

79, 67, 55, 41, 符合亚麻油酸甲酯裂解规律。经NIST98标准谱库的检索, 确定化合物V为亚麻油酸甲酯。

化合物VI: 白色蜡状结晶, mp 70~72 °C。EI-MS m/z : 278, 223, 149, 104, 76, 41, 符合邻苯二甲酸二丁酯裂解规律。经NIST98标准谱库的检索, 确定化合物VI为邻苯二甲酸二丁酯。

化合物VII: 白色蜡状结晶, mp 55~57 °C。EI-MS m/z : 280, 222, 182, 137, 124, 110, 95, 81, 67, 55, 41。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 444, 3 009, 2 919, 2 851, 1 705。经NIST98标准谱库的检索, 确定化合物VII为9,12-十八碳二烯酸。

化合物VIII: 白色片状结晶, mp 56~58 °C。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 443, 2 918, 2 850, 1 702。¹H-NMR (pyridine- d_5 , 400 MHz) δ : 0.84 (3H, t), 1.29 (24H, br, s), 1.79 (2H, m), 2.51 (2H, t)。¹³C-NMR (pyridine- d_5 , 100 MHz) δ : 14.2, 22.9, 25.6, 29.5~29.8, 32.0, 34.8, 176.4。以上数据结合标准谱库的检索, 确定化合物VIII为棕榈酸。

化合物IX: 无色针状结晶, mp 136~137 °C。化合物IX的理化性质及¹H-NMR (pyridine- d_5 , 400

MHz)和¹³C-NMR (pyridine- d_5 , 100 MHz)数据与文献报道^[10]对照, 确定化合物IX为 β -谷甾醇。

参考文献:

- [1] 张丽华, 李建国. 植物冠瘿生长调控及相关基因研究进展[J]. 西北植物学报, 2002, 22(5): 1282-1288.
- [2] 于荣敏, 金钱星, 孙辉, 等. The growth characteristics and ginsenosides isolation of suspension-cultured crown gall of *Panax quinquefolium* (英文)[J]. 生物工程学报, 2005, 21(5): 754-758.
- [3] 于荣敏, 金钱星, 赵昱. 西洋参冠瘿组织悬浮培养及其人参总皂苷的含量测定[J]. 中药材, 2006, 29(7): 650-652.
- [4] 张章, 陈敏青, 任胜芳, 等. 转基因西洋参冠瘿组织生物合成熊果苷的研究[J]. 中草药, 2006, 37(5): 759-761.
- [5] 宋永波, 徐珍霞, 金钱星, 等. 西洋参转基因冠瘿组织培养及人参总皂苷含量[J]. 中药材, 2005, 28(3): 165-167.
- [6] Tanaka O, Yahara S. Demmarane saponins of leaves of *Panax pseudoginseng* subsp *himalaicus* [J]. *Phytochemistry*, 1978, 17: 1353-1358.
- [7] 苏健, 李海舟, 杨崇仁. 吉林产西洋参的皂苷成分研究[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(9): 831-833.
- [8] 姜永涛, 陈继水, 马双刚, 等. 西洋参总皂苷碱降解产物的分离及结构鉴定[J]. 烟台大学学报, 2006, 19(2): 142-147.
- [9] 陈封政, 赵卫权, 何永华, 等. 川滇蔷薇和多苞蔷薇化学成分的研究[J]. 应用与环境生物学报, 2000, 6(4): 334-336.
- [10] 李泓波, 胡军, 陈剑超, 等. 江西青胆的化学成分[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(2): 125-127.

