

以超高效能液相層析法快速同時定量分析白芷 7 種 香豆素成分及美白活性之評估

羅淑卿^{1,*}

摘要

羅淑卿。2017。以超高效能液相層析法快速同時定量分析白芷 7 種香豆素成分及美白活性之評估。台灣農業研究 66(2):105–112。

本研究建立同時分析 7 種香豆素的快速方法，並探討白芷栽種時期各部位之香豆素含量變化和抑制酪胺酸酶活性。超高效能液相層析儀 (UPLC) 使用管柱為 ethylene bridged hybrid (BEH) C₁₈，在酸化水 (pH 3.0) 沖提下，改變氘甲烷 (acetonitrile) 濃度由 15% 至 95% 使成梯度沖提，可在 12 min 之內，同時有效率的分離並定量香豆素的含量。分析結果顯示，呋喃香豆素，包括 psoralen、xanthotoxin、bergapten 及 8-hydroxybergapten 等成分皆可在種植 9 mo 的白芷根部檢測其含量，其中 8-hydroxybergapten 含量皆高過其他呋喃香豆素 10 餘倍。種植 3 mo 及 6 mo 之白芷莖部抑制酪胺酸酶能力為最佳。高抑制酪胺酸酶之白芷莖部香豆素，未來可進行萃取並應用於化妝品工業。

關鍵詞：白芷美白、香豆素、超高壓液相層析儀。

前言

香豆素被認為是一種植物防禦素 (phytoalexins)，屬植物之防禦物質，亦為植物二級代謝產物，廣泛存於吾人日常飲食中，甚至每天會吃下幾毫克。香豆素普遍存在於雙子葉植物，如繖形花科 (Apiaceae)、菊科 (Asteraceae)、豆科 (Fabaceae)、桑科 (Moraceae)、薔薇科 (Rosaceae)、茜草科 (Rubiaceae)、芸香科 (Rutaceae) 等 (El-Gendy *et al.* 2008)。此些植物如芹菜和香菜，被人類當作香料或蔬菜食用。香豆素具光敏性，在醫學上使用它治療肌膚白斑及乾癬 (psoriasis)，稱為光化學療法 PUVA (psoralen and ultraviolet A)。

白芷為國人使用歷史悠久之中藥材，具美白肌膚的功效。香豆素被認為是白芷主要藥性成分 (Liu *et al.* 2004)。學者指出存在白芷根的多種香豆素，可治療細菌內毒素誘發的炎症 (Kanga *et al.* 2007)、頭痛和普通感冒 (Thanh

et al. 2004) 及製成抗癌藥 (Choi *et al.* 2005)。

追求白晰的皮膚，為部分黃種膚色人們之希望。而天然來源的美白劑 (lightening agents) 被認為是較安全而無副作用，因此以天然資源為素材之美容保健用品逐漸成為產業趨勢，極具開發潛力 (Kubo *et al.* 1995; Parvez *et al.* 2006)。學者 Piao *et al.* (2004) 指出白芷之美白成分為 8-hydroxybergapten，可抑制酪胺酸酶活性，美白效能強過坊間常用美白藥劑麴酸約 6 倍。過去白芷只取根部作藥，其他部位以農業廢棄物處置，因此少有資料針對未使用之莖葉部位檢測其藥性成分含量及美白能力。

本研究將建立白芷中較常見香豆素之快速分析方法，並進行不同生長時期各部位之香豆素含量變化及抑制酪胺酸酶活性之評估，研究結果將有助於白芷有效成分含量分析方法之建

投稿日期：2016 年 5 月 11 日；接受日期：2016 年 7 月 15 日。

* 通訊作者：shuchin@tari.gov.tw

¹ 農委會農業試驗所農業化學組助理研究員。台灣 台中市。

立、植株選用栽培方法及決定採收時期之重要參考依據。另可開發莖、葉部位之加值利用，期望可提升傳統醫藥產業之應用性。

材料與方法

白芷活性成分之萃取與檢測

由行政院農業委員會農業試驗所農場採集栽種的新鮮白芷 (*Angelica dahurica*)，經 60°C 烘乾後磨粉。秤取 1 g 白芷粉末加入 5 mL 乙酸乙酯，以超音波震盪 30 min 後，以 5,000× g 離心 10 min，吸上清液到新試管。殘渣再次加入乙酸乙酯萃取，重複上述步驟 2 次後，收集所有上清液。經過濾後，所得濾液於 70°C 下進行減壓濃縮去除有機溶劑，再以甲醇回溶定量至 1 mL，以 0.22 μm 過濾膜過濾，分別進行 UPLC 香豆素含量檢測或抑制酪胺酸酶能力測試。標準品購自 Sigma-Aldrich 公司。

