

• 药剂与工艺 •

稀莪草及其酒炙品 UPLC-Q-TOF/MS 分析

任伟光¹, 武拉斌¹, 降雪², 黄林芳^{1*}

1. 中国医学科学院 北京协和医科大学 药用植物研究所, 北京 100193

2. 中央大学, 韩国 首尔 156-756

摘要: **目的** 从化学角度阐释稀莪草酒炙后增效和药性转寒为温的机制。**方法** 采用超高效液相色谱与飞行时间质谱仪联用 (UPLC-Q-TOF/MS) 技术分析稀莪草炮制 (酒炙) 前后化学成分变化, 运用 MarkerLynx 4.1 软件进行分析。**结果** 发现酒炙前后稀莪草化学成分差异显著; 正离子模式下, 酒炙品中 3', 4'-去二磺酸基苍术苷、豆甾醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷等成分的量明显升高, 对映-18-乙酰氧基-17-羟基-16βH-贝壳杉烷-19-酸、木犀草素等成分的量明显下降; 负离子模式下, 酒炙品中稀莪苷、3', 4'-去二磺酸基苍术苷等成分的量明显升高, 矢车菊黄素、豆甾醇等成分的量明显下降。酒炙后其主要活性成分奇壬醇、稀莪酸、稀莪酮、槲皮素的量均明显升高。通过主成分分析法和正交偏最小二乘判别法分析酒炙前后指纹图谱的差异, 得到潜在的化学标记物 3', 4'-去二磺酸基苍术苷。**结论** 各成分量的变化可能是稀莪草酒炙后增效和药性转变的物质基础; 建议将 3', 4'-去二磺酸基苍术苷作为区分稀莪草生品与炮制品 (酒炙) 的指标成分, 并在商品酒炙稀莪草上得到了成功验证。

关键词: 稀莪草; 酒炙稀莪草; UPLC-Q-TOF/MS; 化学计量学; 3', 4'-去二磺酸基苍术苷; 豆甾醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷; 对映-18-乙酰氧基-17-羟基-16βH-贝壳杉烷-19-酸; 木犀草素; 稀莪苷; 矢车菊黄素; 豆甾醇; 奇壬醇; 稀莪酸; 稀莪酮; 槲皮素

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)02-0181-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.02.007

Analysis on crude and wine-processed *Siegesbeckia pubescens* by UPLC-Q-TOF/MSREN Wei-guang¹, WU La-bin¹, JIANG Xue², HUANG Lin-fang¹

1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

2. Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

Abstract: **Objective** Chemically speaking, this study provides the scientific evidence for elucidating the wine-processing mechanism of *Siegesbeckia pulescens* with its property turning from cold to warm for the better efficacy. **Methods** The changes of the chemical constituents in *S. pulescens* before and after the wine-processing were investigated by ultra-performance liquid chromatography method (UPLC) coupled with quadrupole time of flight mass spectrometry (Q-TOF/MS). The analysis was carried out by MarkerLynx 4.1 software. **Results** There were the significant differences of the chemical constituents in *S. pulescens* before and after the wine-processing: In positive ion mode, the contents of 3', 4'-dedisulphatedatractyloside and stigmasterol-3-O-β-D-glucopyranoside increased, while the contents of *ent*-18-acetoxy-17-hydroxy-16βH-kauran-19-oic acid and luteolin decreased obviously in the wine-processed *S. pulescens*. In negative ion mode, the contents of 3', 4'-dedisulphatedatractyloside and darutoside increased, while the contents of centaureidin and stigmasterol decreased in the wine-processed *S. pulescens*. The main active

收稿日期: 2013-05-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81274013); 国家自然科学基金重点项目 (81130069); 人事部留学人员择优资助项目 (2009-2011); 国家重大科技专项创新项目 (2011ZX09307-002-01); 教育部长江学者和创新团队发展计划 (IRT1150)

作者简介: 任伟光 (1987—), 女, 硕士在读, 中药资源与质量评价。Tel: (010)57833197 E-mail: renweiguang123@126.com

*通信作者 黄林芳 Tel: (010)57833197 E-mail: lfhuang@implad.ac.cn

compounds in *S. puezens*, such as kireanol, siegesbeckic acid, siegesbeckic ketone, and quercetin increased significantly after wine-processing. By Principal Component Analysis (PCA) and Partial Least Squares Discriminant Analysis (OPLS-DA), the indicative marker (3', 4'-dedisulphatedatractyloside) was found to discriminate the fingerprint differences between the crude and wine-processed *S. puezens*. **Conclusion** The changes of the chemical constituents may be the material basis for the property turning from cold to warm for the better efficacy of *S. puezens* after wine-processing. It indicates that 3', 4'-dedisulphatedatractyloside could be used as the index component for identifying the crude and wine-processed *S. puezens*.

