

罗汉果皂苷生物活性研究进展

曹建平^{1,2}, 汤杰³, 刘合生³, 戚向阳^{3,*}

(1.宁波市鄞州区检测中心, 浙江宁波 315100;

2.宁波市鄞州区质量技术监督检测中心, 浙江宁波 315100;

3.浙江万里学院生物与环境学院, 浙江宁波 315100)

摘要:罗汉果皂苷是罗汉果中一类葫芦烷型三萜糖苷化合物, 是罗汉果的主要活性成分。罗汉果皂苷不仅可作为一种低热量的天然甜味剂, 还具有抗氧化、降血糖和抗糖尿病、护肝、抗疲劳、抗癌、抗炎等多种生物活性。本文综述了罗汉果皂苷主要生物活性, 为罗汉果皂苷功能性食品开发提供一定参考。

关键词:罗汉果, 葫芦型三萜糖苷, 生物活性, 综述

Review on the biological activities of mogrosides in *Siraitia grosvenorii*

CAO Jian-ping^{1,2}, TANG Jie³, LIU He-sheng³, QI Xiang-yang^{3,*}

(1.Ningbo Yinzhou Food Testing Center, Ningbo 315100, China;

2.Ningbo Yinzhou Measurement and Test Center for Quality and Technique Supervising, Ningbo 315100, China;

3.College of Biological and Environmental Sciences, Zhejiang Wanli University, Ningbo 315100, China)

Abstract: Mogrosides, a complex of dozens of cucurbitane-type triterpene glycosides in *Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffery, are the primary active components. Increasing studies have evidenced that mogrosides are not only low-calorie natural sweeteners, but also possess a variety of biological activities, such as antioxidant, hypoglycemia and antidiabetic, hepatoprotective, anti-fatigue, anticancer, anti-inflammatory activities, etc. This review aimed to highlight the main biological activities, in order to provide some reference for developing functional food of mogrosides.

Key words: *Siraitia grosvenorii*; cucurbitane-type triterpene glycosides; biological activities; review

中图分类号: TS201

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)24-0384-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.24.072

罗汉果 [*Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffery] 为葫芦科 (Cucurbitaceae) 罗汉果属多年生草质藤本植物罗汉果的成熟果实, 是我国南方的一种药食同源植物, 主产地为广西, 此外, 贵州、江西、湖南等地区也有分布^[1]。罗汉果在广西民间的用药历史已有300多年, 味甘、性凉、有清热解暑、润肺止渴作用, 临床上可用于治疗高血压、肺结核、哮喘、胃炎、百日咳、慢性气管炎和急性慢性扁桃腺炎等疾病^[2]。

上世纪60年代以来, 罗汉果研究受到越来越多的关注。研究显示罗汉果的主要活性成分是葫芦烷型三萜类皂苷 (mogrosides), 在干果中的总含量为3.7%~3.9%, 是一类低热量理想天然甜味剂, 比蔗糖甜300倍, 但热量仅为蔗糖的1/50, 而且食用安全、无异味、热稳定性好, 是肥胖症、高血压、糖尿病患者的优良甜味剂^[3-4]。近年来不断有罗汉果皂苷生物活性

研究的文献报道, 主要集中于其抗氧化、降血糖和抑制糖尿病、护肝、抗疲劳、降血脂、抗癌等活性。本文就罗汉果皂苷的主要生物活性作一综述, 为后续研究提供一定参考。

1 罗汉果皂苷的化学组成及其结构

罗汉果皂苷, 又名罗汉果甜苷, 是一种三萜烯葡萄糖苷, 其苷元是三萜烯醇。两条由4个以下葡萄糖单位组成的葡萄糖苷侧链以 β -糖苷键与苷元相连, 侧链葡萄糖之间的连接键主要为 β -1, 6和 β -1, 2糖苷键。罗汉果皂苷具有共同的苷元罗汉果醇 (mogrol) (图1a), 其主要差别在于连接的糖基不同和个别糖苷的11位-OH (图1b) 或7位-H (图1c) 被氧化成=O。

现已分离和鉴定了26种葫芦烷型三萜皂苷, 3种三萜烯苯甲酸酯和2种五环三萜醇 (图1), 此外, 从罗汉果根中分离出2种葫芦烷型三萜类化合物, siraitic acid F (图1-m) 和siraitic acid C (图1-n)^[5-6]。最近, 研究罗汉果根和未成熟罗汉果果实, 分离鉴定出12种葫芦烷型皂苷, 在这些化合物当中, 20-hydroxy-11-oxomogroside IA1, β , 19-epoxy-29-nor-3, 11-dioxo-cucurbit-24-ene-27-oic acid-27-O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside 和 19, 29-nor-3, 11-dioxo-cucurbit-4, 24-diene-27-oic

收稿日期: 2014-02-24

作者简介: 曹建平 (1982-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学及食品品质控制。

* 通讯作者: 戚向阳 (1968-), 女, 博士研究生, 教授, 研究方向: 食品化学与天然产物化学。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31171780)。

