biosci*, 2023, 53: 102571.
- [18] Liu T T, Sui X Y, Li L, *et al.* Application of ionic liquids based enzyme-assisted extraction of chlorogenic acid from *Eucommia ulmoides* leaves [J]. *Anal Chim Acta*, 2016, 903: 91-99.
- [19] Kovač M J, Jokić S, Jerković I, *et al.* Optimization of deep eutectic solvent extraction of phenolic acids and tannins from *Alchemilla vulgaris* L [J]. *Plants*, 2022, 11(4): 474.
- [20] Bayram S, Kutlu N, Gerçek Y C, *et al.* Bioactive compounds of deep eutectic solvents extracts of *Hypericum perforatum* L.: Polyphenolic-organic acid profile by LC-MS/MS and pharmaceutical activity [J]. *Food Biosci*, 2022, 49: 101926.
- [21] Tian M F, Wang W H, Ahmad N, *et al.* From medicinal and food homologous biomass to total glycosides in *Rehmannia glutinosa* leaves extracts: Microemulsion-based negative pressure cavitation-assisted extraction [J]. *Chem Eng Res Des*, 2023, 192: 500-509.
- [22] Roohinejad S, Koubaa M, Barba F J, *et al.* Negative pressure cavitation extraction: A novel method for extraction of food bioactive compounds from plant materials [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2016, 52: 98-108.
- [23] Kong Y, Wei Z F, Fu Y J, *et al.* Negative-pressure cavitation extraction of cajanin stilbene acid and pinostrobin from pigeon pea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] leaves and evaluation of antioxidant activity [J]. *Food Chem*, 2011, 128(3): 596-605.
- [24] Wang X Q, Wei F Y, Wei Z F, *et al.* Homogenate-assisted negative-pressure cavitation extraction for determination of organic acids and flavonoids in honeysuckle (*Lonicera japonica* Thunb.) by LC-MS/MS [J]. *Sep Purif Technol*, 2014, 135: 80-87.
- [25] Pappas V M, Athanasiadis V, Palaiogiannis D, *et al.* Pressurized liquid extraction of polyphenols and anthocyanins from saffron processing waste with aqueous organic acid solutions: Comparison with stirred-tank and ultrasound-assisted techniques [J]. *Sustainability*, 2021, 13(22): 12578.
- [26] Souza M C, Santos M P, Sumere B R, *et al.* Isolation of Gallic acid, caffeine and flavonols from black tea by on-line coupling of pressurized liquid extraction with an adsorbent for the production of functional bakery products [J]. *LWT*, 2020, 117: 108661.
- [27] Olejar K J, Kinney C A. Evaluation of thermo-chemical conversion temperatures of cannabinoid acids in hemp (*Cannabis sativa* L.) biomass by pressurized liquid extraction [J]. *J Cannabis Res*, 2021, 3(1): 40.
- [28] Anderson L L, Heblinski M, Absalom N L, *et al.* Cannabigerolic acid, a major biosynthetic precursor molecule in *Cannabis*, exhibits divergent effects on seizures in mouse models of epilepsy [J]. *Br J Pharmacol*, 2021, 178(24): 4826-4841.
- [29] Li P, Li S P, Lao S C, *et al.* Optimization of pressurized liquid extraction for *Z*-ligustilide, *Z*-butylidenephthalide and ferulic acid in *Angelica sinensis* [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2006, 40(5): 1073-1079.
- [30] Song X J, Liu C, Zhang Y, *et al.* Sustainable extraction of ligustilide and ferulic acid from *Angelicae Sinensis Radix*, for antioxidant and anti-inflammatory activities [J]. *Ultrason Sonochem*, 2023, 94: 106344.
- [31] Gadalkar S M, Rathod V K. Pre-treatment of ferulic acid esterases immobilized on MNPs to enhance the extraction of ferulic acid from defatted rice bran in presence of ultrasound [J]. *Biocatal Agric Biotechnol*, 2017, 10: 342-351.
- [32] Chamutpong S, Chen C J, Chairateep E O. Optimization ultrasonic-microwave-assisted extraction of phenolic compounds from *Clinacanthus nutans* using response surface methodology [J]. *J Adv Pharm Technol Res*, 2021, 12(2): 190-195.
- [33] Liu J Z, Lyu H C, Fu Y J, *et al.* Simultaneous extraction of natural organic acid and flavonoid antioxidants from *Hibiscus manihot* L. flower by tailor-made deep eutectic solvent [J]. *LWT*, 2022, 163: 113533.
- [34] Yu L, Cao L, Chang Y H, *et al.* Enhanced extraction performance of iridoids, phenolic acids from *Eucommia ulmoides* leaves by tailor-made ternary deep eutectic solvent [J]. *Microchem J*, 2021, 161: 105788.