Key words: *Siegesbeckia Puzescens* Makino; wine-processed *Siegesbeckia Puzescens*; UPLC-Q-TOF/MS; chemometrics; 3', 4'-dedisulphatedatractyloside; stigmasterol-3-*O*- β -D-glucopyranoside; *ent*-18-acetoxy-17-hydroxy-16 β H-kauran-19-oic acid; luteolin-decrease; darutoside; centaureidin; stigmasterol; kireanol; siegesbeckic acid; siegesbeckic ketone; quercetin

豨薟草为菊科豨薟属植物豨薟 *Siegesbeckia orientalis* L.、腺梗豨薟 *Siegesbeckia pubescens* Makino 及毛梗豨薟 *Siegesbeckia glabrescens* Makino 的干燥地上部分。性寒，味苦、微辛，具有祛风湿、利关节、解毒的功效^[1]。其主要成分有萜类、内酯类、苷类等^[2-5]。豨薟草生品及炮制品广泛用于临床，经典方剂豨薟丸、首乌丸均以酒炙豨薟草入药^[1]。传统认为豨薟草酒炙后气味香美，药性转寒为温，活血祛风之性未改，而温养之力更加益元气，祛风逐湿之中有补益肝肾之功^[6]，但其酒炙后药性转化及增效的机制尚不清楚。

超高效液相色谱 (UPLC) 是近年来新兴的分析技术，有超高压、超高灵敏度、超高分离度的特点，在中药分析分离上具有明显优势^[7]。飞行时间串联质谱仪 (Q-TOF/MS) 为高分辨率质谱，有高分辨率、高选择性、可得到精确的相对分子质量和质谱图的特点^[8]。UPLC 与质谱联用技术 (UPLC-Q-TOF/MS) 集高效分离能力的色谱和高分辨、高灵敏、定性能力强的质谱于一体，已成为中药成分研究最有效的分析工具之一^[9-10]。本实验以腺梗豨薟及其酒炙品为研究对象，并购买商品豨薟草进行验证实验，结合 Markerlynx 4.1 软件进行主成分分析 (PCA) 和正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA)，探讨酒炙法对豨薟草化学成分的影响，试图从化学成分角度阐述酒炙豨薟草增效和药性转化的科学内涵和炮制机制，为临床用药提供科学依据。

1 仪器与材料

Acquity UPLC-Synapt MS 色谱-质谱联用仪 (Waters 公司)、Markerlynx 4.1 质谱工作站 (Waters 公司)、采用 Acquity UPLC BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μ m, Waters 公司)、ELGA Purelab Classic-UVF 纯水仪 (英国 ELGA 公司)。无水甲醇 (分析级)、超纯水、乙腈 (色谱级)。

豨薟草，于 2012 年 9 月 29 日采集自湖南张家

界，经中国医学科学院药用植物研究所黄林芳副研究员鉴定为菊科豨薟属腺梗豨薟 *Siegesbeckia pubescens* Makino。样品 (标本编号 20120929001) 保存在中国医学科学院协和医科大学药用植物研究所标本馆。

2 方法与结果

2.1 酒炙豨薟草制备

取豨薟草 5 g 与黄酒 (1:1) 拌匀，室温下闷润，加热烘干。该方法为本课题组建立一种酒炙豨薟草的新方法，已申请专利 (专利申请号为 201210491524.6)。

2.2 供试样品制备

分别称取豨薟草药材及酒炙品 1 g，精密加入甲醇 50 mL，称定质量，回流提取 5 h，放冷，称定，用甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液过 0.22 μ m 微孔滤膜，即得^[1]。

2.3 UPLC 色谱条件

采用 Acquity UPLC BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μ m, Waters 公司); 柱温为 30 $^{\circ}$ C，体积流量为 0.4 mL/min; 进样量为 5 μ L; 流动相为水-乙腈，梯度洗脱: 0~4 min, 5%~24%乙腈; 4~14 min, 24%~30%乙腈; 14~17 min, 30%~50%乙腈; 17~20 min, 50%~62%乙腈; 20~23 min, 62%~80%乙腈; 23~27 min, 80%~5%乙腈。

