

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201708030

引文格式: 吴佩娟, 卢凤来, 羊学荣, 等. HSCCC 分离纯化未成熟罗汉果皂苷类化合物 [J]. 广西植物, 2018, 38(5): 545-551
WU PJ, LU FL, YANG XR, et al. Separation and purification of mogrosides from unripe *Siraitia grosvenorii* by high-speed countercurrent chromatography [J]. *Guihaia*, 2018, 38(5): 545-551

HSCCC 分离纯化未成熟罗汉果皂苷类化合物

吴佩娟^{1,2}, 卢凤来², 羊学荣², 符毓夏², 李典鹏^{2*}

(1. 桂林医学院 药学院, 广西 桂林 541004; 2. 广西植物功能物质研究与利用重点实验室,

广西壮族自治区 广西植物研究所, 广西 桂林 541006)
中国科学院

摘要: 为建立高速逆流色谱分离未成熟罗汉果中皂苷类化合物的方法, 该研究将罗汉果粗提物先经过大孔树脂富集皂苷类化合物, 再采用高速逆流色谱分离罗汉果皂苷。结果表明: 以氯仿-甲醇-正丁醇-水 (5:6:1:4, v/v/v/v) 作为两相溶剂系统, 上相为固定相, 下相为流动相, 在主机转速为 860 r·min⁻¹, 流速为 2.5 mL·min⁻¹, 检测波长为 203 nm 的条件下, 一次性制备得到 4 个化合物, 即 11-O-罗汉果皂苷 II (I)、罗汉果皂苷 II E (II)、11-O-罗汉果皂苷 III (III) 和罗汉果皂苷 III (IV), 经高效液相色谱检测纯度分别为 95.5%、98.2%、80.1% 和 97.6%。该方法实现了未成熟罗汉果皂苷快速有效的分离, 具有样品回收率高、损失少、避免样品失活等优点, 提高了分离效率。该研究结果为更多的罗汉果皂苷化合物的分离纯化奠定了基础, 补充与优化了罗汉果皂苷类化合物的分离方法。

关键词: 高速逆流色谱, 未成熟罗汉果, 罗汉果皂苷 II E, 11-O-罗汉果皂苷 II, 罗汉果皂苷 III, 11-O-罗汉果皂苷 III

中图分类号: Q946.83 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2018)05-0545-07

Separation and purification of mogrosides from unripe *Siraitia grosvenorii* by high-speed countercurrent chromatography

WU Peijuan^{1,2}, LU Fenglai², YANG Xuerong², FU Yuxia², LI Dianpeng^{2*}

(1. College of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin 541004, Guangxi, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China)

Abstract: We established a method for separating mogrosides from unripe *Siraitia grosvenorii* by High-speed countercurrent chromatography (HSCCC). Crude mogrosides fraction was enriched by macroporous resin method, and then

收稿日期: 2017-10-16

基金项目: 国家自然科学基金 (81460411); 广西重点研发计划项目 (桂科 AB16380108); 广西壮族自治区八桂学者专项项目 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (81460411); Guangxi Key R & D Program (AB16380108); Special Program of Guangxi Zhuang Autonomous Region Bagui Scholars]。

作者简介: 吴佩娟 (1991-), 女, 广西贵港市人, 硕士研究生, 研究方向为药物研发与转化, (E-mail) wupj123@163.com。

* 通信作者: 李典鹏, 研究员, 研究方向为天然药物化学成分研究, (E-mail) ldp@gxib.cn。

separated by HSCCC. The two-phase solvent system composed of chloroform-methanol-n-butanol-water (5 : 6 : 1 : 4, v/v/v/v) was used for separation. The upper phase was used as the stationary phase, while the lower phase as the mobile phase. The rotation speed was $860 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, the flow rate was $2.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, and the detection wavelength was 203 nm. 11-O-mogroside II, mogroside II E, 11-O-mogroside III and mogroside III, four compounds were prepared in one step, with the purity of 95.5%, 98.2%, 80.1% and 97.6%, respectively. This method that has the advantages of high sample recovery rate, low loss and avoiding sample inactivation, which successfully realized the rapid and effective separation of mogrosides. Hence, HSCCC can improve separation efficiency and provide theoretical foundation for the separation and purification of moremogrosides, complementing and optimizing the method for separating mogrosides.

