韓藥作誌 (Korean J. Medicinal Crop Sci.) 9(4) : 269 - 274 (2001)

쑥갓 꽃에서 Eudesmanolide 유도체 분리

이경동*† · 하태정* · 박기훈* · 양민석*

* 경상대학교 응용생명과학부

Isolation of Eudesmanolides Derivatives from the Flower of *Chrysanthemum coronarium* L.

Kyung Dong Lee*†, Tae Joung Ha*, Ki Hun Park* and Min Suk Yang*

* Department of Agricultural Chemistry, Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University, Chinju, 660-701, Korea

ABSTRACT : Two sesquiterpene lactones were isolated from the flowers of *Chrysanthemum coronarium* L. by silica gel chromatography and recrystalization. Their structures were determined using various spectroscopic data, and were identified as eudesmanolide derivatives douglanine and reynosin, respectively. This is reported for the first time in this plant. The cytotoxic activity of two compounds showed strong activities against human cancer cell lines such as A549, PC-3 and HCT 116.

Key words : *Chrysanthemum coronarium* L., Sesquiterpene lactone, Eudesmanolide, Cytotoxicity.

서 론

암에 대한 연구는 지난 수십년간 암이 어떻게 발달하고 확산되는지 규명하기 위한 노력이 계속되고 있음에도 불구하고 암에 의한 사망율과 발암율이 계속 증가하고 있으며 (Parker et al., 1996), 현재 사용되고 있는 항암제들의 대부분은 강한 독성과 면역기능 등의 부작용이 심하여 효과적인 치료에는 많은 문제점으로 지적이 되고 있다 (Jang & Chi, 1982). 뿐만 아니라 암세포의 내성이 쉽게 발현이 되고 재발이 빈번하여 임상적으로도 한계를 보이고 있는 실정이다 (Critchfield et al., 1994). 따라서 부작용이 적고 효과가 우수한 암 치료제를 개발하는 것이 절실히 요구되고 있다. 최근에는 기존의 항암제들과는 다른 작용기전과 부작용이 적은 우수한 성분들을 천연자원으로부터 직접 얻거나 또는 선도물질 (lead compound)로서 개발 가능한 새로운 활성물질의 탐색이 활발히 진행되고 있으며 (Lee et al., 1998 ; Lee & Park, 1998), 그 대표적인 성과로 천연물에서 분리된 항암활성 물질 중에 임상시험을 하고 있거나 임상에서 사용되고 있는 물질들을 보면 mitomycine (Hodges et al., 1981), anthracyclines (Duvernay & Crookest, 1980), podoophylotoxin의 유도체인 etoposide와 teniposide (Van maanen et al., 1988), homoharringtonine (Powel et al., 1970), taxol (Schiff et al., 1979 ; Wani et al., 1971), vinca

† Corresponding author (Phone) : 055-751-5467, E-mail : s_leekd@gshp.gsnu.ac.kr
Received August 23, 2001

alkaloid 및 그 유도체(Delfel & Rothfus, 1977), didemnin B(Rinehart et al., 1981), Catharanthus alkaloid 및 그 유도체와 ellipticine(Suh et al., 1995) 등이 있다.

본 연구에서는 우리가 일상적으로 섭취하고 있는 채소 중에서 기능성 식품으로서의 가치가 높을 것으로 예상되는 쑥갓(*Chrysanthemum coronarium* L.)을 대상으로 성분연구를 하였다. 쑥갓은 국화과 식물로써 우리나라에서 연중 재배가 용이하고 독특한 향미와 영양성분이 우수하여 한국인이 즐겨먹고 있으며(Purseglove, 1974 ; Wills et al., 1984), Kim et al. (1998)은 암 예방활성성분이 다량 함유되어 있고 생체방어효능이 우수한 신기능성 식품소재로 부가가치가 높다고 하였고, Gurkan et al. (1998)도 암과 관련된 질환에 효과가 있다고 하였다. 그러나 아직까지 쑥갓에 대한 성분연구가 자세히 되어 있지 않으며, 지금까지 밝혀진 주요성분으로는 polyacetylene(Bohlmann et al., 1973 ; Wrang & Jorgrn, 1974 ; Marshall et al., 1987), quinic acid(Chuda, 1996), dihydrocumambrin A와 cumambrin A(El-Masry, 1984) 등 몇 가지 화합물이 보고되어 있을 뿐이다.

