

## 신선초에 함유된 항산화활성물질 Psoralen 유도체들의 단리 및 동정

김소중 · 조정용 · 위지향 · 장미영 · 임요섭<sup>1</sup> · 김철<sup>2</sup> · 신수철 · 문제학<sup>3,\*</sup> · 박근형  
전남대학교 식품공학과 및 기능성식품연구센터, <sup>1</sup>순천대학교 환경농업과학부,  
<sup>2</sup>살롬산업(주), <sup>3</sup>순천대학교 식품과학부

### Isolation and Identification of Two Psoralen Derivatives as Antioxidative Compounds from the Aerial Parts of *Angelica keiskei*

So-Joong Kim, Jeong-Yong Cho, Ji-Hyang Wee, Mi-Young Jang, Yo-Sup Rim<sup>1</sup>,  
Cheol Kim<sup>2</sup>, Soo-Cheol Shin<sup>3</sup>, Jae-Hak Moon\*, and Keun-Hyung Park

Department of Food Science & Technology, and Functional Food Research Center, Chonnam National University

<sup>1</sup>Division of Environmental and Agricultural Science, Suncheon National University

<sup>2</sup>SHALOM Industries Co., Ltd.

<sup>3</sup>Division of Food Science, Suncheon National University

Hot water extracts of *Angelica keiskei* aerial parts were solvent-fractionated with ethyl acetate (EtOAc) and buffers (5% NaHCO<sub>3</sub>, pH 8.0; 1.0 N HCl, pH 3.0) to obtain EtOAc-soluble acidic and neutral fractions. EtOAc-soluble neutral fraction was purified by Sephadex LH-20 column chromatography and reverse phase HPLC. Assay for purification of antioxidative compounds was performed by spraying DPPH solution on thin layer chromatography. Two isolated substances were identified as pseudoisopsoralen and 8-methoxypsoralen (xanthotoxin) by FAB-MS and NMR analyses.

**Key words:** *Angelica keiskei*, antioxidative compound, DPPH radical-scavenging activity, pseudoisopsoralen, 8-methoxypsoralen

## 서 론

인간을 비롯한 모든 호기성 생물체들은 공기중의 산소를 이용하여 생명유지에 필요한 에너지를 생산하지만, 각종 물리·화학적 요인 등에 의해 활성산소의 생성이 증가되면 생체내에 산화적 손상이 발생하게 되어 직접 또는 간접적 영향으로 인하여 암을 비롯하여 뇌졸중, 파킨슨병 등의 뇌질환과 심장질환, 허혈성 심질환, 동맥경화 등의 심혈관계질환, 그리고 소화기질환 및 피부질환 등의 각종 질병과 노화가 촉진되어지는 것으로 알려져 있다(1).

근년 기능성을 갖는 식품을 일상적으로 섭취함으로써 이들 질병의 예방이 가능하다는 인식이 확산됨에 따라 식품의 중요성이 새로운 관점으로부터 인식되어지고 있다. 또 현대인들의 건강에 대한 욕구의 증가와 함께 기능성식품에 대한 관심이 고조되어 생체조절 능력이 있는 성분이 함유된 식품을 대상으로 다양한 식품학적 연구가 진행되어지고 있다(2-5). 한편, 뛰어난 항산화력을 지닌 화학 합성품으로 butylated hydroxyanisole

(BHA), butylated hydroxytoluene(BHT), 그리고 tertiary butylhydroquinone(TBHQ) 등이 이용되어지고 있으나 그 변이성 및 세포내 독성이 지적되어(6) 항산화성이 강하면서 안전한 새로운 천연항산화제의 개발이 요구되고 있다. 이러한 목적으로 천연 식물로부터 항산화제의 개발과 응용을 위한 연구는 기능성식품학적 측면에서 중요한 의의가 있다 하겠다.