2.4 质谱条件

采用电喷雾电离离子源 (ESI)，正/负离子模式检测: m/z 为 50~1 200，毛细管电压为 3.0 kV，锥孔电压为 10~40 kV，离子源温度为 120 $^{\circ}$ C，脱溶剂温为 450 $^{\circ}$ C，雾化气 (N₂) 体积流量 60 L/h，脱溶剂气 (N₂) 体积流量 600 L/h; 碰撞能量 (CE): 30 V。

2.5 数据分析

采用 MarkerLynx 4.1 软件对正/负离子模式下豨薟草和酒炙豨薟草的质谱峰进行分析，利用 PCA

法和 OPLS-DA 法找出化合物谱差异,即为潜在的化学标记物。

2.6 酒炙豨莶草与豨莶草总离子流图比较

采用 MarkerLynx 4.1 软件对数据进行处理,根

据正/负离子模式的一级质谱的分子离子峰得到化合物的准确相对分子质量,结合二级质谱和文献,对酒炙豨莶草与豨莶草分离出的 15 个化合物色谱峰进行分析,推断出其可能的成分,结果见表 1、2。

表 1 豨莶草与酒炙豨莶草中成分的准确相对分子质量

Table 1 Relative molecular mass of constituents in crude and wine-processed *S. purescens*

峰号	t_R / min	相对分子质量 (m/z)		分子式		峰号	t_R / min	相对分子质量 (m/z)		分子式
		测定值	理论值					测定值	理论值	
1	8.56	485.633 4	485.630 7	$C_{26}H_{44}O_8$		7	17.28	287.241 9	287.244 2	$C_{15}H_{10}O_6$
		483.612 8	483.611 8			8	18.70	379.510 8	379.510 3	$C_{22}H_{34}O_5$
2	10.52	567.689 7	567.688 2	$C_{30}H_{46}O_{10}$		9	1.00	179.192 5	179.192 5	$C_{10}H_{13}O_3$
		565.674 5	565.672 3			10	16.25	525.656 9	525.652 5	$C_{28}H_{46}O_9$
3	11.99	575.835 3	575.839 4	$C_{35}H_{58}O_6$		11	18.24	359.306 6	359.306 9	$C_{18}H_{16}O_8$
4	13.03	678.015 6	678.015 7	$C_{22}H_{34}O_5$		12	21.05	117.087 6	117.088 0	$C_4H_6O_4$
		$[2M+H]^+$	$[2M+H]^+$			13	21.15	411.692 1	411.690 8	$C_{29}H_{48}O$
5	14.58	527.666 7	527.667 4	$C_{28}H_{46}O_9$		14	22.08	329.498 5	329.494 7	$C_{19}H_{38}O_4$
6	15.93	337.474 3	337.473 6	$C_{20}H_{32}O_4$		15	22.45	181.165 9	181.163 8	$C_6H_{14}O_6$

表 2 正/负离子模式下离子峰鉴别

Table 2 Identification of ion peaks under positive and negative ion modes

峰号	正离子模式	负离子模式	化合物
	$[M+H]^+$ (二级碎片)	$[M-H]^-$ (二级碎片)	
1	422, 305, 243	420, 303, 241	豨莶苷
2	567	565	3',4'-去二磺酸基苍术苷
3	412, 396		豆甾醇-3- O - β -D-吡喃葡萄糖苷
4	379		对映-18-乙酰氧基-16 α , 17-二羟基-贝壳杉烷-19-羧酸
5	527, 510, 509		16- O -acetyldarutoside
6	337, 319		对映-16 α , 17-二羟基-19-羧酸
7	287, 213, 153, 137		木犀草素
8	379, 361		对映-18-乙酰氧基-17-羟基-16 β H-贝壳杉烷-19-羧酸
9	179, 162		2-氨基-3-(3'-羟基-2'-甲氧苯基)-1-丙醇
10		507, 495, 479	hythiemoside B
11		359, 344, 341, 326	矢车菊黄素
12		117, 98, 72	琥珀酸
13		410, 394, 349, 327	豆甾醇
14		329, 312, 299, 270	单棕榈酸甘油酯
15		181	D-甘露醇

由正/负离子模式下酒炙豨莶草与豨莶草总离子流图(图 1)可见,豨莶草酒炙前后化学成分变化显著。正离子模式下(图 1-A)豨莶草酒炙品与生品相比,酒炙品中 1、2、3、6 号离子峰的量明显升高,即豨莶苷、3',4'-去二磺酸基苍术苷、豆甾醇-