따라서 본 연구에서는 쑥갓에서 암을 예방할 수 있는 주요 2차 대사산물을 분리하고 그 구조를 밝힘으로서 쑥갓의 기능성식품으로서의 활용가능성을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에서 사용한 쑥갓(*Chrysanthemum coronarium* L.)은 홍농종묘사의 중엽쑥갓을 사용하였으며, 경남 진주시 내동면에서 재배하여 6월 초순과 중순에 꽃을 채취하여 음건하고 분쇄하여 실험재료로 사용하였고, 증거표본은 경상대학교 생물학과 식물표본실에 보관되어 있다.

시약 및 기기

IR spectrum은 Bruker IFS66 FT-IR spectrophotometer를 사용하여 KBr disc법으로 측정하였으며, Mass spectrum은 JEOL JMS-700 spectrometer를 이용하였다. ^{1}H-, ^{13}C-NMR 그리고 2D-NMR spectrum은 Bruker AM 500(500 MHz)으로 측정하였고, 내부표준물질로는 tetramethylsilane(TMS)을, 용매로는 $CDCl_3$를 사용하였다. Silica gel 칼럼 충진제는 230-400 mesh을 사용하였고, 분리확인용 TLC는 Merck사의 No. 5715를 이용하였다. 그 외 시약은 모두 일급 또는 특급을 사용하였다.

추출 및 분리

그늘에서 잘 말린 쑥갓 꽃 1 kg을 $CHCl_3$에 담그고 실온에서 5일 동안 실온에 방치한 다음 3회 반복 추출하였다. 추출액의 부피를 1 *l* 로 되게 한 다음 추출액을 brine과 무수 Na_2SO_4로 건조시킨 후 감압농축시켜 진한 갈색의 추출물을 40 g을 얻었다. 조추출물(40 g)은 silica gel 1 kg이 충진된 칼럼으로 분리하였다. 이때 용리액을 100% *n*-hexane에서 80% EtOAc까지 용매의 극성을 변화시키면서 흘러내렸고, TLC pattern에 따라서 16개의 fraction으로 분리하였다. 세포독성을 나타내는 fraction 3과 4를 농축시켜 1.8 g얻었다. 이 농축액을 silica gel(50 g) 칼럼에 주입한 다음 *n*-hexane : EtOAc=4 : 1 용매조건으로 용리시키고 최종적으로 재결정하여 compound 1(40 mg, Rf 0.40, *n*-hexane : EtOAc=1 : 1)과 compound 2(42 mg, Rf 0.33, *n*-hexane : EtOAc=1 : 1)을 얻었다.

세포독성

본 실험에 사용된 인체암 세포주는 A549(lung carcinoma), PC-3(prostate adenocarcinoma) 및 HCT 116(colon adenocarcinoma) 3종과 대조구로는 adriamycin사용하였으며, RPMI 1640 배지(10% fetal calf serum, 1% penicillin/streptomycin, 300 mg/L)를 이용하여 37℃, 5% CO_2배양기에서 배양

하였다. 부착된 세포를 배양병의 표면에서 떼어내고 무균상태하에서 각 well에 희석된 세포를 50 μl씩 가하고 동일조건의 배양기에서 24시간 배양시켜 세포를 well plate에 부착시켰다. 여기에 시료를 주입하고 다시 세포를 well 표면에 부착시키기 위해 48시간 배양시키고, 1% acetic acid 로 세척하고 건조시켰다. 건조된 well은 0.4% sulforhodamine B (SRB법-Skehan et al., 1990)를 100 μl/well을 가하여 단백질을 염색시켰다. 30분을 방치한 다음 0.1% acetic acid로 세척 후 다시 건조시키고 10 mM Tris base (pH 10.5)를 100 μl/well에 가하여 염색시약을 용해시키고 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 용매처리군에 대한 백분율로 계산하였다.