본 실험에 사용된 신선초(*Angelica keiskei* Koidz)는 미나리과에 속하는 아열대성 다년생 초본으로, 명일엽, 신립초, 선삼초 등으로 불리고, 고혈압, 당뇨, 간장병, 신경통, 동맥경화 등의 성인병을 예방하기 위한 목적으로 차, 생즙, 분말 등의 다양한 형태로 이용되어져 오고 있다. 신선초에 관한 연구로는 항균작용 화합물로 chalcone, xanthoangelol 및 4-hydroxyderrisin이(7), 동맥이완작용 화합물로 chalcone이(8) 각각 뿌리 추출물로부터 단리·보고되어진 바 있으며, 그 외에도 뿌리 추출물의 histamine 분비저해작용(9) 및 항종양효과(10) 등이 보고되어 있다. 또한 신선초에 함유된 성분연구로부터 xanthoangelol 유도체, xanthotoxin, bergapten, imperatorin, oxypeucedanin, oxypeucedanin hydrate 등의 물질이 분리되었으며, 이들 물질에 대한 각 부위별 정량분석 결과가 보고된 바 있다(11). 그리고 신선초 지상부 추출물을 대상으로 혈압상승 억제작용(12), 콜레스테롤 합성 저해작용(13), 간보호작용(14) 등의 효과에 관한 연구가 보고되어져 있으며, 고지혈증 개선효과가 있는 cynaroside (luteolin 7-glucoside)와 luteolin 7-rutinoside가 발견되어진 바 있다(15). 그

\*Corresponding author: Jae-Hak Moon, Department of Food Science and Technology, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea  
Tel: 82-62-530-2141  
Fax: 82-62-530-2149  
E-mail: nutrmoon@chonnam.ac.kr

리고 Shim 등(16)은 신선초의 항산화 활성물질로 isoquercitrin과 hyperoside의 존재를 보고한 바 있다.

최근 본 연구그룹 또한 신선초에 함유된 항산화활성물질의 탐색에 관한 연구를 행하여 그 열수추출물의 ethyl acetate 가용 중성획분으로부터 luteolin 7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, quercetin 3-O- $\beta$ -D-galactopyranoside, quercetin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, quercetin 3-O- $\alpha$ -D-arabinopyranoside, kaempferol 3-O- $\alpha$ -D-arabinopyranoside 그리고 luteolin 7-O-rutinoside의 6종 flavonoid 배당체를 단리·동정하여 보고한 바 있다(17). 본 논문에서는 그 후속연구로서 신선초의 항산화활성물질의 탐색에 관한 일련의 실험이 진행되어 열수추출물의 동일 획분(ethyl acetate 가용 중성획분)으로부터 활성물질 2종이 추가로 구명되었기에 그 내용을 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 신선초(*Angelica keiskei*)는 제주도에서 재배된 것으로 지상부를  $-40^{\circ}\text{C}$ 에서 6시간 급속동결( $10^{-1}$ - $10^{-3}$  torr)하여 햄머밀 방식에 의해 분말화한 것을 (주)살림으로부터 제공받아 시료로 사용하였다.

### 활성물질의 추출 및 정제

신선초 지상부 건조분말(2.5 kg)을 열수( $90^{\circ}\text{C}$ , 30분, 50 L)로 추출한 후, 여과하여 얻어진 여액(16 L)을 5%  $\text{NaHCO}_3$ 를 이용하여 pH 8.0으로 조정한다 다음, ethyl acetate(EtOAc, 18.7 L $\times$ 3)로 분배하여 EtOAc 가용 중성획분(EtOAc-soluble neutral fraction)과 수용성 산성획분(aqueous-acidic fraction)으로 분획하였다. 이 수용성 산성획분에 1.0 N HCl을 가하여 pH 3.0으로 조절한 후, 다시 EtOAc(13 L $\times$ 3)로 분배하여 EtOAc 가용 산성획분(EtOAc-soluble acidic fraction)과 수용성 획분(aqueous fraction)으로 분획하였다.

### Sephadex LH-20 column chromatography의 흡착에 의한 정제

Lu 등(18)의 방법에 의해 Sephadex LH-20(70-230 mesh, Pharmacia, Sweden)을  $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (1:9, v/v)로 상온에서 24시간 동안 팽윤화시킨 다음, 같은 용매로 column(3.7 $\times$ 21 cm)에 충전시킨 후,  $\text{MeOH}$  농도를 10-100%까지 10%씩(각 단계별 150 mL) 증가시키는 step-wise 용출 방법으로 분획하였다.

### High Performance Liquid Chromatography(HPLC)에 의한 정제

HPLC에 의한 정제는  $\mu$ Bondapak ODS column(7.8 $\times$ 300 mm, 10  $\mu\text{m}$ , Waters, USA)을 이용하여 4.0 mL/min(Model 510 solvent delivery system, Waters)의 유속으로 행하였다. Sephadex LH-20 column chromatography에 의해 정제한 50%  $\text{MeOH}$  획분은 254 nm의 검출과장(Model 486 tunable absorbance detector, Waters, USA)에서 35%  $\text{MeOH}$ (pH 2.5 by trifluoroacetic acid)을 이동상으로 사용하여 용출·분획하였다.