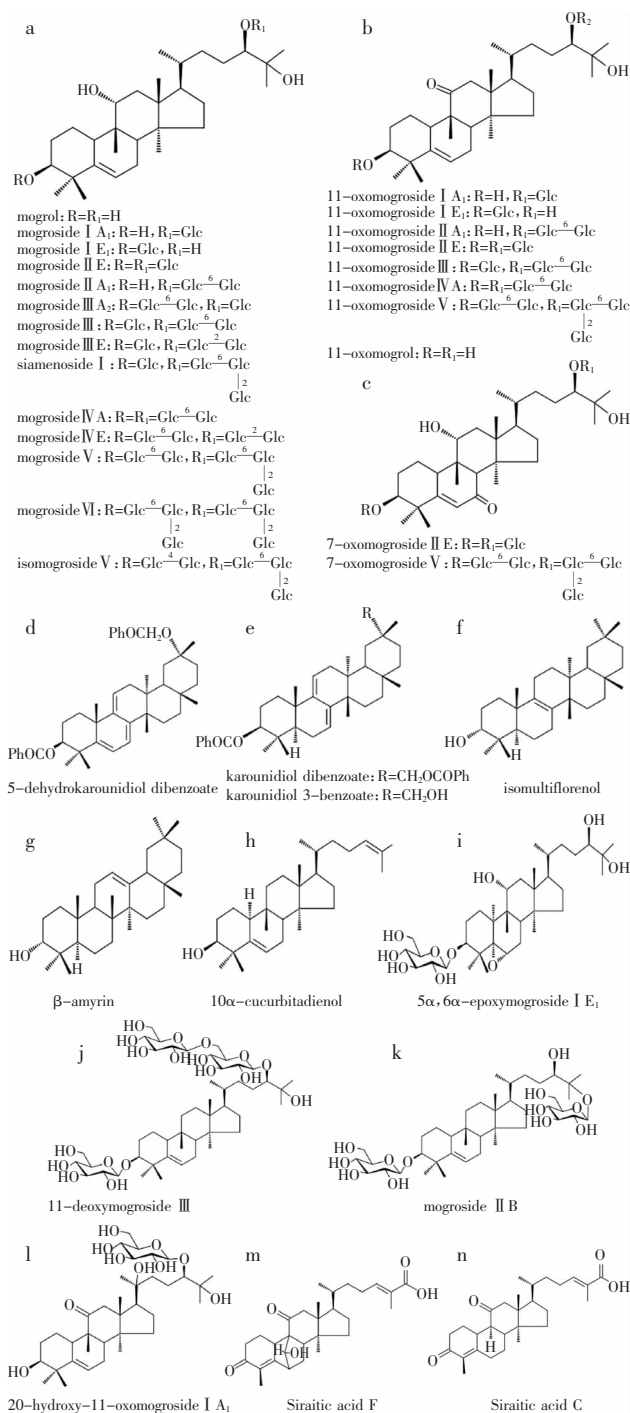


图1 葫芦型三萜皂苷的化学结构

Fig.1 The chemical structures of cucurbitane-type triterpene glycosides

acid 27-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside, 与典型的葫芦烷型三萜苷元的结构比较, 其化学结构略微发生改变^[7-9], 见图2。

2 罗汉果皂苷的生物活性

2.1 抗氧化

现有文献主要在体外环境研究罗汉果皂苷的抗氧化性。张俐勤研究发现不同罗汉果皂苷提取物对羟基自由基和超氧阴离子自由基均有清除作用, 可抑制大鼠肝组织的脂质过氧化, 对Fe²⁺和H₂O₂诱导的

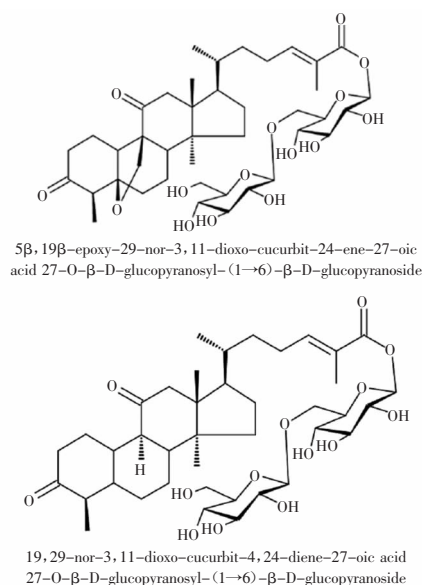


图2 来源于根和未成熟果实的葫芦型三萜皂苷的化学结构

Fig.2 The chemical structures of cucurbitane-type triterpene glycosides from unripe fruit and root