구조동정

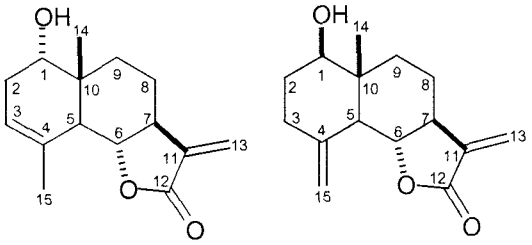
Compound 1 - White needles (*n*-hexane/diethyl ether); mp. 119.7℃; UV λ_{max} (MeOH) : 213 nm; MS *m/z* (EI, 70eV, rel. int.) : 248 (M^+, 20), 230 (M^+-H_2O, 8), 187 (9), 163 (18), 131 (24), 107 (73), 91 (100), 67 (44); IR$_\nu$ (KBr, cm^{-1}) : 3505, 2928, 2363, 1763, 1260, 1136 cm^{-1}; $[\alpha]_D^{25}$=+139.7° (c, 0.5 in $CHCl_3$); ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$, δ) : 6.07 (1H, d, J=3.2Hz, H-13a), 5.41 (1H, d, J=2.6Hz, H-13b), 5.35 (1H, m, H-3), 3.95 (1H, dd, J=11.0, 10.9Hz, H-6), 3.66 (1H, dd, J=8.7, 7.6Hz, H-1), 2.49 (1H, m, H-7), 2.34 (2H, m, H-5, 2a), 2.03~2.10 (2H, in total, H-8a, 9a), 2.00 (1H, m, H-2b), 1.84 (3H, s, H-15), 1.60 (1H, m, H-8b), 1.49 (1H, br, OH), 1.31 (1H, m, H-9b), 0.88 (3H, s, H-14). ^{13}C-NMR : Table 1.

Compound 2 - White needles (*n*-hexane/diethyl ether); mp. 147.0℃; UV λ_{max} (MeOH) : 206 nm; MS *m/z* (EI, 70eV, rel. int.) : 248 (M^+, 2), 163 (26), 140 (58), 111 (100), 95 (27), 57 (24); IRν (KBr, cm^{-1}) : 3434, 2949, 2365, 1726, 1177, 1090 cm^{-1}; $[\alpha]_D^{25}$=+171.4° (c, 1.0 in $CHCl_3$); ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$; δ) : 6.08 (1H, d, J=3.2Hz, H-13a), 5.41 (1H, d, J=3.1Hz, H-13b), 4.98 (1H, d, J=0.9Hz, H-15a), 4.86 (1H, d J=1.1Hz, H-15b), 4.02 (1H, dd, J=10.9, 10.9Hz, H-6), 3.52 (1H, dd, J=11.4, 3.9Hz, H-1), 2.53 (1H, m, H-7), 2.31 (1H, m, H-3a), 2.18 (1H, dd, J=11.1, 1.6Hz, H-5), 2.06~2.10 (3H, in total, H-3b, 8a, 9a), 1.85 (1H, m, H-2a), 1.55 (2H, in total, H-2b, 8b), 1.30 (1H, m, H-9b), 0.81 (3H, s, H-14).

Table 1. ^{13}C-NMR data for compound 1 and 2.

Position	Compounds†	
	1	2
1	75.3d	78.2d
2	32.9t	31.3t
3	121.3d	33.5t
4	139.1s	142.5s
5	51.2d	53.0d
6	81.5d	79.6d
7	51.1d	49.6d
8	21.2t	21.5t
9	34.3t	35.7t
10	40.9s	43.0s
11	133.5s	139.3s
12	170.7s	170.7s
13	116.8t	117.0t
14	11.1q	11.6q
15	23.3q	110.6t

† Recorded at 125 MHz in $CDCl_3$; multiplicity by DEPT.



Compound 1 Compound 2

Fig. 1. Chemical structures of compounds isolated.