水菖蒲的化学成分研究

肖昌钱, 翁林佳, 张相宜, 赵霞, 周长新*

(浙江大学药学院 现代中药研究所, 浙江 杭州 310058)

摘要:目的 研究水菖蒲 *Acorus calamus* 的化学成分。方法 应用硅胶、Sephadex LH-20 等色谱技术进行分离纯化, 采用MS、NMR 等波谱技术解析结构。结果 从水菖蒲中共分离得到9个化合物, 分别鉴定为: 表水菖蒲酮 (epishyobunone, I)、 β -细辛醚 (β -asarone, II)、棕榈酸 (palmitic acid, III)、异水菖蒲酮 (isoshyobunone, IV)、异水菖蒲二醇 (isocalammendiol, V)、 β -谷甾醇 (β -sitosterol, VI)、5-羟基-7,8,3',4'-四甲氧基黄酮 (5-hydroxy-7,8,3',4'-tetramethoxyflavone, VII)、5,4'-二羟基-7,8-二甲氧基黄酮 (5,4'-dihydroxy-7,8-dimethoxyflavone, VIII)、 β -胡萝卜苷 (β -daucosterol, IX)。结论 化合物VI和VII为首次从菖蒲属植物中分离得到。

关键词: 水菖蒲; 菖蒲属; 黄酮

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)10-1463-03

水菖蒲 *Acorus calamus* Linn. 系天南星科菖蒲属多年生水生草本, 根入药。别名兰芥、地心、泥菖蒲、水八角草、土菖蒲等。原产欧洲和亚洲西部, 在我国主产于湖南、湖北、辽宁等地^[1,2]。水菖蒲作药用由来已久, 其根茎是中药菖蒲的来源之一。菖蒲始载于

《神农本草经》, 列为上品。李时珍释其名曰: “菖蒲, 乃蒲类之昌盛者, 故曰菖蒲。”水菖蒲入药具有开窍、益智、宽胸、豁痰、散风、活血等功能。可用于治疗各种神经、精神疾患, 还可以作为催吐、利尿、轻泻、胃肠气胀及疟疾、痢疾、炎症的治疗药, 另外也是良好

收稿日期: 2008-04-26

作者简介: 肖昌钱 (1982—), 男, 浙江温州人, 浙江大学药学院现代中药研究所硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。

Tel: (0571) 87987373-5229 E-mail: xiaochangqian@163.com

* 通讯作者 周长新 Tel: (0571) 88208547 E-mail: zhoucx10@163.com

的驱虫剂。但对其化学成分的研究很少有文献报道。为明确其活性成分,本实验对水菖蒲植物的化学成分做进一步的研究,并从水菖蒲的乙醇提取物中分离得到了9个化合物,分别鉴定为:表水菖蒲酮(I)、 β -细辛醚(II)、棕榈酸(III)、异水菖蒲酮(IV)、异水菖蒲二醇(V)、 β -谷甾醇(VI)、5-羟基-7,8,3',4'-二甲氧基黄酮(VII)、5,4'-二羟基-7,8-二甲氧基黄酮(VIII)、 β -胡萝卜苷(IX)。其中化合物VII和VIII为首次从菖蒲属植物中分离得到。

1 仪器与材料

熔点用X-4数字显微熔点仪测定,NMR用VARIAN INOVA-400型核磁共振仪测定;ESI-MS用Esquire-LC 00075型质谱仪测定;薄层色谱和柱色谱硅胶均为青岛海洋化工厂产品;Sephadex LH-20为Amersham Pharmacia Biotech AB公司产品。

水菖蒲药材购自湖南廉桥,由浙江大学药学院现代中药研究所徐娟华副教授鉴定为天南星科菖蒲属植物水菖蒲 *Acorus calamus* Linn.,凭证标本保存于浙江大学药学院现代中药研究所。

