

三萜类酸枣仁皂苷的提取与纯化方法研究进展

芦晓芳^{1,2}, 赵晋忠^{2*}, 常丽萍^{1*}

¹太原理工大学煤科学与技术重点实验室, 太原 030024; ²山西农业大学, 太谷 030801

摘要:酸枣仁皂苷类化合物是具有多种生理功能的生物活性物质,但其化学成分复杂,提取率和纯度受提取及纯化过程中多种因素的影响,常规提取和纯化方法存在提取率和纯度较低的局限,需要将辅助操作及先进技术引入和应用到酸枣仁皂苷的提取和纯化。本文综述了近年来酸枣仁皂苷类化合物的提取和纯化方法的研究进展,以期开发出高效且操作简便的酸枣仁皂苷单体的分离纯化新技术,为新酸枣仁皂苷类化合物的发现、提取、分离与进一步研究奠定基础。

关键词:酸枣仁皂苷;皂苷类化合物;提取技术;分离纯化技术

中图分类号:Q541

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2017.11.026

Research Progress on Extraction and Purification for Jujuboside

LU Xiao-fang^{1,2}, ZHAO Jin-zhong^{2*}, CHANG Li-ping^{1*}

¹Key Laboratory of Coal Science and Technology, Ministry of Education and Shanxi Province, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China; ²Shanxi Agriculture University, Taigu 030801, China

Abstract: Jujubosides are bioactive substances with a variety of physiological functions. But its structures are very complicated and the extraction efficiency and pesticide effect are greatly affected by many factors in the processes of extraction. High efficient extraction technology of jujubosides has been continuously improved based on the traditional extraction methods. To obtain high purity of jujubosides monomer, the new, efficient and easy operational separation and purification technology of jujubosides monomer is imperative. The research progress of the extraction and purification of jujubosides were reviewed in this paper, providing theoretical basis for developing new efficient separation and purification technology and lay the foundation for the discovery, extraction and isolation of new jujubosides.

Key words: jujuboside; saponins; extraction; separation and purification technology

酸枣仁皂苷是存在于酸枣仁中的一种化学成分复杂且药理作用广泛的化合物,学者们投入精力对酸枣仁皂苷作为生物活性化合物进行解开分子结构研究的同时,提供了其大量的药物属性^[1]。酸枣仁皂苷在结构上属于达玛烷型三萜类化合物^[2],由酸枣仁皂苷元连接不同种类的糖基团和部分含有环酮基、半缩醛键、缩醛键形成,主要包含了酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B^[3]、酸枣仁皂苷 A1、酸枣仁皂苷 B1、酸枣仁皂苷 C 和乙酰酸枣仁皂苷 B^[4]、酸枣仁皂苷 D^[5]、酸枣仁皂苷 E^[6]、酸枣仁皂苷 G^[7]、酸枣仁皂苷 I-IV(1-4)^[8]及原酸枣仁皂苷 A、原酸枣仁皂苷 B、原酸枣仁皂苷 B1^[9]、原酸枣仁皂苷 H^[10]。酸枣仁皂苷特有的结构特征(如图 1 所示)使其具有

镇静催眠、降压、抗心肌缺血、降血脂和防治动脉粥样硬化、护脑和抗脂质过氧化等功效,因而分离纯化过程必须确保其药理和临床研究的可靠性和可重复性^[11]。本文拟将就酸枣仁皂苷的提取纯化研究现状做一梳理,以期寻求未来皂苷类化合物提取分离纯化的发展方向。

1 酸枣仁皂苷的提取方法

从植物中提取活性组分最常用的是传统提取法,即固体颗粒浸渍在萃取溶剂中,当提取达平衡后将活性组分收集。为提高萃取溶剂的提取率,半仿生法、复合酶、微波、超高压、超声及负压空化等辅助技术引入到酸枣仁皂苷的提取过程中,这些非传统活性组分的提取技术将或已经代替了传统的提取技术。

1.1 传统提取法

酸枣仁皂苷的传统提取方法有水煎煮法、浸渍

收稿日期:2017-4-5 接受日期:2017-07-05

基金项目:山西省自然科学基金(201601D011076);山西省高等学校科技创新项目(2015148)

