

冠菌素处理对忍冬的花和叶中有效成分含量的影响

牛晓雪 陈小文 崔旭盛 苏贺 郭玉海 董学会*

(中国农业大学 农学与生物技术学院,北京 100193)

摘要 通过不同浓度(0.001、0.010、0.100和1.000 $\mu\text{mol/L}$)冠菌素(COR)处理忍冬花和叶,应用高效液相色谱法(HPLC)测定其中有效成分含量变化。结果表明:不同浓度COR处理对忍冬花、老叶和新叶中主要成分含量产生影响,1)0.010 $\mu\text{mol/L}$ 处理使忍冬花中的绿原酸和芦丁含量分别增加19.75%和13.80%,总体趋势表现为低浓度促进作用;2)1.000 $\mu\text{mol/L}$ 处理使忍冬老叶中的绿原酸、咖啡酸、木犀草苷、异绿原酸A和异绿原酸C,分别较对照高49.72%、28.57%、56.64%、72.78%和49.08%,总体趋势表现为高浓度促进作用;3)1.000 $\mu\text{mol/L}$ 处理使忍冬新叶中的异绿原酸A含量增加16.83%,对木犀草苷和总含量都有促进作用。由此可以看出,采用花可选用0.010 $\mu\text{mol/L}$ 冠菌素处理,采用叶可选用1.000 $\mu\text{mol/L}$ 冠菌素处理;这可为更好地开发利用忍冬提供理论依据。

关键词 忍冬; 高效液相色谱法; 冠菌素; 绿原酸; 木犀草苷

中图分类号 R 282.71.05

文章编号 1007-4333(2012)05-0064-05

文献标志码 A

Influence of Coronatine treatments on the active ingredient contents of *Lonicera japonica* flowers and leaves

NIU Xiao-xue, CHEN Xiao-wen, CUI Xu-sheng, SU He, GUO Yu-hai, DONG Xue-hui*

(College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract High performance liquid chromatographic (HPLC) method was applied to research the influence of Coronatine (COR) treatments of different concentrations on active ingredients of *Lonicera japonica*. The proper concentrations on different positions of *Lonicera japonica* have been confirmed which supply theoretical basis for exploitation. The results indicated that COR treatments of different concentrations had a certain impact on the main compound contents of flowers, old leaves and new leaves in *Lonicera japonica*: 1) Concentration of 0.010 $\mu\text{mol/L}$ has increased 19.75% and 13.80% respectively on the contents of chlorogenic acid and rutin in honeysuckle flower, and the overall trend was promoted at a low concentration; 2) Concentration of 1.000 $\mu\text{mol/L}$ has increased the contents of chlorogenic acid, caffeic acid, luteolin-7-o-glucoside, isochlorogenic acid A and C in old leaves with 49.72%, 28.57%, 56.64%, 72.78% and 49.08% respectively, and the high concentration had a stimulation effect; 3) Concentration of 1.000 $\mu\text{mol/L}$ has increased 16.83% on the content of isochlorogenic acid A and has a stimulation effect on luteolin-7-o-glucoside and the total ingredients. It was concluded that COR treatments of 0.010 and 1.000 $\mu\text{mol/L}$ can be applied to honeysuckle flowers and leaves of *Lonicera japonica* respectively.

Key words *Lonicera japonica*; high performance liquid chromatography (HPLC); Coronatine; chlorogenic acid; luteolin-7-o-glucoside

忍冬(*Lonicera japonica* Thunb.)为忍冬科忍冬属植物,以干燥花蕾或待初开的花入药^[1],曰“金

银花”,是我国传统中药,具有清热解毒、疏散风热、疏利咽喉、消暑除烦等功效^[2-3]。忍冬所含化学成分

收稿日期:2012-03-20

基金项目:国家科技重大专项(2009ZX09308-002);国家公益性行业(农业)科研专项(200903001-2-3)

第一作者:牛晓雪,博士研究生,E-mail:apple.xiaoxue@163.com

通讯作者:董学会,副教授,博士生导师,主要从事植物器官发育和物质代谢激素调控机理及药用植物种质资源研究,E-mail:xuehuidong@cau.edu.cn

比较复杂,包括挥发油、黄酮类、有机酸、三萜皂苷类和无机元素等。新版药典已把绿原酸及木犀草苷的含量作为评价忍冬药材质量的指标性成分。学者们对不同品种、不同产地、不同药用部位、不同采收期及不同 NPK 施肥配方下忍冬有效成分含量开展了一系列的研究^[4-10]。

