

HPLC에 의한 뾰리뱅이 플라본 배당체 화합물의 동시정량

누그로호 아궁^{1,2}, 박희준^{3*}

¹상지대학교 대학원 응용식물과학과, ²람붕 망쿠라트대학교 농산업공학과, ³상지대학교 제약공학과

Simultaneous Quantitative Determination of Flavone Glycosides in *Youngia japonica* by High-performance Liquid Chromatography

Agung Nugroho^{1,2} and Hee-Juhn Park^{3*}

¹Department of Applied Plant Sciences, Graduate School, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

²Department of Agro-industrial Technology, Lambung Mangkurat University, Indonesia 70712, Indonesia

³Department of Pharmaceutical Engineering, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

Abstract - This research was attempted to determine the composition of flavone glycosides (luteolin 7-O-glucoside, luteolin 7-O-glucuronide, linarin) in addition to luteolin simultaneously in aerial part of *Youngia japonica* (Compositae) by high-performance liquid chromatography. The MeOH extract was further fractionated into the three parts, CHCl₃ fraction, EtOAc fraction and BuOH fraction, to investigate the contents of the four flavones in the three fractions. The content of luteolin 7-O-glucuronide (10.07 mg/g) was highest in the MeOH extract among those of the flavones. These four compounds were observed to be less than 1.0 mg/g in CHCl₃- and EtOAc fractions but relatively high in BuOH fraction.

Key words - *Youngia japonica*, Compositae, Luteolin 7-O-glucuronide, High-performance liquid chromatography

서 언

뾰리뱅이(*Youngia japonica* (L.) DC., Compositae)는 쌍떡잎식물로 초롱꽃목 국화과의 한두해살이풀이다. 고들빼기속은 전세계에 약 29종이 자라고 있다. 한국에서 고들빼기속(genus *Youngia*)에는 까치고들빼기(*Y. chelidoniifolia*), 이고들빼기(*Y. denticulata*), 지리고들빼기(*Y. koidzumiana*), 고들빼기(*Y. sonchifolia*)가 자라고 있다. 뾰리뱅이는 길가나 논밭두렁, 산저지대 비탈 등지에 자란다. 꽃은 5~6월에 피고 줄기는 녹색이나 검은 자줏빛을 띠기도 한다. 뾰리뱅이는 나물로 먹을 수 있으며, 한국을 비롯하여 일본, 타이완, 중국, 인도, 폴리네시아, 오스트레일리아 등지에 분포한다(Kim, 1996). 뾰리뱅이의 전초 또는 뿌리는 항암채라 하여 한방에서는 감기로 인한 해열과 인후염에 사용하였으며, 소종작용이 있어 유선염, 결막염, 종기치료 등에 사용되어 왔다. 또한 간경화로 인한 복수나 부기를 가라앉히고 통증을 완화시키는 효능이 있다고 알려져 있다(Kim

et al., 2010).

Yae 등(2009)이 뾰리뱅이의 전초로부터 다수의 성분을 분리한 결과 flavonoid, quinic acid derivatives, phenyl-propanoid, guaiane-type sesquiterpenoid 등을 분리하였다. 그 외 triterpene hydroperoxide(Choi et al., 2002), guaianolide(Kim et al., 2010; Chen et al., 2006), isoamberboin and isolipidol(guaiane)(Jang et al., 2000), sesquiterpene glycoside(Kim et al., 2010)를 분리한 바 있다. 또, Ooi et al.(2006)은 뾰리뱅이의 항바이러스 및 항암효과에 대해 보고하였다.

국화과 식물에는 고들빼기, 씀바귀, 민들레, 취나물 등에 페놀성 화합물을 다양 함유하고 이러한 화합물들이 노화와 관련된 질병의 예방과 치료에 기여하고 있는 것으로 알려지고 있다(Park, 2010). 또, 그러한 페놀성 화합물로서 caffeoylequinic acid, flavonoid, coumarin 등의 성분에서 그 효과 및 약리기전이 밝혀지고 있다. 국화과 식물의 flavonoid 성분으로 flavone 혹은 flavone glycoside류가 풍부한 것으로 밝혀지고 있다. 본 실험에서 분석한 4종