*通信作者 Tel:86-351-6010482; E-mail:lpchang@tyut.edu.cn

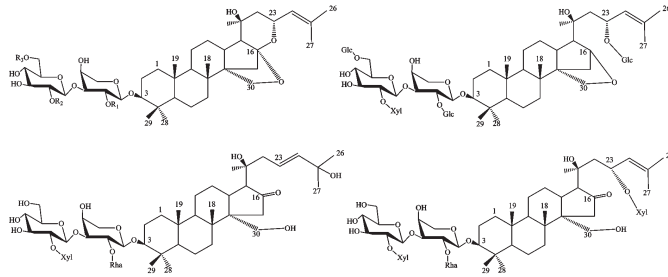


图1 酸枣仁皂苷结构式

Fig. 1 Chemical structure of jujuboside

法、渗漉法、改良明胶法、热回流法等,其中水煎煮法和热回流法最为常用。由于传统提取法以水为溶剂,在提取过程中使脂溶性的酸枣仁皂苷损失较多,皂苷提取率较低。根据相似相容原理,皂苷类化合物在乙醇水溶液中溶解度较大,且乙醇安全无毒、价廉,乙醇溶液是热回流提取法中常用的溶剂。酸枣仁皂苷在提取过程中浓度变化曲线如图2所示。

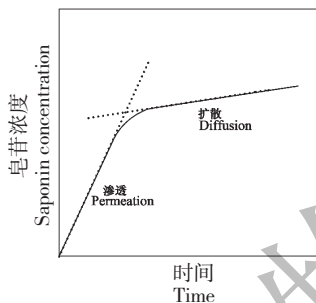


图2 酸枣仁皂苷在传统提取过程中不同时刻浓度变化曲线图

Fig. 2 The concentration curve of conventional solvent extraction for jujuboside

由图2可知,酸枣仁皂苷传统的提取法经历两个过程,即渗透和扩散^[12]。渗透是指酸枣仁皂苷通过细胞壁从细胞内到细胞外的过程,此过程为慢速过程;扩散是指酸枣仁皂苷从细胞外到提取溶剂中的过程,此过程为快速过程。渗透和扩散过程决定了酸枣仁皂苷的提取率,而决定渗透与扩散效率的根本在于提取溶剂的极性、提取时间和酸枣仁细胞壁的破损程度。吴玉兰等^[13]从炒制酸枣仁中提取酸枣仁皂苷,采用正交设计优选酸枣仁皂苷A的醇提工艺,得出其最佳醇提工艺条件为6倍量体积的80%乙醇回流提取3次,每次30 min。在此工艺条件下,测得酸枣仁样品中酸枣仁皂苷A含量为 0.3211 ± 0.0062 mg/mL。张巾英^[14]则得到最佳醇

提工艺条件为8倍量体积的70%乙醇回流提取30 min。在此工艺条件下,20 g去脂酸枣仁粉末中测得酸枣仁总皂苷量为359.3 mg,比传统的水提法总皂苷量(283.85 mg)的提取率增加了27%。乙醇溶液作为酸枣仁皂苷及其它皂苷类化合物的提取溶剂,使其提取与糖类的醇沉一步完成,简化了皂苷类化合物的提取工艺。但传统的提取技术的特点是使用溶剂量大和提取时间长,得到的生物活性物质产量和选择性低^[15]。为克服传统提取技术的局限性,引入了非常规且无毒溶剂提取技术。

酸枣仁的干燥种子由植物细胞组成,植物细胞由细胞壁及原生质体组成,酸枣仁细胞壁的破损程度是影响酸枣仁皂苷提取的另一重要因素,一些有利于酸枣仁细胞壁破损的辅助方法被引入到酸枣仁皂苷的提取过程中,提取方法的演变过程和酸枣仁破壁前后的形貌如图3和图4所示。

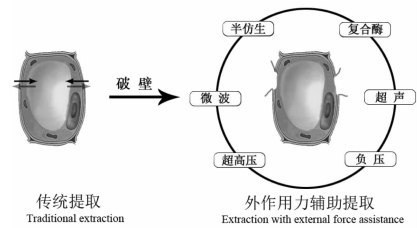


图3 酸枣仁皂苷提取方法演变史

Fig. 3 The evolution of extraction methods for jujuboside

1.2 半仿生提取法

王丽娟等^[16]通过对比酸枣仁半仿生提取物与醇提物对睡眠的改善效果,得出半仿生法提取物作用效果优于醇提取物;而张巾英^[13]采用半仿生法提取酸枣仁皂苷提取率却为0,分析原因可能是酸碱水解了酸枣仁皂苷。可见,半仿生法广泛应用于酸枣仁皂苷及其他皂苷类化合物的提取有待进一步完善,改进提取工艺条件以避免活性组分进一步转化