UPLC 香豆素含量檢測

香豆素含量分析利用超高效能液相層析儀，機型為 Waters ACQUITY™ UPLC system (Waters Crop, Milford, MA, USA)，分析管柱為 BEH C₁₈ column (reverse-phase chromatographic column、150 mm × 2.1 mm, I.D. 1.7 μm)、檢出器為光電二極體陣列 eλ 偵測器 (Photodiode Array Detector; PDA)，檢測波長 270 nm，管柱溫度 40°C，採梯度流洗 (gradient elution)。在 0 min 時，移動相為酸化水 (pH 3.0)：氘甲烷 = 85：15 (v/v)，5 min 時移動相為酸化水 (pH 3.0)：氘甲烷 = 60：40 (v/v)，10 min 時移動相為酸化水 (pH 3.0)：氘甲烷 = 70：30 (v/v)，11 min 時移動相為酸化水 (pH 3.0)：氘甲烷 = 5：95 (v/v)，12 min 時移動相為酸化水 (pH 3.0)：氘甲烷 = 85：15 (v/v)，流速皆為 0.25 mL min⁻¹，樣品注射量 5 μL。酸化水之配製以甲酸滴定去離子水至 pH 3.0，再以 0.22 μm (47 mm, FP-200™ Pall Corporation) 膜過濾備用。所有供試樣本和標準品在檢測前，皆以 0.22 μm 過濾膜濾去除雜質。本試驗使用之標準品皆以 100% 甲醇溶解後，再稀釋成適當量以繪製標準檢量線。

白芷乙酸乙酯萃取液對酪胺酸酶活性抑制能力之檢測

美白能力檢測以 Tyrosinase Assay 之方法，參照 Piao *et al.* (2004) 方法稍加修改。溶於甲醇之白芷乙酸乙酯萃取物，以甲醇進行連續稀釋 (0–0.4 g mL⁻¹)，再於 80°C 水浴蒸乾。加入 10 μL DMSO 溶解後，再加入 190 μL 的去離子水使成 5% DMSO 溶液，混勻後，以 10,000× g 離心 3 min。取上清液 40 μL，加入 0.3 mg mL⁻¹ tyrosine (溶於 1/15 M phosphate buffer, pH 6.8) 120 μL，混合均勻後，再加 40 μL tyrosinase solution (87.5 units mL⁻¹)，測 475 nm 吸光值。再於 37°C 反應 30 min，測吸光值。以 5% DMSO 取代檢液當空白組，同上述方法測吸光值，所得數值以下方程式計算酪胺酸酶之抑制能力：

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(A - B) - (C - D) \times 100}{A - B}$$

- A：37°C 反應後 blank 吸光值
- B：37°C 反應前 blank 吸光值
- C：37°C 反應後樣品吸光值
- D：37°C 反應前樣品吸光值

結果

UPLC 分析條件之確立

白芷根含有多種香豆素成分，為了同時清楚分析出 7 種香豆素化合物，預先以香豆素標準品建立 UPLC 最適分析條件。7 種香豆素標準品配製為 0.625–825 μg mL⁻¹ 之濃度，利用氘甲烷及酸化去離子水為移動相，以梯度沖提方式可同時分析及定量單環 (cinnamic acid、*p*-cinnamic acid)、雙環 (umbelliferone) 及三環 (psoralen、xanthotoxin、bergapten 及 8-hydroxybergapten) 之香豆素 (圖 1)。沖提出順序及滯留時間分別為 *p*-cinnamic acid, 3.52 min；umbelliferone, 3.93 min；8-hydroxybergapten, 5.71 min；cinnamic acid, 6.34 min；psoralen, 6.78 min；xanthotoxin, 7.14 min；bergapten, 8.30 min (表 1)。每一香豆素標準品皆可建立良好之線性關係 ($R^2 > 0.99$) (圖 2)。