肝组织过氧化损伤具有保护作用, 能减轻线粒体肿胀和减少红细胞溶血的发生。其中罗汉果皂苷V具有很强的羟基自由基和超氧阴离子自由基清除活性, 表明罗汉果中主要皂苷成分——罗汉果皂苷V是其主要的抗氧化活性成分。但罗汉果皂苷提取物的抗氧化活性与抗氧化体系密切相关^[10]。Chen等应用化学发光法体外测定从罗汉果中分离的两种皂苷, 罗汉果皂苷V和11-O-罗汉果皂苷V的抗氧化活性, 实验结果表明这两种葫芦烷型三萜皂苷对活性氧(O₂⁻, H₂O₂和·OH)及其诱导的DNA氧化损伤具有显著的抑制作用。此外, 清除O₂⁻和H₂O₂时, 11-O-罗汉果皂苷V的清除能力强于罗汉果皂苷V, 而清除·OH时, 罗汉果皂苷V强于11-O-罗汉果皂苷V^[11]。Xu等以小鼠胰岛素瘤NIT-1细胞系为实验对象, 研究罗汉果皂苷对棕榈酸诱导的胞内氧化应激的抑制作用, 主要调查1mmol/L罗汉果皂苷对细胞内活性氧(ROS)和细胞凋亡的影响。结果显示, 与棕榈酸诱导组比较, 罗汉果皂苷共培养组显著降低胞内ROS浓度以及恢复GLUT2和丙酮酸激酶mRNA表达水平, 但罗汉果皂苷未能减轻棕榈酸诱导的细胞凋亡。这些研究结果提示罗汉果皂苷可能通过降低胞内ROS以及调节葡萄糖代谢相关基因表达而发挥其抗氧化作用^[12]。目前, 还未查阅到罗汉果皂苷体内抗氧化活性的文献, 体外具有较强抗氧化性的罗汉果皂苷体内是否也具有较强抗氧化性需要进一步研究。

2.2 降血糖和抗糖尿病

据报道, 健康成年人按200mg/kg剂量一次性口服30%罗汉果皂苷后, 结果表明, 30%罗汉果皂苷对健康人血糖含量与肝酶活性无明显影响^[1,13-14]。也有学者通过动物实验研究罗汉果皂苷对血糖的影响。戚向阳等^[15]研究发现0.5、1.0、3.0g/kg罗汉果提取物(含有罗汉果皂苷)对正常小鼠血糖无影响, 中(1.0g/kg)、低(0.5g/kg)剂量组对糖尿病小鼠有降血糖作用, 而

高剂量组(3.0g/kg)小鼠血糖反而升高。表明罗汉果提取物剂量为0.5~1.0g/kg时具有降低糖尿病小鼠空腹血糖的作用,且降血糖效果有剂量-效应关系。此外,罗汉果皂苷对四氧嘧啶糖尿病小鼠有明显的降血糖作用,对糖尿病小鼠体内血清三酰甘油、血清胆固醇的异常升高有防治作用,可提高血清高密度脂蛋白胆固醇的含量,使机体血脂水平趋向正常,防止糖尿病导致的脂类代谢紊乱^[16],其降糖机制可能与提高糖尿病小鼠抗氧化和清除自由基能力、改善血脂水平,从而减弱四氧嘧啶对胰岛 β 细胞的损伤或改善受损细胞的功能有关^[15-16]。

罗汉果提取物对自发性Ⅱ型糖尿病Goto-Kakizaki大鼠具有抗糖尿病作用,它可改善口服葡萄糖耐受实验的胰岛素响应,禁食状态下胰腺胰岛素的积累,改善肾功能以及加强肝脏和血浆抗氧化特性^[17]。胰岛素依赖性糖尿病(IDDM)小鼠表现出胰岛细胞的明显损伤,此外,四氧嘧啶引起CD⁴⁺淋巴细胞的表达显著升高,导致CD⁴⁺/CD⁸⁺比例急剧降低(但是CD⁴⁺水平保持不变)。正常组和实验糖尿病组小鼠服用罗汉果皂苷4周显著缓解糖尿病的早期临床症状、生物化学异常和胰岛细胞病理学损伤,而且服用低剂量罗汉果皂苷可通过上调调节CD⁴⁺淋巴细胞亚群和比例以及改变胞内细胞因子谱,以调节四氧嘧啶诱导的IDDM小鼠发生的免疫失衡。脾淋巴细胞的促炎症的Th1细胞因子(如IFN- γ 和TNF- α)的表达向着有利的Th2类型转变。除了低剂量罗汉果皂苷上调IL-4表达水平之外,罗汉果皂苷对正常小鼠不起作用。这些结果表明罗汉果皂苷具有抗糖尿病作用,HPLC分析表明主要的抗糖尿病活性组分是罗汉果皂苷V——罗汉果皂苷的主要组分^[18]。

罗汉果皂苷还可以抑制服用单一麦芽糖大鼠餐后血糖水平的升高。Suzuki等研究发现罗汉果皂苷提取物以及分离的皂苷在体外也抑制麦芽糖酶活性,这可能导致体内实验中已观察到的抗血糖活性,因而,罗汉果皂苷似乎是一种有用的,无能量的蔗糖替代物,并且通过抑制麦芽糖酶活性的机制来缓解餐后血糖^[19]。经100mg/kg罗汉果皂苷处理,小鼠的降血糖、降血脂以及抗氧化活性明显高于其他糖尿病组,且与商品化的阳性对照组类似。体外抗氧化能力分析显示,罗汉果皂苷和罗汉果皂苷V均显示强烈的氧自由基清除活性。这些结果证实该提取物对糖尿病诱导高血糖可能具有抑制作用,此外该研究还提示罗汉果提取物的服用可能对氧化应激和高血糖相关的糖尿病并发症具有抑制作用^[20]。

目前有关罗汉果皂苷的抗糖尿病作用研究文献尚不多,主要以实验动物为研究对象,而有关其对胰岛细胞的体外保护作用,体内、体外抗糖尿病及其并发症的作用机制鲜有报道,需要深入探索。