### 분리된 활성물질의 기기분석

정제된 활성물질의 구조해석을 위해  $^1\text{H}$ -nuclear magnetic resonance( $^1\text{H}$ -NMR, 500 MHz),  $^{13}\text{C}$ -NMR(125 MHz), two-dimensional NMR(2D-NMR), 그리고 FAB-MS(fast-atom bombardment

mass spectrometer)의 기기분석을 실시하였다.

### FAB-MS 분석

FAB-MS 분석은 Tandem Mass Spectrometer(JMS-HX/HX 110A, Jeol, Japan)를 사용하였으며, matrix 시약으로 meta-nitrobenzyl alcohol(NBA)을 사용하였다.

### NMR 분석

활성물질의  $^1\text{H}$ -NMR,  $^{13}\text{C}$ -NMR 및 2D-NMR spectra는 Fouriertransformnuclear magnetic resonance(FT-NMR) 기기(500 MHz,  $^{13}\text{C}$  INOVA 500, Varian, Walnut Creek, CA, USA)에 의해 분석하였으며, 용매는  $\text{CD}_3\text{OD}$ 를, 그리고 내부표준물질은 사용용매를 기준으로 하였다.

### 항산화활성 측정

#### 추출물 및 용매분획 획분의 DPPH radical-scavenging 활성

**측정:** Moon 등(19)의 방법에 따라 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma, St. Louis, MO, USA) EtOH 용액(100  $\mu\text{M}$ ) 2.7 mL에 추출물이 함유된 시료용액 0.3 mL를 시험관에 넣고, vortex mixer로 가볍게 혼합한 다음, 암소에서 30분간 반응시킨 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 비교구로 천연항산화제인  $\alpha$ -tocopherol(Sigma, MO, USA)을 이용하였으며, DPPH radical이 50% scavenging되어진 농도를  $\text{SC}_{50}$ (50% scavenging concentration)으로 나타냈다.

**정제 및 단리과정에서의 항산화활성 측정:** Takao 등(20)의 방법에 의해 정제된 획분이나 단리된 물질을 TLC(thin-layer chromatograph) plate에 spotting하여 적절한 용매계로 전개한 후, DPPH ethanol 용액(200  $\mu\text{M}$ )을 plate에 분무하여 보라색이 탈색되어진 획분이나 물질을 항산화활성의 양성으로 판정하였다(TLC-DPPH법).

## 결과 및 고찰

### 신선초 지상부 열수추출물의 용매분획물의 항산화활성

신선초 지상부 건조분말(2.5 kg)을 열수로 추출한 후, 여과하여 얻어진 상등액을 EtOAc로 용매분획하여 EtOAc 가용 산성획분(12.5 g)과 EtOAc 가용 중성획분(2.4 g)을 얻었다. 이들 각 획분을 대상으로 DPPH radical-scavenging 활성을 검정한 결과, 50%의 DPPH radical-scavenging 농도( $\text{SC}_{50}$ )는 EtOAc 가용 산성획분이 21  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , EtOAc 가용 중성획분이 18  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 그리고  $\alpha$ -tocopherol은 8.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 으로 나타났다. 신선초 열수추출물의 EtOAc 가용 획분들의 항산화활성은  $\alpha$ -tocopherol의 활성에 비해 약간 낮은 활성을 보였으나, 이들 획분들이 혼합물 상태를 고려하였을 때, 이들 각 획분들에 잠재성 있는 항산화화합물이 함유되어 있을 가능성이 높게 시사되었다. 따라서 분리된 두 획분 중 보다 활성이 높은 EtOAc 가용 중성획분을 대상으로 항산화 활성물질의 단리를 시도하였다.

