

肉苁蓉的主要化学成分及生物活性研究进展

毕萃萃, 刘银路, 魏芬芬, 王文娟, 张 波*

北京联合大学生物活性物质与功能食品北京市重点实验室 北京联合大学健康与环境学院, 北京 100191

摘要: 肉苁蓉为列当科多年生草本寄生植物荒漠肉苁蓉 *Cistanche desertico* 或管花肉苁蓉 *Cistanche tubulosa* 的干燥带鳞叶的肉质茎, 主要化学成分有苯乙醇苷类、环烯醚萜及其苷类、木脂素及其苷类、多糖等, 具有抗衰老、保护肝脏、缓解体力疲劳、抗骨质疏松、润肠通便等多种生物活性。就肉苁蓉的主要化学成分及生物活性等方面的研究进展进行综述, 为新药研发提供参考。

关键词: 肉苁蓉; 荒漠肉苁蓉; 管花肉苁蓉; 化学成分; 功效作用

中图分类号: R284.2, R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2019) 09-1896-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.09.036

Research progress on main chemical constituents and biological activities of *Cistanche deserticola*

BI Cuicui, LIU Yinlu, WEI Fenfen, WANG Wenjuan, ZHANG Bo

Beijing key Laboratory of Bioactive Substances and Functional Food, Beijing Union University, School of Health and Environment, Beijing Union University, Beijing 100191, China

Abstract: *Cistanche Herba* is a fleshy stem with dry scaly leaves belonging to *Cistanche deserticola* or *Cistanche tubulosa*, which is a perennial herb parasitic plant of the Orobanchaceae. It mainly contains phenylethanoid glycosides, iridoid and their glycosides, lignans and their glycosides, polysaccharide etc. It has a variety of bioactive effects such as anti-aging, liver protection, relieve fatigue, prevent osteoporosis and relieve constipation. We reviewed the main chemical constituents and its biological activities, so as to provide a reference for further research and development.

Key words: *Cistanche Herba*; *Cistanche deserticola* Y. C. Ma; *Cistanche tubulosa* (Schenk) Wight; main chemical constituents; biological activities

肉苁蓉俗称大芸, 为列当科多年生草本寄生植物荒漠肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma 和管花肉苁蓉 *C. tubulosa* (Schenk) Wight 干燥带鳞叶的肉质茎, 寄生在梭梭、怪柳等藜科植物的根部, 全球有 22 种, 分布于北半球欧亚温暖的沙漠、荒漠等干燥地带^[1]。中国的肉苁蓉属植物主要有 4 种, 包括荒漠肉苁蓉、管花肉苁蓉、盐生肉苁蓉 *C. salsa* (C. A. Mey.) G. Beck 以及沙苁蓉 *C. sinensis* G. Beck 等, 主要分布在西北部地区^[2-3], 品种及分布见表 1。

肉苁蓉入药始载于《神农本草经》, 为沙生名贵的滋补中药材^[4-5]。随着研究的深入, 发现其除了补肾壮阳的作用外, 还有抗衰老、润肠通便等功效; 肉

苁蓉亦可泡酒, 南北朝时期西北部地区将其直接作为食材煮粥或做汤食用^[3]。本文从肉苁蓉的主要化学成分和生物活性及机理方面进行探讨, 为今后对肉苁蓉进一步的开发研究与临床应用提供参考。

1 肉苁蓉的主要化学成分

肉苁蓉主要含有苯苷类, 环烯醚萜及其苷类、木脂素及其苷类、还有单萜苷类、生物碱、糖类化学成分^[6-7]。已经从荒漠肉苁蓉中分离得到 120 个化合物, 从管花肉苁蓉中分离得到 75 个化合物, 从盐生肉苁蓉中分离得到 31 个化合物, 从沙苁蓉中分离得到 20 个化合物。4 种植物中分离得到的化合物类型及数量, 见表 2。

收稿日期: 2019-04-04

第一作者: 毕萃萃(1994—), 女, 硕士研究生, 研究方向为生物活性物质的功能与毒理。Tel: 18434372077 E-mail: 181083210408@buu.edu.cn