目前,关于植物生长调节剂调节药用植物次生代谢,提高有效成分的报道较多^[11-13],但对忍冬质量影响的研究鲜有报道。最近的研究表明,从丁香假单胞菌中分离到的一种化合物——冠菌素(Coronatine, COR)具有调节植物生长发育、诱导与防御相关的次生物质代谢、增强植物抵御环境胁迫能力等多方面的生理功能^[14-15]。本试验以不同浓度的 COR 溶液对忍冬植株进行喷施,研究其对忍冬的花和叶中绿原酸、咖啡酸、芦丁、木犀草苷及异绿原酸 A、B、C 7 种成分含量的影响,旨在为更好的开发利用忍冬叶,充分发挥其药用价值奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 仪器及试剂

1.1.1 仪器

高效液相色谱仪 Agilent 1200 LC 系列,包括四元泵及 VWD 紫外检测器;超声波清洗机 SB-25-12DT 型,宁波新芝生物科技股份有限公司;电子天平 AR2130 型,奥豪斯国际贸易(上海)有限公司。

1.1.2 试剂

标准品绿原酸(质检编号 PS08072303)、咖啡酸(质检编号 PS08092501)、木犀草苷(质检编号 PS10052501)、芦丁(质检编号 PS09080301)、异绿原酸 A(质检编号 PS100623-01)、异绿原酸 B(质检编号 PS100623-02)、异绿原酸 C(质检编号 PS100623-03),纯度均大于 98%,由成都普思生物科技有限公司提供。乙腈为色谱纯(Fisher 公司);超纯水由 Milli-Q 系统制备;甲酸为分析纯(国药集团化学试剂公司);甲酸为分析纯(国药集团化学试剂公司)。COR 为中国农业大学作物化学控制研究中心提供。

1.2 试验设计

田间试验在河北省邢台市巨鹿县进行,室内试验在中国农业大学作物化学控制研究中心实验室进行。试验设置 4 个处理, COR 浓度分别为 0.001

(COR₁)、0.010 (COR₂)、0.100 (COR₃) 和 1.000 μmol/L (COR₄),蒸馏水为对照(CK),每个处理 5 株,3 次重复。

选取大小一致,并且刚刚摘取一次花的忍冬植株,用小型喷雾器将不同浓度的 COR 溶液均匀喷施到忍冬植株叶片表面,每处理用量为 50 mL(含 0.5%(体积分数) Tween20)。20 d 后,按照当地农民采摘习俗,摘取花蕾,同时摘取老叶及新长的嫩叶,于烘箱中 80 °C 烘干至恒重,研磨成粉末过 60 目筛备用。绿原酸、咖啡酸、木犀草苷、芦丁和异绿原酸(A、B、C)等有效成分的测定采用 HPLC 方法进行^[16]。

1.3 数据分析

采用 Excel2007 和 SPSS 17.0 软件对试验数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 COR 处理忍冬花中有效成分含量的测定

喷施不同浓度的 COR 溶液处理忍冬的花,对咖啡酸的积累均有一定的促进作用(表 1),而以 0.010 μmol/L COR 处理效果最好,在 COR 0.010~1.000 μmol/L 浓度下,其促进作用随浓度的升高而降低,但各处理之间差异不显著;木犀草苷的含量以 0.010 μmol/L COR 处理为最高,但各处理间无显著差异;异绿原酸 A 含量,以 0.001 μmol/L COR 处理为最高,其次是 0.010 μmol/L COR 处理,总体趋势是低浓度促进作用、高浓度抑制作用,但未达到统计学上的显著差异。0.010 μmol/L COR 处理显著增加了绿原酸含量,较对照增加 19.75%,其他处理之间无差异;芦丁含量在 0.010 μmol/L COR 处理下亦显著增加,为对照的 1.38 倍,总的趋势表现为低浓度促进作用、高浓度抑制作用;在 0.001~0.100 μmol/L COR 浓度下,对异绿原酸 B 的合成有促进作用,但仅 0.001 μmol/L COR 处理与对照差异显著;在本试验剂量下,不同处理均对异绿原酸 C 的合成有一定的促进作用,但仅 0.001 μmol/L COR 处理与对照之间差异显著。总成分含量的积累表现为 COR₃>COR₄>COR₁>CK>COR₂。从总成分含量及主要药效成分绿原酸和木犀草苷的含量看,均以 0.010 μmol/L COR 处理最好,因此认为 0.010 μmol/L COR 处理花最适宜。