2.3 保肝

王勤等研究了罗汉果皂苷对实验性慢性肝损伤的保护作用。结果发现,罗汉果皂苷可降低血清ALT、AST活性,增强肝组织SOD、GSH-Px活性,降低肝组织MDA水平,明显减轻肝组织病理变化程度。

与模型组相比有显著性差异($p<0.05$ 或 $p<0.01$),提示罗汉果皂苷对CCl₄所致大鼠慢性肝损伤有明显的保肝作用,其机制可能与抑制脂质过氧化有关^[21]。此外,罗汉果皂苷对四氯化碳诱导小鼠急性肝损伤和以卡介苗(BCG)加脂多糖(LPS)诱导免疫肝损伤具有保护作用,可显著降低急性、免疫性肝损伤小鼠血清ALT、AST活性,增强免疫性肝损伤小鼠肝组织匀浆SOD活性、降低MDA含量,并显著减轻肝组织病理变化程度。这些结果表明罗汉果皂苷对小鼠急性肝损伤、免疫性肝损伤的保护作用可能与其抗脂质过氧化作用有关^[22]。廖长秀研究发现0.5g/kg·d罗汉果皂苷连续灌胃给药7d能显著降低乙醇所致小鼠急性酒精性肝损伤导致的血清谷丙转氨酶升高,提高肝脏过氧化氢酶和超氧化物歧化酶活性,减轻肝组织病理改变,提示罗汉果皂苷对乙醇诱导肝损伤的保护作用可能与增强肝脏抗氧化功能有关^[23]。

进一步研究显示罗汉果皂苷不同剂量组均能明显降低CCl₄诱导的肝纤维化大鼠ALT、AST、MDA、CIV、PⅢNP含量,增强SOD活性,减轻肝组织病理损伤程度,抑制肝组织TGF- β 1表达,对CCl₄诱导的肝纤维化大鼠有明显保护作用^[24]。王勤等研究发现罗汉果皂苷大鼠肝星状细胞HSC-T6无特异细胞毒性,体积分数为20%、10%的罗汉果皂苷可显著抑制HSC-T6的增殖($p<0.05$ 或 $p<0.01$),显著抑制Col-I、TGF- β 1及TIMP-1 mRNA的表达($p<0.05$ 、 $p<0.01$),提示罗汉果皂苷对HSC-T6细胞无特异毒性,但可抑制HSC-T6细胞增殖和Col-I表达,促进细胞外基质(ECM)降解,这可能是其抗肝纤维化的部分作用机制^[25]。肖刚和王勤研究罗汉果皂苷对CCl₄诱导小鼠急性肝损伤的保护作用,结果表明罗汉果皂苷可降低血清中ALT、AST活性,显著减轻肝组织病理变化程度;对于CCl₄所致大鼠慢性肝损伤,罗汉果皂苷可降低血清中ALT、AST活性;降低透明质酸(HA)、Ⅲ型前胶原氨基端肽(PⅢNP)、羟脯氨酸(Hyp)含量;增强肝组织SOD、GSH-Px活性;降低肝组织MDA水平;抑制TGF- β 1表达,并明显减轻肝组织病理变化程度。这些结果提示罗汉果皂苷对CCl₄所致小鼠急性肝损伤和CCl₄所致大鼠慢性肝损伤有防治作用,并有一定的抗肝纤维化作用^[26]。

2.4 抗疲劳

姚绩伟等通过测定小鼠力竭游泳与力竭爬绳时间、耐缺氧及耐高温时间,探讨服用不同剂量罗汉果提取液对递增负荷训练小鼠生理机能的影响。结果表明一定范围内,小鼠生理机能的提高程度与服用罗汉果剂量呈现明显依赖性;不同剂量罗汉果对小鼠生理机能影响呈现出典型的双向效应,剂量增大效果逐渐增强,但剂量继续增大时,反而出现抑制现象;15.0g/kg·w·d剂量的罗汉果对提高小鼠生理机能效果最为显著^[27]。此外,罗汉果提取液能提高小鼠运动至力竭的时间,促进机体Hb合成^[28]。进一步研究显示服药组小鼠运动能力显著增强,力竭即刻服药组Hb下降幅度及血清GOT和CK、全血LD、心肌MDA升高幅度明显减小,24h恢复后服药组Hb明显升高,而血清GOT和CK、心肌MDA明显低于恢复对照组,服

药安静组GSH-Px活性明显高于安静对照组,服药组力竭即刻与24h恢复后心肌SOD与GSH-Px活性与相应的对照组比较明显升高,表明罗汉果提取液能显著提高训练小鼠的运动能力和心肌抗自由基氧化的功能,对大强度运动造成的自由基损伤有明显保护作用^[29]。夏星等研究表明罗汉果皂苷显著延长小鼠力竭游泳时间($p<0.05$),75、150mg/kg组小鼠耐缺氧存活时间显著延长($p<0.05$)。服用罗汉果皂苷后,小鼠肝糖原和肌糖原含量均显著增加($p<0.001$),运动后血尿素氮和乳酸生成显著减少($p<0.001$),乳酸脱氢酶活性显著增强($p<0.05$),提示罗汉果皂苷能显著增强小鼠的抗疲劳和耐缺氧能力,其作用可能与增加机体糖原储备和加速乳酸代谢有关^[30],但其作用机制尚不明确。