*通信作者: 张 波(1963—), 女, 教授研究方向为生物活性物质的功能与毒理。E-mail: zhangbo_wl@buu.edu.cn

表1 肉苁蓉的品种及其主要产地

Table 1 Varieties and main habitats of *Cistanche deserticola*

| 肉苁蓉品种及拉丁名 | 主要产地 |
|---|------------------|
| 荒漠肉苁蓉 <i>Cistanche deserticola</i> Y. C. Ma | 内蒙古、宁夏、甘肃、新疆和青海 |
| 管花肉苁蓉 <i>Cistanche tubulosa</i> (Schenk) Wight | 新疆 |
| 盐生肉苁蓉 <i>Cistanche salsa</i> (C. A. Mey.) G. Beck | 内蒙古、陕西、宁夏、甘肃、新疆等 |
| 沙苁蓉 <i>Cistanche sinensis</i> G. Beck | 内蒙古、宁夏和甘肃 |

表2 肉苁蓉属植物中分离的化合物类型及数量

Table 2 Types and quantities of compounds isolated from *Cistanche*

| 来源植物 | 化合物类型及数量/个 | | | |
|-------|------------|-------|------|----|
| | 苯乙醇苷类 | 环烯醚萜类 | 木脂素类 | 其他 |
| 荒漠肉苁蓉 | 41 | 12 | 14 | 53 |
| 管花肉苁蓉 | 33 | 21 | 3 | 18 |
| 盐生肉苁蓉 | 10 | 3 | — | 18 |
| 沙苁蓉 | 12 | 6 | 1 | 1 |

1.1 苯乙醇苷类

苯乙醇苷类化合物为肉苁蓉属肉质茎的主要成分,也是其主要活性成分^[7]。目前共分离得到该类化合物70个,如松果菊苷、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、2-乙酰基毛蕊花糖苷、肉苁蓉苷A、肉苁蓉苷C、肉苁蓉苷D、管花苷B、管花苷E、盐生肉苁蓉苷D、盐生肉苁蓉苷E、顺式管花苷B、顺式肉苁蓉苷K、顺式肉苁蓉苷J、顺式异肉苁蓉苷C等。

1.2 环烯醚萜及其苷类

环烯醚萜类化合物是植物界广泛分布的一类单萜,以环戊烷结构为母核,多以苷类形式存在。目前,从肉苁蓉属植物中共分离得到26个环烯醚萜及其苷类化合物。其中,4个为环烯醚萜类,如肉苁蓉素和肉苁蓉氯素等,22个为环烯醚萜苷类,如格鲁鲁苷、6-去氧梓醇、8-表番木鳖酸、8-表脱氧马钱酸、京尼平苷酸等。

1.3 木脂素及其苷类

目前,从肉苁蓉属植物中分离得到了2个木脂素和(+)-松脂酚、去氢二松柏醇-4-β-D-葡萄糖苷、右旋松脂酚双葡萄糖甙、(+)-丁香树脂酚-4-O-β-D-葡萄糖苷、鹅掌楸苷等14个木脂素苷。

1.4 多糖类及其衍生物

分离纯化后,对单糖组成进行分析得出,单糖主要包括葡萄糖、果糖、半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖、核糖、岩藻糖和木糖等,另外还有甘露醇、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸等成分^[7]。这些相同或不同的单糖

单位通过糖苷键连接起来,形成直链或含支链的多糖。随着分离技术的不断发展,对多糖成分的研究也不断深入,但多糖依旧难以完全分离,有待进一步研究。

1.5 其他成分

肉苁蓉属活性成分中除了苯乙醇苷类、环烯醚萜及其苷类、木脂素及其苷类、糖类,还含有单萜苷、酚苷、生物碱、糖醇、甾醇、黄酮等成分。

2 肉苁蓉的生物活性

肉苁蓉素有“沙漠人参”之美誉,其化学成分及特有的结构是肉苁蓉发挥功效作用的物质基础,如苯乙醇苷类中的松果菊苷和毛蕊花糖苷以及多糖是抗氧化抗衰老、缓解疲劳等生物活性的物质基础^[9-10]。