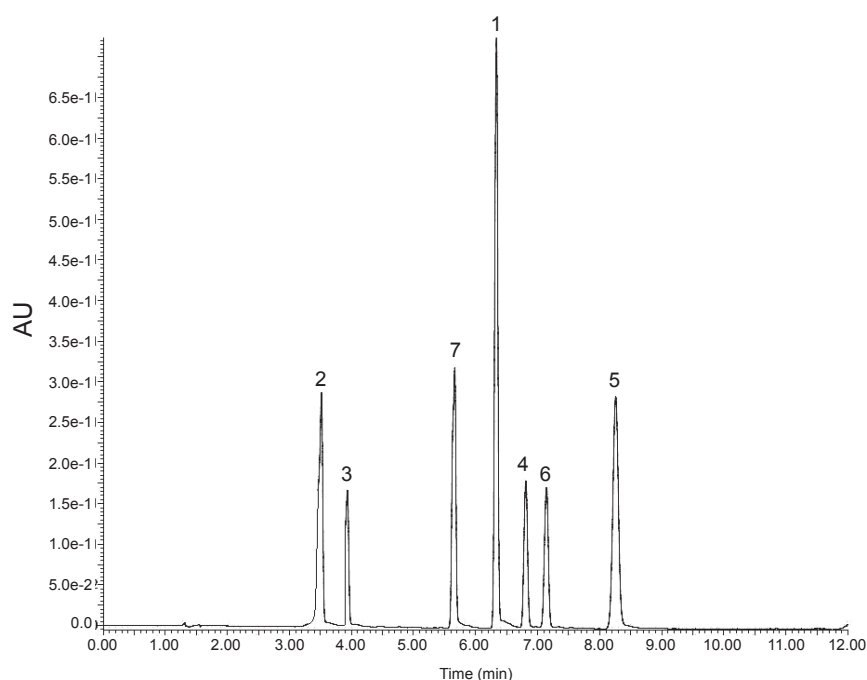


圖 1. 七種香豆素標準品之高效能液相層析圖 (UPLC)。1: cinnamic acid; 2: *p*-cinnamic acid; 3: umbelliferon; 4: porsalen; 5: bergapten; 6: xanthotoxin; 7: 8-hydroxybergapten。

Fig. 1. The chromatograms of ultra performance liquid chromatography (UPLC) of seven authentic coumarins. 1: cinnamic acid; 2: *p*-cinnamic acid; 3: umbelliferon; 4: porsalen; 5: bergapten; 6: xanthotoxin; and 7: 8-hydroxybergapten.

表 1. 香豆素迴歸方程式、相關係數及滯留時間之再現性。

Table 1. The reproducibility of regression equation, coefficient of determination and retention time of coumarins.

Item	Regression equation	Coefficient of determination (R^2)	Retention time (min)	Concentration ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Cinnamic acid	$y = 81063x + 3689.5$	0.9925	6.34	26–413
<i>p</i> -Coumaric acid	$y = 941.61x - 140.9$	0.9999	3.52	28.75–230
Umbelliferon	$y = 11565x + 795.66$	0.9971	3.93	71.5–825
Porsalen	$y = 777393x + 342.27$	0.9997	6.78	0.625–50
Bergapten	$y = 63119x + 665.23$	0.9997	8.30	37.5–600
Xanthotoxin	$y = 78291x + 158.44$	0.9998	7.14	31.1–337.5
8-Hydroxybergapten	$y = 3970.3x + 1458.9$	0.9993	5.71	7.8–125

於香豆素標準曲線之線性範圍內，進行同日間 (intra-day) 及異日間 (inter-day) 試驗。配製的標準溶液於不同的 6 d 重覆注射 6 次，每次注射 5 μL ，將所得之數據 (retention time 及 peak area) 計算標準偏差 (standard deviation) 與變異係數 (coefficient of variation) (表 1)。7 種香豆素 Intra-day 之滯留時間變異係數 (% CV) 介於 0.5–0.7，而 Inter-day 之滯留

時間變異係數介於 0.8–1.9 間，顯示其精確度 (precision) 良好。

白芷不同採收時期各部位之香豆素含量

取白芷不同採收時期 (3、6、9 mo) 各部位 (根、莖、葉) 之乙酸乙酯萃取物，以上述所建立之分析條件探討不同採收時期各部位之香豆素含量。以開發之方法分析白芷萃取物