表1 不同浓度冠菌素处理忍冬花中有效成分的含量

Table 1 Influence of Coronatine treatments on the active ingredient content of honeysuckle flower

指标*	COR ₁	COR ₂	COR ₃	COR ₄	CK
绿原酸/%	3.069±0.113 b	2.871±0.081 b	3.601±0.032 a	3.116±0.130 b	3.007±0.109 b
咖啡酸/%	0.168±0.011 a	0.173±0.005 a	0.188±0.022 a	0.184±0.009 a	0.156±0.021 a
芦丁/%	1.159±0.031 cd	1.101±0.044 d	1.435±0.052 a	1.389±0.063 ab	1.261±0.018 bc
木犀草苷/%	0.524±0.044 a	0.401±0.014 a	0.527±0.159 a	0.499±0.132 a	0.490±0.037 a
异绿原酸 B/%	0.259±0.018 b	0.286±0.007 ab	0.281±0.005 ab	0.317±0.029 a	0.260±0.004 b
异绿原酸 A/%	6.953±0.176 a	6.756±0.254 a	7.285±0.129 a	7.481±0.636 a	7.010±0.738 a
异绿原酸 C/%	1.150±0.050 ab	1.206±0.054 ab	1.129±0.017 ab	1.323±0.107 a	1.078±0.073 b
总含量/%	4.099±0.122 bc	3.856±0.116 c	4.543±0.108 a	4.354±0.071 ab	4.033±0.107 bc

注: * 均为质量分数;同行中不同字母表示差异显著($P<0.05$);总含量为7种成分总和。下表同。

2.2 不同浓度 COR 处理忍冬老叶中有效成分含量的测定

从表2可以看出,不同浓度的COR溶液处理忍冬老叶,对7种成分的积累均有一定的促进作用,在0.001~1.000 $\mu\text{mol/L}$ COR浓度下除0.100 $\mu\text{mol/L}$ 处理外,其促进作用随浓度的升高而升高,除芦丁和异绿原酸B含量各处理间差异不显著外,其余成分处理间差异存在显著。1.000 $\mu\text{mol/L}$ COR显著

提高了老叶中绿原酸、咖啡酸、木犀草苷、异绿原酸A及异绿原酸C含量,分别较对照高49.72%、28.57%、56.64%、72.78%和49.08%;0.010 $\mu\text{mol/L}$ COR处理同样提高了异绿原酸A及异绿原酸C含量的含量,分别为对照的1.55倍和1.36倍,但对其他成分无影响。0.100和0.001 $\mu\text{mol/L}$ COR处理对7种成分均无显著影响。绿原酸及异绿原酸含量的增加使得总成分含量较对照及其他处

表2 不同浓度 COR 处理忍冬老叶中有效成分的含量

Table 2 Influence of Coronatine treatments on the active ingredient content of *Lonicera japonica* old leaves

指标	COR ₁	COR ₂	COR ₃	COR ₄	CK
绿原酸/%	1.349±0.174 a	1.048±0.180 ab	1.134±0.069 ab	0.988±0.075 b	0.901±0.013 b
咖啡酸/%	0.216±0.022 a	0.172±0.007 b	0.203±0.014 ab	0.181±0.014 ab	0.168±0.002 b
芦丁/%	0.613±0.005 a	0.501±0.090 a	0.670±0.032 a	0.629±0.053 a	0.561±0.068 a
木犀草苷/%	0.625±0.091 a	0.386±0.067 c	0.533±0.021 ab	0.429±0.022 bc	0.399±0.026 bc
异绿原酸 B/%	0.254±0.008 a	0.214±0.045 a	0.251±0.010 a	0.203±0.022 a	0.201±0.019 a
异绿原酸 A/%	3.250±0.178 a	1.893±0.145 b	2.917±0.110 a	1.607±0.178 b	1.881±0.120 b
异绿原酸 C/%	1.209±0.072 a	0.852±0.003 bc	1.102±0.032 ab	0.793±0.083 c	0.811±0.025 c
总含量/%	2.113±0.018 a	1.334±0.023 c	1.701±0.063 b	1.375±0.079 c	1.304±0.009 c