2 提取与分离

水菖蒲药材3 kg,粉碎,用95%乙醇室温浸泡一周后渗漉,收集渗漉液;滤渣再用95%乙醇渗漉提取2 d,合并提取液,减压浓缩得水菖蒲浸膏300 g。将该浸膏用蒸馏水悬浮,再依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取,得石油醚部位(100 g)、醋酸乙酯部位(16 g)、正丁醇部位(22 g)和水溶液部分。石油醚部分经硅胶柱色谱,以石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱;石油醚-醋酸乙酯(40:1)部分经多次硅胶柱色谱,得到化合物I(38.4 mg)、II(22.1 mg)、III(83.6 mg)。石油醚-醋酸乙酯(25:1)部分经硅胶柱色谱,以石油醚-氯仿(10:1)洗脱得到化合物IV(23.2 mg);石油醚-醋酸乙酯(12:1)部分经硅胶柱色谱,以石油醚-丙酮(20:1)洗脱得到化合物V(78.2 mg)、VI(1.5 g)。取醋酸乙酯部位10 g经硅胶柱色谱,以石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱;石油醚-醋酸乙酯(4:1)部分经硅胶柱色谱,氯仿-甲醇(19:1)洗脱,洗脱部分用甲醇重结晶,得化合物VII(7.6 mg);石油醚-醋酸乙酯(3:1)部分经硅胶柱色谱,氯仿-甲醇(12:1)洗脱,洗脱部分用甲醇重结晶,得化合物VIII(8.9 mg);醋酸乙酯部分浓缩,析出化合物IX(1.0 g)。

3 结构鉴定

化合物I:无色透明液体。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400

MHz) δ : 5.86(1H, dd, $J=17.2, 10.8$ Hz, H-10), 5.00(1H, dd, $J=17.2, 1.2$ Hz, Ha-11), 4.98(1H, dd, $J=10.8, 1.2$ Hz, Hb-11), 4.96(1H, d, $J=1.2$ Hz, Ha-8), 4.77(1H, d, $J=0.8$ Hz, Hb-8), 3.04(1H, s, H-2), 1.77(3H, dd, $J=1.2, 0.8$ Hz, Me-9), 1.05(3H, s, Me-12), 0.93(3H, d, $J=6.4$ Hz, Me-14), 0.89(3H, d, $J=6.4$ Hz, Me-15)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3COCD_3 , 400 MHz) δ : 209.9(C-1), 146.5(C-10), 139.9(C-7), 116.7(C-8), 111.0(C-11), 66.7(C-2), 56.2(C-6), 46.1(C-3), 39.5(C-4), 26.2(C-13), 24.7(C-5), 24.3(C-9), 18.8(C-12), 18.5, 27.2(C-14, 15)。与文献报道的表水菖蒲酮波谱数据一致^[3]。

化合物II:淡黄色油状物, $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_3$ 。EI-MS m/z : 209[M+H]⁺。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 6.88(1H, s), 6.70(1H, s), 6.46(1H, dq, $J=17.0, 2.0$ Hz, H-7), 5.70(1H, dq, $J=17.0, 7.0$ Hz, H-8), 3.84(3H, s, OMe), 3.78(3H, s, OMe), 3.75(3H, s, OMe), 1.83(3H, dd, $J=7.0, 2.0$ Hz, 9-Me)。参考文献报道的细辛醚波谱数据^[4], 故确定该化合物为 β -细辛醚。

化合物III:白色结晶, $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$ 。香草醛-浓硫酸反应显淡紫色。EI-MS m/z : 256[M]⁺, 227, 213, 185, 171, 157, 129, 115, 97。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 2.37(2H, t, $J=7.6$ Hz), 1.67(2H, m), 0.90(3H, t, $J=7.2$ Hz)。与文献报道的棕榈酸波谱数据一致^[4,6]。

化合物IV:淡黄色透明液体。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 5.94(1H, dd, $J=17.2, 11.2$ Hz, H-10), 4.99(1H, dd, $J=11.2, 1.2$ Hz, Ha-11), 4.97(1H, dd, $J=17.2, 1.2$ Hz, Hb-11), 1.77(3H, s, Me-8), 1.34(3H, s, Me-12), 0.92(3H, d, $J=6.8$ Hz, Me-14), 0.88(3H, d, $J=6.8$ Hz, Me-15)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3COCD_3 , 400 MHz) δ : 203.7(C-1), 147.4(C-10), 141.2(C-2), 140.9(C-7), 111.3(C-11), 55.7(C-6), 45.4(C-3), 40.3(C-4), 29.7(C-13), 25.0(C-8), 24.3(C-9), 23.7(C-14), 22.2(C-5), 21.1(C-12), 18.7(C-15)。与文献报道的异水菖蒲酮的波谱数据一致^[3,6]。