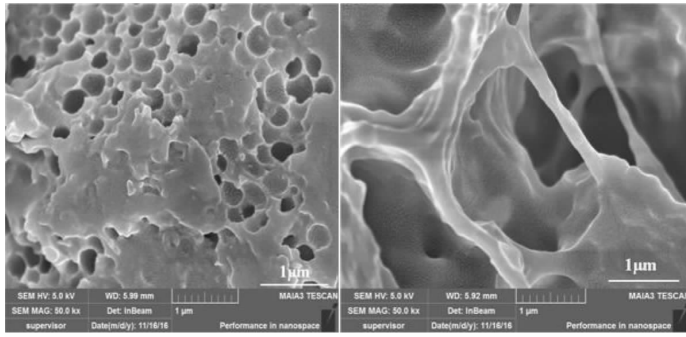


图4 酸枣仁细胞壁破壁前(a)和后(b)电镜图

Fig. 4 SEM of Semen Ziziphi before (a) and after (b) breaking cell wall

和提高提取率。

1.3 复合酶法

张明春等^[17]通过正交设计优化复合酶法的提取工艺,在最佳提取工艺条件,纤维素酶与果胶酶最适比例为1:1,pH值4.5,温度45℃,酶解5h下,经t检验,两种工艺的酸枣仁皂苷的提取率具有显著的差异($P < 0.001$),得到复合酶法提取工艺比传统回流提取工艺的酸枣仁皂苷提取率提高1.78倍。张巾英^[14]也通过实验确定了酸枣仁皂苷的复合酶法最佳提取工艺条件:温度40℃,pH值4.5,纤维素酶与果胶酶用量均为30 U/g生药,酶解5h,在此条件下提取20g酸枣仁,得到酸枣仁皂苷514.11mg,提取率较传统工艺提高了81%,较醇提工艺提高了43%。

1.4 微波辅助提取法

该法具有加热均匀、选择性好、提取效率高、节约能源、操作简单等优点。房信胜等^[18,19]研究发现,在微波辅助作用下,5g酸枣仁粉末用70%乙醇提取2次,在提取温度60℃,作用时间8min,液固比值16:1,微波功率800W的条件下,酸枣仁皂苷A的提取率最佳。

1.5 超高压提取法

朱俊洁^[20]首次将高压技术用于药用植物有效成分的提取上,活性组分的提取率从6.14%提高到9.67%,比常规的醇提法高出57.5%。陈瑞战等^[21]将超高压法用于提取人参皂苷(与酸枣仁皂苷同属达玛烷型三萜皂苷),采用均匀设计法优化提取工艺条件,确定了常温超高压提取人参皂苷的最优工艺条件:50%乙醇溶剂、压力200MPa,固液比1:100,提取时间1min。该条件下的提取率为7.32%。

1.6 超声辅助提取法

丁轲等^[22,23]比较了超声提取法和传统热回流法对酸枣仁皂苷的提取,结果表明超声提取法在乙醇体积分数50%,液固比25:1,功率750W,提取时间0.5h,提取温度50℃的最佳工艺提取条件下,酸枣仁皂苷A和B的平均提取率分别为1.176mg/g和0.401mg/g,较传统回流法提高了19.6%和7.7%。

1.7 负压空化提取法

负压空化提取^[24]在室温下执行,它可减少或防止退化热敏的化合物,具有程序简单,成本要求低,提取效率高且环保的技术优势,在酸枣仁皂苷提取中的应用具有潜能。

1.8 超临界-CO₂提取法

杨军宣等^[25]以酸枣仁皂苷A的收率为评价指标,研究表明,超临界-CO₂萃取酸枣仁中皂苷类成分的最佳工艺为:萃取压力35.0MPa,萃取温度45℃,以95%乙醇为夹带剂,其与药材投料量比例为1:1(V/W),CO₂体积流量6L/min,循环萃取时间3.0h。超临界-CO₂萃取酸枣仁中皂苷类成分具有快速、高效等优点,提取效果优于传统提取方法。

