

## 5 $\alpha$ -Reductase 활성에 미치는 종대황 스틸벤 유도체의 영향

고 성 권\*

중앙대학교 인삼산업연구센터

### Effects of Stilbene Derivatives from *Rheum undulatum* on 5 $\alpha$ -Reductase Activity

Sung Kwon Ko\*

Korea Ginseng Institute, Chung-Ang University, Ansung 456-756, Korea

**Abstract** – As a series of the studies on cultivated Korean rhubarb rhizomes (*Rheum undulatum*), five stilbene derivatives were screened for inhibitory activity against 5 $\alpha$ -reductase. Of these, desoxyrhapontigenin, rhapontigenin, and piceatannol exhibited inhibition, whereas, two other stilbene glycosides, rhaponticin and piceatannol-3'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside did not show the inhibition.

**Key words** – *Rheum undulatum*, desoxyrhapontigenin, rhapontigenin, piceatannol, 5 $\alpha$ -reductase

Squalene, triglyceride와 같은 분비성피지는 모포(毛包)에 부속하는 피지선으로부터 분비되고, 피지선은 두부에 가장 고밀도로 분포하고 있다. 따라서, 신체 중에서도 두피로부터의 피지분비량이 많다. 피지는 피표(皮表)에 퍼져 있고, 세균 등이 외부로부터 침입하는 것을 방지하는 역할을 하고 있다. 그러나, 피지는 피표에 존재하는 세균과 자외선 등에 용이하게 산화되기 쉬우며, 그 결과 염증을 일으키고, 냄새를 일으키는 원인이 된다. 특히, 과잉분비는 모발의 끈적거림과 탈모의 원인이 되기도 한다. Testosterone은 피지선에 있어서 5 $\alpha$ -reductase에 의해 활성형인 dihydrotestosterone (DHT)으로 대사되어 피지분비를 촉진한다.<sup>1)</sup> 이와 같이 5 $\alpha$ -reductase는 여러 가지 피지 관련 질환의 발병에 있어서 중요한 역할을 하는데, 이 효소의 활성에 의해서 발병되는 피부질환은 남성 hormone 의존성 질환으로서 여드름 이외에 지루, 남성형 대머리 및 자연성 조모증 등이 있고, 최근 이러한 피지 관련 질환의 예방 및 치료를 위한 시도로서 강력한 5 $\alpha$ -reductase 활성억제제의 탐색연구가 보고되고 있다.<sup>2-8)</sup> 또한, 관련연구로서 Ogawa<sup>9,10)</sup> 등이 동충하초가 C3H계 마우스를 이용한 모성장에 미치는 영향의 검토에서 유효성을 나타내었고, Kubo<sup>11)</sup> 등이 조모(組

毛)를 형성하는 버터식 마우스를 이용한 검토에서, 14종의 생약 중 하수오와 죽절인삼의 유효성을 보고하였으며, Inaoka<sup>12)</sup> 등이 80종의 생약 중 *Polyporus umbellatus*가 모성장에 영향을 미친다고 보고하였다. 특히, 하수오는 마디풀과 (Polygonaceae) 식물로서 한방에서는 보음, 보정제이며 한방처방에 빈용되는 생약으로 anthraquinone과 stilbene유도체를 함유한다.<sup>13)</sup> 또한, 같은과 식물로서 성분의 유사성을 갖는 *Rhaponticum*계 (토대황계) 대황인 식용대황 (*Rheum rhaponticum*)이 *Palmatum*계 (금문계) 대황에는 나타내지 않는 estrogen樣 효과를 갖는다고 보고되어 있다.<sup>14)</sup> 한편, 우리나라 자원식물의 활용 및 개발의 차원에서, 식용대황과 같은 *Rhaponticum*계의 식물이며 anthraquinone과 stilbene유도체<sup>15,16)</sup> 등 함유성분의 패턴이 비슷한 한국산 재배 대황, 즉 종대황 (*Rheum undulatum*)의 stilbene 유도체에 대하여 5 $\alpha$ -reductase활성에 미치는 영향을 검토하였다.