결과 및 고찰

Compound 1은 백색의 침상결정으로 10% H_2SO_4에 의하여 진한 갈색으로 발색된다. Mass spectrum에서는 분자이온 peak가 *m/z* 248임을 확인할 수 있었으며, IR spectrum에서는 3505 cm^{-1}(OH), 2928 cm^{-1}(aliphatic C-H), 1763 cm^{-1}(C=O)와 1136 cm^{-1}(C-O)에서 강한 흡수대를 보였다. 정확한 compound 1의 구조는 ^1H-, ^{13}C-NMR, DEPT 그리고 2D-NMR(^1H-^1H COSY, HMQC)로 분석하였다. ^1H-NMR spectrum에서는 δ0.88과 1.84의 3H분의 singlet은 각각 14번과 15번의 methyl proton으로 관측되었으며, δ5.41과 6.07의 저자장으로 shift되어 나타나는 2H분의 doublet(J=2.6과 3.2 Hz)은 exo-methylene signal이 관측되었고, δ5.35에서의 methine group은 이중결합이 있음을 알 수 있었다. ^{13}C-NMR과 DEPT 자료는 Table 1에서 보는 바와 같이 모두 15개의 carbon signal이 관측되었으며, δ170.7에서는 carbonyl group, δ139.1, 133.5과 40.9에서는 quaternary group, δ116.8의 sp^2 methylene group, δ34.3, 32.9, 21.2의 sp^3 methylene group, δ121.3의 sp^2 methine, δ81.5, 75.3, 51.2, 51.1의 methine carbon group, δ23.3과 11.1에서는 methyl group이 2개가 존재함을 알 수 있었다. 따라서 이와 같은 결과들을 바탕으로 compound 1는 1개의 에스터기와 2개의 이중결합을 갖고 있는 것을 감안한다면 총 불포화도(degrees of unsaturation)가 6개이며, $C_{15}H_{20}O_3$인 3고리를 가진 화합물임을 추정할 수 있었다. ^{13}C-^1H COSY spectrum에서는 vinyic methylene 1개와 sp^3 methylene이 3개가 있음을 알 수 있었다. ^1H-^1H COSY spectrum에서 H-13a/b(δ6.07, 5.41)를 시작점으로 하여 allylic 위치의 양성자인 H-7(δ2.49)과 상관관계를 보였고, H-7은 H-8a/b(δ2.03~2.10, 1.60)과 H-6(δ3.95)과 교차 peak가 관찰되었다. H-8a/b은 H-9a/b(δ2.03~2.10, 1.31), H-9a/b는 methyl group인 H-14(δ0.88)과 상관관계가 있었다. H-6은 H-5(δ2.34), H-5는 methyl group인 H-15(δ1.84)와 상관관계가 연속적으로 나타났고, 또 다른 시작점인 H-1(δ3.66)에서의 인접한 양성자인 H-2a/b(δ2.34, 2.00), H-2a/b는 allylic 위치의 양성자인 H-3(δ5.35)과 상관관계를 보였다. 이상의 결과를 바탕으로 문헌 값과 비교한 결과, compound 1은 1-hydroxy-3,11(13)-eudesmadien-12,6-olide로 *Artemisia douglasiana* 식물에서 분리된 douglanine(Matsueda & Geissman, 1967)인 것으로 동정되었으며, 쑥갓에서는 처음으로 분리 보고된 것이다.

Compound 2는 백색의 침상결정으로 10% H_2SO_4에 의하여 진한 갈색으로 발색된다. Mass spectrum에서는 분자이온 peak가 *m/z* 248임을 확인할 수 있었으며, IR spectrum에서는 3461 cm^{-1}(OH), 2935 cm^{-1}(aliphatic C-H), 1758 cm^{-1}(C=O), 1132 cm^{-1}(C-O)에서 강한 흡수대가 관찰되었다. ^1H-NMR spectrum에서는 δ0.81의 3H분의 singlet은 H-14번의 methyl proton으로서 1개가 관측되었고, δ5.41과 6.08의 저자장으로 shift되어 나타나는 2H분의 doublet(J=3.1 Hz, 3.2 Hz)과 δ4.86과 4.98의 2H분의 doublet(J=1.1 Hz, 0.9 Hz)은 exo-methylene signal로서 compound 2는 compound 1과는 달리 2개가 있음을 알 수 있었다. ^{13}C-NMR과 DEPT 자료에서 모두 15개의 carbon signal이 관측되었으며, δ170.7에서는 carbonyl group 1개, δ142.5, 139.3과 43.0에서는 quaternary group, δ117.0과 110.6의 sp^2 exo-methylene group이 2개가 관찰되었다. δ35.7, 33.5, 31.3, 21.5의 sp^3 methylene group, δ79.6, 78.2, 53.0, 49.6의 methine carbon group과 δ11.6의 methyl group이 1개가 존재함을 확인할 수 있었다. 따라서 이와 같은 결과들을 바탕으로 compound 2는 1개의 에스터기와 2개의 이중결합을 갖고 있는 것을 감안한다면 총 불포화도(degrees of unsaturation)는 6개이며 이것들 중의 3개는 δ170.7의 carbonyl group 1개, exo-methylene group가