*교신저자(E-mail) : hjpark@sangji.ac.kr

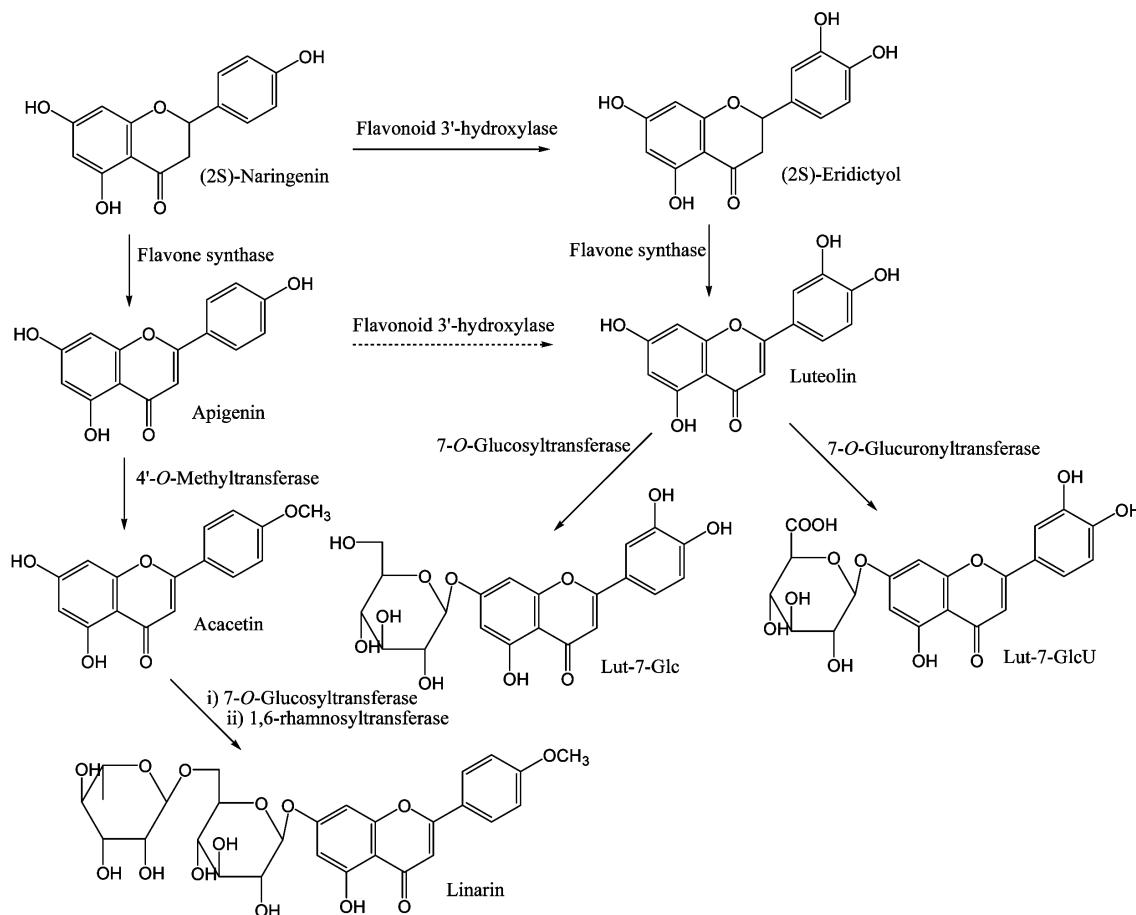


Fig. 1. Structure of luteolin, acacetin, Lut-7-Glc, Lut-7-GlcU and acacetin identified from *Y. japonica* and their presumed pathway. A dotted arrow represent less favored pathway.