Key words: high-speed countercurrent chromatography (HSCCC), unripe *Siraitia grosvenorii*, mogroside II E, 11-O-mogroside II, mogroside III, 11-O-mogroside III

罗汉果 (*Siraitia grosvenorii*) 是罗汉果属多年生藤本植物, 具有清热润肺、利咽开音、滑肠通便等功效 (中华人民共和国药典, 2015), 同时具有抗炎、抗氧化、降血压 (李典鹏和张厚瑞, 2000)、降血糖 (何超文等, 2012) 以及防癌抗癌 (Patlolla & Rao, 2012) 等作用。由于低温、植株营养消耗等因素影响, 在采收季末有约四分之一的果实不能正常成熟, 这部分含大量的带苦味罗汉果皂苷 II E (李典鹏等, 2006)、其次为罗汉果皂苷 III、11-O-罗汉果皂苷 II (Li et al, 2006) 和极少量的 11-O-罗汉果皂苷 III。课题组的前期实验“罗汉果总皂苷及其组分的吸收和代谢特点研究”中, 表明罗汉果皂苷能以二糖苷的形式进入血液, 黄振聪 (2013) 在研究罗汉果皂苷 V 的体内外代谢实验中, 发现血浆中唯一检测到的代谢成分为罗汉果皂苷 II E, 其可能为活性物质。Suzuki et al (2005) 发现罗汉果皂苷 III 具有抑制麦芽糖酶的作用, 通过抑制麦芽糖酶活性而在大鼠中发挥抗高血糖作用。Li et al (2007) 在未成熟罗汉果成分研究中, 发现罗汉果皂苷 II E、罗汉果皂苷 III、11-O-罗汉果皂苷 II 和 11-O-罗汉果皂苷 III 具有抑制 SMMC-7721 和 HCT-116 的作用。因此, 需要找到快速、简便的方法分离纯化未成熟罗汉果中的皂苷类成分, 为更多药理实验的展开提供基础。

罗汉果皂苷类化合物具有共同的苷元—葫芦烷型四环三萜罗汉果醇, 它们的结构主要区别在于连接糖基的个数以及 11 位氧化与否, 因而极性相近, 造成分离纯化困难。目前, 罗汉果主要采用传统柱色谱法进行分离, 高效液相色谱法 (high

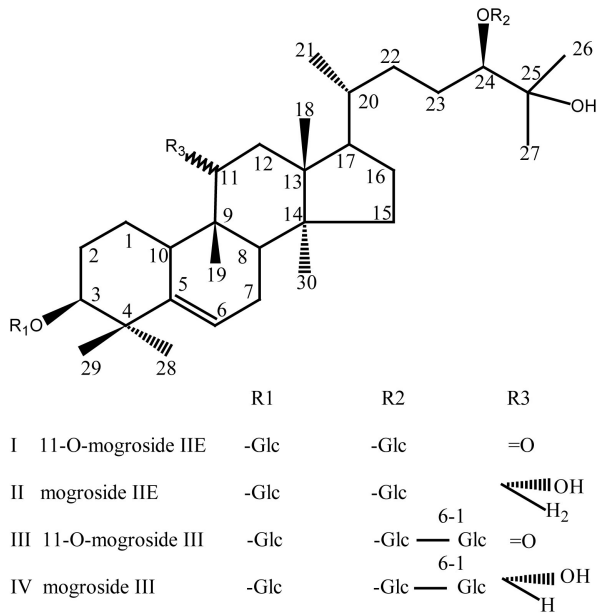
performance liquid chromatography, HPLC) 来纯化, 存在工作量大、分离时间长、溶剂消耗多以及样品损失严重等问题, 因此, 需要找到简便快速的方法分离纯化罗汉果皂苷, 从而提高分离效率。

高速逆流色谱法 (high-speed countercurrent chromatography, HSCCC) 是一种液—液色谱分离技术, 不需要用固态的支撑物或载体, 具有样品回收率高、制备量大、避免样品失活变性、且操作具灵活性和多功能性等优点, 能有效地保留活性成分, 在快速筛选活性物质的制备方法中具有突出优势, 因此, 在天然产物研究、开发等方面存在巨大潜力 (曹学丽, 2005; 汪永玲等, 2017)。虽然 HSCCC 常用于分离其它皂苷类化合物 (黄玉艾等, 2013; Shehzad et al, 2011, 2012), 但几乎未用于罗汉果皂苷的分离纯化, 该实验先经大孔树脂富集得到未成熟罗汉果皂苷粗提物, 再经 HSCCC 分离纯化, 一次性得到 3 个较高纯度的化合物: 11-O-罗汉果皂苷 II (I)、罗汉果皂苷 II E (II)、罗汉果皂苷 III (IV) 和 1 个纯度较低的化合物: 11-O-罗汉果皂苷 III (III), 实现了皂苷化合物快速有效的分离纯化, 为优化以及拓展罗汉果皂苷的分离方法提供了一定的参考依据。