2.5 抗癌

为了寻求天然来源癌症化学预防剂,Takasaki等从植物化学物和食品添加剂中筛选,结果筛选出两种天然甜味剂,罗汉果皂苷V和11-O-罗汉果皂苷V,在癌症促进因子12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate(TPA)诱导的Epstein-Barr病毒早期抗原(EBV-EA)初级筛选测试中表现出强烈抑制活性。这两种具有葫芦烷型三萜苷元的甜味剂对于过氧亚硝基阴离子(ONOO-)作为起始剂,TPA作为促进剂诱导产生的小鼠皮肤癌的两阶段致癌实验,具有显著抑制作用。此外,11-O-罗汉果皂苷V对于7,12-dimethylbenz[a]anthracene(DMBA)作为起始剂,TPA作为促进剂诱导产生的小鼠皮肤癌的两阶段致癌实验亦显示出明显抑制作用^[31]。Mizushima等研究发现罗汉果皂苷I E1(mogroside I E1),一种甾体糖苷,抑制人类癌细胞生长,而构成罗汉果皂苷I E1的两个部分,罗汉果醇和D-葡萄糖对癌细胞无抑制作用^[32]。Li等从未成熟罗汉果果实中发现3中新葫芦烷型三萜皂苷类化合物,11-O-罗汉果皂苷Ⅲ(11-oxomogroside Ⅲ),11-脱羟基罗汉果皂苷Ⅲ(11-dehydroxymogroside Ⅲ)和11-O-罗汉果皂苷ⅣA(11-oxomogroside ⅣA),并测试了包括这3中新化合物在内的12种罗汉果皂苷及其类似物对结肠癌细胞HCT-116、肝癌细胞SMMC-7721的细胞毒性,尽管对这2种肝癌细胞无明显细胞毒性,但更长周期的时间-依赖关系会发现其可能具有细胞毒性^[8]。Matsumoto研究发现罗汉果提取物可以抑制Cyp1a1诱导,引起ROS生成受阻,从而抑制肝癌发生,这很可能是由于Ahr活性受到抑制^[33]。Weerawatanakorn等以TPA(12-O-tetradecanoyl phorbol 13-acetate)刺激小鼠皮肤建立模型,结果发现罗汉果提取物抑制炎症相关的肿瘤发生机制与其调节多种信号通路,抑制核因子NF- κ B上调有关^[34]。

2.6 抗炎

Pan等研究罗汉果提取物对脂多糖(LPS)激活小鼠RAW 264.7巨噬细胞iNOS和COX-2诱导表达的抑制作用。结果表明罗汉果提取物可干扰PI3K/Akt/IKK和MAPK信号通路,抑制核因子NF- κ B激活以下调巨噬细胞炎症因子iNOS和COX-2基因表达^[35]。陈瑶等采用二甲苯和角叉菜胶致炎实验,观察罗汉果皂苷

的抗炎作用。结果表明罗汉果皂苷对二甲苯和角叉菜胶致炎模型没有显著影响^[36]。然而,Di等研究发现罗汉果皂苷可通过下调炎症关键基因iNOS,COX-2和IL-6及上调某些炎症保护基因,如PARP1,BCL211,TRP53和MAPK9以抑制脂多糖(LPS)诱导的RAW 264.7细胞产生的炎症。类似地,对于小鼠耳肿胀模型,罗汉果皂苷下调COX-2和IL-6及上调PARP1,BCL211,TRP53,MAPK9和PPAR δ 基因表达以抑制12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate诱导产生的炎症,提示罗汉果皂苷的抗癌和抗糖尿病作用可能部分由其抗炎活性介导^[37]。罗汉果皂苷发挥抗糖尿病作用是否部分由其抗炎作用贡献及其相关机制需要进一步探索和明确。

2.7 其他生物活性

王勤等用罗汉果皂苷给正常和环磷酰胺(CTX)抑制小鼠灌胃,检测小鼠巨噬细胞吞噬功能和T细胞的增殖作用。结果显示罗汉果皂苷对正常小鼠免疫功能无明显作用,但能显著提高CTX免疫抑制小鼠巨噬细胞吞噬功能和T细胞增殖作用^[38]。赵燕等利用高脂饲料饲喂ICR小鼠建立高血脂动物模型,喂养一定剂量罗汉果皂苷60d后,小鼠血清平均TC含量为86.07mg/dL,比高脂模型组降低了27.5%,效果显著($p<0.05$);TG含量为118.98mg/dL,降低了44.5%,显著低于高脂模型组($p<0.05$),HDL-C平均含量为0.01mg/dL,升高了27.3%,达到显著水平($p<0.05$),提示罗汉果皂苷具有正向调节机体血脂代谢的生理功能^[39]。此外,变形链球菌在罗汉果皂苷培养液中几乎不生长繁殖,提示罗汉果皂苷具有防龋齿作用^[40]。有研究发现单一剂量罗汉果皂苷提取物对组胺诱导的ICR小鼠擦鼻和抓挠行为无明显影响,但300或1000mg/kg罗汉果皂苷提取物连续喂养4周后具有显著抑制效果^[41]。Chen等研究发现罗汉果葫芦烷型三萜皂苷的主要苷元罗汉果醇(mogrol)是HepG2细胞一种有效的AMPK激活剂,提示罗汉果皂苷苷元mogrol激活的AMPK至少部分贡献了罗汉果皂苷体内抗高血糖,降血脂功效^[42]。