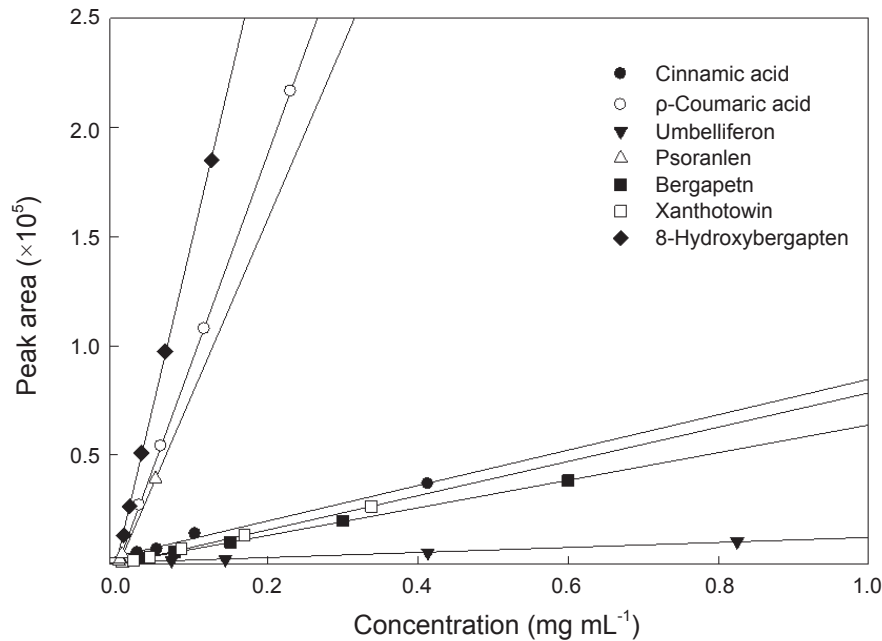


圖 2. 七種香豆素標準品之檢量線。

Fig. 2. Linearity of responses of seven authentic coumarin standards.

時，可在 12 min 內完成。除了 cinnamic acid、cinnamic acid 和 umbelliferone 未能於各生長時期的各部位檢出外，其餘 4 種香豆素 psoralen、xanthotoxin、bergapten 和 8-hydroxybergapten 皆可於白芷植株中檢出。Xanthotoxin、bergapten、8-hydroxybergapten 於多數樣本皆可被大量偵測到，而 psoralen 只能在 9 月採收時期之根部微量 ($6 \mu\text{g g}^{-1}$) 偵測到 (圖未顯示)。Xanthotoxin 含量以 3 mo 採收期之葉部為最高，達 1.8 mg g^{-1} ，之後隨生長時間增加而下降，根、莖的含量很少。Bergapten 含量以 9 mo 採收期之根部含量最高，達 3.1 mg g^{-1} 。8-hydroxybergapten 含量皆遠高過 bergapten、xanthotoxin 10 餘倍，其中以種植 3 mo 之莖含量最高，達 33 mg g^{-1} (圖 3)。

白芷不同採收時期各部位抑制酪胺酸酶能力

取白芷不同採收時期 (3、6、9 mo) 各部位 (根、莖、葉) 之乙酸乙酯萃取物，進行抑制酪胺酸酶活性分析試驗。結果顯示，種植 3

及 6 mo 的白芷根及莖部，其抑制酪胺酸酶能力較種植 9 mo 者為佳 (圖 4)。葉部各時期有均等之抑制酪胺酸酶能力。整體而言，以種植 3 mo 及 6 mo 的白芷莖抑制酪胺酸酶能力最佳，其抑制效果達 50% 的濃度 (IC_{50}) 為 8.7 mg mL^{-1} 。種植 9 mo 之白芷莖及全時期之葉，其 IC_{50} 約為 150 mg mL^{-1} 。種植 9 mo 之根部抑制酪胺酸酶的能力最差，在檢測濃度範圍 400 mg mL^{-1} 內皆無法達 50% 之抑制效果。

討論

本研究成功利用 UPLC 在 12 min 內，完成 7 種結構相近之白芷香豆素之分離及定量。此法改良 Lo *et al.* (2012) 所用方法，以梯度沖提方式來分析香豆素，更具分離單環及雙環之香豆素，如 coumaric acid、psoralen 的效果。本法分析速度快，成本低，產生廢液少，優於目前利用 HPLC 同時分析多種香豆素的方法 (Xie *et al.* 2010; Zheng *et al.* 2010)。本法雖可增快流速，進一步縮短分析時間 (Wu *et al.* 2015)，但因作物萃取物中，非香豆素的它種