1 仪器、材料与方 法

1.1 仪器

TBE-300C 型高速逆流色谱仪 (上海同田生物技术股份有限公司)、聚四氟乙烯螺旋管 (内径, 主机容量 300 mL)、进样圈 (体积 20 mL)、TBP-5002



注: Glc 为 β -D-吡喃葡萄糖。

Note: Glc was β -D-glucopyranosyl.

图 1 罗汉果皂苷化合物的结构式
Fig. 1 Chemical structures of mogrosides from *Siraitia grosvenorii*

恒流泵、UV-2000D 紫外检测器、DC-0506 低温恒温槽;BS110S 赛多利斯电子天平(北京赛多利斯天平有限公司);miVac 真空离心浓缩仪(英国 GeneVac 公司);CHF161RA 分馏贮存器(日本 Advantec 公司);高效液相色谱仪(日本岛津公司);KQ3200DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 材料和试剂

材料:未成熟罗汉果(标本保存于广西植物研究所广西植物功能物质研究与利用重点实验室)。试剂:大孔树脂和高速逆流色谱所用甲醇、氯仿、正丁醇均为分析纯(西陇化工股份有限公司);高效液相色谱所用甲醇、乙腈均为色谱纯(美国 TEDIA 公司);娃哈哈饮用纯净水;D101 型大孔树脂。

1.3 方法

1.3.1 罗汉果皂苷粗提物的制备 从市场上购买的未成熟罗汉果,去壳,罗汉果果囊用 95% 乙醇浸泡,提取液进行减压浓缩,得乙醇浸膏,将浸膏水溶,所得水溶液进行离心,上清液经大孔吸附树脂

柱色谱分离,以 40%、60%、80%、100% 甲醇-水梯度洗脱,收集甲醇洗脱液,减压浓缩得 4 部分浸膏。经高效液相分析检测,色谱条件:ZORBAX SB-C18 柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m);流动相 A 为乙腈,流动相 B 为水;梯度洗脱为 10% A ~ 18% A 0 ~ 10 min, 18% A ~ 28% A 10 ~ 20 min, 28% A ~ 45% A 20 ~ 35 min, 45% A ~ 54% A 35 ~ 40 min;流速为 1.0 mL \cdot min⁻¹;检测波长为 203 nm;柱温为 35 $^{\circ}$ C;进样量为 30 μ L。所得液相图谱见图 2,由图 2 可知罗汉果皂苷主要在 60% 甲醇洗脱部分,将其进行浓缩干燥,备用。

1.3.2 HSCCC 溶剂体系及样品溶液的制备 将氯仿-甲醇-正丁醇-水溶剂系统按体积比为 5 : 6 : 1 : 4 置于分液漏斗中,剧烈振荡使其充分混合后静置分层,上相为固定相,下相为流动相,分别超声脱气 20 min,备用。称取 150 mg 罗汉果粗提物,分别用 5 mL 上相和 5 mL 下相进行充分溶解,备用。

1.3.3 HSCCC 的分离制备过程 开启低温恒温槽,设定温度为 25 $^{\circ}$ C,将两相溶剂体系中已超声脱气的上相(固定相)以 30 mL \cdot min⁻¹ 的流速泵入 HSCCC 分离柱中,待聚四氟乙烯线圈内充满固定相并流出一定体积的固定相后,开动主机,设置转速至 860 r \cdot min⁻¹,主机正转,同时,以 2.5 mL \cdot min⁻¹ 的流速泵入流动相,至流出流动相且工作站的基线稳定后,即为平衡,将 10 mL 样品溶液注入 HSCCC 中,采用紫外检测器检测,波长为 203 nm,开始采集数据,用分馏贮存器每隔 5 min 收集馏分。

1.3.4 HPLC 检测分析 所得各馏分经真空离心浓缩干燥得到化合物,取各组分,分别用适量色谱甲醇溶解后进 HPLC 检测分析,采用峰面积归一化法,计算制备得到的各目标化合物的纯度。色谱条件同 1.3.1 节。

2 结果与分析

2.1 HSCCC 分离条件的优化

2.1.1 溶剂体系的筛选 根据目标化合物的极性(丁琼,2014)和参考相关文献(Cao et al, 2003;符晓晖等,2017;Cheng et al, 2011; Yao et al, 2008),选择乙酸乙酯-正丁醇-水和氯仿-甲醇-正丁醇-