3 展望

当前罗汉果皂苷主要作为一种新型非糖、低热量的甜味剂。近年来,尽管有相关研究提示其具有多种生物学活性,且主要集中于动物水平,但是其作用机制尚不明确,特别是从细胞、分子、基因水平上进行深入研究的文献尚不多。利用现代医药学、分子生物学等技术,进一步研究其生物活性的作用机制,有望开发罗汉果皂苷功能性食品或药物前体。另外,有关罗汉果皂苷在机体内的代谢途径及相关代谢产物的研究鲜有报道,作为三萜类糖苷,摄食后是否会被胃肠道消化酶、肠道微生物菌群降解,如何降解尚未清晰,因此,有必要利用现代分析技术、代谢组学等深入研究罗汉果皂苷摄入体内后的生物转化、代谢途径、产物、代谢机制等。

参考文献

[1] 张宏,李啸红. 罗汉果的药理作用和毒性研究进展[J]. 中国

农学通报,2011,27(5):430-433.

- [2] 张俐勤. 低热量甜味剂罗汉果皂甙的分离、分析及其生物活性评价[D]. 武汉:华中农业大学,2004.
- [3] 鞠伟,程云燕,张健. 罗汉果研究概况综述[J]. 广西轻工业,2001,4:4-6.
- [4] 李典鹏,张厚瑞. 广西特产植物罗汉果的研究与应用[J]. 广西植物,2000,20(3):270-276.
- [5] JIN J S, LEE J H. Phytochemical and pharmacological aspects of *Siraitia grosvenorii*, Luo Han Guo. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*[J]. 2012, 12(4):233-239.
- [6] SI J Y, CHEN D H, TU G Z. Siraitic Acid F, a New nor-Cucurbitacin With Novel Skeleton, from the Roots of *Siraitia Grosvenorii*[J]. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2005, 7(1):37-41.
- [7] LI D, IKEDA T, MATSUOKA N, et al. Cucurbitane glycosides from unripe fruits of Lo Han Kuo (*Siraitia grosvenori*) [J]. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2006, 54(10):1425-1428.
- [8] LI D, IKEDA T, NOHARA T, et al. Cucurbitane glycosides from unripe fruits of *Siraitia grosvenori* [J]. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2007, 55(7):1082-1086.
- [9] LI D P, EL-AASR M, IKEDA T, et al. Two new cucurbitane-type glycosides obtained from roots of *Siraitia grosvenori* SWINGLE [J]. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2009, 57(8):870-872.
- [10] 张俐勤,戚向阳. 罗汉果皂甙及药理活性研究进展[J]. 广西热带农业,2005,6:22-24.
- [11] CHEN W, WANG J, QI X, et al. The antioxidant activities of natural sweeteners, mogrosides, from fruits of *Siraitia grosvenori* [J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2007, 58(7):548-556.
- [12] XU Q, CHEN S, DENG L, et al. Antioxidant effect of mogrosides against oxidative stress induced by palmitic acid in mouse insulinoma NIT-1 cells [J]. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2013, 46(11):949-955.
- [13] 徐庆,梁荣感,苏小建,等. 罗汉果甜苷对正常人血糖含量与肝酶活性的影响[J]. 食品科学,2007,28(6):315-317.
- [14] 苏小建,徐庆,梁荣感,等. 罗汉果甜苷的毒性作用研究[J]. 食品科学,2005,26(3):221-224.
- [15] 戚向阳,陈维军,宋云飞,等. 罗汉果提取物对糖尿病小鼠的降血糖作用[J]. 中国公共卫生,2003,19(10):1226-1227.
- [16] 张俐勤,戚向阳,陈维军,等. 罗汉果皂苷提取物对糖尿病小鼠血糖、血脂及抗氧化作用的影响[J]. 中国药理学通报,2006,22(2):237-240.
- [17] SUZUKI YA, TOMODA M, MURATA Y, et al. Antidiabetic effect of long-term supplementation with *Siraitia grosvenori* on the spontaneously diabetic Goto-Kakizaki rat [J]. *British Journal of Nutrition*, 2007, 97(4):770-775.
- [18] QI X, CHEN W, LIU L, et al. Effect of a *Siraitia grosvenori* extract containing mogrosides on the cellular immune system of type 1 diabetes mellitus mice [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2006, 50(8):732-738.
- [19] SUZUKI Y A, MURATA Y, INUI H, et al. Triterpene glycosides of *Siraitia grosvenori* inhibit rat intestinal maltase and suppress the rise in blood glucose level after a single oral administration of maltose in rats [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(8):2941-2946.
- [20] QI X Y, CHEN W J, ZHANG L Q, et al. Mogrosides extract from *Siraitia grosvenori* scavenges free radicals *in vitro* and lowers oxidative stress, serum glucose, and lipid levels in alloxan-induced diabetic mice [J]. *Nutrition Research*, 2008, 28(4):278-284.
- [21] 王勤,肖刚. 罗汉果甜苷对大鼠慢性肝损伤保护作用的实验研究[J]. 广西中医药,2007,30(5):54-56.
- [22] 肖刚,王勤. 罗汉果甜苷对小鼠实验性肝损伤保护作用的研究[J]. 中国药房,2008,19(3):163-165.
- [23] 廖长秀,李曙波,薛强,等. 罗汉果皂苷对乙醇所致肝损伤的拮抗作用[J]. 时珍国医国药,2010,21(12):3116-3117.
- [24] 肖刚,陈壮,黎为能,等. 罗汉果甜苷对四氯化碳诱导的肝纤维化大鼠的保护作用[J]. 山东医药,2012,52(16):19-24.
- [25] 王勤,王巍,龙颖,等. 罗汉果甜苷对肝星状细胞HSC-T6增殖及肝纤维化相关基因的影响[J]. 中草药,2013,44(3):331-334.
- [26] 肖刚,王勤. 罗汉果甜苷保肝作用实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(2):196-200.
- [27] 姚绩伟,唐晖,申伟华,等. 不同剂量罗汉果提取液对递增负荷训练小鼠生理机能影响的效果观察[J]. 辽宁体育科技,2007,29(3):24-26.
- [28] 姚绩伟,唐晖,周亮,等. 罗汉果提取液对小鼠运动耐力及肝组织抗氧化损伤的影响[J]. 中国运动医学杂志,2008,27(2):221-223.
- [29] 姚绩伟,杨永亮,唐晖,等. 罗汉果提取液对训练小鼠运动能力及心肌自由基代谢的影响 [J]. 北京体育大学学报,2009, 32(3):67-69.
- [30] 夏星,钟振国,林彩云,等. 罗汉果皂苷抗疲劳及耐缺氧作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(17):198-201.
- [31] TAKASAKI M, KONOSHIMA T, MURATA Y, et al. Anticarcinogenic activity of natural sweeteners, cucurbitane glycosides, from *Momordica grosvenori* [J]. *Cancer Letters*, 2003, 198(1):37-42.
- [32] MIZUSHINA Y, AKIHISA T, HAYAKAWA Y, et al. Structural Analysis of Mogrol and its Glycosides as Inhibitors of Animal DNA Polymerase and Human Cancer Cell Growth [J]. *Letters in Drug Design & Discovery*, 2006, 3(4):253-260.
- [33] MATSUMOTO S, JIN M, DEWA Y, et al. Suppressive effect of *Siraitia grosvenorii* extract on dicyclanil-promoted hepatocellular proliferative lesions in male mice [J]. *The Journal of Toxicological Sciences*, 2009, 34(1):109-118.
- [34] WEERAWATANAKORN M, YANG J R, TSAI M L, et al. Inhibitory effects of *Momordica grosvenori* Swingle extracts on 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate-induced skin inflammation and tumor promotion in mouse skin [J]. *Food & Function*, 2014.
- [35] PAN M H, YANG J R, TSAI M L, et al. Anti-inflammatory effect of *Momordica grosvenori* Swingle extract through suppressed LPS-induced upregulation of iNOS and COX-2 in murine macrophages [J]. *Journal of Functional Foods*, 2009, 1(2):145-152.
- [36] 陈瑶,王永祥,范小兵,等. 罗汉果甜苷的润肠通便和抗炎作用研究[J]. 解放军药科学学报,2011,27(3):202-204.
- [37] DI R, HUANG M T, HO C T. Anti-inflammatory Activities of Mogrosides from *Momordica grosvenori* in Murine Macrophages