1.9 三效逆流提取法

滕腾等^[26]采用采用三效逆流提取酸枣仁总皂苷,优化得最佳提取条件:70℃下使用70%乙醇提取30min,溶剂倍量8mL/g,酸枣仁总皂苷含量为0.902mg/g。较常规热回流技术,其具有生产效率高,生产成本低,提取液药效成分稳定等优点。

酸枣仁皂苷各类提取方法的汇总如表1所示。在酸枣仁皂苷的提取中引入不同辅助方法,酸枣仁皂苷得率显著提高,但酸枣仁皂苷在提取过程中的

结构变化及产物组成的探讨相对较少。作者基于已有研究工作,将酸枣仁皂苷间的相互转化及其在提取过程中可能生成的产物进行了归纳,得到如图5所示的转化示意图。酸枣仁皂苷的环酮结构与人参

皂苷类似,酸枣仁皂醇的缩醛键是重要的药物载体,这将较好地提升酸枣仁皂苷的药用价值,对酸枣仁皂苷的提取分离纯化的未来发展趋势更具指导意义。

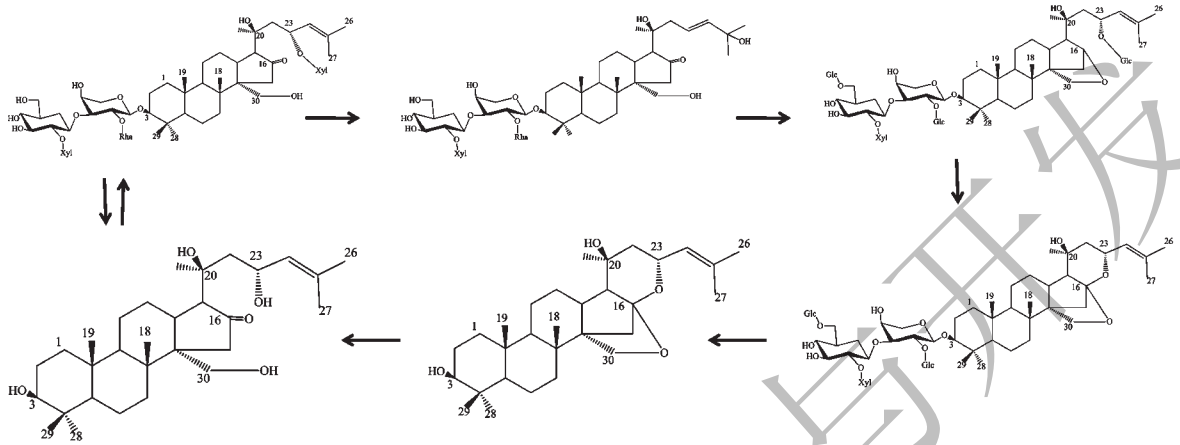


图5 酸枣仁皂苷转化示意图

Fig. 5 Jujuboside conversion formula

表1 酸枣仁皂苷提取方法总结

Table 1 Summary of the extraction methods for jujuboside

提取方法 Extraction method	操作技术 Operating techniques	特征 Feature	提取机理 Extraction mechanism
传统提取法	溶剂提取	溶剂极性	渗透与扩散
半仿生提取法	人工胃液和人工肠液中提取	酸碱水溶液	酸碱破壁
复合酶法	复合酶辅助提取	复合酶	酶解破壁
微波辅助提取法	微波辅助提取	微波加热	微波破壁
超高压提取法	超高压辅助提取	超高压	高压破壁
超声辅助提取法	超声辅助提取	超声辐射	超声破壁
负压空化提取法	负压辅助提取	负压	负压破壁
超临界-CO ₂ 提取法	超临界流体	超临界	强溶解能力
三效逆流提取法	三次热溶剂提取	热溶剂	渗透与扩散

2 酸枣仁皂苷的纯化方法

2.1 正丁醇萃取法

皂苷在含水正丁醇中溶解度大,正丁醇与水成两相,可用正丁醇提取水溶液中的皂苷。该法是皂苷提取纯化的传统方法,适用于各类植物皂苷,在酸枣仁皂苷中也有应用^[27]。

2.2 大孔吸附树脂法

大孔吸附树脂法是一类不含交换基团且有大孔结构的高分子吸附树脂(树脂交联结构如图6所

示^[28])有选择地物理吸附水溶液中有有机物的方法,该方法具有物理化学稳定性高、比表面积大、吸附容量大、选择性好、吸附速度快、解吸条件温和、再生处理方便、使用周期长、宜于构成闭路循环和费用较低等诸多优点,被广泛应用于三萜皂苷的分离纯化^[29]。