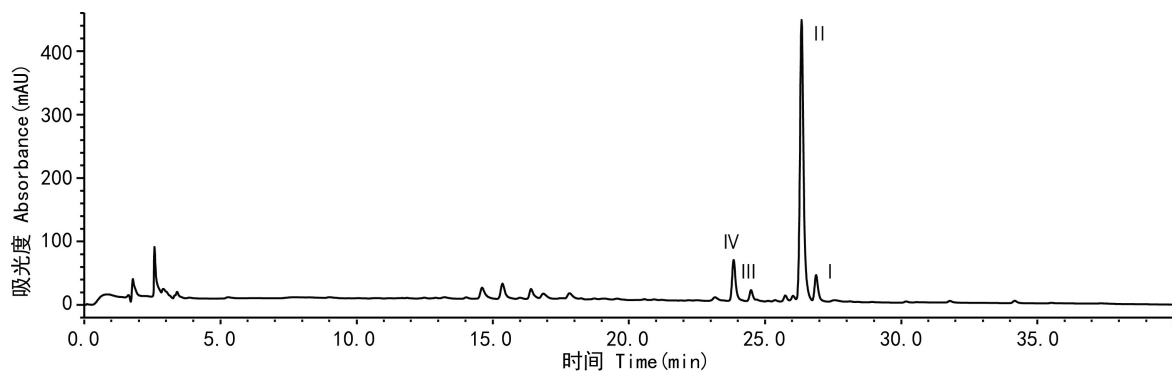


图 2 罗汉果皂苷粗提物的 HPLC 谱图

Fig. 2 HPLC chromatogram of crude extract of mogrosides from *Siraitia grosvenorii*

表 1 化合物 I-IV 在不同溶剂系统中的分配系数及其分离因子

Table 1 Distribution coefficients and separation factors of compounds I-IV in different solvent systems

溶剂系统 Two-phase solvent system (v/v/v/v)	分配系数 Distribution coefficient (K)				分离因子 Separation factor (α)		
	K I	K II	K III	K IV	$\alpha 1$	$\alpha 2$	$\alpha 3$
EtOAc-nBuOH-H ₂ O (2 : 3 : 5)	1.307	1.294	0.390	0.351	0.990	0.301	0.900
EtOAc-nBuOH-H ₂ O (1 : 1 : 2)	1.758	1.349	0.370	0.324	0.767	0.274	0.876
CHCl ₃ -MeOH-nBuOH-H ₂ O (5 : 6 : 1 : 4)	0.462	0.907	1.891	3.469	1.963	2.085	1.834
CHCl ₃ -MeOH-nBuOH-H ₂ O (5 : 5 : 1 : 4)	0.365	0.912	1.694	3.487	2.499	1.857	2.058
CHCl ₃ -MeOH-nBuOH-H ₂ O (5 : 3 : 1 : 4)	0.241	0.903	1.897	7.329	3.747	2.101	3.863

注: 溶剂系统, EtOAc 表示乙酸乙酯, nBuOH 表示正丁醇, CHCl₃ 表示氯仿, MeOH 表示甲醇。分配系数, $K=A_U/A_L$ (A_U 表示上相的峰面积, A_L 表示下相的峰面积)。分离因子, $\alpha 1=K II/K I$, $\alpha 2=K III/K II$, $\alpha 3=K IV/K III$ 。

Note: Solvent system, EtOAc indicates ethylacetate, nBuOH indicates n-butanol, CHCl₃ indicates chloroform, MeOH indicates methanol. Distribution coefficient, $K=A_U/A_L$ (A_U indicates peak area of upper phase, A_L indicates peak area of lower phase). Separation factor, $\alpha 1=K II/K I$, $\alpha 2=K III/K II$, $\alpha 3=K IV/K III$.