化合物V:无色透明液体, $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_2$ 。EI-MS m/z : 238[M]⁺。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 4.84(1H, s, Ha-15), 4.73(1H, s, Hb-15), 1.21(3H, s, Me-14), 0.94(3H, d, $J=7.0$ Hz, Me-12), 0.90(3H, d, $J=7.0$ Hz, Me-13)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 400

MHz) δ : 146.1 (C-4), 111.6 (C-15), 75.0 (C-6), 72.6 (C-10), 54.2 (C-1), 51.4 (C-7), 46.9 (C-5), 43.1 (C-9), 34.7 (C-3), 25.3 (C-11), 24.0 (C-12), 23.1 (C-14), 22.9 (C-2), 19.4 (C-8), 18.4 (C-13)。与文献报道的异水菖蒲二醇波谱数据一致^[4,6]。

化合物VI: 白色针晶。mp 137~138 °C, 与 β -谷甾醇对照品共薄层, 5%硫酸-乙醇加热显色呈单一斑点, 与 β -谷甾醇对照品混合熔点不下降, 故确定该化合物为 β -谷甾醇。

化合物VII: 淡黄色针状晶体。¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ : 12.63(1H, s, 5-OH), 7.71(1H, dd, J =8.4, 1.6 Hz, H-6'), 7.69(1H, d, J =1.6 Hz, H-2'), 7.06(1H, d, J =8.4 Hz, H-5'), 6.51(1H, s, H-3), 6.11(1H, s, H-6), 3.99(3H, s, OMe), 3.98(3H, s, OMe), 3.97(3H, s, OMe), 3.86(3H, s, OMe)。¹³C-NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ : 178.8 (C-4), 158.7 (C-2), 155.9 (C-9), 152.6 (C-7), 152.2 (C-4'), 148.3 (C-3'), 146.3 (C-5), 138.6 (C-8), 132.1 (C-1), 122.5 (C-6'), 122.3 (C-10), 114.5 (C-2'), 110.8 (C-5'), 106.5 (C-3), 90.3 (C-6), 60.9 (7-OMe), 60.1 (8-OMe), 56.3 (3'-OMe), 56.0 (4'-OMe)。与文献报道的5-羟基-7,8,3',4'-四甲氧基黄酮波谱数据一致^[7]。

化合物VIII: 淡黄色片状晶体, 5%硫酸-乙醇显亮黄色, FeCl₃溶液显灰棕色, 盐酸-镁粉反应呈阳性。氢谱中 δ 8.08(2H, d, J =8.8 Hz), 7.04(2H, d, J =8.8 Hz), 共4个氢, 示B环为单取代, 同时这4个氢没有间位偶合, 且两两对称, 所以是B环4'位取代, 结合碳谱 δ 161.6, 推定4'为羟基取代基。在¹H-NMR中, δ 12.73(1H, s)为黄酮A环上5位羟基的特征峰。¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ : 12.73(1H, s, 5-

OH), 8.08(2H, d, J =8.8 Hz, H-2', 6'), 7.04(2H, d, J =8.8 Hz, H-3', 5'), 6.42(1H, s, H-3), 6.28(1H, s, H-6), 3.89(3H, s, OMe), 3.85(3H, s, OMe)。¹³C-NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ : 182.7 (C-4), 165.2 (C-2), 161.6 (C-4'), 158.1 (C-7), 157.4 (C-9), 149.4 (C-5), 128.9 (C-8), 121.9 (C-1'), 129.1 (C-2', 6'), 116.7 (C-3', 5'), 110.4 (C-10), 103.9 (C-3), 95.8 (C-6), 61.7 (7-OMe), 56.3 (8-OMe)。其光谱数据与文献对照^[8,9], 故确定该化合物为5,4'-二羟基-7,8-二甲氧基黄酮。