2.1 抗衰老

Wang等^[11-12]利用D-半乳糖对鼠嗜铬细胞瘤PC12细胞系造成氧化损伤,建立体外急性衰老细胞模型,给予肉苁蓉多糖150、200 mg/L,给药24 h后检测核蛋白中p-CREB蛋白的表达水平。结果表明D-半乳糖模型组cAMP和激酶A水平降低($P < 0.05$),p-CREB表达减少($P < 0.05$),而各给药组与模型组比较,cAMP/PKA/CREB信号通路水平上调,提示肉苁蓉多糖改善D-半乳糖急性衰老模型的作用与调节cAMP/PKA/CREB信号通路有关。

范亚楠^[13]等给大鼠皮下注射D-半乳糖167.5 mg/kg建立衰老大鼠模型,将动物分为空白组、模型组、阳性对照组(2.75 mg/mL维生素E)以及肉苁蓉水提物3个剂量(5.48、2.74、1.37 g/kg)组,探讨肉苁蓉的抗衰老作用。结果显示与空白组相比,模型组的血清超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)显著降低($P < 0.05$),丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量以及一氧化氮(nitric oxide, NO)含量升高($P < 0.05$),说明造模成功。与模型组相比,肉苁蓉剂量组的SOD有上升趋势,MDA含量以及NO含量显著降低($P < 0.05$)。因此认为肉苁蓉具有一定的抗衰老作用。

2.2 护肝

肝脏是机体物质代谢和生物转化的重要器官。近年来,我国肝纤维化发病率逐渐上升,已经成为肝病死亡的主要原因之一^[14]。由淑萍等^[15-16]利用重组大鼠血小板衍生因子BB刺激肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)-T6细胞株,构建体外肝纤维化模型。MTT法测定不同浓度的肉苁蓉苯乙醇总苷脂质体(29.45、14.72、7.36 mg/L)对HSC-T6增殖的影响,Annexin V-FITC/PI细胞凋亡双染试剂标记后,用流式细胞仪检测各剂量组的细胞凋亡率。结果表明,随着浓度的增大和反应时间的延长(24、48、72 h),各剂量组抑制HSC-T6增殖的作用呈明显的量-效关系,肉苁蓉苯乙醇总苷脂质体29.45、14.72 mg/L组凋亡率明显升高($P < 0.05$),且各剂量组间有量-效关系。体外试验研究表明不同浓度的肉苁蓉总苷可以抑制HSC的活化和增殖,诱导HSC凋亡,具有抗肝纤维化的作用,这可能与其阻断PDGF/ERK1/2通路,抑制HSC的增殖有关。

罗慧英等^[17]、王艳芳等^[18]利用四氯化碳建立小鼠急性肝损伤模型,将小鼠分为对照组、模型组和肉苁蓉总苷62.5、125 mg/kg两个剂量组,检测其对四氯化碳诱导的急性肝损伤模型小鼠肝脏乳酸、乳酸脱氢酶、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 Ca^{2+} ATP酶活性。结果表明,与对照组相比,模型组小鼠肝细胞匀浆中的乳酸含量升高($P < 0.05$),乳酸脱氢酶活性降低($P < 0.05$),说明肝脏的有氧呼吸发生障碍;与模型组相比,两剂量组可提高乳酸含量和乳酸脱氢酶活性($P < 0.05$),缓解肝脏的有氧呼吸障碍。与对照组相比,模型组的 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 Ca^{2+} ATP酶活性降低($P < 0.05$),能量合成发生障碍;与模型组相比,两剂量组可提高 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 Ca^{2+} ATP酶活性($P < 0.05$),改善能量代谢。

2.3 缓解疲劳

王小新等^[19-21]利用小鼠负重游泳实验,将动物分为正常对照组、模型组和肉苁蓉多糖高低2个剂量组。剂量组与模型组进行颈背部皮下注射D-半乳糖100 mg/kg,正常对照组注射生理盐水,造模30 d;同时,2个剂量组分别给予肉苁蓉多糖100、400 mg/kg,模型组和正常对照组给予100 mg/kg的蒸馏水,ig给药30 d,记录小鼠负重游泳时间。与对照组相比,模型组的负重游泳时间、肝糖原和肌糖原含量、肝组织的SOD及GSH-PX活性均显著降低($P < 0.05$),血清中的尿素氮、乳酸水平以及丙二醛含量显著升高($P < 0.05$)。与模型组相比,两个剂量组的