理均有所增加,最终总成分含量依次为 $\text{COR}_1 > \text{COR}_3 > \text{COR}_4 > \text{COR}_2 > \text{CK}$ 。由此看出,1.000 $\mu\text{mol/L}$ COR处理最好。

2.3 不同浓度 COR 处理忍冬新叶中有效成分含量的测定

不同浓度COR处理对忍冬新叶中有效成分的含量影响见表3。在本试验剂量下,表现为高浓度

处理对绿原酸含量无影响,低浓度处理对绿原酸合成有一定的抑制作用,但总体上差异不显著;对异绿原酸B的积累有一定的促进作用,但未达到统计学上的差异;异绿原酸C含量以1.000 $\mu\text{mol/L}$ COR处理为最高,但与对照差异不显著;对总成分含量积累的影响,表现为高浓度处理的促进、低浓度处理抑制作用,且高浓度的促进作用随处理剂量的提高而

加大,但均未达到统计学上的显著差异($P < 0.05$);咖啡酸含量各处理较对照均有所下降,除 $0.010 \mu\text{mol/L}$ COR 外,均达到差异显著水平; $0.001 \mu\text{mol/L}$ COR 显著提高了芦丁含量,增幅为 14.36% ;不同浓度处理均对木犀草苷的积累有一定的促进作用,而以低浓度处理效果较好, 0.001 和 $0.010 \mu\text{mol/L}$ COR 处理均显著高于对照,增幅分别为 34.11% 和 26.37% ;对异绿原酸 A 积累的影

响,表现为高浓度促进、低浓度抑制,以 $1.000 \mu\text{mol/L}$ COR 处理效果最好,异绿原酸 A 含量显著高于对照,增幅为 16.83% ,而 0.010 和 $0.001 \mu\text{mol/L}$ 处理使得异绿原酸 A 含量显著低于对照;对咖啡酸的积累有一定的抑制作用;对总成分的影响,表现为高浓度促进、低浓度抑制作用,但仅 $1.000 \mu\text{mol/L}$ COR 处理达到统计学上显著差异。从总成分含量及主要药效成分绿原酸和木犀草苷的

表3 不同浓度 COR 处理忍冬新叶中有效成分的含量

Table 3 Influence of Coronatine treatments on the active ingredient content of *Lonicera japonica* new leaves

指标	COR ₁	COR ₂	COR ₃	COR ₄	CK
绿原酸/%	2.588±0.178 a	2.584±0.062 a	2.292±0.130 a	2.208±0.137 a	2.572±0.207 a
咖啡酸/%	0.104±0.004 c	0.110±0.005 bc	0.120±0.007 ab	0.112±0.003 bc	0.132±0.007 a
芦丁/%	1.937±0.108 ab	1.870±0.021 b	1.724±0.054 b	2.110±0.088 a	1.845±0.052 b
木犀草苷/%	1.693±0.131 bc	1.684±0.166 bc	1.893±0.057 ab	2.009±0.066 a	1.498±0.056 c
异绿原酸 B/%	0.236±0.034 a	0.243±0.028 a	0.233±0.028 a	0.262±0.006 a	0.221±0.010 a
异绿原酸 A/%	9.693±0.686 a	8.538±0.300 ab	5.697±0.335 c	6.095±0.249 c	8.297±0.244 b
异绿原酸 C/%	1.307±0.256 a	1.097±0.113 a	0.935±0.047 a	1.054±0.033 a	1.171±0.031 a
总含量/%	4.085±0.277 a	3.953±0.009 ab	3.367±0.199 b	3.365±0.178 b	3.754±0.018 ab