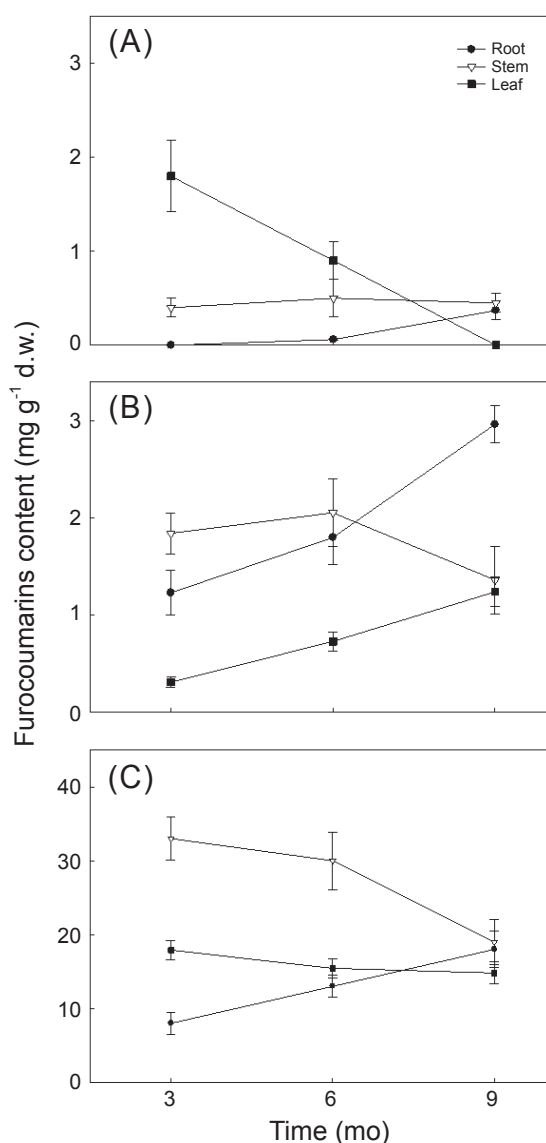


圖 3. 白芷不同生長時期及不同部位之呋喃香豆素含量。(A) Xanthotoxin; (B) Bergapten; (C) 8-Hydroxybergapten. Error bars 係標準差。

Fig. 3. The furocoumarin contents at different developmental stages and different organs in Bai Zhi. (A) Xanthotoxin; (B) Bergapten; and (C) 8-Hydroxybergapten. The error bars represent SD.

成分仍多，為確保只用液相層析儀，即可單離或準確定量本研究的標的香豆素，仍將流速設定為 0.25 mL min⁻¹。本法最後被沖提出的 bergapten 滯留時間為 8.30 min，仍將分析時程延長至 12 min，並於 10–11 min 間，將氬甲烷濃