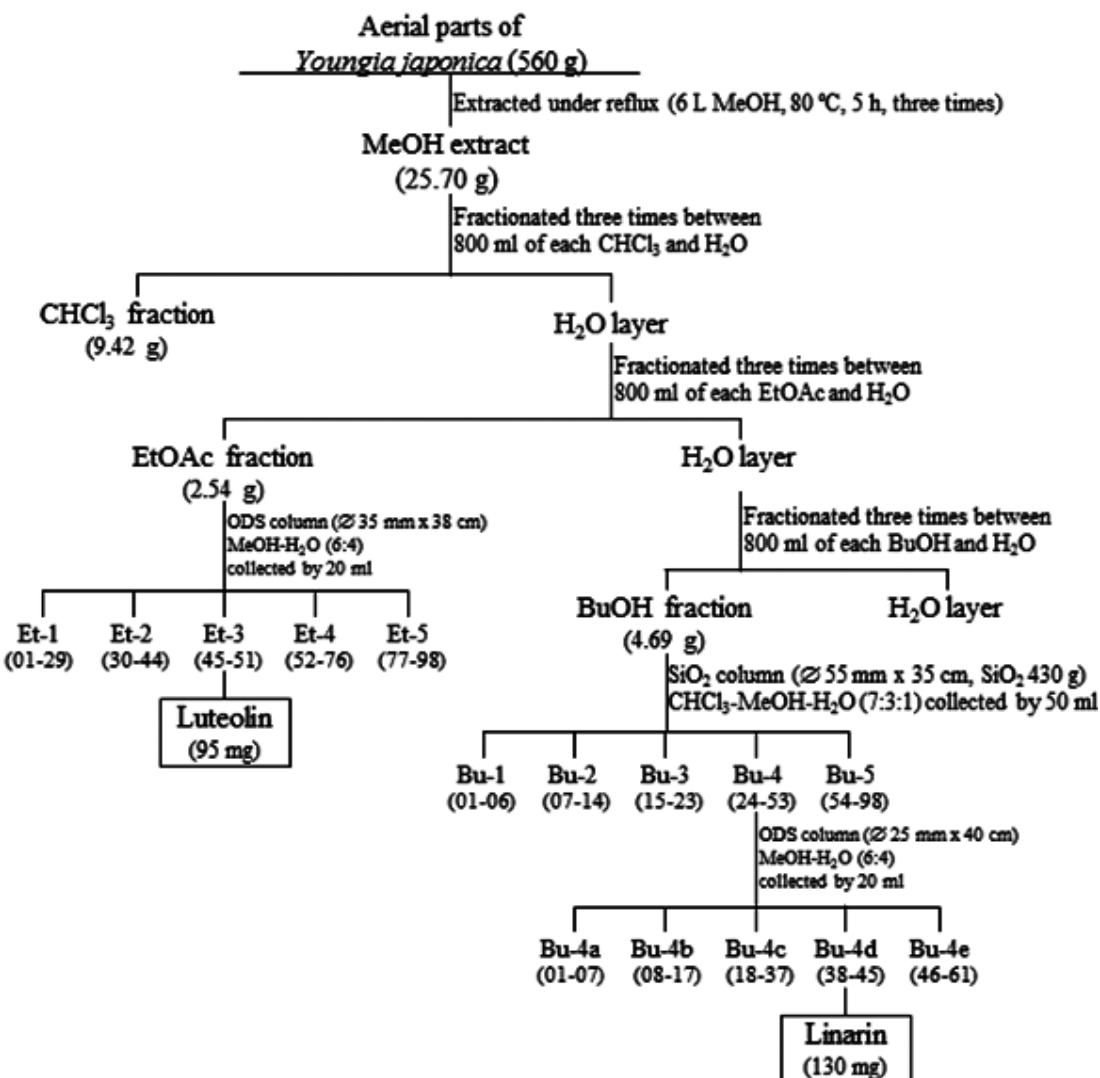
flavone 화합물인 luteolin, luteolin 7-O-glucuronide(Lut-7-GlcU), luteolin 7-O-glucoside(Lut-7-Glc) 및 linarin의 화학구조와 함께 그 생합성적 과정을 Fig. 1에 나타내었다. Bredebach 등(2011) 등이 보고한 바에 따라 Fig. 1과 같은 생합성경로가 가능하며 본 연구를 통해 이러한 4종 화합물의 함량을 평가하고자 하였다. 그리고, 본 연구 중에서 flavone glycoside의 high-performance liquid chromatography(HPLC)에 의한 동정과 함량분석을 시도하여 뾰리뱅이의 이용가치를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

기기 및 시약

실험에 사용한 HPLC는 Prostar 210 solvent delivery module과 Prostar 325 UV-Vis detector로 구성된 Varian

사의 HPLC system(Varian Inc., Walnut Creek, CA, USA) 이었다. HPLC 용 컬럼으로는 Shiseido사(Tokyo, Japan)의 Capcell Pak C18 컬럼(5 μm, 250 mm x 4.6 mm i.d.)이었다. 이동상 용매로서 CH₃CN, MeOH 그리고 H₂O 모두 J.T. Baker사에서 구입한 HPLC급 용매를 사용하였다. 화합물 분리에 사용한 고정상으로 실리카겔은 Merck 사에서 구입한 silica gel 60(70~230 mesh, Germany)이었으며, 역상 컬럼 고정상으로 ODS(octadecylsilane)는 YMC사(Kyoto, Japan)의 YMC*GEL ODS-A(150 μm)이었다. TLC는 순상 TLC plate로서 Merck사의 Kieselgel 60F₂₅₄ plate(20 cm x 20 cm, 0.25 thickness)과 역상 TLC plate로서 Merck사의 TLC Silica gel 60 RP-18 F_{254S}이었고, TLC 반점은 자외선 하에서 관찰하거나 50% H₂SO₄의 분무 후 가열에 의해 확인하였다.

