

## 고량강 추출물로부터 분리된 Flavonoid 화합물의 혈압강하 효과

김혜진 · 유미영 · 김현기 · 이병호 · 오광석 · 서호원 · 연규환

Odontuya Gendaram<sup>2</sup> · 권대영<sup>1</sup> · 김영섭 · 유시용\*

한국화학연구원, <sup>1</sup>한국식품연구원

<sup>2</sup>Institute of Chemistry and Chemical Technology, Mongolian Academy of Sciences, Ulaanbaatar, Mongolia

## Vasorelaxation Effect of the Flavonoids from the Rhizome Extract of *Alpinia officinarum* on Isolated Rat Thoracic Aorta

Hye Jin Kim, Mi Young Yoo, Hyun Ki Kim, Byung Ho Lee, Kwang-Suk Oh, Ho Won Seo, Gyu Hwan Yon, Odontuya Gendaram<sup>2</sup>, Dae Young Kwon<sup>1</sup>, Young Sup Kim and Shi Yong Ryu\*

Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-606, Korea

<sup>1</sup>Korea Food Research Institute, Gyeonggi-do 463-746, Korea

<sup>2</sup>Institute of Chemistry and Chemical Technology, Mongolian Academy of Sciences, Ulaanbaatar, Mongolia

**Abstract** – The vascular relaxant effects of *Alpinia officinarum* (Zingiberaceae) were evaluated on isolated thoracic aorta from rats. The methanolic extract of the rhizome of *Alpinia officinarum* caused a concentration-dependent relaxation of rat aortic preparations precontracted with 0.3  $\mu$ M phenylephrine. The intensive investigation of the extract by way of activity-guided fractionation led us to yield three kind of active components, galangin (1), kaempferide (2) and kaempferol (3), which were responsible for the vasodilating property of the extract. Structures of the isolated active components were established by chemical and spectroscopic means.

**Key words** – *Alpinia officinarum*, Zingiberaceae, vascular relaxant, flavonoid

고량강 (高良薑, *Alpinia officinarum* Hance)은 생薑과 (Zingiberaceae)에 속하는 다년생초본의 뿌리줄기로서, 예로부터 방향성건위, 진통, 진토약으로서 소화불량, 구토, 복통, 하리에 널리 응용하고 있는 생약재이다.<sup>1)</sup> 주요 성분으로는 1,8-cineol, methyl cinnamate,  $\alpha$ -cadinene 등의 정유성분이 잘 알려져 있으며, 신미성분으로 galangol, flavonoid성분으로 galangin, kaempferide, alpinin 등을 함유하고 있다.<sup>2)</sup> 한편, 고량강의 약리활성에 대한 연구로는 pancreatic lipase의 억제 작용,<sup>3)</sup> 지방산 합성 억제작용,<sup>4)</sup> 항산화 효과,<sup>5)</sup> 활성산소종 유도 세포독성과 DNA손상에 대한 방어효과,<sup>6)</sup> cyclooxygenase-2 (COX-2) 저해작용,<sup>7)</sup> prostaglandin 생합성 저해 효과<sup>8,9)</sup> 및 항염증 작용<sup>10)</sup> 등이 보고 되어 있다. 본 저자 등은 고량강을 비롯한 400여 종의 생약 추출물에 대하여 각각 흰쥐의 적출혈관을 사용하여 혈관 평활근 이완 효과를 검색하여 본 결과, 고량강의 MeOH 추출물이 농도 의

존적으로 양호한 혈관 평활근 이완 효과를 보여주고 있음을 알 수 있었다. 또, 고량강의 MeOH 추출물을 통상적인 분획방법에 따라 용매분획을 실시하여 얻어진 용매분획들에 대하여 동일한 방법으로 혈관 평활근 이완 효과를 측정하여본 결과 EtOAc 분획이 가장 유의성있는 활성을 나타내고 있음을 알 수 있었다. 이 EtOAc 분획을 silica gel chromatography를 반복하여 정제한 결과 최종적으로 혈관 평활근 이완 효과를 나타내는 3종의 활성성분을 분리하였으며, 본 보에서는 이들 활성성분의 화학구조 및 각 화합물들의 혈관 평활근 이완 효과를 보고하고자 한다.