(下转第395页)

interferon- α production by *Pichia pastoris* with an ethanol on-line measurement based DO-stat glycerol feeding strategy[J]. J Chem Technol Biot, 2014, 89:10-16.

[31] Wu D, Yu X W, Wang T C, *et al.* High yield Rhizopus chinensis prolipase production in *Pichia pastoris*: impact of methanol concentration[J]. Biotechnol Bioprocess Eng, 2011, 16(2):305-311.

[32] Ding J, Zhang C L, Gao M J, *et al.* Enhanced porcine circovirus Cap protein production by *Pichia pastoris* with a fuzzy logic do control based methanol/sorbitol co-feeding induction strategy[J]. J Biotechnol, 2014, 177:35-44.

[33] Maghsoudi A, Hosseini S, Shojaosadati S A, *et al.* A new methanol-feeding strategy for the improved production of beta-galactosidase in high cell-density fed-batch cultures of *Pichia pastoris* mut(+) strains[J]. Biotechnol Bioprocess Eng, 2012, 17(1):76-83.

[34] Niu H, Jost L, Pirlot N, *et al.* A quantitative study of methanol/sorbitol co-feeding process of a *Pichia pastoris* mut(+) /pAOX1-lacZ strain[J]. Microb Cell Fact, 2013, 12:33.

[35] Jorda J, Suarez C, Carnicer M, *et al.* Glucose-methanol co-utilization in *Pichia pastoris* studied by metabolomics and instationary ^{13}C flux analysis[J]. BMC Syst Biol, 2013, 7:17.

[36] Çalık P, Bozkurt B, Zerbe G H, *et al.* Effect of co-substrate sorbitol different feeding strategies on human growth hormone production by recombinant *Pichia pastoris*[J]. J Chem Technol Biotechnol, 2013, 88(9):1631-1640.