- [35] 韦寿莲, 刘君红, 严子军, 等. 微波辅助-旋转回流提取仪的组装及其在叶下珠有机酸提取中的应用 [J]. *分析测试学报*, 2009, 28(7): 773-779.
- [36] Jurić T, Ružica Ž P, Uka D, *et al.* Natural deep eutectic solvents-mediated extraction of rosmarinic acid from Lamiaceae plants: Enhanced extractability and anti-inflammatory potential [J]. *Ind Crops Prod*, 2024, 214:

- 118559.
- [37] Wang T, Xu W J, Wang S X, *et al.* Integrated and sustainable separation of chlorogenic acid from blueberry leaves by deep eutectic solvents coupled with aqueous two-phase system [J]. *Food Bioprod Process*, 2017, 105: 205-214.
- [38] 王引航, 李俊含, 孙晋德, 等. 匀浆负压空化法提取棕榈藤酚酸类化合物及其光热稳定性研究 [J]. *植物学研究*, 2018, 7(1): 37-44.
- [39] Charpe T W, Rathod V K. Separation of glycyrrhizic acid from licorice root extract using macroporous resin [J]. *Food Bioprod Process*, 2015, 93: 51-57.
- [40] Zheng Y F, Wei J H, Qi L W, *et al.* A green and efficient protocol for large-scale production of glycyrrhizic acid from licorice roots by combination of polyamide and macroporous resin adsorbent chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2013, 36(4): 809-816.
- [41] Fan Q B, Li Y. Enrichment of rosmarinic acid from *Salvia przewalskii* Maxim. leaves using macroporous resin: Adsorption/desorption behavior, process optimization followed by scale-up [J]. *Ind Crops Prod*, 2023, 191: 115931.
- [42] Alizadeh P, Alizadeh P, Rahimi M, *et al.* Enrichment of rosmarinic acid from comfrey (*Symphytum officinale* L.) root extract by macroporous adsorption resins and molecular docking studies [J]. *Ind Crops Prod*, 2024, 214: 118541.
- [43] Zhang J H, Zhang M, Bai B Q, *et al.* Studies on adsorption kinetics and thermodynamics of macroporous resin for rosmarinic acid [J]. *J Oleo Sci*, 2021, 70(3): 439-451.
- [44] Jiang H, Li J, Chen L, *et al.* Adsorption and desorption of chlorogenic acid by macroporous adsorbent resins during extraction of *Eucommia ulmoides* leaves [J]. *Ind Crops Prod*, 2020, 149: 112336.
- [45] 尹志义, 郭为磊, 王丽欣, 等. 离子交换树脂在天然药物化学中的应用进展 [J]. *化学工程与装备*, 2023(3): 197-199.
- [46] Ahmad A, Othman I, Taher H, *et al.* Lactic acid recovery from date pulp waste fermentation broth by ions exchange resins [J]. *Environ Technol Innov*, 2021, 22: 101438.
- [47] 李娜, 金敬红, 姜洪芳, 等. 宣木瓜总有机酸的纯化及镇痛抗炎作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(1): 113-116.
- [48] 尹莲, 杨大凯, 裘颖儿. 加味四妙丸中总有机酸总量测定及分离纯化研究 [J]. *中成药*, 2006, 28(4): 552-554.
- [49] Tang W Z, Sun B S, Zhao Y Q. Preparative separation and purification of rosmarinic acid from *Perilla* seed meal via combined column chromatography [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2014, 947/948: 41-48.
- [50] 赵彦巧, 李彬, 郭美辰, 等. 玫瑰茄花色苷纯化过程中有机酸的回收及其性质研究 [J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(5): 100-105.
- [51] 邹奇缘, 许旭东, 马国需, 等. 狭叶茵香果实化学成分研究 [J]. *中药材*, 2024, 47(3): 610-614.
- [52] Liu P S, Wang L L, Li H F, *et al.* Two new organic acids from *Portulaca oleracea* L. and their anti-inflammatory and anticholinesterase activities [J]. *Nat Prod Res*, 2022, 36(17): 4401-4409.
- [53] 朱敏, 王维玉, 陈文娇, 等. 壮药多裂黄檀化学成分及体外抗氧化活性研究 [J]. *中药材*, 2024, 47(5): 1147-1152.
- [54] 胡诗雨, 张梦雪, 方容, 等. 贯叶金丝桃化学成分的分离与鉴定 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2024, 41(5): 551-556.
- [55] 刘艳, 尧俊涵, 梅瑀, 等. 红景天化学成分研究 [J]. *中草药*, 2024, 55(9): 2875-2886.
- [56] 邹健, 王笑, 周先丽. 青钱柳叶的化学成分研究 [J]. *广东化工*, 2024, 51(9): 159-160.