3- O - β -D-吡喃葡萄糖苷、对映-16 α , 17-二羟基-19-羧酸。酒炙品中 4、5、7、8 号离子峰的量明显降低,即对映-18-乙酰氧基-16 α , 17-二羟基-贝壳杉烷-19-羧酸、16- O -acetyldarutoside、木犀草素、对映-18-乙酰氧基-17-羟基-16 β H-贝壳杉烷-19-羧酸。

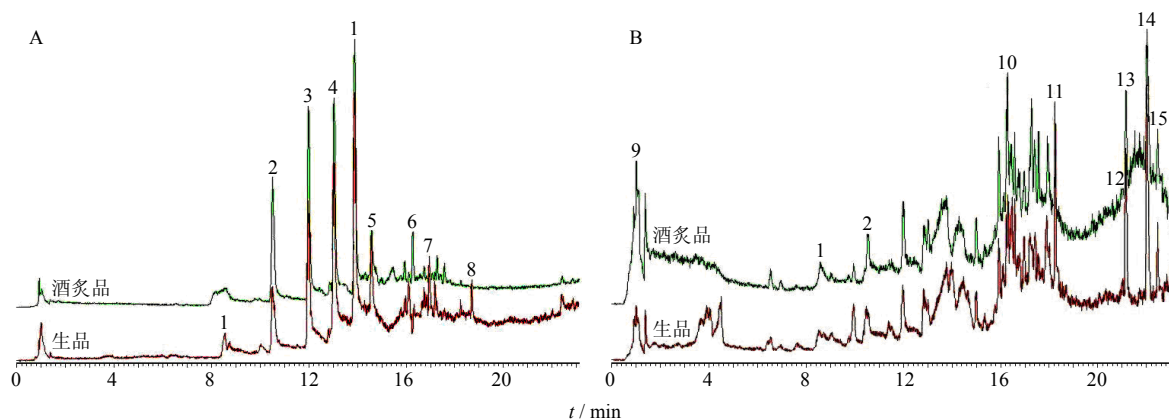


图1 豨薟草与酒炙豨薟草正离子 (A) 和负离子 (B) 模式下的总离子流图 (离子峰号参照表1)

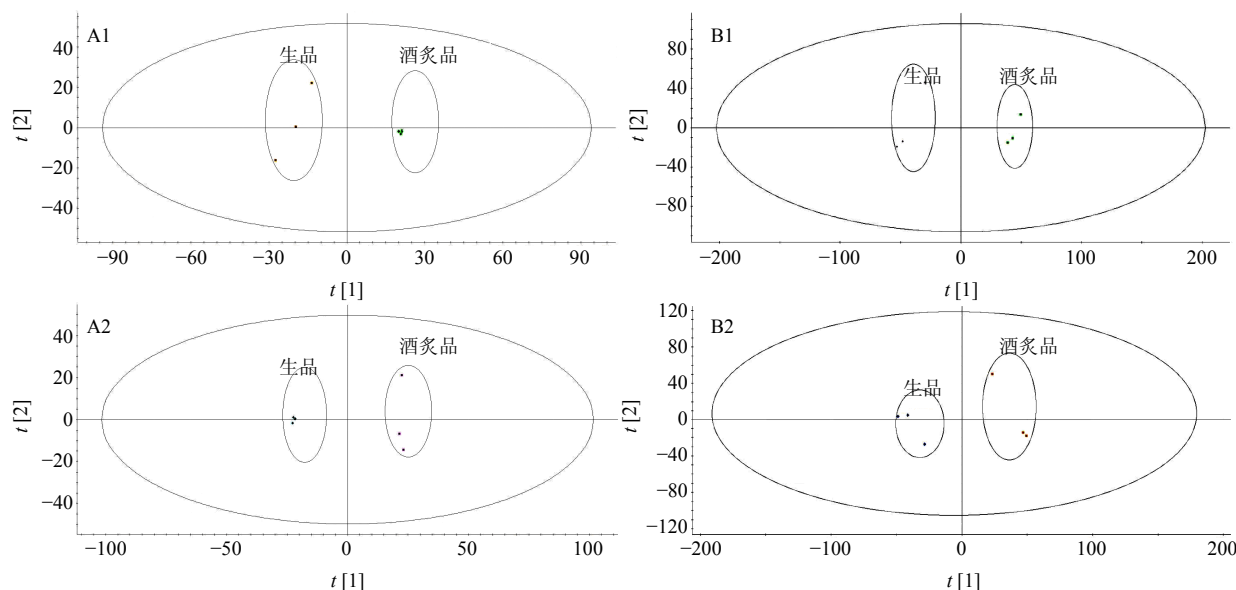
Fig. 1 TIC of positive ion (A) and negative ion (B) of crude and wine-processed *S. puegens* (ion peaks seen in Table 1)