[37] Paulova L, Hyka P, Branska B, *et al.* Use of a mixture of glucose and methanol as substrates for the production of recombinant trypsinogen in continuous cultures with *Pichia pastoris* mut(+)[J]. J Biotechnol, 2012, 157(1):180-188.

[38] Arnau C, Casas C, Valero F. The effect of glycerol mixed substrate on the heterologous production of a rhizopus oryzae lipase in *Pichia pastoris* system[J]. Biochem Eng J, 2011, 57:30-37.

[39] Gao M J, Li Z, Yu R S, *et al.* Methanol/sorbitol co-feeding induction enhanced pIFN- α production by *P. pastoris* associated with energy metabolism shift[J]. Bioprocess Biosyst Eng, 2012, 35(7):1125-1136.

[40] Zhu T C, Hang H F, Chu J, *et al.* Transcriptional investigation of the effect of mixed feeding to identify the main cellular stresses on recombinant *Pichia pastoris*[J]. J Ind Microbiol Biotechnol, 2013, 40(2):183-189.

[41] Baumann K, Carnicer M, Dragosits M, *et al.* A multi-level study of recombinant *Pichia pastoris* in different oxygen conditions

[J]. BMC Syst Biol, 2010, 4:141.

[42] Gasch A P, Werner Washburne M. The genomics of yeast responses to environmental stress and starvation[J]. Funct Integr Genomics, 2002, 2:181-192.

[43] Vanz A L, Luensdorf H, Adnan A, *et al.* Physiological response of *Pichia pastoris* GS115 to methanol-induced high level production of the Hepatitis B surface antigen: catabolic adaptation, stress responses, and autophagic processes[J]. Microb Cell Fact, 2012, 11:103.

[44] Carnicer M, Ten Pierick A, Van Dam J, *et al.* Quantitative metabolomics analysis of amino acid metabolism in recombinant *Pichia pastoris* under different oxygen availability conditions[J]. Microb Cell Fact, 2012, 11:83.

[45] Dragosits M, Stadlmann J, Graf A, *et al.* The response to unfolded protein is involved in osmotolerance of *Pichia pastoris* [J]. BMC Genomics, 2010, 11:207.

[46] Jorda J, Jouhten P, Camara E, *et al.* Metabolic flux profiling of recombinant protein secreting *Pichia pastoris* growing on glucose: Methanol mixtures[J]. Microb Cell Fact, 2012, 11:57.

[47] Sola A, Jouhten P, Maaheimo H, *et al.* Metabolic flux profiling of *Pichia pastoris* grown on glycerol/methanol mixtures in chemostat cultures at low and high dilution rates [J]. Microbiology, 2007, 153:281-290.

[48] Jorda J, De Jesus S S, Peltier S, *et al.* Metabolic flux analysis of recombinant *Pichia pastoris* growing on different glycerol/methanol mixtures by iterative fitting of NMR-derived ^{13}C -labelling data from proteinogenic amino acids[J]. New Biotechnol, 2014, 31(1):120-132.

[49] Unrean P. Pathway analysis of *Pichia pastoris* to elucidate methanol metabolism and its regulation for production of recombinant proteins[J]. Biotechnol Prog, 2014, 30(1):28-37.

[50] 关波, 金坚, 李华钟. 改良毕赤酵母分泌表达外源蛋白能力的研究进展[J]. 微生物学报, 2011, 51(7):851-857.

[51] Zhu T, Guo M, Zhuang Y, *et al.* Understanding the effect of foreign gene dosage on the physiology of *Pichia pastoris* by transcriptional analysis of key genes[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2011, 89(4):1127-1135.

[52] Lin X Q, Liang S L, Han S Y, *et al.* Quantitative ITRAQ LC-MS/MS proteomics reveals the cellular response to heterologous protein overexpression and the regulation of HAC1 in *Pichia pastaris*[J]. J Proteomics, 2013, 91:58-72.

[53] Liberek K, Lewandowska A, Zietkiewicz S. Chaperones in control of protein disaggregation[J]. EMBO J, 2008, 27(2):328-335.

(上接第388页)

and a Murine Ear Edema Model[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(13):7474-7481.

[38] 王勤, 王坤, 戴盛明, 等. 罗汉果甜甙对小鼠细胞免疫功能的调节作用[J]. 中药材, 2001, 24(11):811-812.

[39] 赵燕, 刘国艳, 史贤明. 罗汉果浓缩汁及罗汉果甜甙对小鼠血脂代谢的影响[J]. 中国食品学报, 2008, 8(1):9-12.

[40] 赵燕. 罗汉果浓缩汁及罗汉果甜甙防龋性实验研究[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(2):87-90.

[41] HOSSEN M A, SHINMEI Y, JIANG S, *et al.* Effect of Lo Han Kuo (*Siraitia grosvenori* Swingle) on Nasal Rubbing and Scratching Behavior in ICR Mice[J]. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2005, 28(2):238-241.

[42] CHEN X B, ZHUANG J J, LIU J H, *et al.* Potential AMPK activators of cucurbitane triterpenoids from *Siraitia grosvenorii* Swingle[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2011, 19(19):5776-5781.