水两种溶剂体系,按表 1 中各溶剂体系比例分别往分液漏斗中加入溶剂,上下充分振摇,静置后分液,称取罗汉果皂苷粗提物 5 mg 置于具塞试管中,分别精确量取上相、下相溶液各 4 mL 溶解样品,充分震荡溶解,待两相平衡后,分别精确量取上下两相溶液各 2 mL 于小瓶中,浓缩干燥,再分别用 1.0 mL 色谱甲醇溶解,经 HPLC 检测分析,上相峰面积为 A_U ,下相峰面积为 A_L ,计算不同溶剂系统中目标化合物的分配系数 ($K, K=A_U/A_L$) 以及相应的分离度 (α),见表 1。

罗汉果皂苷 II E、11-O-罗汉果皂苷 II 以及罗汉果皂苷 III、11-O-罗汉果皂苷 III 它们两两之间的

结构、极性极其相似,从表 1 可以看出,乙酸乙酯-正丁醇-水溶剂体系中 $K I$ 、 $K II$ 以及 $K III$ 、 $K IV$ 之间的值较为相近,分配系数差异小,分离度降低,所以选择氯仿-甲醇-正丁醇-水溶剂体系进行实验,并且比较该体系下三种不同体积比的体系,因体积比为 5 : 6 : 1 : 4 的溶剂体系具有较合适的 K 和 α 值,各组分基本可以实现基线分离,所以选择氯仿-甲醇-正丁醇-水 (5 : 6 : 1 : 4, v/v/v/v) 作为本研究的两相溶剂系统。

2.1.2 转速对固定相保留率的影响 高速逆流色谱仪器的主机转速范围为 0~900 r · min⁻¹,在其它实验条件(流速、温度)都相同的情况下,从 800

$r \cdot \text{min}^{-1}$ 开始, 依次增加转速, 计算固定相的保留率(S_f) (曹学丽, 2005), 结果见图 3。在一定范围内, 随着主机转速增加, 静态(未进样)保留率呈较缓慢的趋势增大, 固定相保留越多, 分离效率越高; 但若转速过大, 易使粘性较大的溶剂体系产生乳化现象, 造成动态(已进样)固定相流失较多, 从而影响分离效果。最终选择的转速为 $860 r \cdot \text{min}^{-1}$, 其保留率为 78.7%。

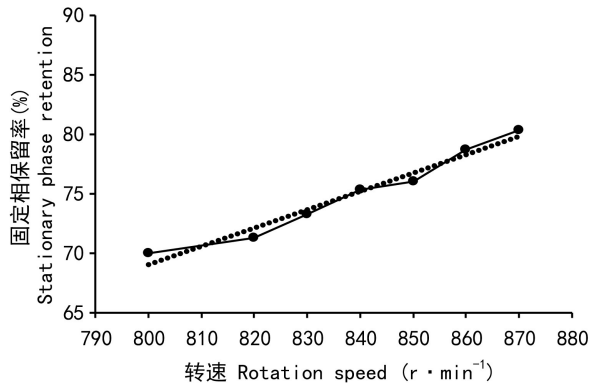


图 3 转速对固定相保留率的影响

Fig. 3 Effects of rotation speeds on stationary phase retention

计算固定相保留率: $S_f = [(V_c + V_f) - V_e] / V_c \times 100\%$ 。

式中, S_f 为固定相保留率, V_c 为柱体积, V_f 为进样圈体积, V_e 为被推出的固定相体积。

2.1.3 流速、样品浓度的确定 以 2.0 、 2.3 和 $2.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的流速进行洗脱, 当流速为 $2.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 时, 洗脱到 380 min , 化合物 IV (K 值为 3.469 , K 值越大, 洗脱时间越长) 未被洗脱出来, 这不但耗时, 而且还浪费溶剂; 当流速提高到 $2.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 时, 化合物 IV 在 285 min 被洗脱出来。因此, 通过适当提高流速, 可相应缩短分离时间, 最终选择的流速为 $2.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。以样品浓度为 7.5 、 8.6 、 12.5 、 15.0 和 $20.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 进样, 若浓度太大 (如 $20.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 会出现平头峰, 且峰之间有交叉, 影响分离效果; 若浓度太小 (如 $7.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 则峰响应值较弱。HSCCC 适用于浓度高、体积大的样品溶液的分离纯化, 但是样品溶液相对于溶剂系统有不同的理化性质, 当样品过载进入到系统中, 在样品被充分稀释之前, 它被看作是