负离子模式 (图 1-B) 下酒炙豨薟草与生品相比, 酒炙品中 1、2、9、10、13 号离子峰的量明显升高, 即豨薟苷、3', 4'-去二磺酸基苍术苷、2-氨基-3-(3'-羟基-2'-甲氧苯基)-1-丙醇、hythiemoside B、豆甾醇。11、12、14、15 号离子峰的量明显下降, 即矢车菊黄素、琥珀酸、单棕榈酸甘油酯、D-甘露醇。

2.7 MarkerLynx 结果分析

采用 MarkerLynx 4.1 软件对正、负离子模式下豨薟草酒炙品和生品的原始数据进行 PCA 模式识别分析, 通过得分图可以看出本方法可以将豨薟草酒炙品和生品能明显区分开, 且正、负离子模式下分析结果一致 (图 2-A1、B1)。对豨薟草酒炙品、

生品两组数据整体差异性做进一步分析, 将两组样品中的成分峰进行 OPLS-DA 得到图 3 (图 3-A1、B1), 即散点图 OPLS-DA/S-Plot, 图中可找出导致炮制前后两组数据差异的化学成分, 因而可见酒炙前后成分的量具有显著性差异。在 S 型曲线两端的数据点分别代表了样品中可信度最高的特征化合物。右上方代表了豨薟草生品中量较高的化合物, 在左下方代表了酒炙豨薟草中量较高的化合物。因此, 点 a、b、c、d、e、f、g、h、i、j、k、l (表 3) 代表了豨薟草酒炙品与生品相比差异显著的化学成分, 即潜在的标记物; 这可为生品与酒炙品豨薟草的鉴定提供依据。图 4 为 MarkerLynx 4.1 分析得到



A-ES⁺ B-ES⁻ 1-豨薟草 2-商品豨薟草, 图3同

A-ES⁺ B-ES⁻ 1-*S. puegens* 2-*S. puegens* from commercial samples, same as Fig. 3

图2 酒炙豨薟草与豨薟草正/负离子模式下PCA图

Fig. 2 PCA analysis of wine-processed and crude *S. puegens* under positive and negative ion modes