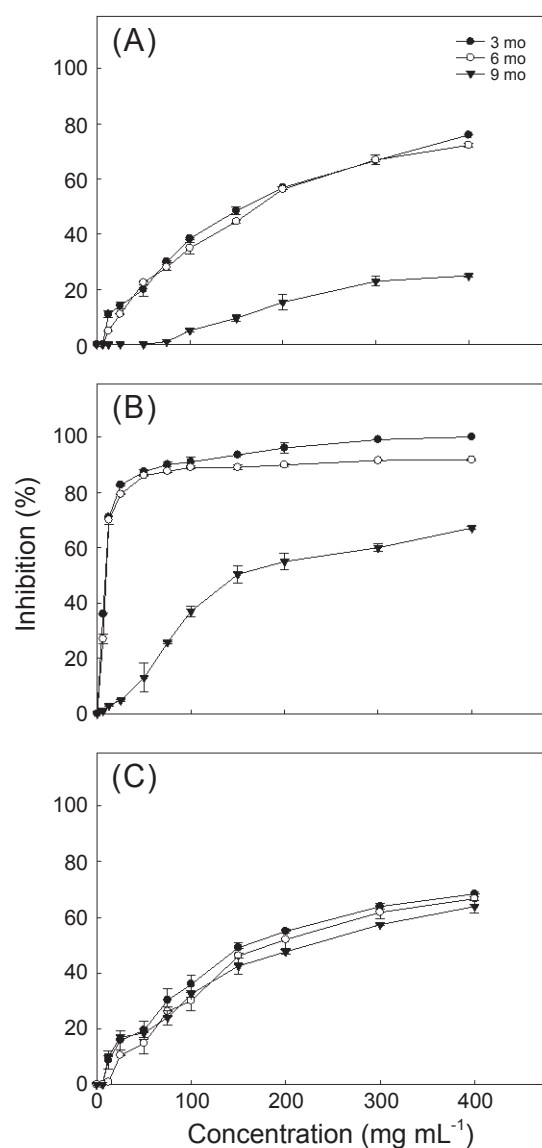


圖 4. 白芷根 (A)、莖 (B)、葉 (C) 不同生長時期對酪胺酸酶抑制率。Error bars 係標準差。

Fig. 4. Dose-dependent inhibitory effects on mushroom tyrosinase by ethyl acetate extract of root (A), stem (B), and leaf (C) at different developmental stages of Bai Zhi. The error bars represent SD.

度提高，避免萃取物雜物殘留於管柱中，以利下一個樣本分析。

單環 coumaric acid、cinnamic acid 及雙環之 umbelliferone 未能於只種植 3 mo 的白芷中檢測得，由香豆素合成之代謝路徑可見，此些

成分為代謝路徑較初始之產物。而代謝路徑越末端之呔喃香豆素，包括 psoralen、xanthotoxin、bergapten、8-hydroxybergapten 等含量於越成熟的植株中越高，推測植株中香豆素的累積可能以三環以上為主。香豆素的種類與含量在白芷的每一部位非等量，依文獻指出二級代謝物之分布與累積量差異受外在因素，如種植環境、病蟲害等影響，或內在因素如物種間之差異、植物之生理特性等而影響 (Diawara *et al.* 1995)，因此如此分布不均勻的現象在多種植物皆同。

曾有學者研究芹菜 (*Apium graveolens* L.) 香豆素之分布，發現香豆素含量以成熟之老葉大於根部，和本研究結果不同 (Diawara *et al.* 1995)。白芷根部的 bergapten 量為全株最高，但葉部 bergapten 確實亦隨栽種時間拉長而增加。白芷各部位 bergapten 含量和雪珠花有相似結果 (Ekiert & Gomólka 2000)，學者指出植物之呔喃香豆素功能為保護植物組織，避免被 UV 光傷害並累積於植物體表 (Tietjen *et al.* 1983)。香豆素於各部位生成，但最終會由地上部轉移至植物之貯存器官根部作累積並儲存。芹菜、白芷及雪珠花如此含量差異應歸因於物種之不同，而白芷和雪珠花在分類上同為繖形花科，具有較高之親緣性。

白芷莖部抑制酪胺酸酶能力大過於根部，8-hydroxybergapten 含量亦以莖部最高，顯示美白能力大過於根部，可應用於醫藥美容業。除 8-hydroxybergapten 外，文獻指出許多種類之香豆素，如 scopoletin、esculetin 等 22 種香豆素亦有美白效果 (Masamoto *et al.* 2004)。此外，香豆素 8'-epicleomiscosin 及許多甲氧基取代 (methoxy substitution) 之香豆素如 2-methoxycinnamic acid、3-methoxycinnamic acid 及 4-methoxycinnamic acid 亦有美白能力 (Ahmad *et al.* 2004)，此些物質是否存在白芷莖中，亦對白芷莖美白能力有所貢獻，需進一步分析。而種植 3 mo 之根部抑制酪胺酸酶能力大過於 9 mo，但和 8-hydroxybergapten 含量呈現相反關係。學者指出立體結構與官能基對香豆素之美白能力相當重要，香豆素若受糖基化，抑制酪胺酸酶能力將大幅降低 (Ahmad

et al. 2004; Masamoto *et al.* 2004)。白芷種植 9 mo 之根部香豆素分子是否受糖基化，才致使美白能力為最低的，需進一步探討。除了香豆素衍生物外，其他如多酚類、flavonoids 亦具酪胺酸酶抑制活性，此些物質通常累積於植株地上部以防止 UV 傷害植株，且廣泛存在於植物體中。因此研判，莖部強大的抑制酪胺酸酶能力，除 8-hydroxybergapten 外，應該還有其他香豆素及防 UV 物質所貢獻。