### EtOAc 가용 중성획분으로부터 항산화활성물질의 단리

신선초 열수추출물의 EtOAc 가용 중성획분(2.4 g, dry wt.; 2.5 kg eq.)을  $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  용매계( $\text{MeOH}$  함량을 10%씩 증가, step-wise 용출)로 Sephadex LH-20 column chromatography에 의해 용출·분획하여 TLC-DPPH법을 이용하여 항산화활성을 검정한 결과, 50%  $\text{MeOH}$  획분(221.8 mg)에서 항산화활성이 나타났

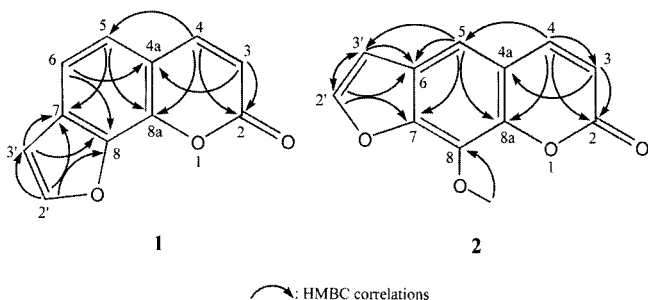


Fig. 1. The structures and important correlations observed in the HMBC spectra for 1 and 2.

다. 이를 대상으로  $\mu$ Bondapak ODS column에 의한 HPLC (35% MeOH, 254 nm) 분석을 행한 결과, retention time( $t_R$ ) 23.94분 및 25.44분에서 peak가 검출되어 그들 각 peak의 화합물들을 분취한 후 항산화활성을 검토하였다. 그 결과 2종 화합물 모두로부터 항산화활성이 인정되었다. 그래서 동일조건인 HPLC에 의해 반복·분취하여 화합물 1( $t_R$  23.94분, 1.6 mg, 황색분말)과 화합물 2( $t_R$  25.44분, 2.2 mg, 황색분말)를 각각 단리하였다.

#### 활성물질의 구조해석

화합물 1의 FABMS(positive) spectrum에서  $[M+H]^+$  187 및  $[M+Na]^+$  209의 pseudomolecular ion이 검출되어 이 화합물의 분자량이 186임을 알 수 있었다.  $^{13}C$ -NMR spectrum에서 1종의 carboxylic carbon( $\delta$  162.9, C-2) 및 10종의  $sp^2$  carbon( $\delta$  159.1-104.7)을 포함한 총 11종의 carbon signal이 관찰되어 화합물 1은 11종의 탄소로 구성된 화합물임을 알 수 있었다.  $^1H$ -NMR spectrum에서는  $\delta$  8.05-6.40의 6H분에 상당하는  $sp^2$  탄소 proton이 검출되었다. 이 중  $\delta$  7.55(H-5)와 7.5(H-6)에서 등가( $J=8.5$  Hz)로 나타난 각각 1H분의 proton signal들로부터 benzene 환에 ortho form의 proton이 존재함을 알 수 있었으며,  $\delta$  8.05(H-4)와 6.40(H-3)에서 등가( $J=9.5$  Hz)로 나타난 각 1H분의 proton들로부터 cis form의 olefinic double bond의 존재가 강하게 시사되었다. 또  $\delta$  7.15(H-3', 1H)와 7.90(H-2', 1H)의 등가( $J=2.0$  Hz) signal들로부터 furan 골격에 인접한 proton의 존재가 시사되었다. 그리고 관찰된 탄소와 proton의 수 및 분자량을 고려하였을 때, 화합물 1의 부분구조는 carboxylic carbon ( $\delta$  162.9, C-2)을 경유하여 benzene 환에  $\alpha$ -pyrone 환이 축합된 coumarin 계의 구조를 취하고 있음이 시사되었다. 이상의 부분구조를 종합해 볼 때, 화합물 1은 hetero 환 구조를 갖는 furocoumarin일 가능성이 강하게 시사되었다. 이 화합물의 보다 정확한 구조해석을 위해 2D-NMR 분석을 행하여 각 proton과 carbon 간의 상호관계를 분석하였다. 특히, HMBC spectrum (Fig. 1)에서  $\delta$  8.05의 proton(H-4)으로부터  $\delta$  125.6의 carbon (C-5) 간에, 그리고  $\delta$  6.40(H-3), 7.51(H-6) 및 7.55(H-5)의 각 proton으로부터  $\delta$  115.3의 carbon(C-4a) 간에 상관관계가 관찰되어 coumarin의 benzene ring에 결합된 인접 proton들의 위치(3, 4위와 5, 6위)가 결정되었다. 또한,  $\delta$  7.55(H-5)와 7.90(H-2')의 proton으로부터  $\delta$  118.0의 carbon(C-7)에, 그리고  $\delta$  7.51(H-6), 7.90(H-2') 및 7.15의 proton(H-3')으로부터  $\delta$  159.1의 carbon (C-8) signal에 각각 cross peak가 검출되어 furan 환은 coumarin의 7, 8위에 결합되어 있음을 알 수 있었으며, 특히 2'위와 8위 간에 에테르(oxy) 결합이 형성된 구조임을 알 수 있었다. 이상의 기기분석 결과로부터 화합물 1은 pseudoisopsoralen으로 구조해석되었다.