2개로서 C15H20O3인 3고리를 가진 화합물임을 추정할 수 있었다. ^{13}C-^{1}H COSY spectrum에서 vinyic methylene 2개와 sp^3 methylene 4개가 존재함을 알았다. ^{1}H-^{1}H COSY spectrum에서 H-13a/b (δ5.41, 6.08)를 시작점으로 하여 allylic 위치의 양성자인 H-7 (δ2.53)과 상관관계를 보였고, H-7은 H-6 (δ4.02) 및 H-8a/b (δ2.06~2.10, 1.55)와 교차 peak가 관찰되었다. H-8a/b은 H-9a/b (δ2.06~2.10, 1.30), H-9a/b는 methyl group인 H-14 (δ0.81)와 상관관계를 보였다. H-6은 인접한 양성자인 H-5 (δ2.18)와 상관관계를, H-5는 allylic 위치의 양성자인 H-15a/b (δ4.98, 4.86)와 상관관계가 보였고, H-15a/b는 또 다른 allylic 위치의 양성자인 H-3a/b (δ2.06~2.10, 2.31)와 상관관계가 관찰되었다. H-3a/b는 H-2a/b (δ1.85, 1.55), H-2a/b는 H-1 (δ3.52)과 상관관계를 보였다. 이상의 결과를 바탕으로 문헌 값과 비교한 결과, compound 2는 1-hydroxy-4 (15), 11 (13)-eudesmadien-12, 6-olide로 *Magnolia grandiflora* L.등의 식물에서 분리된 reynosin (Goren et al., 1996; El-Feraly & Chan, 1978)인 것으로 동정되었으며, 이 화합물 역시 쑥갓에서 처음으로 분리되는 화합물이다.

분리된 compound 1과 2를 대상으로 인체암 세포주인 A549, PC-3 및 HCT-15 3종에 대하여 *in vitro*에서의 SRB 방법으로 세포독성을 측정한 결과, Table 2에 나타난바와 같이 3종의 암세포주에 대하여 IC_{50}값이 10 μg/ml이하의 비교적 강한 암세포 성장 억제활성이 보였으며, 두 화합물 모두 3종의 인체암 세포주에 대하여 비슷한 활성을 가지는 것으로 확인되었다.

Table 2. In vitro cytotoxicity of the compounds and adriamycin on human cancer cell lines.

Compound	Cell lines IC_{50} (μg/ml)		
	A549	PC-3	HCT-15
1	9.1±0.5	4.7±0.4	4.7±0.2
2	9.8±0.3	4.7±0.6	4.5±0.5
Adriamycin	0.3±0.1	0.4±0.1	0.7±0.1

적 요

쑥갓 (*Chrysanthemum coronarium* L.) 꽃으로부터 암 예방활성 성분을 가진 2종의 화합물을 분리하여 다양한 spectral data를 종합한 결과, sesquiterpene lactone계인 eudesmanolide의 일종으로 밝혀졌으며, compound 1과 2는 각각 douglanine과 reynosin인 것으로 동정되었다. 이 화합물들은 쑥갓에서는 처음으로 분리·보고되는 화합물이며, 세포독성을 측정한 결과, 두 화합물 모두 3종의 인체암 세포주에 대하여 비교적 강한 활성을 나타내었다.

사 사

본 연구는 21세기 프론티어연구개발사업인 자생식물이용기술개발사업단의 연구비지원 (PF002106-02) 및 두뇌한국 21 사업에 의해 수행되었습니다.

LITERATURE CITED

Bohlmann, F., T. Burkhardt and C. Zdero. 1973. Naturally occurring acetylenes. Academic Press, London.

Chuda, Y. 1996. Structural identification of two antioxidant quinic acid derivatives from garland (*Chrysanthemum coronarium* L.). *J. Agri. Food Chem.* 44 : 2037-2039.

Critchfield, J. W., C. J. Welsh, J. M. Phang and G. C. Yeh. 1994. Medulation of adriamycin and efflux by flavonoilds in HCT15 colon cells. *Biochem. Pharmalcol.* 48 : 1437-1440.

Delfel, N. E. and J. A. Rothfus. 1977. Antitumor alkaloids in callus cultures of *Cephalotaxus harringtonia*. *Phytochemistry.* 16 : 1595-1598.

Duvernay, V. H. and J. Crookest. 1980. Effect of several anthracycline antitumor antibiotics of the

transcriptional activity of isolated nucleoli. *J. Antibiot.* (Tokyo) 33 : 1048-1053.

El-Feraly, F. S. and Y. M. Chan. 1978. Isolation and characterization of the sesquiterpene lactones costunolide, parthenolide, costunolide diepoxide, santamarine, and reynosin from *Magnolia grandiflora* L. *J. Pharm. Sci.* 67 : 347-350.