#### 실험방법

**실험재료 및 기기** – 종대황 (*Rheum undulatum*)은 1996년 5월 충청북도 청주지방에서 재배하는 대황 근경을 채취하였고 (수집자: 고성권, 표본번호: RU-1, 보관장소: 중앙대학교 인삼산업연구센터), 시

\*교신저자 : Fax : 031-670-4685

약은 Tris [tri(hydroxymethyl)aminomethane], testosterone, NADPH, dichloromethane (나카라이 테스크), *p*-hydroxybenzoic acid *n*-hexyl ester (동경화성), ethinylestradiol (화광순약)을 사용하였다. 실험동물은 Slc:SD계 웅성 rat (5주령)를 사용하였다. 사육환경은 항온항습, 12시간 명암사이클의 사육실에서 시판의 고형사료와 물을 자유롭게 섭취시켜, 구입 후 실험에 사용할 때까지 1주간 예비사육하였다. 기기는 JASCO 875-UV intelligent UV/vis detector, JASCO 880-PU intelligent HPLC pump, Kyowa KMT-60A-II Auto sampler (Kyowa seimitsu)를 사용하였다.

**추출 및 분획** - 음건한 건조근경 500 g을 10배의 열수에 2시간씩 2회 추출하여, 그 여액을 감압, 농축한 후 동결건조하여 갈색의 엑스(수엑스) 197 g을 얻었다(수율 39.4%). 수엑스를 Sephadex LH-20 gel을 사용한 open column으로 용매 MeOH을 증량시키며 100% 물로부터 100% MeOH 순으로 용출시켜 4개의 fraction, F<sub>1</sub>(82.5 g), F<sub>2</sub>(30.0 g), F<sub>3</sub>(8.0 g), F<sub>4</sub>(8.3 g)를 얻었다. Fraction F<sub>2</sub>를 ODS gel column chromatography를 이용하여 (전개용매, MeOH:H<sub>2</sub>O=7:3) 2개의 subfraction, F<sub>2,1</sub>(9.9 g), F<sub>2,2</sub>(10.0 g)으로 분획하였고, subfraction F<sub>2,2</sub>를 재차 ODS gel column chromatography (전개용매, MeOH:H<sub>2</sub>O=7:3)를 실시하여 stilbene 배당체 rhaponticin(2.7 g), piceatannol-3'-O-β-D-glucopyranoside(1.78 g)를 분리하였다. 또한, fraction F<sub>4</sub>를 silicagel column을 사용하여 (전개용매, hexane:ethylacetate=1:1) 3개의 stilbene 비당체 desoxyrhapontigenin(0.22 g), rhapontigenin(1.48 g), piceatannol(0.12 g)를 분리하였으며, 그 화학구조는 Fig. 1에 표시하였다.

**효소액의 조제** - 24시간 절식한 rat의 간장을 빙냉한 Krebs-Ringer phosphate buffer (pH 7.2)로 관류하였다. 여기에 5배량의 빙냉한 Tris-HCl buffer (10 mM, pH 7.2)를 가하여 homogenize하고, 900×g, 10분간 원심 분리하였다. 상층을 5000×g, 10분간 원심분리하고, 그 상층을 9000×g, 10분간 원심분리할 때 얻은 상층을 효소액으로 사용했다. 효소액은 -80°C에서 동결보존하였다.

**5α-Reductase 저해작용** - Tris-HCl buffer (pH 7.2) 1.0 ml, testosterone (500 µg/ml) 0.3 ml, 시험액 0.2 ml 및 효소액 1.0 ml를 혼합하고, NADPH (0.77 mg/ml) 0.5 ml를 가하여 반응을 개시하고, 37°C, 30분간 incubation하였다. dichloromethane 5 ml를 가

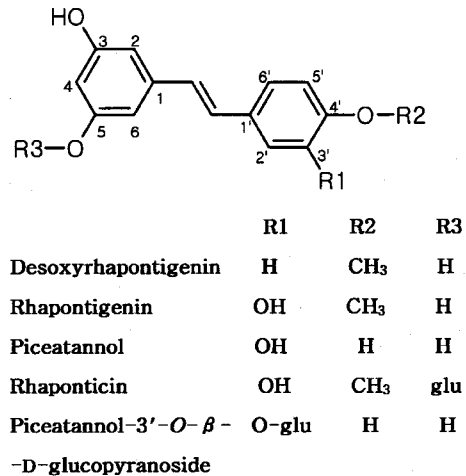


Fig. 1. Structures of stilbene derivatives from *Rheum undulatum*.

하여 반응을 정지시켜, 내부표준물질 (*p*-hydroxybenzoic acid *n*-hexyl ester, 0.1 mg/ml) 0.5 ml를 가하여 10분간 진탕하고, 3000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상층을 제거한 후, dichloromethane층을 남기고, 여기에 methanol 5 ml를 가하여 고속 액체크로마토그래피 (HPLC)용 sample로 하였다. 양성대조시약으로는 ethinylestradiol (0.67 mg/ml)을 사용하였다. 또한, 저해율은 아래의 식으로부터 구했다.