Table 1.  $^1H$ - (500 MHz) and  $^{13}C$ -NMR (125 MHz) data for 1 and 2 ( $CD_3OD$ )

Position	Compound 1		Compound 2	
	$^1H$ (mult., $J$ )	$^{13}C$	$^1H$ (mult., $J$ )	$^{13}C$
2	-	162.9	-	162.9
3	6.40 (1H, d, 9.5)	114.7	6.36 (1H, d, 9.5)	115.2
4	8.05 (1H, d, 9.5)	146.8	8.00 (1H, d, 9.5)	146.8
4a	-	115.3	-	118.1
5	7.55 (1H, d, 8.5)	125.6	7.53 (1H, s)	115.0
6	7.51 (1H, d, 8.5)	110.1	-	128.1
7	-	118.0	-	149.2
8	-	159.1	-	134.0
8a	-	149.7	-	144.3
2'	7.90 (1H, d, 2.0)	148.0	7.87 (1H, d, 2.0)	148.7
3'	7.15 (1H, d, 2.0)	104.7	6.94 (1H, d, 2.0)	108.1
-OCH <sub>3</sub>	-	-	4.24 (3H, s)	61.9

화합물 2의  $^1H$ -NMR spectrum에서는 1종의 methoxyl기의 proton( $\delta$  4.24, 3H, s) 및 5H분의  $sp^2$  탄소 proton( $\delta$  8.00-6.36)이 검출되었다. 그리고 methoxyl기와 benzene 환에 결합된 1H분의  $sp^2$  탄소 proton( $\delta$  7.53, s, H-5) 및 고자장으로 shift된  $\delta$  6.94(1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-3')의 proton을 제외하고는 화합물 1의 spectrum과 매우 유사한 경향을 보여, 화합물 2는 benzene 환에 methoxyl기가 결합된 furocoumarin일 가능성이 시사되었다.  $^{13}C$ -NMR 및 HSQC spectra로부터 1종의 carboxylic carbon ( $\delta$  162.9, C-2)을 포함한 6종의  $sp^2$  4차 탄소 [118.1 (C-4a), 128.1(C-6), 134.0(C-8), 144.3(C-8a), 149.2(C-7)], 5H분의  $sp^2$  methine carbon [ $\delta$  108.1(C-3'), 115.0(C-5), 115.2(C-3), 146.8 (C-4), 148.7(C-2')], 그리고 1종의 methoxyl carbon( $\delta$  61.9)까지 총 12종의 signal들이 검출되었다. 이어, 보다 정확한 구조해석을 위해 HMBC 분석을 행하였다. 화합물 2의 각 proton 및 carbon 간에 관찰된 HMBC spectrum 상의 주요 상관관계를 Fig. 1에 나타냈다.  $\delta$  7.53의 proton(H-5)과  $\delta$  108.1의 carbon (C-3') 간의 상관관계로부터 furan 환이 coumarin의 6, 7위에 결합되어 있음을 알 수 있었고, 특히  $\delta$  7.87의 proton(1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-2')으로부터  $\delta$  149.2의 carbon(C-7) 간에 관찰된 cross peak로부터 2'위와 7위의 탄소 간에 에테르(oxy)결합이 형성된 psoralen 구조를 취하고 있음을 확인할 수 있었다. 또한 methoxyl기의 proton( $\delta$  4.24)으로부터  $\delta$  134.0의 carbon(C-8) signal들 간에 cross peak가 검출되어 methoxyl기는 8위에 결합되어 있음이 확인되었다. 최종적으로 FABMS(positive) 분석을 행한 결과,  $[M+H]^+$  207 및  $[M+Na]^+$  239가 검출되어 분자량이 206으로 확인되어 NMR 분석에 의해 구조해석된 화합물의 분자량과 일치됨이 확인되었다. 따라서, 이상의 NMR 및 FABMS 분석에 의해 화합물 2는 8-methoxypsoralen(xanthotoxin)으로 구조해석되었다.