El-Masry, S. 1984. Sesquiterpene lactons from *Chrysanthemum coronarium* L. *Phytochemistry.* 23 : 2953-2954.

Goren, N., H. J. Woerdenbag and C. Bozok-Johansson. 1996. Cytotoxic and antibacterial activities of sesquiterpene lactones isolated from *Tanacetum praeteritum. Planta Med.* 62 : 419-422.

Gurkan, E., E. P. Koksal and I. Sarioglu. 1998. Cytotoxicity assay of *Chrysanthemum coronarium* L. *Fitoterapia.* 69 : 284-284.

Hodges, J. C., W. A. Remers and W. T. Brodner. 1981. Synthesis and antineoplastic activity of mitosene analogues of the mitomycins. *J. Med. Chem.* 24 : 1184-1053.

Jang, I. M. and H. J. Chi. 1982. Toxicological evaluation of medical plants used for berbal drugs (Ⅲ). Cytotoxicity and antitumor activities against Glioma (9 ASK). *Kor. J. Pharmacogn.* 13 : 55-61.

Kim, S. M., S. H. Ryu, H. D. Choi, S. S. Kim, J. H. Kim and J. S. Kim. 1998. Screening for Korean vegetables with anticarcinogenic enzyme inducing activity using cell culture system. *J. Food Sci. Nutr.* 3 : 277-281.

Lee, Y. H. and H. D. Park. 1998. Cytotoxic activities of herbal drugs against human cancer cell lines (Ⅱ). *Kor. J. Pharmacogn.* 30 : 105-110.

Lee, Y. H., H. D. Park and S. I. Kim. 1998. Cytotoxic activities of herbal drugs against human cancer cell lines (Ⅰ). *Kor. J. Pharmacogn.* 29 : 323-330.

Marshall, P. S., J. B. Harborne and G. S. King. 1987. A spiroketalenol ether phytoalexin from stems of *Coleostephus myconis. Phytochemistry.* 26 : 2493-2494.

Matsueda, S. and T. A. Geissman. 1967. Sesquiterpene lactones of *Artemisia* species. Ⅳ. Douglanine from *Artemisia douglasiana. Tetrahedron Lett.* 23 : 2159-2162.

Parker, S. L., Tong, T., Bolden, S. and P. A. Wingo. 1996. Cancer statistics. *CA Cancer J. Clin.* 46 : 5-27.

Powel, R. G., D. Weisleder, C. R. Smith and W. K. Rohwedder. 1970. Structure of harringtonine, isoharringtonine and homoharringtonone. *Tetrahedron Lett.* 11 : 815-818.

Purseglove, J. W. 1974. Tropical crops-dicotyledons. Longman, Essex.

Rinehart, K. L., Gloer, J. B. and J. C. Cook. 1981. Sturctures of the didemnins, antiviral and cytotoxic depsipeptides from a caribbean tunicate. *J. Am. Chem. Soc.* 103 : 1857-1859.

Schiff, P. B., J. Fant and S. B. Horwitz. 1979. Promotion of microtubule assembly *in vitro* by taxol. *Nature.* 227 : 665-667.

Skehan, P., R. Storeng, D. Scudiero, A. Monks, J. Mcmahon, D. Vistica, J. T. Warren, H. Bokesh, S. Kenney and M. R. Boyd. 1990. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.* 82 : 1107-1112.

Suh, N., L. Luyengi, H. H. Fong, A. D. Kinghorn and J. M. Pezzuto. 1995. Discovery of natural product chemopreventive agents utilizing HL-60 cell differenciation as a model. *Anticancer Research.* 15 : 233-239.

Van maanen, J. M. S., J. Retel, J. Vries and H. M. Pinedo. 1988. Mechanism of action of antitumor drug etoposide. *J. Natl. Cancer Inst.* 80 : 1526-1533.

Wani, M. C., H. L. Taylor, M. E. Wall, P. Coggon and A. T. McPhail. 1971. Plant antitumor agents Ⅵ. The isolation and structure of taxol, a noble antileukemic and antitumor agents from *Taxus brevifolia. J. Am. Chem. Soc.* 93 : 2325-2327.

Wills, R. B. H., A. W. K. Wog, F. M. Scriven and H. Greenfield. 1984. Nutrient composition of Chinese vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 32 : 413-416.

Wrang, P. A. and L. Jorgrn. 1974. Polyacetylenes from *Chrysanthemum leucanthemum. Phytochemistry.* 14 : 1027-1035.