Fig. 2. Isolation procedure of luteolin and linarin from *Y. japonica*.

식물재료

실험에 사용한 식물재료는 강원도 원주시에 야생하는 뾰리뱅이를 개화된 6월경에 채집하여 실험에 사용하였다. 채집된 뾰리뱅이 지상부를 그늘에서 말리고 분쇄한 후 추출에 사용하였다. 뾰리뱅이 식물은 상지대학교 원예조경학과 임상철 교수에 의해 동정되었다. 또, 이 식물의 표본은 현재 상지대학교 제약공학과 천연물화학 실험실에 보관 중이다.

추출과 분획

건조한 식물재료 560 g을 정확히 평량하여 MeOH 6.0 L를 이용하여 5시간씩 환류 하에 추출하는 과정을 3회 반복하였다. 이를 여과하고 진공농축기를 이용하여 농축한

다음, 계속해서 동결건조기로 건조하여 분말상의 추출물 25.7 g을 얻었다. 이 추출물 중 23 g을 H₂O 0.8 L에 녹이고 분획깔때기에서 CHCl₃ 0.8 L로 분배추출하는 과정을 3회 반복하였다. 수층에 같은 방법으로 EtOAc 0.8 L를 가하여 분획하는 과정을 3회 반복하여 EtOAc 가용부를 수득하였다. 남은 수층에 BuOH 0.8 L를 가하고 분배추출하는 과정을 역시 3회 반복하였다. 이 과정에서 얻어진 CHCl₃ 가용부, EtOAc 가용부 및 BuOH 가용부를 각각 진공농축기에서 농축하였고, 계속하여 동결건조기로 건조한 후 CHCl₃ 분획(9.42 g), EtOAc 분획(2.54 g)과 BuOH 분획(4.69 g)을 각각 얻었다. 이와 같은 과정과 함께 성분분리 과정을 Fig. 2에 나타내었다.

표준 화합물

실험에 사용된 표준 화합물 중 Lut-7-Glc와 Lut-7-GlcU는 본 실험실에 보관중인 표준품을 사용하였다. 다른 두 화합물인 luteolin과 linarin은 직접 뾰리뱅이 추출물로부터 분리하여 사용하였다. Fig. 2에 나타내었듯이 Luteolin은 EtOAc을 ODS column chromatography(i.d. 35 mm x 38 cm)에서 전개용매 MeOH-H₂O(60:40)으로부터 20 ml씩 분취하여 얻은 Et-3 소분획(fraction # 45–51)에서 얻은 것을 사용하였다. 이 화합물의 ¹H- 및 ¹³C-NMR spectral data와 문헌치(Shin *et al.*, 1995)를 비교하여 luteolin으로 동정되었다. Linarin은 BuOH fraction으로부터 분리하였다. Silica gel column(i.d. 55 mm x 35 cm)에서 CHCl₃-MeOH-H₂O(7:3:1, 하층)로 전개하여 50 ml씩 분취하여 Bu-4(fraction # 24–53)을 취하였다. 이를 계속해서 ODS column에서 전개용매 MeOH-H₂O(60:40)로 전개하여 Bu-4d 소분획을 얻었다. 이 Bu-4d 소분획은 ¹H- 및 ¹³C-NMR spectral data와 문헌치(Nazaruk and Gudej, 2003)를 비교하여 linarin으로 동정되었다.

표준액과 검액의 제조

4종의 화합물(Luteolin, Lut-7-Glc, Lut-7-GlcU, Linarin)을 MeOH에 녹이고 이를 회석방법으로 5가지 다른 농도의 회석액을 제조하여 검량선 작성을 위한 표준액으로 하였다. 또, MeOH 추출물, CHCl₃ 분획물, BuOH 분획물을 각각 평량한 후 MeOH에 녹인 후 회석하여 분석을 위한 검액으로 하였다.