含量看,以 $1.000 \mu\text{mol/L}$ COR 处理效果最好。

3 讨论

忍冬其主要活性成分为绿原酸及木犀草苷、金丝桃苷等黄酮类化合物^[17]。目前国内外大部分研究集中在花和果实上,为寻找绿原酸新药源,胡彦武等^[18]用超声技术提取金银忍冬茎、叶中的绿原酸,结果发现在金银忍冬的茎及叶中均含有绿原酸,且含量较高,开辟了综合利用忍冬的新途径。刘宝臣等^[19]报道,忍冬藤和叶也可以用于绿原酸提取和综合利用。本研究对不同浓度 COR 处理下忍冬的花、老叶和新叶中绿原酸、咖啡酸、木犀草苷、芦丁和异绿原酸(A、B、C)7种成分进行测定,结果表明,3部位中均含有这7种成分,其中绿原酸含量为最高,达到 0.9% 以上;且含量从高到低依次为花(3.007%)、新叶(2.572%)、老叶(0.901%),说明除花以外,新叶和老叶也可以作为绿原酸新药源。2010年中国药典中规定将木犀草苷与绿原酸同时做为忍冬的质量控制指标,但芦丁和木犀草苷都属于黄酮类,具有抗炎、抗菌、抗病毒、抗癌等多种药理作^[5],且本试验结果表明,新叶中芦丁和木犀草苷含

量高于花,从提高利用率的角度,是否可以将新叶做为新的入药部位,有待于进一步探讨。

植物生长调节剂在增强作物抗逆性、提高作物产量、改善产品品质、提高种植效益等方面发挥了巨大作用^[20],药用植物次生代谢调控上也开始应用植物生长调节剂。适当浓度的赤霉素(GA_3)、茉莉酸甲酯(MeJA)和矮壮素(CCC)对 *M. anisopliae* Tax-27 生物合成紫杉醇起到明显促进作用^[12],而低聚壳聚糖植物生长调节剂较显著地促进了黄芪多糖、黄芪甲苷含量的提高^[21]。COR 作为新型植物生长调节剂,能在植物或细胞培养中诱导出多种形式的次生代谢活动^[22-23],Fliegmann 等^[24]报道, 26°C 下黑暗中 $50 \mu\text{mol/L}$ COR 处理大豆细胞培养液 48 h,诱导大豆抗毒素含量最高超过 20nmol/g (FW)。此外,COR 处理能促进水稻叶片中樱花素的产生,并且随 COR 浓度的升高而增加^[25]。在本试验中,不同浓度的 COR 对不同部位中的不同成分作用效应不同。就绿原酸含量来说, $0.010 \mu\text{mol/L}$ COR 显著提高了花中含量的积累, $1.000 \mu\text{mol/L}$ COR 提高了老叶中含量的积累,其他各处理对绿原酸的积累无显著影响。对于芦丁的影响,花中以 0.010

$\mu\text{mol/L}$ COR 增效明显,而老叶中无变化,新叶中 $0.001 \mu\text{mol/L}$ COR 效果最好。木犀草苷方面,各浓度处理对花中成分无显著影响,老叶中 $1.000 \mu\text{mol/L}$ COR 效果最好, $0.100 \mu\text{mol/L}$ COR 效果最差,新叶中随处理浓度升高含量的积累呈上升趋势。不同 COR 浓度对忍冬花、老叶和新叶中有效成分影响的不一致,可能是由于不同植物组织及不同生长发育时期对 COR 的反应不同造成的。

4 结 论

由于绿原酸、木犀草苷为中国药典中规定的忍冬的 2 种主要有效成分,综合本试验结果,采收花为主的以喷施 COR $0.010 \mu\text{mol/L}$ 为宜,采收老叶、新叶以 $1.000 \mu\text{mol/L}$ COR 为宜,同时采收花和叶可选用 COR $0.010 \mu\text{mol/L}$ 。COR 作为一种新型植物生长调节剂,对于提高忍冬有效成分积累有积极的意义,在忍冬生长过程中如何利用 COR 提高忍冬产量和质量,以及作用机理有待于深入的研究。

参 考 文 献

[1] 朱丹,袁芳,孟坤,等. 黄酮类化合物的研究进展[J]. 中华中医药杂志,2007,22(6):387-389

[2] 熊艳,王智民,林丽美,等. 金银花质量控制方法研究进展[J]. 中国中医药信息杂志,2009,16(4):103-104

[3] Neer aj Kumar, Bikram Singh, Pamita Bhandari, et al. Biflavonoids from *Lonicera japonica*[J]. *Phytochem*,2005,66:2740-2744