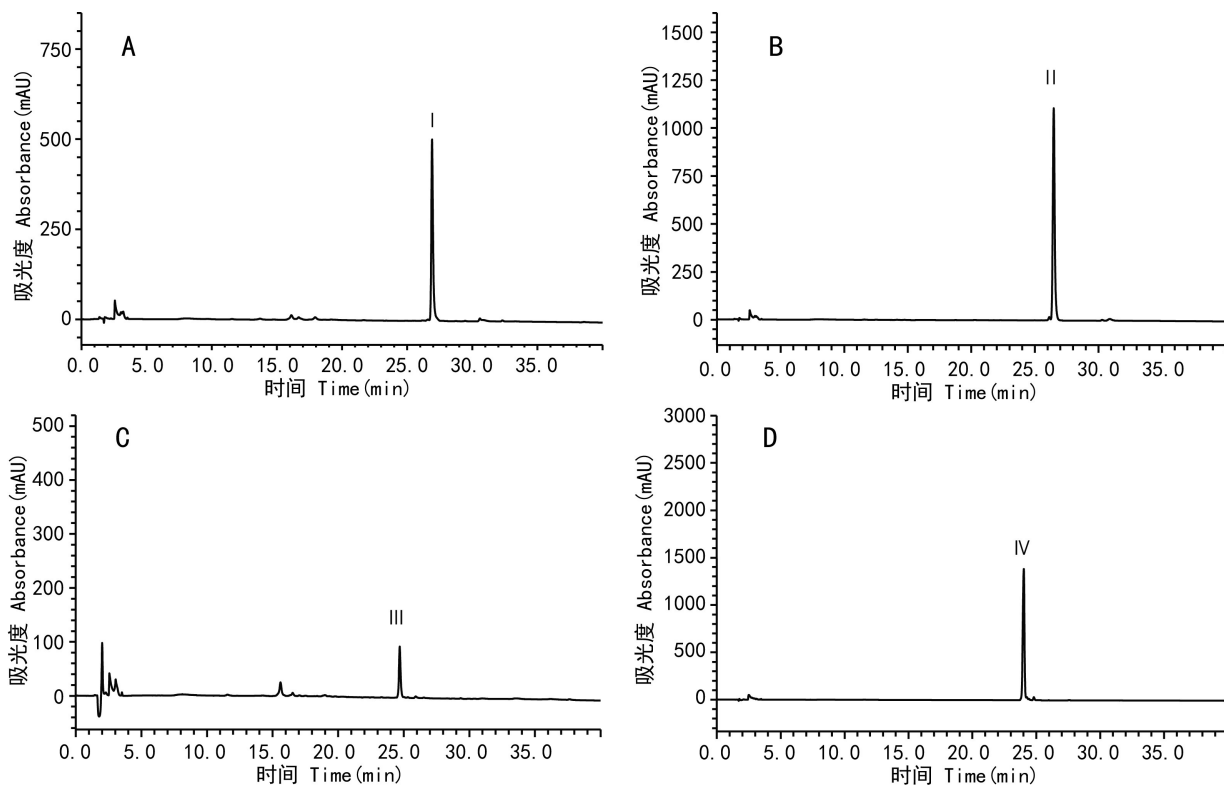
第三相 (相对于两相溶剂体系), 从而有可能破坏溶剂体系的平衡, 造成固定相的损失, 从而影响分离效果 (Peng et al, 2016), 最终选择 $15.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的样品浓度进样。

2.2 HSCCC 分离的结果

以氯仿-甲醇-正丁醇-水 ($5:6:1:4, v/v/v/v$) 作为两相溶剂系统, 上相作为固定相, 下相作为流动相, 按照 1.3.3 节实验操作方法将 1.3.2 节中已制备好的样品溶液进 HSCCC 分离纯化, 用分馏贮存器每隔 5 min 接收馏分。先将所得的各馏分进行 HPLC 检测分析, 分别合并含目标化合物且纯度较高的馏分, 进行真空浓缩干燥, 各目标化合物再经 HPLC 检测分析, HPLC 图谱见图 4, 最后进行称量得到 11-O-罗汉果皂苷 II (I) 3.7 mg 、罗汉果皂苷 II E (II) 40.6 mg 、11-O-罗汉果皂苷 III (III) 0.9 mg 和罗汉果皂苷 III (IV) 5.2 mg , 纯度分别为 95.5% 、 98.2% 、 80.1% 和 97.6% 。