白芷美白機制和廣泛應用於醫學美容業之麴酸相同，為非競爭性抑制酪胺酸酶。雖然本研究白芷莖部萃取物美白能力不及麴酸 ($IC_{50} = 12.8 \mu\text{g mL}^{-1}$)，但透過進一步的純化萃取技術可以克服此缺點 (Piao *et al.* 2004)。以 UPLC 分析白芷各器官之香豆素含量時，發現莖或葉的 UPLC 圖譜相較於根部少波峰，顯示兩部位組成分單純，且質地無粉質，若要進行有效成分萃取，較根部容易。另外，許多昆蟲 (如果蠅) 在成蟲時，骨骼硬化過程亦需酪胺酸酶，白芷莖對酪胺酸酶高效抑制能力未來也可用於農業上之蟲害防治 (Kubo *et al.* 2003)。

開發快速、簡易且一次即可同時定量多種藥性成分之分析方法，可快速掌控進口原料及出廠成品的品質。追蹤中草藥種植期間重要成分之變化亦可當作農藝專家改進栽培技術之改進參考。

本研究以氙甲烷混合酸化去離子水為移動相之梯度沖提方式，可同時分析和定量單環、雙環及三環等 7 種香豆素化合物，利用此分析方法確認 4 種香豆素 psoralen、xanthotoxin、bergapten、8-hydroxybergapten 皆可於白芷根部中發現。白芷地上部莖及葉以往皆視為農業廢棄物，其高效之抑制酪胺酸酶能力，未來可加值利用。透過萃取技術去蕪存菁，純化的美白成分可成為醫學美容產品之原料並作多項應用。