HPLC 조건

표준 화합물을 메탄올에 넣고 vortex mixer와 초음파 세척기를 이용하여 용해하였다. 이것을 주입하기 전에 0.50 μm syringe filter로 여과하였다. 이동상으로 A 용매로서 0.05% TFA H₂O 용액과 B 용매로서 0.05% TFA MeOH-CH₃CN(60:40)의 혼합용액을 programmed gradient elution 방법으로 용리하였다. Gradient elution system은 (A)/(B) = 85/15(0 min) → 35/65(35 min, hold for 5 min) → 0/100(42 min; hold for 4 min to wash the column) → 85/15(49 min; hold for 6 min to equilibrate the column condition). 컬럼 온도는 온도 조절기를 이용하여 40°C를 유지하였다. 흐름속도는 1.00 ml/min로 검출파장은 254 nm로 고정하여 사용하였다. 이러한 조건으로 표준 화합물

의 혼합물, MeOH extract 및 3종의 분획물에 대해 측정한 HPLC chromatogram을 Fig. 3에 나타내었다.

결과 및 고찰

뾰리뱅이 성분의 동정

뾰리뱅이 메탄올 추출물을 분획하여 CHCl₃ 분획, EtOAc 분획, BuOH 분획으로 나누었다. TLC 결과 플라보노이드 배당체가 확인되는 EtOAc 분획과 BuOH 분획을 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 2종의 화합물을 얻고 이들에 대한 ¹H- 및 ¹³C-NMR spectrum을 측정하여 문헌치와 비교하여 동정한 후 실험에 사용하였다. Luteolin(Shin *et al.*,

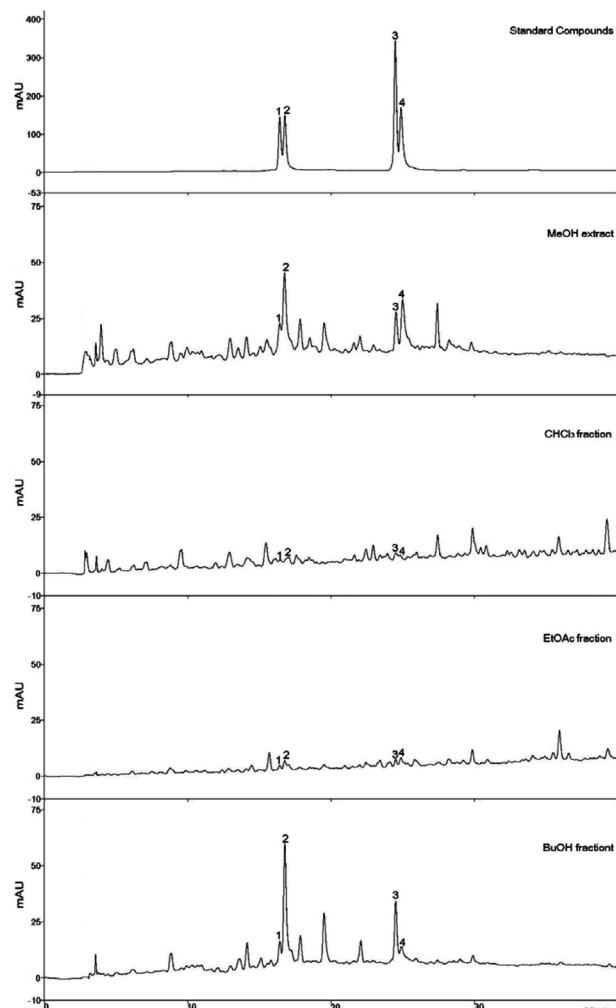


Fig. 3. HPLC chromatograms of standard compounds and extracts of *Youngi japonica*. (1) Lut-7-Glc, (2) Lut-7-GlcU, (3) linarin, (4) luteolin.

1995)은 EtOAc 분획에서 분리되었고 linarin(Nazaruk and Gudej, 2003)은 BuOH 분획에서 분리되었다. 나머지 두 화합물은 본 실험실의 표준품으로서 물리화학적 성상 및 ^1H - 및 ^{13}C -NMR spectrum과 Lut-7-Glc(Kim *et al.*, 2011), Lut-7-GlcU(Gulluce *et al.*, 2010)와 동일함을 확인된 것을 분석실험에 사용하였다.