化合物IX: 白色粉末。mp 278~280 °C。与 β -胡萝卜素对照品共薄层, R_f值相同, 与 β -胡萝卜素对照品混合熔点不下降。故鉴定该化合物为 β -胡萝卜素。

参考文献:

- [1] 任仁安. 中国传统中药的鉴别 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1983.
- [2] 刘邦强, 高 音, 吴汉军. 三种菖蒲的鉴别和应用 [J]. 时珍国医国药, 2004, 15(8): 496-497.
- [3] Iguchi M, Nishiyama A, Koyama H, *et al.* Isolation and structures of three new sesquiterpenes [J]. *Tetrahedron Lett*, 1968, 51: 5315-5318.
- [4] Nawamaki K, Kuroyanagi M. Sesquiterpenoids from *Acorus* as germination inhibitors [J]. *Phytochemistry*, 1996, 43(6): 1175-1182.
- [5] 舒任庚, 徐昌瑞, 刘庆华, 等. 青钱柳化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 1995, 20(11): 680-681.
- [6] John R W, James F C. Photocycloaddition of methylycyclobutene and (–)-piperitone: synthesis of (–)-shyobunone and related sesquiterpenes [J]. *J Org Chem*, 1980, 45(22): 4475-4478.
- [7] Nakayama M, Hayashi S, Fukui K, *et al.* Synthetic studies of the flavone derivatives. X X N. Synthesis of 5-hydroxy-7, 8, 3', 4'-tetramethoxyflavone, a pigment from bergamot oil [J]. *Bull Chem Soc Jpn*, 1972, 45(7): 2202-2203.
- [8] 郑 威, 周长新, 赵 昱, 等. 毛茛化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(11): 892-893.
- [9] Jang J H, Kim H P, Park H. Structure and antiinflammatory activity relationships of wogonin derivatives [J]. *Arch Pharm Res*, 2005, 28(8): 877-884.

欢迎订阅《中国现代应用药学》杂志

《中国现代应用药学》杂志是由中国药学会主办、中国科协主管、国内外公开发行的全国性科技期刊。本刊为中国科技论文统计源期刊、《中文核心期刊要目总览》药理学核心期刊, 并被美国《化学文摘》(CA)、《剑桥科学文摘(自然科学)》(CSA (Nat Sci))、《国际药学文摘》(IPA)、《乌利希期刊指南》(Ulrich PD)、《日本科学技术振兴机构中国文献数据库》(JST)等国际重要检索系统收录。栏目设有论著、综述、专栏, 专栏包括中药与天然药、药物化学、药剂、药物分析与检验、医院药学、不良反应、信息等。

本刊从2009年起变更刊期为月刊, 大16开本, 铜版纸精美印刷, 每期订价15.00元, 全年180元, 每月28日出刊, 国内统一刊号: CN33-1210/R, 国际标准出版物编号: ISSN 1007-7693, 邮发代号: 32-67, 国外发行: 中国国际图书贸易总公司(北京399信箱, 100044), 欢迎广大读者通过当地邮局或直接向本刊编辑部订阅。

编辑部地址: 杭州市中河中路250号改革月报大楼10楼, 邮编: 310003, 电话: (0571)87297398, 传真: (0571)87245810, E-mail: xdyd@chinajournal.net.cn, 网址: <http://www.chinajmap.com>。

《中国现代应用药学》在线编辑系统现已开通, 欢迎广大作者踊跃投稿(网址: <http://www.chinajmap.com>)。

水菖蒲的化学成分研究

作者：[肖昌钱](#), [翁林佳](#), [张相宜](#), [赵霞](#), [周长新](#)
作者单位：[浙江大学药学院, 现代中药研究所, 浙江, 杭州, 310058](#)
刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39(10)
被引用次数: 3次

参考文献(9条)