### 실험 방법

**실험재료** – 본 실험에 사용된 고량강은 2005년 3월 대전광역시 소재 한약재시장에서 구입하여 실험에 사용하였으며 voucher specimen은 한국화학연구원에 보관되어 있다.

**기기 및 시약** – 본 연구에 사용된 시약은 모두 특급(GR)

\*교신저자(E-mail) : syryu@krcit.re.kr  
(FAX) : 042-860-7160

및 1급(EP) 시약을 사용하였으며, 용점은 Haakebuchler 미량용점 측정기를 이용하여 측정하였으며 측정치는 따로 보정하지 아니하였다. Low resolution MS (70 eV)는 JEOL사의 JMS-DX 303 mass spectrometer, proton 및 carbon NMR spectra는 Brucker의 AM-300 및 AMX-500을 이용하여 측정하였다. Column chromatography는 silica gel (70-230 mesh, Merck)를 사용하였고, TLC는 Kiesel gel 60 F<sub>254</sub> (0.5 mm, Merck)을 사용하였다. 발색 시약은 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>을 사용하였으며 UV는 254 nm, 356 nm에서 확인하였다.

**추출 및 분리** - 잘 건조된 곶감 12 kg을 methanol에 7일간 냉침시켰다. 추출액을 감압 농축하여 MeOH extract 980 g을 얻었으며 이를 H<sub>2</sub>O에 현탁시킨 후 dichloromethane (DM)과 ethylacetate (EtOAc) 및 *n*-butanol (BuOH)로 단계적으로 용매분획하여 DM 분획 567 g, EtOAc 분획 62 g 및 BuOH 분획 116 g을 얻었다.

**화합물의 분리** - EtOAc 분획 40 g을 silica gel column chromatography (*n*-hexane : EtOAc = 10 : 1, 7 : 1, 5 : 1, 2 : 1, 1 : 1)를 실시하여 Fr. 1 (5.7 g), Fr. 2 (2.5 g), Fr. 3 (22 g) 및 Fr. 4 (3 g) 등 총 4개의 분획으로 나누었다. 이 중 Fr. 1을 MeOH에 녹여 방치한 결과 형광을 보이는 미황색 분말 1.8 g이 석출되었다 (화합물 1). 화합물 1을 여과하고 남은 모액을 silica gel column chromatography (*n*-hexane : EtOAc = 10 : 1, 5 : 1, 2 : 1)를 반복 실시한 결과 미황색 분말 137 mg을 얻었다 (화합물 2). Fr. 2를 silica gel column chromatography (*n*-hexane : EtOAc = 4 : 1, 2 : 1, 1 : 1)를 실시하여 Fr. 2-1 (0.11 g), Fr. 2-2 (0.07 g), Fr. 2-3 (0.25 g), Fr. 2-4 (0.62 g) 및 Fr. 2-5 (1.15 g)으로 나누었으며 Fr. 2-4에서 노란색 분말 18 mg을 얻었다 (화합물 3).

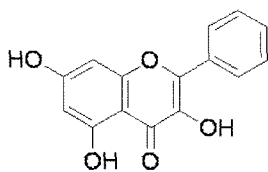
**Compound 1** - yellow green powder ; mp 214-215°C EI-MS *m/z* : 270 [M]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) : δ 12.38 (1H, s, 5-OH), δ 8.19 (2H, dd, *J*=1.7, 9.7 Hz, H-2', H-6'), δ 7.44-7.53 (3H, m, H-3', 4', 5'), δ 6.42 (1H, d, *J*=2.1 Hz, H-8), δ 6.21 (1H, d, *J*=2.1 Hz, H-6); <sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) : δ 175.5 (C-4), 163.7 (C-7), 160.4 (C-5), 156.3 (C-9), 144.7 (C-2), 136.2 (C-3), 130.4 (C-1'), 128.7 (C-4'), 127.5 (C-2', 6'), 126.5 (C-3', 5') 102.4 (C-10), 97.2 (C-6), 92.3 (C-8).

**Compound 2** - yellow powder : mp 227-229°C EI-

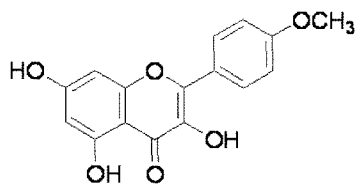
MS *m/z* : 300 [M]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) : δ 12.41 (1H, s, 5-OH), δ 8.14 (2H, d, *J*=9.1 Hz, H-2', 6'), δ 7.12 (2H, d, *J*=9.1 Hz, H-3', 5'), δ 6.46 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), δ 6.20 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), δ 3.85 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) : δ 175.9 (C-4), 163.9 (C-7), 160.6 (C-5), 160.4 (C-4'), 156.2 (C-9), 146.2 (C-2), 136 (C-3), 129.3 (C-2', 6'), 123.2 (C-1'), 114 (C-3', 5'), 103 (C-10), 98.2 (C-6), 93.5 (C-8).