저해율 (%) =

$$\frac{\text{시험액을 가할 때의 testosterone량} - \text{Cont 1의 testosterone량}}{\text{Cont 0의 testosterone량} - \text{Cont 1의 testosterone량}} \times 100$$

Cont 0; NADPH를 가하기 전에 dichloromethane을 가해서 반응을 일으키지 않도록 한 것.

Cont 1; 시험액을 가할 때와 같은 방법으로 행한 것.

**HPLC 측정의 조건** - Column; YMC-Pack ODS-AM (150×4.6 mm I.D.), 이동상; MeOH:H<sub>2</sub>O 혼합액 (65:35), 유속; 1.0 ml/min, 검출파장; UV 254 nm, column온도; 40°C, 주입량; 20 µl, 측정은 내부표준물질법을 이용하여 행하였다.

## 결과 및 고찰

천연물로부터 탈모방지작용을 갖는 활성물질을 탐색할 목적으로 종대황 (*Rheum undulatum*)의 stil-

**Table I.** Inhibitory effects of stilbene derivatives from *Rheum undulatum* against 5 $\alpha$ -reductase activity

| Sample                                       | Conc. (mM) | Inhibition (%) |
|--|------------|----------------|
| Desoxyrhapontigenin                          | 0.1        | -5.9 $\pm$ 4.0 |
|  | 1          | 1.7 $\pm$ 2.2  |
|  | 10         | 46.7 $\pm$ 2.2 |
| Rhapontigenin                                | 0.1        | 0.8 $\pm$ 1.1  |
|  | 1          | 2.0 $\pm$ 1.3  |
|  | 10         | 40.3 $\pm$ 1.6 |
| Piceatannol                                  | 0.1        | 3.1 $\pm$ 1.9  |
|  | 1          | 4.2 $\pm$ 0.5  |
|  | 10         | 33.3 $\pm$ 1.8 |
| Ethinylestradiol                             | 0.67 mg/ml | 57.7 $\pm$ 0.7 |
| Rhaponticin                                  | 0.1        | 2.7 $\pm$ 0.7  |
|  | 1          | 2.1 $\pm$ 0.8  |
|  | 10         | -2.3 $\pm$ 4.4 |
| Piceatannol-3'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside | 0.1        | 3.2 $\pm$ 0.9  |
|  | 1          | 2.2 $\pm$ 0.1  |
|  | 10         | 4.9 $\pm$ 0.3  |
| Ethinylestradiol                             | 0.67 mg/ml | 47.6 $\pm$ 0.8 |

Each value represents the mean  $\pm$  S. E of 3 experiments.

bene 유도체에 대하여 5 $\alpha$ -reductase에 미치는 영향을 검토하였다. Table I에서 보는 바와 같이 desoxyrhapontigenin, rhapontigenin, piceatannol 세 stilbene 비당체는 5 $\alpha$ -reductase 활성에 대하여 0.1 mM과 1 mM의 농도에서는 저해활성을 보여주지 못하였으나, 10 mM의 농도에서 46.7%, 40.3%, 33.3%의 저해율을 보여주었다. 그러나, stilbene 배당체인 rhaponticin, piceatannol-3'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside는 어느 농도에서도 저해활성을 보여주지 못했다. 또한, desoxyrhapontigenin과 rhapontigenin은 piceatannol보다 더욱 높은 저해율을 나타냈다. 양성 대조약물인 ethinylestradiol은 0.67 mg/ml의 용량에서 57.7%와 47.6%의 저해율을 보여 주었다. Desoxyrhapontigenin과 rhapontigenin은 10 mM의 용량에서 ethinylestradiol과 비슷한 저해활성을 보여주었다. 이와 같은 결과는 종대황 (*Rheum undulatum*) stilbene 유도체 중 5 $\alpha$ -reductase에 대한 저해율은 비당체가 높은 저해율을 나타낸다는 것을 확인할 수 있었으며, 구조 내에 hydroxyl기만 결합된 것보다 methoxy기가 결합된 것이 보다 큰 저해율을 보인다는 것을 확인할 수 있었다. 이와 같은 stilbene 비당체의 5 $\alpha$ -reductase에 대한 저해율은 탈모 방지작용 물질탐색연구의 일부분에 기여하는 것으로 생각한다.