HPLC 조건 최적화

크로마토그래피 분해능 증가를 위해 컬럼, 이동상, 검출 자외선 파장을 고려하였다. Capcell Pak C18 컬럼이 더 선택적이고 뾰족한 피크를 보였기 때문에 이 컬럼을 실험에 사용하였다. 두 용매 0.05% TFA와 0.05% TFA/MeOH-CH₃CN(60:40)의 용액을 각각 A solvent와 B solvent로 이용하여 programmed gradient elution 방법으로 용리 하였다. 이들 용매(H₂O-MeOH/CH₃CN는 MeOH-H₂O나 MeOH-CH₃CN보다 나은 분리양상과 피크모양을 보였다. 또, TFA 첨가는 폐놀성 화합물의 이온화를 막으므로 피크 모양을 향상하였기 때문에 두 용매에서 TFA를 첨가한 산성용액으로 하여 사용하였다.

검출을 위한 파장으로는 254, 280, 300, 350 nm를 테스트 했을 때 254 nm의 파장에서 감도가 가장 높았으므로 이 파장을 사용하였다. 이것은 검출한계(LOD, limit of detection)와 정량한계(LOQ, limit of quantification)가 더 낮은 농도에서 결정된다는 것을 의미한다. 이러한 사실은 낮은 농도의 분석물질이 정확히 검출될 수 있고 정량될 수 있다는 것을 의미한다. 특히 실험에 표준용액으로 사용된 4종 플라본계 화합물 분석에 적합하였다. 또, 컬럼 온도는 40°C, 흐름속도는 1.00 ml/min로 하였다. 이런 조건으로 측정된 표준액과 검액 HPLC chromatogram은 Fig. 3에 나타내었다.

추출물 중 함량분석

Fig. 1은 표준화합물 이외에도 MeOH 추출물과 그 분획물인 CHCl₃ 및 BuOH 분획의 HPLC chromatogram을 측정한 결과를 나타낸 것이다. 자외선 검출기의 254 nm를 이용하여 검출하였을 때 4종 화합물의 검량선의 방정식을 결정한 결과를 Table 1에 나타내었다. 이들은 linear range에서 R^2 값이 모두 0.9997 이상으로 나타나 검량선의 직선성이 인정되었다. 또한 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ) 값 역시 결정할 수 있었다. 4종 화합물의 검출강도는 BuOH 분획에서 가장 크게 나타나며 그 다음으로 MeOH 추출물 및 CHCl₃ 분획으로 확인된다. 이 사실은 4종 화합물이 CHCl₃ 분획에는 분배율이 낮으며 BuOH 분획에 분배율이 높은 결과에 따른 것으로 해석된다. 즉 4종의 플라보노이드 화합물이 CHCl₃ 분획에는 낮은 함량으로 존재하며 BuOH 분획에 상대적으로 높은 함량으로 존재함을 보여주는 것이다.

Table 2에 나타내었듯이 각 화합물의 함량을 검량선을 이용하여 결정한 결과 메탄올 추출물에는 Lut-7-GlcU의 함량이 10.07 mg/g MeOH extract으로 계산되어 가장 높았으며 그 외 3종 화합물은 1.0 mg/g MeOH extract 이하로 확인되었다. 또, 4종 화합물이 CHCl₃ 분획과 EtOAc 분획에서는 매우 낮은 함량으로 나타났다. 이와 같이 BuOH 분획에는 대체로 매우 높은 함량이 관찰되나 다른 분획에는 매우 낮은 함량이었다. 특히 BuOH 분획 중 Lut-7-GlcU는 15.51 mg/g의 수준을 보여 가장 높게 나타났으며 linarin은 1.154 mg/g로서 그 다음의 농도로 확인되었다. 그러나 Luteolin-7-Glc와 luteolin은 1.0 mg/g 이하의 함량으로 확인되었다. 이러한 경향은 Fig. 3에 나타낸 HPLC chromatogram에서도 알 수 있다.