**Compound 3** - yellow powder : mp 276-278°C EI-MS *m/z* : 286 [M]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) : δ 12.48 (1H, s, 5-OH), δ 8.05 (2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2', 6'), δ 6.93 (2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3', 5'), δ 6.44 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), δ 6.19 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6); <sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) : δ 175.8 (C-4), 163.8 (C-7), 160.6 (C-5), 159.1 (C-4'), 156.1 (C-9), 146.7 (C-2), 135.6 (C-3), 129.4 (C-2', 6'), 121.6 (C-1'), 115.4 (C-3',5'), 103.0 (C-10), 98.1 (C-6), 93.4 (C-8).

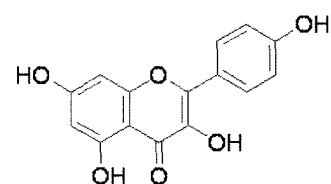
**적출혈관 이완효과** - Acetylcholine chloride 및 phenylephrine은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, Krebs-Henseleit (K-H) buffer 조제용 각종시약들은 일본의 Junsei사로부터 구입하여 사용하였다. Sprague-Dawley (S.D., 웅성)계 흰쥐는 Orient사 (서울, 한국)로부터 구입하였으며, 항온 (22.5±1°C), 항습 (55±5%) 및 12시간 간격으로 명암이 자동 조절되는 청정 동물 사육실에서 최소한 2주 이상 안정화시킨 후 실험에 사용하였다. 흰쥐의 후두부를 강타하여 기절시킨 후 경동맥을 잘라 혈액을 유실시켰다. 흉곽을 절개한 다음 하행성 대동맥을 신속하게 적출하고 내피가 손상되지 않도록 조심스럽게 지방조직 및 주위조직을 제거하였다. 이어 혈관을 2-3 mm 길이로 잘라 Krebs' bicarbonate buffer (K-H buffer : NaCl 118.0, KCl 4.7 mM, CaCl<sub>2</sub> 2.5, MgSO<sub>4</sub> 1.2, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, NaHCO<sub>3</sub> 25.0, glucose 11.0 mM) 가 담긴 tissue chamber내에 현수하였다. 이때 chamber 내의 온도는 37°C를 유지하였으며, O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> mixture gas로 포화시켜 pH를 7.4로 유지시켰다. 2g의 초기장력으로 1시간동안 equilibration 시켰으며, 15분 간격으로 K-H buffer를 교환하여 주었다. Isometric tension은 force displacement transducer (Grass FT03, Grass사, 미국)를 통해 chart recorder (Multicorder MC 6625, Hugo



(1)



(2)



(3)

Sachs사, 독일)로 기록하였다. 적출혈관을 tissue chamber내에서 적응시키기 위하여, phenylephrine (0.3  $\mu\text{M}$ )으로 수축시킨 후, K-H buffer로 45분에 걸쳐 3번 세척시켜 주었다. 다시 phenylephrine으로 혈관을 수축시켜 plateau에 도달하게 한 다음, acetylcholine (1.0  $\mu\text{M}$ )을 가하여 혈관이 완전히 이완됨을 확인하였다. K-H buffer로 45분에 걸쳐 3번 세척시켜 준 후, 다시 phenylephrine으로 수축시켜 plateau에 도달하게 한 후, 시험물질을 농도별로 가하고 혈관의 이완 정도를 측정하였다.<sup>11)</sup> 혈관 이완율은 phenylephrine 전처리로 수축된 혈관에 부하되는 장력(tension)을 기준으로 하여 이완시 감소하는 혈관 장력 비율을 %로 나타냈으며, linear regression을 통해  $\text{IC}_{50}$  수치 (50% 이완시키는 농도)를 구하였다.

### 결과 및 고찰

고량강 (*Alpinia officinarum*)의 MeOH 추출물을 증류수에 현탁시킨 후 DM (dichloromethane), EtOAc (ethylacetate) 및 BuOH (*n*-butanol)로 단계적으로 용매분획하고, 각 용매분획을 시료로 하여 phenylephrine 전처리로 수축을 유발한 흰쥐의 적출혈관에 대하여 혈관이완효과를 측정하여 본 결과 EtOAc 가용분의 경우 50% 혈관이완농도 ( $\text{IC}_{50}$ ) 값이 15.6  $\mu\text{g/ml}$ 로 나타나 우수한 혈관이완효과를 보여준 반면 BuOH 가용분 및 수용성 분획은 혈관이완효과가 미미하게 나타났다 (Fig. 1). 따라서 EtOAc 가용분을 활성유도분획법에 따라 silica gel column chromatography를 반복 실시한 결과 최종적으로 3종의 화합물 (1-3)을 혈관이완효과를 나타내는 활성성분으로 분리하였다. 이들 화합물 (1-3)들은 각각 물리화학적 성상 및 분광학적 자료를 분석한 결과 galangin (1),<sup>12-13)</sup> kaempferide (2),<sup>14-15)</sup> kaempferol (3)<sup>16)</sup>로 각각 동정되었다.