负重游泳时间、肝糖原和肌糖原含量、肝组织的SOD及GSH-PX活性均显著提高($P < 0.05$),血清中的尿素氮、乳酸水平以及丙二醛含量显著降低($P < 0.05$)。两剂量组间无显著性差异。肉苁蓉多糖可提高小鼠抗疲劳作用,机制可能是通过增强机体携氧,减轻对酶蛋白的氧化损伤,提高抗氧化酶活性,从而促进机体自由基清除以及减轻自由基对线粒体膜和肌浆网膜造成的损伤等实现的,具体机制还有待进一步研究。

2.4 抗骨质疏松

骨质疏松症是一种由于骨量减少,骨组织微观结构退化,导致骨的脆性增加,进而发生骨折的全身性骨骼代谢性疾病。罗德梅等^[22]、Song等^[23]探讨了肉苁蓉对M-KOOPG小鼠骨质疏松的作用。将小鼠分成对照组、阳性对照药组(阿仑膦酸钠片10 mg/kg)和肉苁蓉提取物5、10 g/kg两个剂量组。结果表明,阳性对照药组和两个剂量组均可增加骨小梁数目($P < 0.05$)、降低肿瘤坏死因子- α 和白细胞介素-1 β 在成骨细胞、破骨细胞以及骨髓基质细胞胞浆中的表达($P < 0.05$),提示肉苁蓉对骨质疏松具有一定的防治作用。其机理可能与苯乙醇总苷、毛蕊花糖苷、甜菜碱等促进蛋白质合成、增加骨基质以及增加钙磷沉积有关。

2.5 润肠通便

采用不同机制的便秘模型,通过测定小肠推进度、粪便粒数、粪便形态以及含水量等指标研究肉苁蓉的润肠通便作用。王丽卫等^[24-26]利用复方地芬诺酯制造小鼠便秘模型,将小鼠分为对照组、模型组和5个剂量组,ig给予肉苁蓉各部位提取物(多糖0.4 g/kg、总苷0.4 g/kg、总寡糖3.7 g/kg、半乳糖醇0.8 g/kg、去半乳糖醇总寡糖3.3 g/kg),观察并记录第1粒红色粪便排出时间、6 h内排便粒数及粪便形态、粪便含水量、小肠推进率等。与对照组相比,模型组第1粒红色粪便排出时间显著延长($P < 0.05$),6 h内排便粒数及粪便含水量显著下降($P < 0.05$)。与模型组相比,总寡糖组和去半乳糖醇总寡糖组首次排红便时间显著缩短($P < 0.05$),6 h内排便粒数显著增加($P < 0.05$)。总寡糖组的粪便含水量显著提高($P < 0.05$)。与模型组相比,总寡糖组、半乳糖醇组和去半乳糖醇总寡糖组的墨汁推进率差异显著,多糖组和总苷组的各项指标与模型组相比没有显著性差异。

Yan等^[27]利用慢传输型便秘模型研究肉苁蓉水提物对便秘作用。肉苁蓉多糖水解物和分离得到

的半乳糖醇可增加粪便量、粪便含水量、肠道传输率,增强小肠蠕动,改善肠肌运动功能,提高血浆胃肠激素胃泌素、胃动素、生长抑素和降钙素基因相关肽等结肠运动指数。肉苁蓉水提物可能对慢传输型便秘模型大鼠的便秘有效,机制可能与通过PI3K、SCF、c-kit等信号通路改善Cajal间质细胞功能有关。

3 结语

肉苁蓉的化学成分主要有苯苷类、环烯醚萜及其苷类、木脂素及其苷类、多糖以及单萜苷类、生物碱等。其中苯乙醇苷类和多糖是其主要化学成分和活性成分,也是肉苁蓉发挥作用的物质基础;另外,肉苁蓉还具有抗衰老、护肝、缓解疲劳、抗骨质疏松以及润肠通便等功效^[30-31]。