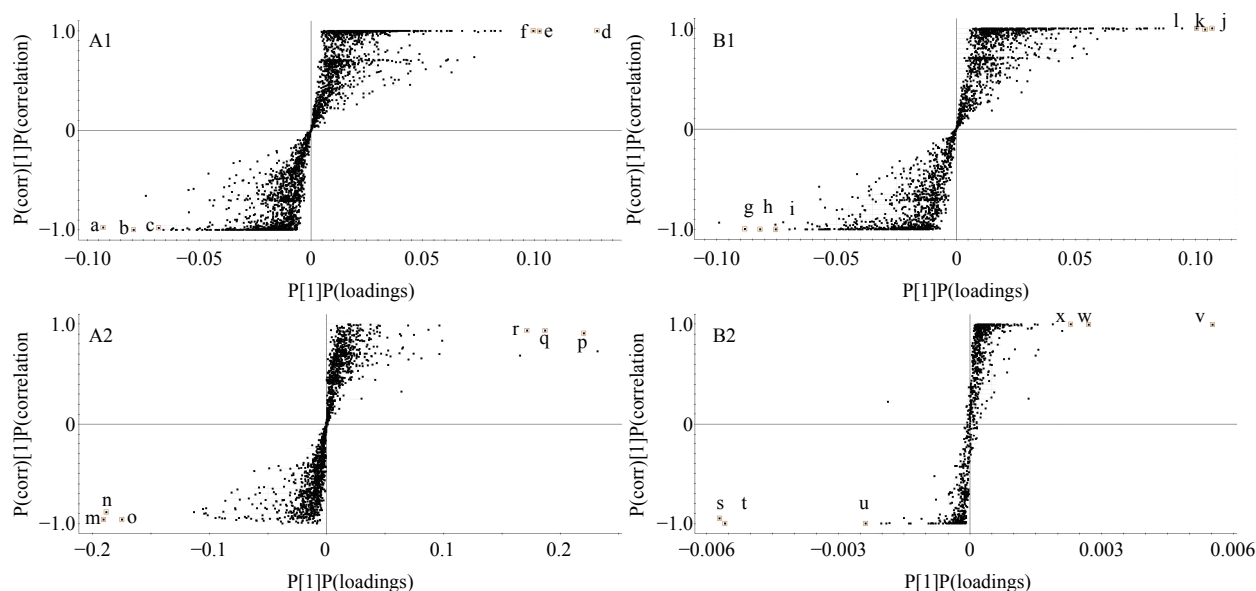


图 3 酒炙豨薟草与豨薟草差异成分 OPLS-DA/S-Plot 法分析结果的散点图

Fig. 3 OPLS-DA/S-Plot of wine-processed and crude *S. puegens*

表 3 豨薟草酒炙前后差异明显的正/负离子峰化合物

Table 3 Positive/negative ion peak compounds with significant differences of wine-processed and crude *S. puegens*

峰号	t_R / min	鉴定结果	分子式	[M+H] ⁺ (m/z)		峰号	t_R / min	鉴定结果	分子式	[M-H] ⁻ (m/z)	
				测定值	理论值					测定值	理论值
a	10.52	3',4'-去二磺酸基苍术苷	C ₃₀ H ₄₆ O ₁₀	567.309 5	567.305 7	g	0.80	—	—	96.959 9	—
b	8.38	—	C ₂₈ H ₄₃ O ₇	491.299 7	491.300 3	h	1.49	—	C ₁₅ H ₁₆ NO ₂	241.118 5	241.118 1
c	0.98	—	C ₃₀ H ₂₃ O ₁₀	543.132 6	543.129 1	i	9.95	—	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.145 4	609.145 6
d	11.80	—	C ₃₄ H ₃₄ O ₄	506.238 4	506.237 9	j	4.43	—	C ₂₃ H ₂₈ O ₇	415.178 9	415.175 7
e	9.18	—	C ₂₆ H ₃₉ O ₇	463.209 6	463.209 6	k	4.03	—	C ₂₃ H ₃₀ O ₇	417.194 2	417.197 2
f	1.00	—	—	222.020 2	—	l	0.96	—	—	195.050 5	—

的酒炙品与生品差异较显著的特征化合物变化趋势。图 5 为豨薟草酒炙前后离子碎片中主要活性成分变化趋势图，炮制后其主要成分奇壬醇、豨薟酸、豨薟酮、槲皮素的量升高。

2.8 验证试验

酒制豨薟草及生品豨薟草于 2012 年 11 月购买于北京同仁堂药店。随机测试商品酒炙豨薟草与豨薟草。经商品酒炙豨薟草和豨薟草的 PCA 图（图 2-A2、B2）证实，UPLC-Q-TOF/MS 可以用于区分酒炙豨薟草和豨薟草。两组成分峰的 OPLS-DA 散点图（图 3-A2、B2），其中酒炙品与生品相比差异显著的化学成分即潜在的标记物的相对分子质量分别为 567.308 9、491.299 6、543.132 8、506.236 5、138.062 5、295.063 6、96.959 9、241.118 5、609.145 0、415.178 9、417.194 2、195.050 5。同时发现标记物

a 为 3',4'-去二磺酸基苍术苷。

3 讨论

中药炮制原理的核心是中药饮片在炮制后其药性发生了改变，而根源还是炮制前后其内在物质基础——化学成分的改变。传统认为酒炙可提升引药上行，能增强活血通络功效，能改变药性^[11]。豨薟草酒炙变化较大的成分可能为酒炙后药性转寒为温的物质基础。豨薟草酒炙后其主要活性成分奇壬醇、豨薟酸、豨薟酮、槲皮素的量均升高，而奇壬醇是其祛风除湿的主要活性成分，具有抗血栓、抗关节炎、抗菌等广泛的药理作用^[12-13]。据此推测其为酒炙后增效的主要物质基础。

豨薟草酒炙后贝壳杉烷二萜类成分对映-16 α 、17-二羟基-19-羧酸的量升高而对映-18-乙酰氧基-16 α 、17-二羟基-贝壳杉烷-19-羧酸、对映-18-乙酰氧