娄嵩等^[30]介绍了大孔吸附树脂对靶标分子的吸附热力学行为模式和靶标分子在大孔吸附树脂表面及孔内的吸附扩散行为模式,指出大孔吸附树脂与底物间构效关系的匹配程度及其对选择性的影响

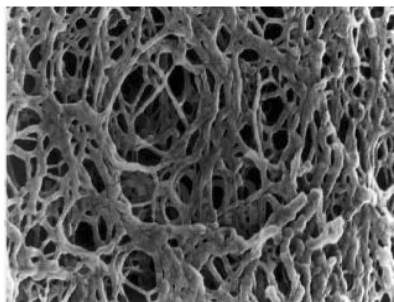


图6 树脂大孔交联聚合结构图

Fig. 6 Macroporous resin structure diagram

是大孔吸附树脂分离理论研究的核心。吸附剂的粒径与孔径尺寸、极性和疏水性等将会影响吸附过程；吸附剂表面功能基的性质（极性、酸碱性、氢键成键能力等）将会对吸附选择性及吸附行为产生影响。Jiang C 等^[31]使用 D-101 型大孔吸附树脂分离纯化皂苷，提出修正的回归模型能很好的预测粗皂苷浓度及吸附过程参数对吸附效率的影响。

李果等^[32]从不同类型的大孔吸附树脂（D101、D201、D301、D140、D141A）中优选出纯化酸枣仁皂苷性能较好的大孔吸附树脂 D101，同时获得最佳纯化工艺条件：蒸馏水、30% 乙醇、70% 乙醇各 3 BV（柱床沉降体积）1 BV/h 速度依次洗脱。在此条件下，酸枣仁总皂苷富集于 70% 乙醇洗脱液部位，洗脱率为 85.2%，精制度为 208.4%。李嘉滢等^[33]通过静态吸附解吸实验考察了大孔吸附树脂（AB-8、NKA-9、HPD-100、D-101、D-301、X-5）对酸枣仁皂苷的吸附与解吸能力，基于实验筛选出吸附容量大、解析率高、吸附速度快的 HPD-100 型大孔吸附树脂用于酸枣仁皂苷纯化。其最佳纯化工艺条件：酸枣仁总皂苷吸附溶液上样质量浓度 1.05 ~ 1.58 mg/mL，树脂柱径高比 $D = 1:10$ ，洗脱液流速 2BV/h，吸附时间 30 min，70% 的乙醇作洗脱剂。HPD-100 型大孔树脂富集酸枣仁总皂苷在 4 次循环使用中的工艺稳定可行，回收率达到 91.77%，在放大实验和 4 次循环使用中，酸枣仁总皂苷的纯度基本稳定。丁轲等^[23,34]从 7 种极性不同的大孔树脂（SP700、SP70、SP825、SP850、SP207、SP20、SP2MGL）中筛选出三菱 SP700 树脂，其对酸枣仁总皂苷具有良好吸附和解吸性能。静态实验中，该树脂的最高吸附容量可达 131.0 mg 皂苷/g 树脂，用体积分数为 90% 的乙醇解吸得率最高可达 97.8%；动态实验中，该树脂的平均动态吸附容量为 15 mg 皂苷/g 树脂，洗脱得率

最高可达到 95.1%，经过纯化的皂苷提取物含量提高了 4 倍。而杨军宣等^[35]通过比较不同型号大孔吸附树脂（D101、AB-8、HPD-100、ADS-7）对酸枣仁皂苷的纯化效果，筛选出了兼具去色和纯化效果的 ADS-7 型大孔吸附树脂，采用正交试验和单因素试验考察优选其最佳纯化工艺条件：柱高径比 3:1，药液质量浓度 1.0 g/mL，吸附速度 1.0BV/h，树脂生药吸附量 0.4 g/g，洗脱溶媒 70% 乙醇，洗脱速度 2BV/h，洗脱溶媒用量 4BV。