3 讨论与结论

未成熟罗汉果中的皂苷类化合物的结构和性质非常相似, 造成分离纯化的困难。据文献报道: Li et al (2007) 对未成熟罗汉果皂苷的提取采用 Diaion HP-20 大孔树脂、硅胶柱层析、Sephadex LH-20 凝胶柱和 ODS 反相柱等方法; 斯建勇等 (1996) 通过大孔树脂、硅胶柱、 Al_2O_3 柱和 RP_2 反相柱等多种柱层析进行反复洗脱来分离罗汉果三萜化合物, 由此可看出, 采用传统柱层析方法进行分离不但耗材耗时而且操作繁琐, 降低了实验效率。该实验采用 HSCCC 法对已富集的目标组分进行分离纯化, 并通过优化 HSCCC 分离条件, 实现快速有效的分离, 一次性制备得到 3 个高纯度的皂苷化合物: 罗汉果皂苷 II E、11-O-罗汉果皂苷 II 和罗汉果皂苷 III, 从而大大提高了分离效率。本研究不足之处在于: (1) 皂苷类化合物的紫外吸收 (203 nm) 接近于末端吸收, 本实验在 HSCCC 分离中所用的检测器为紫外检测器, 目标化合物的吸收峰较弱, 因而所得的馏分需经过 HPLC 检测, 再进行合并得到目标组分, 因此, 如有条件, 在进行皂苷类化合物的分离时, 应采用蒸发光散射检测器, 以



注: A. 11-O-罗汉果皂苷 II (I); B. 罗汉果皂苷 II E(II); C. 11-O-罗汉果皂苷 III (III); D. 罗汉果皂苷 III (IV)。

Note: A. 11-O- mogroside II(I); B. Mogroside II E(II); C. 11-O- mogroside III(III); D. Mogroside III(IV).

图 4 化合物 I-IV 的 HPLC 图谱

Fig. 4 HPLC chromatograms of compounds I-IV

提高检测灵敏度。(2) 11-O-罗汉果皂苷 III 在样品中的含量极少, 制备纯度不高, 需进一步富集再纯化。与传统的柱色谱法、HPLC 制备方法相比, HSCCC 以其进样量大、样品无损失、活性无影响和操作简便等特点, 使罗汉果苦苷得到快速、高效地分离纯化。运用 HSCCC 法相当于放大了分离、制备过程, 为更多的药理实验研究提供基础, 使未成熟的罗汉果得到充分开发利用, 避免资源的浪费, 为优化及拓展分离纯化罗汉果皂苷类化合物提供了一定的参考依据, 同时为快速筛选天然产物中的活性成分提供方法路径。

参考文献:

CAO XL, 2005. Technology and application of high speed counter-current chromatography [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 43: 52-53. [曹雪丽, 2005. 高速逆流色谱分离技

术及应用 [M]. 北京: 化学工业出版社, 43: 52-53.]

CAO XL, TIAN Y, ZHANG TY, et al, 2003. Separation of Dammarane-Saponins from notoginseng, root of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen, by HSCCC coupled with evaporative light scattering detector [J]. Liquid Chromatog Rel Technol, 26(9, 10): 1579-1591.

CHENG YJ, ZHANG M, LIANG QL, et al, 2011. Two-step preparation of ginsenoside-Re, Rb1, Rc and Rb2 from the root of *Panax ginseng* by high-performance counter-current chromatography [J]. Sep Purif Technol, 77(3): 347-354.

DING Q, 2014. Study on separation of natural products and solvent system selection in high-speed countercurrent chromatography [D]. Changsha: Central South University: 9-47. [丁琼, 2014. 高速逆流色谱中天然产物分离及溶剂体系选择方法的研究 [D]. 长沙: 中南大学: 9-47.]

FU XH, LI J, YUAN KF, 2017. Isolation and purification of Asperosaponin VI from *Dipsacus asper* Wal. by high-speed counter-current chromatography [J]. Shanghai J Trad Chin Med, 51(4): 106-108. [符晓晖, 李家, 阮克锋, 2017. 高速逆流色谱法分离纯化川续断中续断皂苷 VI 的研究 [J]. 上海中医药杂志, 51(4): 106-108.]