1. [任仁安](#) [中国传统中药的鉴别](#) 1983
2. [刘邦强](#); [高音](#); [吴汉军](#) [三种菖蒲的鉴别和应用](#) [期刊论文]-[时珍国医国药](#) 2004(08)
3. [Iguchi M](#); [Nishiyama A](#); [Koyama H](#) [Isolation and structures of three new sesquiterpenes](#) [外文期刊] 1968
4. [Nawamaki K](#); [Kuroyanagi M](#) [Sesquiterpenoids from Acorus as germination inhibitors](#) [外文期刊] 1996(06)
5. [舒任庚](#); [徐昌瑞](#); [刘庆华](#) [青钱柳化学成分的研究](#) 1995(11)
6. [John R W](#); [James F C](#) [Photocycloaddition of methy-1cyclobutene and\(-\)-piperitone:synthesis of\(-\)-shyobunone and related sesquiterpenes](#) 1980(22)
7. [Nakayama M](#); [Hayashi S](#); [Fukui K](#) [Synthetm studies of the flavone derivatives.X X IV.Synthesis of 5-hydroxy-7,8,3',4'-tetramethoxyflavone, a pigment from bergamot oil](#) [外文期刊] 1972(07)
8. [郑威](#); [周长新](#); [赵昱](#) [毛茛化学成分的研究](#) [期刊论文]-[中国中药杂志](#) 2006(11)
9. [Jang J H](#); [Kim H P](#); [Park H](#) [Structure and antiinflammatory activity relationships of wogonin derivatives](#) 2005(08)

本文读者也读过(8条)

1. [刘邦强](#). [高音](#). [吴汉军](#) [三种菖蒲的鉴别和应用](#) [期刊论文]-[时珍国医国药](#)2004, 15(8)
2. [龚先玲](#). [典灵辉](#). [张立坚](#). [蔡春](#). [GONG Xianling](#). [DIAN Linghui](#). [ZHANG Lijian](#). [CAI Chun](#) [水菖蒲根状茎与根挥发油化学成分研究](#) [期刊论文]-[中国药房](#)2007, 18(3)
3. [刘道平](#) [石菖蒲与水菖蒲的鉴别](#) [期刊论文]-[现代中西医结合杂志](#)2009, 18(34)
4. [张延妮](#). [岳宣峰](#). [王喆之](#) [水菖蒲挥发油化学成分的GC-MS分析](#) [期刊论文]-[中成药](#)2007, 29(1)
5. [邹忠杰](#). [杨峻山](#). [ZOU Zhong-jie](#). [YANG Jun-shan](#) [九节菖蒲化学成分研究](#) [期刊论文]-[中药材](#)2008, 31(1)
6. [李伟](#). [郑天珍](#). [张英福](#). [瞿颂义](#). [丁永辉](#). [卫玉玲](#). [LI Wei](#). [ZHENG Tianzhen](#). [ZHANG Yingfu](#). [QU Songyi](#). [DING Yonghui](#). [WEI Yuling](#) [水菖蒲和石菖蒲对大鼠离体胃平滑肌条作用的比较](#) [期刊论文]-[甘肃中医学院学报](#)2000, 17(4)
7. [赖先银](#). [梁鸿](#). [赵玉英](#) [菖蒲属植物的化学成分和药理活性研究概况](#) [期刊论文]-[中国中药杂志](#)2002, 27(3)
8. [杨晓燕](#). [陈发奎](#). [Yang Xiaoyan](#). [Chen Fakui](#) [菖蒲的化学成分研究概况](#) [期刊论文]-[沈阳药科大学学报](#)1999, 16(1)

引证文献(3条)

1. [吴月霞](#). [张伟](#). [李继成](#). [杨丽嘉](#). [刘娜](#) [尾叶香茶菜化学成分的研究](#) [期刊论文]-[中草药](#) 2011(12)
2. [李娟](#). [李顺祥](#). [麻晓雪](#). [伍参荣](#). [陈钰妍](#) [水菖蒲化学成分与药理作用的研究进展](#) [期刊论文]-[中成药](#) 2013(8)
3. [张智文](#). [黄伟](#). [毛欣欣](#). [秦智享](#). [李旭阳](#). [李长田](#) [东北产天南星科植物化学成分研究进展](#) [期刊论文]-[人参研究](#) 2012(2)