한편, Fig. 1에는 현재까지 알려진 luteolin 및 그 배당체 생합성과정과 예상되는 linarin의 생성과정을 보여주

Table 1. Calibration curves, detection limits and quantification limits of the analytes

Analyte	Retention time	Calibration equation (linear model) ^a	Linear range ($\mu\text{g/ml}$)	R^2 ^b	LOD ^c ($\mu\text{g/ml}$)	LOQ ^d ($\mu\text{g/ml}$)
Lut-7-Glc	16.39	$y = 200.820x + 40.731$	1.25-40.00	0.9999	0.34	1.13
Lut-7-GlcU	16.76	$y = 48.813x + 95.759$	1.72-55.00	0.9997	0.85	2.83
Linarin	24.46	$y = 304.289x + 79.017$	1.95-62.50	0.9999	0.23	0.76
Luteolin	24.86	$y = 399.217x + 164.851$	1.56-50.00	0.9999	0.25	0.83

^ay, peak area at 254 nm; x, concentration of the standard ($\mu\text{g/ml}$); ^b R^2 , correlation coefficient for 6 data points in the calibration curves (n=3); ^cLOD, limit of detection (S/N = 3); ^d LOQ, limit of quantification (S/N = 10).

Table 2. Content of analytes

Analyte	Content of analytes (mg/g)			
	MeOH extract	CHCl ₃ fraction	EtOAc fraction	BuOH fraction
Lut-7-Glc	0.819 (3.47)	0.228 (5.39)	0.089 (8.93)	0.969 (2.34)
Lut-7-GlcU	10.07 (2.58)	1.841 (4.56)	0.556 (5.60)	15.51 (1.79)
Linarin	0.774 (5.28)	0.199 (7.36)	0.057 (9.47)	1.154 (4.13)
Luteolin	0.952 (3.65)	0.073 (8.88)	0.060 (7.42)	0.743 (2.49)

Values in the parentheses are RSD (%) for n = 4.

고 있다(Bredebach *et al.*, 2011). 본 연구 중 4종 플라본 화합물 중 Lut-7-GlcU 농도가 가장 높았으므로 이 화합물 생성경로가 linarin 생성경로보다 우선할 것으로 예상된다. Luteolin에 UDP-glucuronide : luteolin 7-O-glucuronyltransferase의 작용에 의해 Lut-7-GlcU가 합성되고 UDP-glucose : luteolin 7-O-glucosyltransferase의 작용에 의해 Lut-7-Glc가 합성된다고 알려져 있다(Bowles *et al.*, 2005). 또, flavonoid 4'-O-methyltransferase 가 알려져 있으므로(Curir *et al.*, 2003) apigenin에 이 효소가 작용할 때 acacetin이 생성될 것으로 예측된다. 계속해서 rutinose의 부착을 위해 flavonoid 7-O-glucosyltransferase의 작용 및 계속적인 1,6-rhamnosyltransferase의 작용에 의해 linarin이 생성된다(Bowles *et al.*, 2005). 저자의 실험에 의하면 국화과 식물 중 linarin이 매우 높은 농도로 확인되는 종과 그것이 확인되지 않는 식물 종 등이 있었으나, 본 식물에서와 같이 linarin의 농도가 낮으며 Lut-7-GlcU의 농도가 높은 것은 그 생합성 경로가 acacetin 보다 luteolin 쪽으로 흐르고 있음을 보여주고 있는 것이다. 또, 4종 화합물 중 가장 많이 함유된 Lut-7-GlcU의 알려진 약리작용으로는 위장보호효과(Min *et al.*, 2006), 항돌연변이효과(Nagy *et al.*, 2009), 항우울효과(Vilela *et al.*, 2010) 등이 알려져 있다.

결 론

저자들이 국화과 식물의 플라보노이드 성분분석 연구 과정에서 뾰리뱅이(*Y. japonica*) 성분을 분석한 결과 luteolin, Lut-7-Glc, Lut-7-GlcU, linarin이 확인되며 그 중 Lut-7-GlcU가 10.07 mg/g MeOH extract 수준으로서 그 함량이 가장 높았다. 또, 이들 화합물은 CHCl₃ 분획과 EtOAc

분획 BuOH 분획 중 주로 BuOH 분획에 분포하는 것으로 확인되었다. 따라서, 뾰리뱅이는 4종 플라본 화합물 중 Lut-7-GlcU의 함량이 높으며, linarin이 낮은 함량으로 관찰되는 식물로 특성화할 수 있었다.

사 사

이 논문은 2011년도 상지대학교 교내연구비 지원에 의한 것임을 밝힙니다.