본 연구에서 동정된 2종의 furanocoumarin류 화합물은 coumarin 생합성경로에 의해 생성되어지는 화합물 군으로 천연에 존재하는 coumarin류는 그 수가 800 종류를 넘어 고등식물계에 널리 분포되어 있으며, 특히 미나리과, 운향과, 콩과, 국화과 등에 많이 존재한다(21). 이 furanocoumarin류 화합물은 피부질환 치료제(22)나 항균활성물질(23)의 후보로 주목을 받고 있는 화합물이며, 광학적 조건 하에서 DNA와의 결합능(22,24)이 밝혀져 화학적 합성(22,25) 및 기기분석학적 연구(23-27)에 더불어 생화학 및 생리학적 측면에 있어서도 관심의 대상으로

여겨져 왔다. 그러나 본 연구에서 동정된 pseudoisopsoralen과 8-methoxypsoralen(xanthotoxin)이 항산화활성물질로써 단리되어진 것은 처음으로 사료된다. 또한 8-methoxypsoralen은 신선초 뿌리(28)와 열매(11)에서 동정된 바 있으나 신선초 잎에서는 처음으로 동정되었으며, pseudoisopsoralen이 신선초로부터 동정되어진 것 또한 처음으로 생각된다. 본 연구로부터 pseudoisopsoralen과 8-methoxypsoralen은 시료의 건조중량 100 g 당 각각 64 µg 및 88 µg의 단리량을 보였으나 정제과정 중의 손실 등을 고려하였을 때 그들의 실제 함량은 단리되어진 양보다 훨씬 높을 것으로 사료되어진다. 이들 2종의 화합물을 포함한 신선초 중에 함유된 다양한 생리활성물질들의 정량분석에 관한 이후의 연구에 기대되어지는 바가 크다. 특히 다양한 생리활성을 지닌 이들 화합물이 항산화활성물질로 단리되어진 것은 대단히 흥미로운 결과라 생각되어지며, 그 활성발현기구의 해명 및 기존의 항산화제들과의 활성비교 또한 신선초의 기능성 평가 측면에서 상세히 검토되어야 할 부분으로 판단된다.

요 약

신선초의 기능성 해명과 유용 기능성성분 탐색연구의 일환으로 신선초 지상부로부터 항산화활성물질을 분리하여 구조해석하였다. 신선초 지상부의 열수추출물을 용매분획하여 ethyl acetate 가용 중성획분을 얻었다. 이를 Sephadex LH-20 column chromatography와 HPLC로 정제하여 항산화활성물질 2종을 단리하고, 그들 각각의 화합물을 대상으로 FAB-MS와 NMR 분석을 실시한 결과, pseudoisopsoralen과 8-methoxypsoralen(xanthotoxin)으로 동정하였다.

감사의 글

본 연구과제는 2004년도 전남대학교 학술연구비지원에 의한 것으로 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human disease: Curiosity, cause, or consequence. *Lancet* 344: 721-724 (1994)
2. Karlsson J. Antioxidants and Exercise. Human Kinetics Press, Champaign, IL, USA. pp. 97-106 (1997)
3. Bidlack WR, Omaye ST, Meskin MS, Topham DKW. Phytochemicals as Bioactive Agents. CRC press, Boca Raton, FL, USA. pp. 241-270 (2000)
4. Shi J, Mazza G, Maguer ML. Functional foods: Biochemical and Processing Aspects. Vol. 2. CRC press, Boca Raton, FL, USA. pp. 367-393 (2002)
5. Mazza G. Functional foods: Biochemical and Processing Aspects. Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, PA, USA. pp. 403-437 (2002)
6. Seo GW, Cho JY, Kuk JH, Moon JH, Park KH. Identification of antioxidative substances in *Allium fistulosum* L. by GC-MS. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35: 988-993 (2003)
7. Yoshihiko I, Kimiye B, Hiroshi T, Masahiko T, Kouji N, Mitsugi K. Chemical components of *Angelica keiskei*. VI. Antibacterial activity of two chalcones, xanthoangelol and 4-hydroxyderricin, isolated from the root of *Angelica keiskei* Koidzumi. *Chem. Pharm. Bull.* 39: 1604-1605 (1991)
8. Masaharu M, Yoshikyuki K, Kouji N, Kimiye B, Hiromichi O. Artery relaxation by chalcones isolated from the roots of *Angel-*