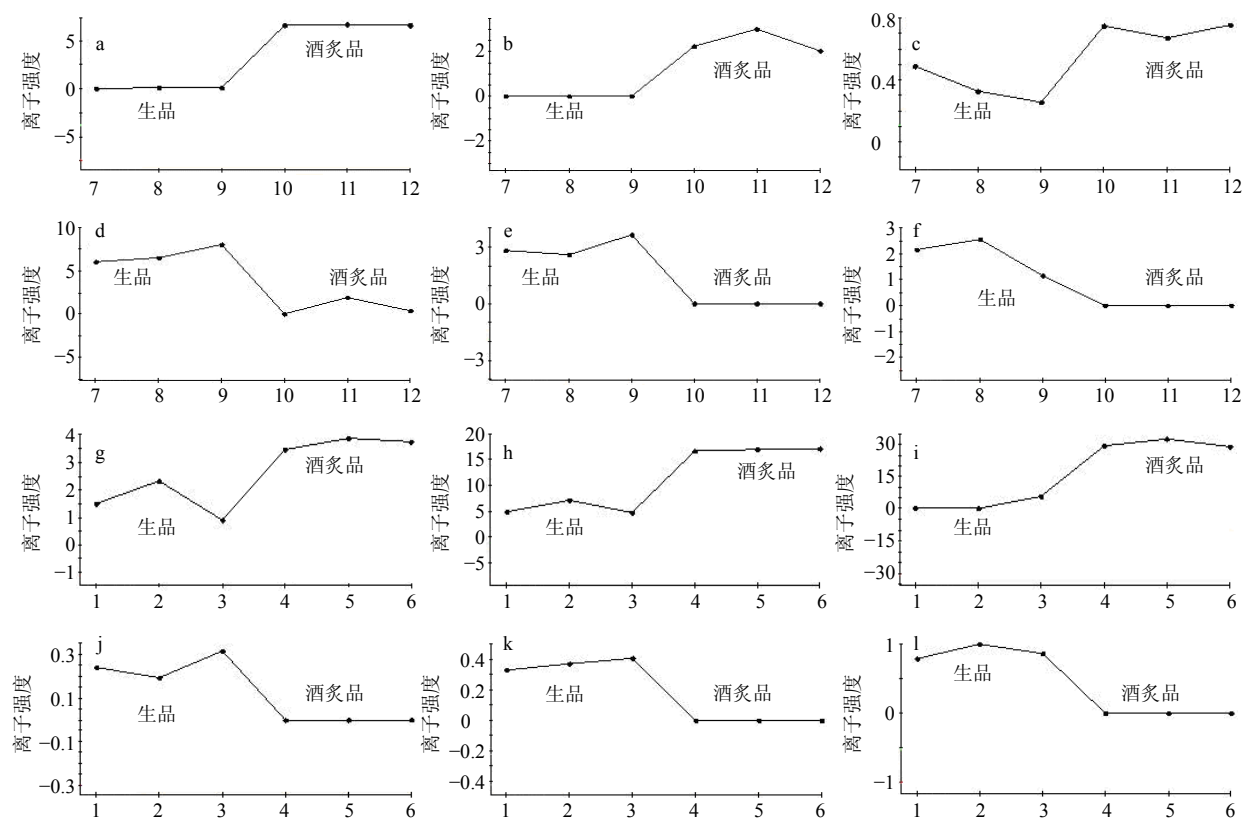


图4 酒炙稀莪草与稀莪草差异显著的特征化合物的离子强度变化趋势图

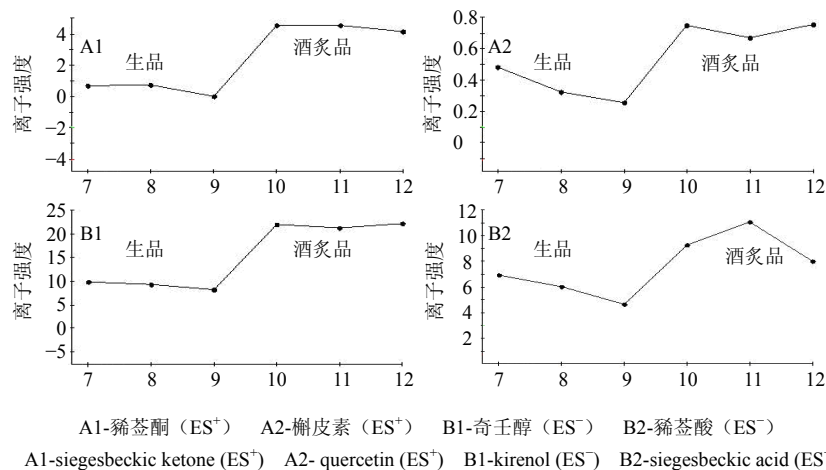
Fig. 4 Ion intensity trend plots of characteristic compounds with significant differences in wine-processed and crude *S. puegens*

图5 稀莪草酒炙前后主要活性成分离子强度变化趋势图

Fig. 5 Ion intensity trend plots of main components in wine-processed and crude *S. puegens*