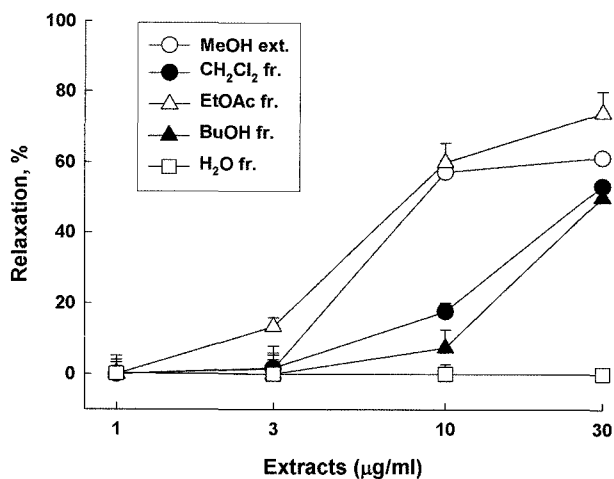


Fig. 1. Vasorelaxation effect of the rhizome extract of *Alpinia officinarum*.

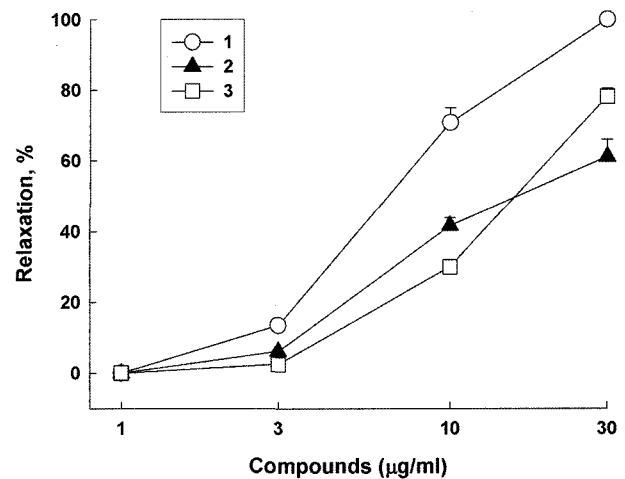


Fig. 2. Vasorelaxation effect of isolated components from the rhizome extract of *Alpinia officinarum*.

Phenylephrine으로 전처리한 흰쥐의 적출혈관에 화합물 1-3을 농도별로 처리한 결과 이들은 모두 농도 의존적으로 혈관이완효과를 보여주었으며 각 화합물들의 50% 혈관이완농도 ( $\text{IC}_{50}$ ) 값은 각각 7.6  $\mu\text{g/ml}$  (28.1  $\mu\text{M}$ ) (1), 12.4  $\mu\text{g/ml}$  (41.3  $\mu\text{M}$ ) (2) 및 14.5  $\mu\text{g/ml}$  (50.6  $\mu\text{M}$ ) (3)로 산출되었다. (Fig. 2). 한편, 최근 Morello 등의 연구에 따르면 흰쥐의 적출혈관에 galangin (1)을 처리한 경우 1~100  $\mu\text{M}$  농도영역에서 유의성 있는 혈관 평활근 이완 효과가 관찰되었으며, galangin (1) 처리에 따라 혈관 평활근에서의 nitric oxide 분비가 촉진되므로서 혈관이완효능이 나타나는 것으로 추측된다고 보고하고 있어 본 보의 연구결과와 잘 일치되고 있다.<sup>17)</sup>

### 결론

생약재 고량강 (*Alpinia officinarum* Hance)의 MeOH 추출물은 phenylephrine 전처리로 유발한 흰쥐 적출혈관의 수축을 농도 의존적으로 이완시켰다. 고량강 MeOH 추출물을 활성유도 분획법에 따라 silica gel chromatography로 정제한 결과 3종의 flavonoid 화합물 (1-3)을 활성성분으로 분리 정제하였다. 분리된 화합물들은 물리화학적 성상과 기기 분석 ( $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ ) 소견을 종합한 결과, galangin (1), kaempferide (2) 및 kaempferol (3)로 각각 확인, 동정되었으며 이들은 모두 phenylephrine으로 전처리로 유발한 흰쥐 적출혈관의 수축을 농도 의존적으로 이완시켰으며 고량강의 MeOH 추출물이 보여준 혈관 평활근 이완 효과는 이들 flavonoid 화합물 (1-3)에 기인한 것으로 사료된다.