## 결 론

종대황 (*Rheum undulatum*)의 stilbene 유도체 (desoxyrhapontigenin, rhapontigenin, piceatannol)가 10 mM의 농도에서 46.7%, 40.3% 그리고 33.3%의 5 $\alpha$ -reductase 저해율을 보여줌으로써, stilbene 구조가 탈모방지작용을 갖는 새로운 활성성분의 가능성을 보여주었으며, 구조 내에 hydroxyl기만 결합된 것보다 methoxy기가 결합된 것이 보다 큰 저해율을 갖는다는 것을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과는 종대황의 stilbene 유도체의 새로운 생리활성으로 종대황 및 stilbene유도체의 또 다른 활용이 기대된다.

## 인용문헌

- 龜山 省司 (1995) 生薬成分のヘアケア製品への應用と課題. *Fragrance Journal* 8: 28-33.
- Eicheler, W., Happle, R., Hoffmann, R. (1998) 5 $\alpha$ -reductase activity in the human hair follicle concentrates in the dermal papilla. *Arch. Dermatol. Res.* 290(3): 126-132.
- Nakayama, O., Hirosumi, J., Chida, N., Takahashi, S., Sawada, K., Kojo, H., Notsu, Y. (1997) FRI46687, a novel steroid 5 $\alpha$ -reductase inhibitor, *in vitro* and *in vivo* effects on prostates. *Prostate* 31(4): 241-249.
- Giudici, D., Briatico, G., Cominato, C., Zaccheo, T., Lehle, C., Nesi, M., Panzeri, A., di Sale, E. (1996) FCE28260, a new 5 $\alpha$ -reductase inhibitor, *in vitro* and *in vivo* effects. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 58(3): 299-305.
- di Sale, E., Giudici, D., Briatico, G., Ornati, G., Panzeri, A. (1993) Hormonal effects of turosteride, 5 $\alpha$ -reductase inhibitor, in the rat. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 46(5): 549-555.
- Nnane, I. P., Kato, K., Liu, Y., Lu, O., Wang, X., Ling, Y. Z., Brodie, A. (1998) Effects of some novel inhibitors of C17,20-lyase and 5 alpha-reductase *in vitro* and *in vivo* and their potential role in the treatment of prostate cancer. *Cancer Res.* 58(17): 3826-3832.
- Mellin, T. N., Busch, R. D., Rasmusson, G. H. (1993) Azasteroids as inhibitors of testosterone 5 $\alpha$ -reductase in mammalian skin. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 44(2): 121-131.
- Choi, S. M., Kim, C. D., Lee, M. H., Choi, Y. H., Rang, M. J., Ahn, H. J., Yun, Y. P. (1999) Screening of 5 $\alpha$ -reductase inhibition and comedolytic effects from natural products. *Yakhak Hoeji.* 43(3): 342-350.
- Ogawa, H., Hattori, M. (1983) Normal and abnormal

- epidermal differentiation, M. In Seiji, I. A. Bernstein (ed.). 159. *Tokyo Univ. Press*, Tokyo.
10. Ogawa, H. (1986) Effect of plant worm extract on mouse hair growth. *J. Dermatology* 13(2): 126-132.
  11. Kubo, M., Matsuda, H., Fukui, M., Nakai, Y. (1988) Development studies of cuticle drugs from natural resources. I. Effects of crude drug extracts on hair growth in mice. *Yakugaku Zasshi* 108(10): 971-978.
  12. Inaoka, Y. (1994) Studies on active substances in herbs used for hair treatment. I. Effects of herb extracts on hair growth and isolation of an active substance from *Polyporus umbellatus* F. *Chem. Pharm. Bull.* 42: 530-536.
  13. 難波恒雄 (1993) 和漢藥百科圖鑑(I). 16. 保育社, 大阪.
  14. 江蘇新醫學院 (1977) 中藥大辭典. 102. 上海科學技術出版社, 上海.
  15. Ko, S. K., Whang, W. K. and Kim, I. H. (1995) Anthraquinone and stilbene derivatives from the cultivated Korean rhubarb rhizomes. *Arch. Pharm. Res.* 18(4): 282-288.
  16. Ko, S. K., Whang, W. K., Kim, I. H. (1998) Stilbene compounds from cultivated Korean rhubarb rhizomes. *Yakhak Hoeji.* 42(1): 1-4.

(2000년 4월 28일 접수)