인용문헌

- Bowles, D., J. Isayenkova, E.K. Lim and B. Proppenberger. 2005. Glycosyltransferases: managers of small molecules. Cur. Opin. Plant Biol. 8:254-263.
- Bredebach, M., U. Matern and S. Martens. 2011. Three 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase activities of *Equisetum arvense* L. forming flavone and flavonol from (2S)-naringenin. Phytochemistry 72:557-563.
- Chen, W., Q. Liu, J. Wang, J. Zou, D. Meng, J. Zuo, X. Zhu and W. Zhao. 2006. New guaiiane, megastigmane and eudesmane-type sesquiterpenoids and anti-inflammatory constituents from *Youngia japonica*. Planta Med. 72:143-50.
- Curir, P., V. Lanzotti, M. Dolci, P. Dolci, C. Pasini and G. Tollin. 2003. Purification and properties of a new S-adenosyl-L-methionine: flavonoid 4'-O-methyltransferase from carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). Eur. J. Biochem. 270:3422-3431.
- Gulluce, M., M. Karadayi, Z. Guvenalp, H. Ozbek, T. Arasoglu and O. Baris. 2010. Isolation of some active compounds from *Origanum vulgare* L. ssp. *Vulgare* and determination of their genotoxic potentials. Food Chem. 130:248-253 (2010).
- Jang, D.S., T.J. Ha, S.U. Choi, S.G. Nam, K.H. Park, and M.S.

- Yang. Isolation of isoamberboin and isolipidiol from whole plants of *Youngia japonica* (L.) DC. 2000. Kor. J. Pharmacogn. 31:306-309.
- Kim, H.M., J.M. Lee, K.H. Lee, Y.H. Ahn, and S. Lee. 2011. Aldose reductase inhibition by luteolin derivatives from *Parasenecio pseudotaimingasa*. Nat. Prod. Sci. 17:367-371.
- Kim, M.R., M.R. Cha, Y.H. Choi, C.W. Choi, S.U. Choi, Y.S. Kim, Y.K. Kim, Y.H. Kim and S.Y. Ryu. 2010. Sesquiterpene glycosides from the whole plant extract of *Youngia japonica*. Kor. J. Pharmacogn. 41:103-107.
- Kim, T.J. 1996. Korean Resources Plants, Publishing Department of Seoul National University, Seoul, Korea. pp. 321-323.
- Lee, W.B., H.C. Kwon, J.H. Yi, S.U. Choi and K.R. Lee. 2002. A new cytotoxic triterpene hydroperoxide from the aerial part of *Youngia japonica*. Yakhak Hoeji 46:1-5.
- Min, Y.S., K.L. Bai, S.H. Yim, Y.J. Lee, H.J. Song, J.H. Kim, I.H. Ham, W.K. Whang and U.D. Sohn. 2006. The effect of luteolin 7-O- β -D-glucuronopyranoside on gastritis and esophagitis in rats. Arch. Pharm. Res. 29:484-489.
- Nagy, M., Z., Krizkova, F. Sersen and J. Krajcovic. 2009. Antimutagenic activity and radical scavenging activity of water infusions and phenolics from ligustrum plants leaves. Molecules 14:509-518.
- Nazaruk, J. and J. Gudej. 2003. Flavonoid compounds from the flowers of *Cirsium rivulare*. Acta Pol. Pharm. 60:87-89.
- Ooi, L.S., Wang, H., He, Z. and Ooi, V.E. 2006. Antiviral activities of purified compounds from *Youngia japonica* (L.) DC (Asteraceae, Compositae). J. Ethnopharmacol. 106:187-91.
- Park, H.J. 2010. Chemistry and pharmacological action of caffeoylequinic acid derivatives and pharmaceutical utilization of chwinamul (Korean Mountainous vegetable). Arch. Pharm. Res. 33:1703-1720.
- Shin, K.H., S.S. Kang, E.A. Seo and S.W. Shin. 1995. Isolation of aldose reductase inhibitors from the flowers of *Chrysanthemum boreale*. Arch. Pharm. Res. 18:65-68.
- Vilela, F.C., M. Padilha-Mde, G. Alves-da-Silva, R. Soncini and A. Giusti-Paiva. 2010. Antidepressant-like activity of *Sonchus oleraceus* in mouse models of immobility tests. J. Med. Food 13:219-222.
- Yae, E., S. Yahara, M. El-Asasr, T. Ikeda, H. Yoshimitsu, C. Masuoka, M. Ono, I. Hide, Y. Nakata, T. Nohara. 2009. Studies on the constituents of whole plants of *Youngia japonica*. Chem. Pharm. Bull. 57:719-723.

(Received 18 August 2012 ; Revised 29 October 2012 ; Accepted 29 October 2012)