- ica keiskei*. *Planta Medica* 67: 230-235 (2001)
9. Kouji N, Kimie B. Histamine release-inhibiting activity of *Angelica keiskei*. *Nat. Med.* 55: 32-34 (2001)
10. Okuyama T, Takata M, Takayasu J, Hasegawa T, Tokuda H, Nishino A, Nishino H, Iwashima A. Anti-tumor-promotion by principles obtained from *Angelica keiskei*. *Planta Medica* 57: 242-246 (1991)
11. Kimye B, Tadashi K, Yuko Y, Masahiko T, Mitsugi K. Chemical components of *Angelica keiskei* Koidzumi. (V). Components of the fruits, and comparison of coumarins and chalcones in the fruits, roots and the leaves. *Shoyakugaku Zasshi* 44: 235-239 (1990)
12. Emiko S, Aisumi H, Rumiko T, Yasuo A, Tetsuo M, Koichi K. Effects of angiotensin 1-converting enzyme inhibitor from *Ashitaba* (*Angelica keiskei*) on blood pressure of spontaneously hypertensive rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol* 45: 375-383 (1999)
13. Park JR, Park JC, Choi SH. Screening and characterization of anticholesterogenic substances from food plant extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26: 236-241 (1997)
14. Park JC, Park JG, Kim HJ, Hur JM, Lee JH, Sung NJ, Chung SK, Choi JW. Effects of extract from *Angelica keiskei* and its component, cynaroside, on the hepatic bromobenzene-metabolizing enzyme system in rats. *Phytother. Res.* 16: 24-27 (2002)
15. Park JC, Cho YS, Park SK, Park JR, Chun SS, Ok KD, Choi JW. Isolation of flavone 7-O-glycosides from the aerial parts of *Angelica keiskei* and antihyperlipidemic effects. *Saengyak Hakhochei* 26: 337-343 (1995)
16. Shim JS, Kim SD, Kim TS, Kim KN. Biological activities of flavonoid glycosides isolated from *Angelica keiskei*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37: 78-83 (2005)
17. Kim SJ, Cho JY, Wee JH, Jang MY, Kim C, Rim YS, Shin SC, Ma SJ, Moon JH, Park KH. Isolation and characterization of antioxidative compounds from the aerial parts of *Angelica keiskei*. *Food Sci. Biotechnol.* 14: 58-63 (2005)
18. Lu YR, Foo LY. Identification and quantification of major polyphenols in apple pomace. *Food Chem.* 59: 187-194 (1997)
19. Moon JH, Terao J. Antioxidant activity of caffeic acid and dihydrocaffeic acid in lard and human low-density lipoprotein. *J. Agric. Food Chem.* 46: 5062-5065 (1998)
20. Takao T, Kitatani F, Sakata K. A Simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Biosci. Biotech. Biochem.* 5: 1780-1783 (1994)
21. Torssell KBG. Natural Products Chemistry: A Mechanistic and Biosynthetic Approach to Secondary Metabolism. John Wiley & Sons Ltd., NY, USA. pp. 88-91 (1983)
22. Harayama T, Nishita Y. Efficient and convenient synthesis of angular furanocoumarins from hydroxycoumarins. *Chem. Pharmacol. Bull.* 44: 1986-1988 (1996)
23. Elgamal MHA, Elewa NH, Elkhriy EAM, Duddeck H. <sup>13</sup>C NMR chemical shifts and carbon-proton coupling constants of some furocoumarins and furochromones. *Phytochemistry* 18: 139-143 (1979)
24. Guiotto A, Manzini A, Chilin Pastorini G, Rodighiero P. <sup>13</sup>C-NMR spectra and carbon-proton coupling constants of variously annulated furocoumarins. *J. Heterocyclic Chem.* 22: 649-656 (1985)
25. Sardari S, Mori Y, Horita K, Micetich RG, Nishibe S, Daneshtalab M. Synthesis and antifungal activity of coumarins and angular furanocoumarins. *Bioorg. Med. Chem.* 7: 1933-1940 (1999)
26. Bose AK, Fujiwara H. <sup>13</sup>C NMR spectra of some furocoumarins. *Tetrahedron* 35: 13-16 (1979)
27. Murry RDH, Jorge ZD. A simple method for differentiating between angular and liner 5-methoxyfuranocoumarins. *Phytochemistry* 23: 697-699 (1984)
28. Baba K, Nakata K, Taniguchi M, Kido T, Kazawa M. Chalcones from *Angelica keiskei*. *Phytochemistry* 29: 3907-3910 (1990)