- [57] 尹嘉敏, 王仁中, 曾凡俊, 等. 瓜蒌皮的化学成分研究 [J]. *安徽中医药大学学报*, 2024, 43(3): 104-109.
- [58] 苗恬, 陶慕珂, 周祥敏, 等. 灯笼草化学成分的分离和鉴定 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2024, 41(4): 417-423.
- [59] 张雪儿, 黄逸敏, 方巧苗, 等. 红紫珠二萜类成分及其抗炎活性研究 [J]. *中草药*, 2024, 55(6): 1890-1898.
- [60] 余俊东, 王静宜, 杜军, 等. 覆盆子化学成分研究 [J]. *中药材*, 2024, 47(3): 604-609.
- [61] 范锡玲, 曹彦刚, 焦新棉, 等. 中麻黄中 2 个新天然产物 [J]. *中草药*, 2024, 55(6): 1899-1907.
- [62] 胡梦雅, 范雨欣, 徐瑞雯, 等. 北方枸杞化学成分及其 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究 [J]. *中药材*, 2024, 47(3): 624-628.
- [63] 李玥, 吴弢. 莲须化学成分的研究 [J]. *中成药*, 2023, 45(12): 3987-3994.
- [64] 姜淞凡, 黄豆豆, 肖莹, 等. 刺山柑果实的化学成分分离与鉴定 [J]. *中药材*, 2024, 47(2): 348-351.
- [65] 郑启万, 任佳慧, 刘洋, 等. 交趾黄檀心材化学成分的研究 [J]. *中成药*, 2023, 45(12): 3980-3986.
- [66] Kostka T, Ostberg-Potthoff J J, Stärke J, *et al.* Bioactive phenolic compounds from lingonberry (*Vaccinium Vitis-idaea* L.): Extraction, chemical characterization, fractionation and cellular antioxidant activity [J]. *Antioxidants*, 2022, 11(3): 467.
- [67] Zhang S N, Zheng Y L, Sun W T, *et al.* Customized anion-exchange covalent organic frameworks for efficient extraction of natural products [J]. *Sep Purif Technol*, 2024, 342: 127072.

- [68] Zhang D Y, Hu R Z, Zhang X Q, *et al.* Preparation of modified cellulose microspheres and application of fast enrichment of chlorogenic acid from mulberry leaf extract [J]. *J Mater Res Technol*, 2021, 15: 911-923.
- [69] Himshweta, Verma N, Trehan N, *et al.* Molecularly imprinted polymers in the analysis of chlorogenic acid: A review [J]. *Anal Biochem*, 2024, 694: 115616.
- [70] Baydemir Peşint G, Cemek K, Zenger O, *et al.* Tannic acid purification from pomegranate peel via tannic acid imprinted particle-embedded cryogel column [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2023, 1229: 123890.
- [71] Xu J L, Wang W N, Chen Y X, *et al.* Molecularly imprinted polymer for solid-phase extraction of oleanolic acid from *Ligustrum lucidum* fruit [J]. *J Chromatogr Sci*, 2025, 63(3): bmaf010.
- [72] Fu L L, Chen Q, Chen J T, *et al.* Magnetic carbon nanotubes-molecularly imprinted polymer coupled with HPLC for selective enrichment and determination of ferulic acid in traditional Chinese medicine and biological samples [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2021, 1180: 122870.
- [73] Wang Y H, Yan L L, Zheng G Y. Magnetic molecularly imprinted polymers with hydrophilic shells for the selective enrichment and detection of rosmarinic acid in aqueous extraction [J]. *Plants*, 2024, 14(1): 56.
- [74] Saad E M, El Gohary N A, Abdel-Halim M, *et al.* Molecularly imprinted polymers for selective extraction of rosmarinic acid from *Rosmarinus officinalis* L [J]. *Food Chem*, 2021, 335: 127644.
- [75] Wang Y, Wu X D, Shao G S, *et al.* Novel molecularly imprinted aerogels: Preparation, characterization, and application in selective separation for oleanolic acid in lingonberry [J]. *Talanta*, 2024, 266(Pt 1): 124983.
- [76] Xing R R, Xue T Y, Ye P, *et al.* pH-Responsive epitope-imprinted magnetic nanoparticles for selective separation and extraction of chlorogenic acid and caffeic acid in traditional Chinese medicines [J]. *Anal Methods*, 2022, 14(47): 4931-4937.
- [77] Yang C C, Deng W, Li F, *et al.* Synthesis of a pH/temperature bi-response gallic acid magnetic imprinted polymer for extracting natural product from *Galla chinensis* [J]. *J Chromatogr A*, 2024, 1731: 465193.