- HE CW, YAO MC, XIA X, et al, 2012. Rregulation effect of fresh mangosteen saponins on blood sugar [J]. *Mod Food Sci Technol*, 28(4): 382-386. [何超文, 姚美村, 夏星, 等, 2012. 鲜罗汉果皂苷对小鼠血糖的调节作用研究 [J]. 现代食品科技, 28(4): 382-386.]
- HUANG ZC, 2013. Studies on the metabolism of mogroside V *in vivo* and *in vitro* [D]. Nanning: Guangxi University of Chinese Medicine: 4-82. [黄振聪, 2013. 罗汉果皂苷 V 的体内、体外代谢研究 [D]. 南宁: 广西中医药大学: 4-82.]
- HUANG YA, YAN MX, ZHAO DY, 2013. Large-scale isolation and preparation of soybean saponin by high-speed countercurrent chromatography combined with preparative HPLC [J]. *J Food Sci*, 34(6): 27-32. [黄玉艾, 严明霞, 赵大云, 2013. 高速逆流色谱结合制备型高效液相色谱法分离制备大豆皂苷单体 [J]. 食品科学, 34(6): 27-32.]
- LI DP, ZHANG HR, 2000. Studies and uses of Chinese medicine Luohanguo—a special local product of Guangxi [J]. *Guihaia*, 20(3): 270-276. [李典鹏, 张厚瑞, 2000. 广西特产植物罗汉果的研究与应用 [J]. 广西植物, 20(3): 270-276.]
- LI DP, HUANG YL, LIU JL, et al, 2006. Quantitative determination of mogrosides II E and III in the fruit of *Siraitia grosvenorii* by HPLC [J]. *Nat Prod Res Dev*, 18(5): 850-853. [李典鹏, 黄永林, 刘金磊, 等, 2006. HPLC 法测定罗汉果中罗汉果苷 II E、III 的含量 [J]. 天然产物研究与开发, 18(5): 850-853.]
- LI DP, IKEDA T, MATSUOKA N, et al, 2006. Cucurbitane glycosides from unripe fruits of Lo Han Kuo (*Siraitia grosvenorii*) [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 54(10): 1425-1428.
- LI DP, IKEDA T, NOHARA T, et al, 2007. Cucurbitane glycosides from unripe fruits of *Siraitia grosvenorii* [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 55(7): 1082-1086.
- PATLOLLA JM, RAO CV, 2012. Triterpenoids for cancer prevention and treatment; current status and future prospects [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 13(1): 147-55.
- PENG AH, HEWITSON P, YE HY, et al, 2016. Sample injection strategy to increase throughput in counter-current chromatography: Case study of Honokiol purification [J]. *J Chromatogr A*, 19(6): 19-24.
- State Pharmacopoeia Commission, 2015. Pharmacopoeia of the People's Republic of China [M]. Beijing: Chinese Medical Science and Technology Press: 212. [国家药典委员会, 2015. 中华人民共和国药典 [M]. 北京: 中国医药科技出版社: 212.]
- SUZUKI YA, MURATA Y, INUI H, et al, 2005. Triterpene glycosides of *Siraitia grosvenorii* inhibit rat intestinal maltase and suppress the rise in blood glucose level after a single oral administration of maltose in rats [J]. *J Agric Food Chem*, 53(8): 2941-2946.
- SHEHZAD O, HA IJ, PARK Y, et al, 2011. Development of a rapid and convenient method to separate eight ginsenosides from *Panax ginseng* by high-speed counter-current chromatography coupled with evaporative light scattering detection [J]. *J Sep Sci*, 34(10): 1116-1122.
- SHEHZAD O, KHAN S, HA IJ, et al, 2012. Rational development of a selection model for solvent gradients in single-step separation of ginsenosides from *Panax ginseng* using high-speed counter-current chromatography [J]. *J Sep Sci*, 35(12): 1462-1469.
- SI JY, CHEN DH, CHANG Q, et al, 1996. Isolation and determination of cucurbitane glycosides from fresh fruits of *Siraitia grosvenorii* [J]. *Acta Bot Sin*, 38(6): 489-494. [斯建勇, 陈迪华, 常琪, 等, 1996. 罗汉果中三萜甙的分离和结构测定 [J]. 植物学报, 38(6): 489-494.]
- WANG YL, ZHANG BJ, FU WW, 2017. Application of high-speed countercurrent chromatography to the rapid screening of bioactive components from Chinese Materia Medica (CMM) and natural products [J]. *World Sci Technol/Mod Trad Chin Med Mat Med*, 19(2): 265-275.
- YAO S, LUO JG, HUANG XF, et al, 2008. Application of preparative high-speed counter-current chromatography/preparative high-performance liquid chromatography mode in rapid separation of saponins [J]. *J Chromatogr B*, 864(1, 2): 69-77.
- YANG XW, ZHANG JY, QIAN ZM, 2005. New natural saponins from fruits of *Momordica grosvenorii* [J]. *Chin Trad Herb Drugs*, 36(9): 1285-1290. [杨秀伟, 张建业, 钱忠明, 2005. 罗汉果中新葫芦烷型三萜皂苷—光果木鳖皂苷 I [J]. 中草药, 36(9): 1285-1290.]