[4] 石俊英,张会敏. 金银花不同品种、产地与采收期样品中绿原酸和木犀草苷的含量测定[J]. 山东中医药大学学报,2007,31(3):247-249

[5] 王柯,王艳艳,赵东保,等. HPLC 法测定金银花不同部位木犀草素及其苷的含量[J]. 河南大学学报:自然科学版,2011,41(1):39-43

[6] 李萍,金红星,贾静,等. HPLC 法同时测定金银花中三种成分的含量[J]. 天津医药,2009,37(6):519-520

[7] 时军波,徐娜,刘长安,等. 金银花不同部位中绿原酸和木犀草苷含量的测定[J]. 化学分析计量,2010,19(6):45-47

[8] 高建邦,宋平顺. 不同加工方法对金银花中绿原酸和木犀草苷含量的影响[J]. 中华中医药杂志,2010,25(11):1796-1798

[9] 辛华,丰杰,程若敏,等. HPLC 测定不同产地金银花中绿原酸和木犀草苷[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(2):60-63

[10] 王俊儒,霍阿丽,张晓丽,等. 氮磷配施对金银花产量和品质的影响[J]. 土壤通报,2009,40(4):847-850

[11] 张元,林强. 低聚壳寡糖植物生长调节剂对丹参生长及次生代谢产物的影响[J]. 安徽农业科学,2010,38(34):19316-19318

[12] 李娟花,陈文强,邓百万,等. 植物生长调节剂对内生真菌生物合成紫杉醇的影响[J]. 食品与生物技术学报,2011,11(6):879-883

[13] 方强,乔勇进,王海宏. 不同植物生长调节剂、碳源对黄芩细胞生长及次生代谢产物的影响[J]. 上海交通大学学报:农业科学版,2008,26(1):33-37

[14] Uppalapati S R, Ayoubi P, Weng H, et al. The phytotoxin coronatine and methyl jasmonate impact multiple phytohormone pathways in tomato [J]. *The Plant Journal*, 2005,42(2):201-217

[15] Xie Z X, Duan L S, Tian X L, et al. Coronatine alleviates salinity stress in cotton by improving the antioxidative defense system and radical-scavenging activity[J]. *J of Plant Physiol*, 2008,165:375-384

[16] 牛晓雪,崔旭盛,苏贺,等. 高效液相色谱法同时测定忍冬中 7 种成分[J]. 色谱,2012,30(2):211-214

[17] 徐国钧. 药理学[M]. 北京:人民卫生出版社,1995:237-238

[18] 胡彦武,于俊林,孙仁爽,等. 金银忍冬茎和叶中绿原酸的提取及含量测定[J]. 安徽农业科学,2008,36(25):10940-10941

[19] 刘宝臣,李瑞国,侯文锐. 忍冬不同器官中绿原酸的提取及含量测定[J]. 安徽农业科学,2011,39(32):19734-19735,19774

[20] 张锋,潘康标,田子华. 植物生长调节剂研究进展及应用对策[J]. 现代农业科技,2012(1):193-195

[21] 林强,张元,崔玉梅. 低聚壳寡糖植物生长调节剂对黄芪生长及次生代谢产物的影响[J]. 安徽农业科学,2010,38(9):4534-4535

[22] Krumm T, Bandemer K, Boland W. Induction of volatile biosynthesis in the Lima bean (*Phaseolus lunatus*) by leucine- and isoleucine conjugates of 1-oxo- and 1-hydroxyindan-4-carboxylic acid; Evidence for amino acid conjugates of jasmonic acid as intermediates in the octadecanoid signalling pathway [J]. *FEBS Lett*,1995,77(3):523-529

[23] Boland W, Hopke J, Donath J, Nüske J, Bublitz F. Jasmonic acid and coronatine induce odor production in plant [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*,1995,4(15):1600-1602

[24] Fliegmann J, Schüler G, Boland W, Ebel J, Mithofer A. The role of octadecanoids and functional mimics in soybean defense responses [J]. *Biol Chem*,2003,384(3):437-446

[25] Tamogami S, Kodama O. Coronatine elicits phytoalexin production in rice leaves (*Oryza sativa* L) in the same manner as jasmonic acid [J]. *Phytochem*,2000,54(7):689-694