- [78] Xiong H H, Fan Y, Mao X J, *et al.* Thermosensitive and magnetic molecularly imprinted polymers for selective recognition and extraction of aristolochic acid I [J]. *Food Chem*, 2022, 372: 131250.
- [79] Bi Y, Dong J Y, Zhou Y J, *et al.* Application of membrane separation technology in the purification of pharmaceutical components [J]. *Prep Biochem Biotechnol*, 2024, 54(9): 1107-1115.
- [80] Neagu E, Paun G, Albu C, *et al.* *In vitro* assessment of the antidiabetic and anti-inflammatory potential of *Artemisia absinthium*, *Artemisia vulgaris* and *Trigonella foenum-graecum* extracts processed using membrane technologies [J]. *Molecules*, 2023, 28(20): 7156.
- [81] 周博, 蒲红利, 王继龙, 等. 基于超滤-络合萃取技术的甘草酸制备工艺研究 [J]. *中草药*, 2019, 50(6): 1323-1327.
- [82] 陈雅萍, 王桂有, 封亮, 等. 丹参滴注液中酚酸类活性成分在中空纤维膜超滤过程中迁移规律研究 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(3): 548-554.
- [83] 吴鑫, 李存玉, 邓祥敏, 等. 绿原酸与生物碱配伍后成分存在状态与超滤膜传质行为的相关性研究 [J]. *中成药*, 2023, 45(6): 1960-1963.
- [84] 章莲, 王智, 李存玉, 等. 基于纳滤溶解扩散理论探索热毒宁注射液醇沉浓度对绿原酸分子态比例及传质行为的调控规律 [J]. *南京中医药大学学报*, 2022, 38(5): 432-438.
- [85] 朱应怀, 刘晓霞, 王继龙, 等. 基于陶瓷膜超滤技术的甘草酸和甘草苷同步提取纯化工艺研究 [J]. *中草药*, 2016, 47(23): 4173-4178.
- [86] 王永香, 徐海娟, 张静, 等. 金银花提取液超滤工艺优化 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(17): 12-14.
- [87] 张海龙. 高纯度迷迭香酸的分离纯化工艺研究 [D]. 重庆: 重庆大学, 2020.
- [88] Wang X C, Huang X Y, Zhang F X, *et al.* Recent advances in screening and separating active components from natural products based on high-speed countercurrent chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2024, 47(24): e70051.
- [89] Yang K, Wang S B, Pei D, *et al.* Effective separation of maslinic acid and oleanolic acid from olive pomace using high-speed shear off-line coupled with high-speed countercurrent chromatography and their antibacterial activity test [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2024, 1236: 124069.
- [90] Tan J Q, Li P C, Wang W L, *et al.* Separation of gallic acid from *Cornus officinalis* and its interactions with corn starch [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 208: 390-399.
- [91] Li Y J, Jia Q Q, Zhang M, *et al.* Isolation of three glucaric acids from *Leonurus japonicus* Houtt. by using high-speed countercurrent chromatography combined with semi-preparative high-performance liquid chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2022, 45(13): 2140-2147.
- [92] Zhou Y F, Chen M X, Huo X Y, *et al.* Separation of

- flavonoids and purification of chlorogenic acid from bamboo leaves extraction residues by combination of macroporous resin and high-speed counter-current chromatography [J]. *Molecules*, 2023, 28(11): 4443.
- [93] Yang Y, Liu M H, Liu C, *et al.* Ellagic acid from pomegranate peel: Consecutive countercurrent chromatographic separation and antioxidant effect [J]. *Biomed Chromatogr*, 2023, 37(9): e5662.
- [94] Wang H, Shan H, Lü H T. Preparative separation and purification of liquiritin and glycyrrhizic acid from *Glycyrrhiza uralensis* fishch by high-speed countercurrent chromatography [J]. *J Chromatogr Sci*, 2020, 58(9): 823-830.
- [95] 杨馥菡, 张志军, 李会珍, 等. 高速逆流色谱法分离纯化紫苏叶中迷迭香酸和咖啡酸 [J]. *食品科技*, 2020, 45(9): 196-202.
- [96] Liu Z C, Yang L, Xing R R, *et al.* Three phase dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) based on reverse micelles for the enrichment of Q-Markers of cinnamic acids in traditional Chinese medicine [J]. *Instrum Sci Technol*, 2021, 49(6): 671-684.
- [97] 中华人民共和国外交部. 变革我们的世界: 2030 年可持续发展议 [EB/OL]. (2016-01-13) [2024-12-10]. http://svideo.mfa.gov.cn/ziliao_674904/zt_674979/dnzt_674981/qtzt/2030kcxzfzyc_686343/zw/201601/t20160113_9279987.shtm.

[责任编辑 赵慧亮]