现代毒理学研究表明肉苁蓉及其提取物对人体安全无毒性^[3,28-29,32]。随着研究技术的进展,部分肉苁蓉的功效研究成果已转化为产品。由国家食品药品监督管理局批准的以肉苁蓉为原料的国内保健产品共46个,缓解体力疲劳产品22个,免疫调节产品22个,延缓衰老产品7个,改善记忆、增加骨密度和改善胃肠道功能产品各1个^[3]。缓解疲劳产品和免疫调节产品的功效成分主要是粗多糖、松果菊苷、毛蕊花糖苷以及总黄酮等,延缓衰老产品的功效成分为粗多糖。产品多为保健酒、胶囊、健康茶、口服液、饮片等。

梭梭是荒漠地区的先锋植物,肉苁蓉在梭梭气根上寄生生长。实现肉苁蓉产业化和沙漠综合治理,对于经济、生态、社会效益的协同发展,具有重要的意义和广阔的应用前景^[33]。

目前,肉苁蓉中各种生物活性物质的功效学研究基础还比较薄弱,尤其是肉苁蓉改善记忆、改善肠道等功能的基础研究和产品开发还需要科研机构和企业加强合作,尽快开发出成分清楚、量效关系明确的保健功能食品,为国民健康服务。

参考文献

[1] 中国药典[S]. 2010: 126.
[2] 于连云. 肉苁蓉的药理作用及临床应用[J]. 内蒙古中医药, 2016, 35(4): 87-88.
[3] 彭芳,徐荣,徐常青,等. 肉苁蓉药用及其食疗历史考证[J]. 中国药学杂志, 2017, 52(5): 377-383.
[4] 张效东.《神农本草经》药物札记[J]. 山东中医药大学学报, 2011(4): 306-308.
[5] 姜勇,鲍忠,屠鹏飞,等. 肉苁蓉片的炮制工艺研究[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(14): 1074-1076.

[6] 王力伟,曹瑞,房永雨,等. 超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱联用法测定肉苁蓉中有效成分的含量[J]. 中药材, 2017, 40(2): 295-300.
[7] Dong Y, Guo Q, Liu J, et al. Simultaneous determination of seven phenylethanoid glycosides in *Cistanches Herba* by a single marker using a new calculation of relative correction factor [J]. J Separ Sci, 2018, 41(9). Doi: 10.1002/jssc.201701219.
[8] 覃文婷,宿美凤,雒晓梅,等. 定性分析不同产地荒漠肉苁蓉苯乙醇苷类及多糖类成分[J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(7): 77-81.
[9] Ying Z, Han X, Li J. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves [J]. Food Chem, 2011, 127(3): 1273-1279.
[10] Liu Y, Wang H, Yang M, et al. *Cistanche deserticola*, polysaccharides protects PC12 cells against OGD/RP-induced injury [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 99: 671-680.
[11] Wang Y H, Xuan Z H, Tian S, et al. Echinacoside protects against 6-hydroxydopamine induced mitochondrial dysfunction and inflammatory responses in PC12 Cells via reducing ROS production [J]. Evid-Bas Comp Alter Med, 2015, 2015(4): 189239. Doi: 10.1155/2015/189239.
[12] 武燕,张弘,布仁,等. 肉苁蓉多糖对D-半乳糖所致急性衰老模型保护作用研究[J]. 中国药理学通报, 2017, 33(7): 927-933.
[13] 范亚楠,黄玉秋,贾天柱,等. 肉苁蓉炮制前后对衰老模型大鼠抗衰老及免疫功能的影响[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(11): 2882-2885.
[14] Huang Y, Deng X, Liang J. Modulation of hepatic stellate cells and reversibility of hepatic fibrosis [J]. Exp Cell Res, 2017, 352(2): 420-426.
[15] 由淑萍,赵军,马龙,等. 肉苁蓉苯乙醇总苷对血小板衍生生长因子诱导的肝星状细胞增殖的影响及机制[J]. 中国药理学通报, 2016, 32(9): 1231-1235.
[16] 马晓婷,张石蕾,由淑萍,等. 肉苁蓉苯乙醇总苷脂质体对大鼠T6肝星状细胞凋亡的影响及作用机制研究[J]. 中国药理学通报, 2018, 34(10): 1450-1455.
[17] 罗慧英,黄亚红,朱丽娟. 肉苁蓉总苷对四氯化碳损伤小鼠肝脏能量代谢的影响[J]. 甘肃中医学院学报, 2014, 31(4): 4-6.
[18] 王艳芳,赵继军,李旻辉,等. 肉苁蓉多糖对四氯化碳所致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 包头医学院学报, 2014, 30(6): 3-5.
[19] 王小新,骆婷婷. 肉苁蓉对小鼠抗疲劳及记忆力的影响[J]. 内蒙古中医药, 2014, 33(22): 102-103.
[20] 闫磊,胡江平,孙晓冬,等. 肉苁蓉多糖对D-半乳糖致衰老小鼠抗疲劳作用及机制研究[J]. 河北中医, 2019,