综上所述可知，学者们在利用大孔吸附树脂分离纯化酸枣仁皂苷的过程中，仅考虑到吸附剂表面功能基的极性，通过调整洗脱液极性达到分离纯化酸枣仁皂苷的目的，而忽略了树脂分离纯化过程中不同极性溶剂（如甲醇与水成氢键^[36]，如图 7(a)所示）与靶标分子间成氢键能力（如图 7(b)所示）及树脂孔径对树脂纯化靶标分子方面的影响。

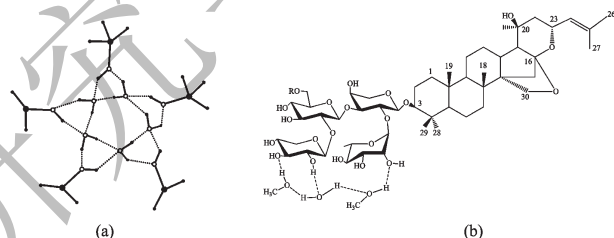


图7 甲醇与水成氢键 (a) 和甲醇水溶液与酸枣仁皂苷成氢键 (b) 示意图

Fig. 7 Methanol-water hydrogen (a) and methanol-water-Jujuboside hydrogen (b) diagram

2.3 超滤法

超滤法是在一定的压力下，使小分子溶质和溶剂穿过一定孔径的特制薄膜，大分子溶质不能透过，留在膜的一边，从而使大分子物质得到部分的纯化。现代膜分离技术可以对不同孔径的分子进行分离，分离过程不需加热，分离成分稳定、分离率高、耗能低、无二次污染，现已广泛应用于中药制剂。陈学林等^[37]探讨了超滤法纯化酸枣仁总皂苷的工艺操作，在操作压力 10 MPa，滤膜的分子截流值 1000 U，料液浓度 100 g/L，料液温度 30 °C 的条件下，得到溶液中酸枣仁皂苷 A 浓度由 0.1 mg/mL 增加到 8.0 mg/mL 左右的最佳结果。

2.4 硅胶柱层析法

高效分离率的硅胶柱层析法在酸枣仁皂苷单体的获得中起到重要作用（表 2）。刘沁虹等^[5]将酸枣仁正丁醇部经反相硅胶柱分离，再经 Sephadex LH-

20 柱纯化最后经 HPLC 分离得到酸枣仁皂苷 D。白焱晶等^[6]用硅胶柱分离酸枣仁正丁醇部提取物,再经 Sephadex LH-20 分离,最后经反相硅胶 RP-18 柱分离得到酸枣仁皂苷 E。王建忠等^[7]在分离提取纯

化酸枣仁皂苷的过程中经反复硅胶柱层析及 RP-18 柱分离,经核磁及红外光谱鉴定,得到酸枣仁皂苷 G 的同时得到了酸枣仁皂苷 A1、酸枣仁皂苷 A 和酸枣仁皂苷 B。

表 2 酸枣仁及其它皂苷纯化方法汇总

Table 2 Summary of the purification methods for jujuboside

纯化方法 Purification methods	操作技术 Operating techniques	特征 Feature	纯化机理 Purification mechanism
正丁醇法	萃取	极性	相似相容
大孔吸附树脂法	大孔树脂	氢键或其他作用力	吸附与解吸
超滤法	膜	膜过滤	分子大小
硅胶柱层析法	硅胶	极性	吸附与解吸

3 总结与展望

酸枣仁皂苷(皂苷类化合物)具有多种生理活性和广阔的应用前景。目前,酸枣仁皂苷及皂苷类活性化合物的应用受到限制,源于其结构复杂,提取、分离纯化工艺中存在诸多问题,得到均一的纯度高的活性皂苷类化合物单体困难。针对传统提取法提取率低的缺点,学者们提出条件温和的半仿生和复合酶辅助提取法;基于微波、超高压、超声和负压空化的破壁作用机理,将其分别引入酸枣仁皂苷及其它皂苷类化合物的提取中,活性组分提取率显著提高。为提高酸枣仁皂苷及其它皂苷类化合物的药效,活性组分的分离纯化必不可少,操作简单、分离纯化度高的新方法不断被提出,但仍然存在分离纯化效果不佳,二次污染等问题。基于已有活性组分的提取分离纯化方法,酸枣仁皂苷及其它皂苷类活性组分的提取分离纯化效率高、新方法,伴随协调效应(如超声与高压等的协调效应等)或活性组分结构转化等的提取与分离纯化高效方法(如载体最佳操作参数的优化)的探索势在必行。目前,酸枣仁皂苷的提取纯化利用的发展未来仍存在一些问题和挑战。(1)到目前为止,酸枣仁皂苷的提取纯化与检测是独立的体系,无法使酸枣仁皂苷及其它皂苷类活性组分定性检测与提取与分离纯化过程同步,无法预知酸枣仁皂苷在提取过程中的结构稳定性,因而无法预知皂苷类活性组分在提取过程中对结构变化的影响因素(如皂苷与皂醇的转化或一些特征键的断裂等)。(2)特殊流体(临界流体等)在酸枣仁皂苷提取过程中报道较少,皂苷在特殊流体中的提取能保证其在环保、节能、安全的条件下达到