基-17-羟基-16 β H-贝壳杉烷-19-羧酸的量下降,推测酒炙加热过程中对映-18-乙酰氧基-16 α , 17-二羟基-贝壳杉烷-19-羧酸的17位脱羧基、18位脱羟基转化为对映-16 α , 17-二羟基-19-羧酸和对映-18-乙酰氧基-17-二羟基-16 β -贝壳杉烷-19-羧酸转为异构体对映-16 α , 17-二羟基-19-羧酸。

通过 PCA 和 OPLS-DA 分析,发现其酒炙后差异最大的成分为 3', 4'-去二磺酸基苍术苷即潜在标记物,并在稀莪草商品炮制得到验证,建议作为区分酒炙品与生品的指标成分。商品酒炙稀莪草与稀莪草 UPLC-Q-TOF/MS 实验成功验证了以上结果。

本实验为对酒炙稀莪草进行了工艺优化,建立

了酒炙豨莶草新工艺(专利申请号为 2012104915-24.6)。实验过程考察以《中国药典》2010 年版一部规定的乙腈-水为流动相,同时对体积流量、柱温、梯度洗脱相关条件进行了考察,最终确定本实验中的色谱条件分离度较好,基线较平稳,适合豨莶草中成分的测定。

应用 UPLC-Q-TOF/MS 技术分析了豨莶草酒炙前后化学成分变化,研究表明酒炙前后成分差异显著,酒炙后主要活性成分奇壬醇、豨莶酸、豨莶酮、槲皮素的量均明显升高;化学标记物 3', 4'-去二磺酸基苍术苷是区分生品与炮制品(酒炙)的指标成分;上述成分的变化可能是豨莶草酒炙后增效和药性变化的物质基础,并在商品酒炙豨莶草上成功验证了以上结论。因而可通过合理的炮制应用于临床治疗。本实验的研究成果对于研究豨莶草的炮制原理具有重要意义,同时也为豨莶草药效物质基础的阐明提供了重要依据。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 王国军. 腺梗豨莶化学成分研究进展 [J]. 浙江中医药大学学报, 2011, 35(6): 957-961.
- [3] 张荣强, 李 强. 豨莶草近 5 年研究进展 [J]. 求医问药, 2011, 9(7): 191-192.
- [4] Wang R, Chen W H, Shi Y P. Ent-kaurane and ent-pimarane diterpenoids from *Siegesbeckia pubescens* [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73(1): 17-21.
- [5] Wang F, Cheng X L, Li Y J, *et al.* Ent-pimarane diterpenoids from *Siegesbeckia orientalis* and structure revision of a related compound [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72(11): 2005-2008.
- [6] 胡慧华. 豨莶草入药部位、炮制历史沿革的考证 [A]// 中华中医药学会第五届中药炮制学术会议论文集 [C]. 成都: 中华中医药学会第五届中药炮制分会, 2005.
- [7] 邓少东, 王莲婧, 林 励, 等. 化橘红黄酮类成分 UPLC 与 HPLC 指纹图谱的比较研究 [J]. 中草药, 2013, 44(9): 1195-1198.
- [8] Li S L, Lai S F, Song J Z, *et al.* Decocting-induced chemical transformations and global quality of Du-Shen-Tang, the decoction of ginseng evaluated by UPLC-Q-TOF-MS/MS based chemical profiling approach [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 53(4): 946-957.
- [9] Li L, Luo G A, Liang Q L, *et al.* Rapid qualitative and quantitative analyses of Asian ginseng in adulterated American ginseng preparations by UPLC/Q-TOF-MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 52(1): 66-72.
- [10] 张 娟, 刘 芬, 李 宁, 等. UPLC-TOF-MS 法鉴定胀果甘草药渣中黄酮类成分 [J]. 现代药物与临床, 2012, 27(6): 558-561.
- [11] 余玉英. 浅谈中药炮制中常用炙法及其作用 [J]. 中国医药指南, 2011, 9(1): 137.
- [12] 王发辉, 冯起校, 黄超文. 豨莶草药理研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, 13(10): 102-104.
- [13] Wang J P, Zhou Y M, Zhang Y H. Kirenol production in hairy root culture of *Siegesbeckia orientalis* and its antimicrobial activity [J]. *J Pharmacogn Mag*, 2012, 8(30): 149-155.
- [14] Lu Y, Xiao J, Wu Z W, *et al.* Kirenol exerts a potent anti-arthritic effect in collagen-induced arthritis by modifying the T cells balance [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(10): 882-889.