- 41(1): 96-100.
- [21] 高占友, 周海涛, 林强. 肉苁蓉对大鼠抗运动性疲劳能力及脑自由基的影响 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(16): 9592-9593, 9595.
- [22] 罗德梅, 龙梅, 杜文静, 等. 新疆肉苁蓉提取液对 M-KOOPG 小鼠抗骨质疏松的作用机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(10): 138-142.
- [23] Song D, Cao Z, Liu Z, et al. *Cistanche deserticola* polysaccharide attenuates osteoclastogenesis and bone resorption via inhibiting RANKL signaling and reactive oxygen species production [J]. J Cell Physiol, 2018, 233(12). Doi: 10.1002/jcp.26882.
- [24] 王丽卫, 孙健, 赵兵, 等. 肉苁蓉膳食纤维润肠通便功能研究 [J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(9): 3740-3744.
- [25] 范亚楠, 黄玉秋, 贾天柱, 等. 肉苁蓉炮制前后对便秘大鼠的通便作用 [J]. 中成药, 2016, 38(12): 2684-2687.
- [26] 高云佳, 姜勇, 戴昉, 等. 肉苁蓉润肠通便的药效物质研究 [J]. 中国现代中药, 2015, 17(4): 307-310, 314.
- [27] Yan S, Yue Y, Wang X, et al. Aqueous extracts of *Herba Cistanche* promoted intestinal motility in loperamide-induced constipation rats by ameliorating the interstitial cells of Cajal [J]. Evid-Bas Compl Altern Med, 2017(1): 1-13. Doi: 10.1155/2017/6236904.
- [28] Liao P L, Li C H, Tse L S, et al. Safety assessment of the *Cistanche tubulosa* health food product Memoregain®: genotoxicity and 28-day repeated dose toxicity test [J]. Food Chem Toxicol Int J, 2018. Doi: 10.1016/j.fct.2018.06.012.
- [29] 赵兵, 杨秀梅, 吴道澄, 等. 新疆野生与栽培荒漠肉苁蓉粗多糖免疫增强活性比较 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2018, 38(1): 7-13.
- [30] 曾克武, 廖理曦, 万彦军, 等. 基于靶点"钩钓"策略的肉苁蓉苯乙醇苷药理靶点鉴定及功效解析 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 173-178.
- [31] Wang L L, Ding H, Yu H S, et al. *Cistanches Herba*: Chemical constituents and pharmacological effects [J]. Chin Herb Med, 2015, 7(2): 135-142.
- [32] Gao Y, Qin G, Wen P, et al. Safety assessment of powdered *Cistanche deserticola* Y. C. Ma by a 90-day feeding test in Sprague-Dawley rats [J]. Drug Chem Toxicol, 2016, 40(4): 1-7.
- [33] 周勇, 周朋朋, 吴伟伟, 等. 肉苁蓉的生物活性及食品中的应用前景 [J]. 饮食保健, 2016, 3(16): 217-218.