其结构的转变,避免使用强酸强碱对环境等的污染。(3)制备型高效液相色谱法和高速逆流色谱法等天然产物的高效分离纯化技术在酸枣仁皂苷的分离纯化中未见报道,其高效分离技术有待进一步提高。(4)目前,酸枣仁皂苷纯化过程只关注产品纯度,而忽视了皂苷纯化效率,即酸枣仁皂苷与吸附剂的吸附与解吸率低、操作工艺参数不佳等问题。总之,酸枣仁皂苷理想的提取纯化方式应具有高效性、稳定性、便捷性、绿色环保等特点,为其产业化奠定坚实的理论基础。

参考文献

- 1 Augustin JM, *et al.* Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. *Phytochemistry*, 2011, 72:435-457.
- 2 Gao JF (高剑锋), *et al.* Summary of the jujuboside. *China Pharm* (中国药师), 2008, 11:1376-1378.
- 3 Otsuka H, *et al.* The structure of jujubosides A and B, the saponins isolated from the seeds of *Zizyphus jujuba*. *Phytochemistry*, 1978, 17:1349-1352.
- 4 Yoshikawa M, *et al.* Bioactive saponins and glycosides. X. On the constituents of zizyphi spinosi semen, the seeds of *Zizyphus jujube* Mill. var. *spinosa* Hu (1): structures and histamine release-inhibitory effect of jujubosides A1 and C and acetyljujuboside B. *Chem Pharm Bull*, 1997, 45:1186-1192.
- 5 Liu QC (刘沁航), *et al.* Structure identification of jujuboside D. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 2004, 39:601-604.
- 6 Bai YJ (白焱晶), *et al.* Structure identification of jujuboside E. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 2003, 38:934-937.
- 7 Wang JZ (王建忠), *et al.* Structural elucidation of triterpene saponins from the seeds of *Zizyphus jujuba* Mill. *Chin J Org Chem* (有机化学), 2008, 28(1):69-72.