### 사사

이 연구는 대한민국 국가과학기술연구회 산하 산업기술

연구회 소관기관 협동연구사업 프로그램 및 과학기술부 나노바이오 연구사업의 연구비지원의 지원을 받아 수행한 연구결과로 이에 감사드립니다.

### 인용문헌

1. 한의과대학 본초학 편찬위원회 (2004) 본초학, 388-389. 영림사.
2. 소학관편 (1985) 중약대사전 제2권, 782. 상해과학기술출판사.
3. Shin, J.E., Han, M.J. and Kim, D.H. (2003) 3-Methylether galagin isolated from *Alpinia officinarum* inhibits pancreatic lipase. *Biol. Pharm. Bull.* **26**: 854-857.
4. Li, B.H. and Tian, W.X. (2003) Presence of fatty acid synthase inhibitors in the rhizome of *Alpinia officinarum* Hance. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **18**: 349-356.
5. Kim, J.H., Lee, S.E., Hwang, H.J., Ha, J.S. and Jeong, H.S. (2003) Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. *Life Science* **73**: 167-179.
6. Lee, S.C., Shin, K.S. and Heo, M.Y. (2002) Protection of ROS-induced cytotoxicity and DNA damage by the extract of *Alpinia officinarum*. *J. Fd Hyg. Safety.* **17**: 106-116.
7. Kang, S.S., Kim, J.S., Son, K.H., Kim, H.P. and Chang, H.W. (2000) Isolation of COX-2 inhibitors from *Alpinia officinarum*. *Kor. J. Pharmacogn.* **31**: 57-62.
8. No, M.S., Ha, J.Y., Lee, C.H., Lee, Y.Y., Lee, S.H. and Lee, J.J. (1998) Inhibitory activities of natural products on lipopolysaccharide induced prostaglandin production in mouse macrophages. *Yakhak Hoeji.* **42**: 558-566.
9. Kiuchi, F., Iwakami, S., Shibuya, M., Hanaoka, F. and Sankawa, U. (1992) Inhibition of prostaglandin and leukotriene biosynthesis by gingerols and diarylheptanoids. *Chem. Pharm. Bull.* **40**: 387-391.
10. Park, H.J., Lee, J.H., Kim, S.Y., Shim, B.S., Ku, H.J., Kang, J.M., Choe, J.D., Kim, N.J., Lee, J.S. and Lim, S. (2005) Anti-inflammatory effect of *Alpinia officinarum* rhizoma extract. *Kor. J. Herbology.* **20**: 43-53.
11. Burges, R.A., Gardiner, D.G., Gwilt, M., Higgins, A.J., Blackburn, K.J., Campbell, S.F., Cross, P.E. and Stubbs, J.K. (1987) Calcium channel blocking properties of amlodipine in vascular smooth muscle and cardiac muscle *in vitro*: evidence for voltage modulation of vascular dihydropyridine receptors. *J. Cardiovasc Pharmacol.* **9**: 110-119.
12. Kuroyanagi, M., Noro, T., Fukushima, S., Aiyama, R., Itokawa, H. and Morita, M. (1983) Studies on the constituents of the seeds of *Alpinia katsumadai* Hayata. *Chem. Pharm. Bull.* **31**: 1544-1550.
13. Yang, Y., Kinoshida, K., Koyama, K., Takahashi, K., Tai, T., Nunoura, Y. and Watanada, K. (1999) Antiemetic principles of *Alpinia katsumadai* Hayata. *Nat. Prod. Sci.* **5**: 20-24.
14. Bleier, W. and Chirikdjan, J.J. (1972) Uber die Flavonoide von Rhizoma Galange (*Alpinia officinarum* Hance). *Planta Med.* **22**: 145-151.
15. Curir, P., Dolci, M., Lazotti, V. and Tagliatalata-Scafati, O. (2001) Kaempferide triglycoside: a possible factor of resistance of carnation (*Dianthus caryophyllus*) to *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Phytochemistry.* **56**: 717-721.
16. Choi, J.S., Woo, W.S., Young, H.S. and Park, J.H. (1990) Phytochemical study on *Prunus davidiana*. *Arch. Pharm. Res.* **13**: 374-378.
17. Morello, S., Vellecco, V., Alfieri, A., Mascolo, N. and Cicala, C. (2006) Vasorelaxant effect of the flavonoid galangin on isolated rat thoracic aorta. *Life Science* **78**: 825-830.

(2006년 2월 13일)