誌謝

本研究報告承行政院農業委員會農業試驗所李雅琳博士協助校稿得以完成本文，特申謝忱。

引用文獻

- Ahmad, V. U., F. Ullah, J. Hussain, U. Farooq, M. Zubair, M. T. Khan, and M. I. Choudhary. 2004. Tyrosinase inhibitors from *Rhododendron collettianum* and their structure-activity relationship (SAR) studies. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 52:1458–1461.
- Choi, S. Y., E. M. Ahn, M. C. Song, D. W. Kim, J. H. Kang, O. S. Kwon, T. C. Kang, and N. I. Baek. 2005. *In vitro* GABA-transaminase inhibitory compounds from the root of *Angelica dahurica*. *Phytother. Res.* 19:839–845.
- Diawara, M. M., J. T. Trumble, F. C. Quiros, and R. Hansen. 1995. Implications of distribution of linear furanocoumarins within celery. *J. Agric. Food Chem.* 43:723–727.
- Ekiert, H. and E. Gomólka. 2000. Coumarin compounds in *Ammi majus* L. callus cultures. *Pharmazie* 55:684–687.
- El-Gendy, M. M., M. Shaaban, A. M. El-Bondkly, and K. A. Shaaban. 2008. Bioactive benzopyrone derivatives from new recombinant fusant of marine streptomycetes. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 150:85–96.
- Kanga, O. H., G. H. Lee, H. J. Choi, P. S. Park, H. S. Chae, S. I. Jeong, Y. C. Kim, D. H. Sohn, H. Park, J. H. Lee, and D. Y. Kwon. 2007. Ethyl acetate extract from *Angelicae Dahuricae Radix* inhibits lipopolysaccharide-induced production of nitric oxide, prostaglandin E2 and tumor necrosis factor- α via mitogen-activated protein kinases and nuclear factor- κ B in macrophages. *Pharmacol. Res.* 55:263–270.
- Kubo, I., I. Kinst-Hori, K. Nihei, F. Soria, M. Takasaki, J. S. Calderón, and C. L. Céspedes. 2003. Tyrosinase inhibitors from galls of *Rhus javanica* leaves and their effects on insects. *Z. Naturforsch. C.* 58C:719–725.
- Kubo, I., Y. Yokokawa, and I. Kinst-Hori. 1995. Tyrosinase inhibitors from Bolivian medicinal plants. *J. Nat. Prod.* 58:739–743.
- Liu, R., A. Li, and A. Sun. 2004. Preparative isolation and purification of coumarins from *Angelica dahurica* (*Fisch. ex Hoffm*) *Benth, et Hook. f* (Chinese traditional medicinal herb) by high-speed counter-current chromatography. *J. Chromatogr. A.* 1052:223–227.
- Lo, S. C., P. E. Chung, and C. S. Wang. 2012. Molecular cloning and functional analysis of bergaptol-O-methyltransferase from *Angelica dahurica* (Bai Zhi) and using it to efficiently produce bergapten in *E. coli*. *Bot. Stud.* 53:197–206.
- Masamoto, Y., Y. Murata, K. Baba, Y. Shimoishi, M. Tada, and K. Takahata. 2004. Inhibitory effects of esculetin on melanin biosynthesis. *Biol. Pharm. Bull.* 27:422–425.
- Parvez, S., M. Kang, H. S. Chung, C. Cho, M. C. Hong, M. K. Shin, and H. Bae. 2006. Survey and mechanism of skin depigmenting and lightening agents. *Phytother. Res.* 20:921–934.
- Piao, X. L., S. H. Baek, M. K. Park, and J. H. Park. 2004. Tyrosinase-inhibitory furanocoumarin from *Angelica dahurica*. *Biol. Pharm. Bull.* 27:1144–1146.
- Thanh, P. N., W. T. Jin, G. Song, K. Bae, and S. S. Kang. 2004. Cytotoxic coumarins from the root of *Angelica dahurica*. *Arch. Pharm. Res.* 27:1211–1215.
- Tietjen, K. G., D. Hunkler, and U. Matern. 1983. Differential response of cultured parsley cells to elicitors from two non-pathogenic strains of fungi. 1. Identification of induced products as coumarin derivatives. *Eur. J. Biochem.* 131:401–407.
- Wu, Y., F. Wang, Y. Ai, W. Ma, Q. Bian, D. Y. W. Lee, and R. Dai. 2015. Simultaneous determination of seven coumarins by UPLC-MS/MS: Application to a comparative pharmacokinetic study in normal and arthritic rats after oral administration of Huo Luo Xiao Ling Dan or single-herb extract. *J. Chromatogr. B.* 991:108–117.
- Xie, Y., W. Zhao, T. Zhou, G. Fan, and Y. Wu. 2010. An efficient strategy based on MAE, HPLC-DAD-ESI-MS/MS and 2D-prep-HPLC-DAD for the rapid extraction, separation, identification and purification of five active coumarin components from *Radix Angelicae Dahuricae*. *Phytochem. Anal.* 21:473–482.
- Zheng, X., X. Zhang, X. Sheng, Z. Yuan, W. Yang, Q. Wang, and L. Zhang. 2010. Simultaneous characterization and quantitation of 11 coumarins in *Radix Angelicae Dahuricae* by high performance liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 51:599–605.

Simultaneous Quantification of Seven Coumarins in *Angelica dahurica* (Bai Zhi) Using Ultra Performance Liquid Chromatography and Its Whitening Efficiency Assessment

Shu-Chin Lo^{1,*}

Abstract

Lo, S. C. 2017. Simultaneous quantification of seven coumarins in *Angelica dahurica* (Bai Zhi) using ultra performance liquid chromatography and its whitening efficiency assessment. *J. Taiwan Agric. Res.* 66(2):105–112.

An improved ultra performance liquid chromatography method was developed to simultaneously quantify seven coumarins isolated from various organs of Bai Zhi [*Angelica dahurica* (Fish.) BENTH. *et* HOOK]. An efficient separation and quantification of coumarin can be established within 12 min using ethylene bridged hybrid (BEH) C₁₈ column and a gradient elution system with a acetonitrile concentrations varying from 15 to 95% (v/v) in acidic water (pH 3.0) elution. The furanocoumarins such as psoralen, xanthotoxin, bergapten, and 8-hydroxybergapten were detected in 9 month-old Bai Zhi roots, in which the content of 8-hydroxybergapten was 10-fold higher than other coumarins. Nevertheless, stems from 3 and 6 month-old Bai Zhi exhibited the highest inhibitory ability on tyrosinase activity. In the future, coumarins extracted from the stems of Bai Zhi with high inhibitory effect on tyrosinase could be further used in the cosmetic industry.

Key words: *Angelica dahurica* whitening efficiency, Coumarins, Ultra-performance liquid chromatography.

Received: May 11, 2016; Accepted: July 15, 2016.

* Corresponding author, e-mail: shuchin@tari.gov.tw

¹ Assistant Research Fellow, Agricultural Chemistry Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.