- 8 Wang Y, *et al.* New triterpene glycosiders from *Ziziphi Spinosa* Semen. *Fitoterapia*, 2013, 90:185-191.
- 9 Matsuda H, *et al.* Bioactive saponins and glycosides. XIV. structure elucidation and immunological adjuvant activity of novel protojubenin type triterpene bisdesmosides, protojubenosides A, B, and B1, from the seeds of *Zizyphus jujuba* var. *spinosa* (*Ziziphi Spinosa* Semen). *Chem Pharm Bull*, 1999, 47:1744-1748.
- 10 Wang JZ (王建忠), *et al.* Chemical constituents in seeds of *Zizyphus jujube* var. *spinosa*. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2009, 40:1534-1536.
- 11 Liu S, *et al.* Traditional Chinese medicine and separation science. *J Sep Sci*, 2008, 31:2113-2137.
- 12 Chan CH, *et al.* Modeling and kinetics study of conventional and assisted batch solvent extraction. *Chem Eng Res Des*, 2014, 92:1169-1186.
- 13 Wu YL (吴玉兰), *et al.* Studies on the extraction and purification of total saponins from parched Semen *Ziziphi Spinosa*. *Chin Med Mat* (中药材), 2005, 28:219-223.
- 14 Zhang JY (张巾英). The extraction of jujubosides by enzymatic method. Tianjin: Tianjin University of Commerce (天津商业大学), MSc. 2008.
- 15 Laroze L, *et al.* Raspberry phenolic antioxidants extraction. *J Biotechnol*, 2008, 136:717-742.
- 16 Wang LJ (王丽娟), *et al.* Semen improvement semi-bionic extract and alcohol extract on sleep. *Lishizhen Med Mat Med Res* (时珍国医国药), 2010, 12 (21):3-4.
- 17 Zhang MC (张明春), *et al.* Optimum extraction conditions of *Zizyphus jujuba* with complex Phosphoesterasum. *Shanghai J TCM* (上海中医药杂志), 2008, 9 (42):76-78.
- 18 Angiolillo L, *et al.* The extraction of bioactive compounds from food residues using microwaves. *Curr Opin Food Sci*, 2015, 5:93-98.
- 19 Fang XS (房信胜), *et al.* Optimization of microwave-assisted extraction of jujuboside A from *Zizyphus jujubaseeds*. *Chem Ind Forest Prod* (林产化学与工业), 2010, 1 (30):92-95.
- 20 Zhu JJ (朱俊洁). Process and mechanism of high pressure technology to extract the active ingredients of Traditional Chinese medicine. Changchun: Jilin University (吉林大学), PhD. 2004.
- 21 Chen RZ (陈瑞战), *et al.* High pressure extraction of total ginsenoside at room temperature. *J Chem Ind Eng* (化工学报), 2005, 56:911-914.
- 22 Shirsath SR, *et al.* Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations-A review of current status. *Chem Eng Proc*, 2012, 53:10-23.
- 23 Ding K (丁轲), *et al.* Study on the extraction and purification technology of jujuboside A and B from *Ziziphi Spinosa* Semen. *J Chin Ins Food Sci Tech* (中国食品学报), 2010, 3 (10):40-46.
- 24 Roohinejad S, *et al.* Negative pressure cavitation extraction: A novel method for extraction of food bioactive compounds from plant materials. *Trends Food Sci Tech*, 2016, 52:98-108.
- 25 Yang JX (杨军宣), *et al.* Study on supercritical-CO₂ extraction of jujuboside A from *Zizyphus psinosa*. *Chin Tradit Patent Med* (中成药), 2015, 37:899-902.
- 26 Teng T (滕腾), *et al.* Study on countercurrent extraction of jujuboside. *Zhejiang J Tradit Med* (浙江中医杂志), 2016, 51:771-772.
- 27 Zhang N (张娜), *et al.* Research progress of jujuboside on extraction, purification and analytic Procedure. *Food Ferment Tech* (食品与发酵科技), 2012, 48 (6):82-84.
- 28 Resin adsorption principle (树脂吸附原理). 2014. 6. 9, (<http://www.docin.com/p-829403311.html>)
- 29 Wan JB, *et al.* Quantification and separation of protopanaxatriol and protopanaxadiol type saponins from *Panax notoginseng* with macroporous resins. *Sep Puri Tech*, 2008, 60:198-205.
- 30 Lou S (娄嵩), *et al.* Adsorption mechanism of macroporous adsorption resins. *Prog Chem* (化学进展), 2012, 24:1428-1436.
- 31 Jiang C, *et al.* A strategy for adjusting macroporous resin column chromatographic process parameters based on raw material variation. *Sep Puri Tech*, 2013, 116:287-293.
- 32 Li G (李果), *et al.* Study on the process of total saponins of Semen *Ziziphi Spinosa* purified with macroporous adsorption resin. *Chin Pharm* (中国药房), 2006, 17:1191-1193.
- 33 Li JY (李嘉滢), *et al.* Study on the process of saponins of Semen *Ziziphi Spinosa* purified with macroporous adsorption resin. *Chin J Mod Drug Appl*, 2013, 7:237.
- 34 Ding K (丁轲), *et al.* Study on purification of total triterpenoid saponins in *Ziziphi Spinosa* Semen by using SP700 macroporous resin. *Ion Exch Ads* (离子交换与吸附), 2011, 27 (1):33-41.
- 35 Yang JX (杨军宣), *et al.* Optimization of purification technology for saponins from *Zizyphus jujube* with macroporous adsorption resin by orthogonal test. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2012, 18 (12):63-66.
- 36 Gong Z (龚珍), *et al.* Hydrogen-bonding interaction in water/Methanol mixed solvent and theoretical studies on solubility of polymer chain. *Chem J Chin Univ* (高等学校化学学报), 2004, 25:539-542.
- 37 Chen XL (陈学林), *et al.* Study on purification technology of extraction of Semen *Ziziphi Spinosa* by ultrafiltration. *J Northwest Normal Univ, Nat Sci* (西北师范大学学报, 自科版), 2009, 45(5):96-98.