台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 66(4):333–342 (2017)
DOI: 10.6156/JTAR/2017.06604.08

研究報告

大南薑根莖抑制黃嘌呤氧化酶之活性

洪子桓[1] 賴瑞聲[2] 林素月[3] 楊婕[3] 李雅琳[4,*]

摘要

洪子桓、賴瑞聲、林素月、楊婕、李雅琳。2017。大南薑根莖抑制黃嘌呤氧化酶之活性。台灣農業研究 66(4):333–342。

高尿酸血症易引發痛風、糖尿病等多項代謝異常疾病。抑制黃嘌呤氧化酶 (xanthine oxidase; XO) 可抑制體內尿酸合成，緩和高尿酸血症。本研究選擇 24 種本土青草藥材料，以其酒精及水萃物測試抑制 XO 之活性，結果顯示大南薑 (*Alpinia galanga* Willd.) 之酒精萃取物具有最佳活性，仙草 (*Mesona procumbens* Hemsl.) 之「台 E」品系亦稍具有活性。大南薑根莖酒精萃取物中的活性物質經氣相層析質譜儀 (gas chromatography-mass spectrum; GC-MS) 分析，顯示其抑制 XO 活性的主要成分可能是 (1'*S*)-1'-acetoxychavicol acetate 及 *p*-coumaryl diacetate。過去文獻證實這兩種化合物與目前治療高尿酸血症的藥物 allopurinol 具有相仿之 XO 抑制活性，顯示大南薑具有開發為調節尿酸產品或新藥之潛力。

關鍵詞：高尿酸血症、黃嘌呤氧化酶、抑制活性、大南薑。

前言

尿酸是人體分解食物中的嘌呤 (purine) 產生的代謝廢棄物，在血液中的濃度受到飲食、族群、性別、生活習慣等因素的影響。男性血液中尿酸的濃度比女性稍高，一般而言，當男性血液中的尿酸濃度超過 6.5 mg dL^{-1}，女性超過 6.0 mg dL^{-1} 時，便認為尿酸的含量過高，被稱為高尿酸血症 (hyperuricemia) (Johnson *et al*. 2003)。高尿酸血症的患者，若尿酸結晶沉積於關節處，誘發關節炎而產生疼痛時，即為俗稱的痛風。除痛風之外，高尿酸血症也易引發腎結石、高血壓、心血管疾病以及糖尿病等疾病 (Quinones Galvan *et al*. 1995; Johnson *et al*. 2003; Chien *et al*. 2008)。衛生署於 2005–2008 年進行調查顯示，台灣男性罹患高尿酸血症比率為 21.6%，大於 65 歲的老年男性罹患率升高至 25.8%；女性罹患高尿酸血症的比率為 9.57%，較男性低，但老年女性罹患率卻高達 33.6% (Chuang *et al*. 2011)。此外，台灣原住民與紐西蘭毛利人 (Māori) 同為全球罹患高尿酸血症及痛風比例最高的族群 (Chang *et al*. 1997; Chou & Lai 1998)。高尿酸血症及其併發症已屬於我國長期醫療支出的重要項目。

黃嘌呤氧化酶 (xanthine oxidase; XO) 是人體合成尿酸的關鍵酵素，其代謝途徑是先催化次黃嘌呤 (hypoxanthine)、合成黃嘌呤 (xanthine)，再進一步催化黃嘌呤產生尿酸 (Ramallo *et al*. 2006)。當 XO 被抑制時，尿酸的合成受阻，因此可降低體內尿酸的濃度。Allopurinol 為目前市面上最廣泛使用於治療高尿酸血症的藥物，其主要機制是抑制 XO 的活性、減少尿酸生成，另一機制是次黃嘌呤因為 XO 被抑制而無法被代謝、濃度上升，進而回饋抑制體內嘌呤的合成，即是減少合成尿酸

投稿日期：2017 年 1 月 5 日；接受日期 : 2017 年 4 月 14 日。
* 通訊作者：ylleet@tari.gov.tw
[1] 農委會農業試驗所生物技術組助理研究員。台灣 台中市。
[2] 農委會苗栗區農業改良場作物改良課助理研究員。台灣 苗栗縣。
[3] 農委會農業試驗所生物技術組研究助理。台灣 台中市。
[4] 農委會農業試驗所生物技術組副研究員。台灣 台中市。

的前驅物產生，所以抑制 XO 活性可以直接及間接地降低血液中的尿酸濃度 (Cameron *et al*. 1993)。

Allopurinol 的結構為一種嘌呤類似物，服用後 2 h 內會被 XO 催化轉變為 oxypurinol，oxypurinol 再與 XO 發生共價結合造成自殺抑制反應 (suicide inhibition) (Massey *et al*. 1970)。不幸的是，高達 20% 的患者曾在使用 Allopurinol 時產生不良副作用，症狀包括發燒、皮疹、腎功能降低、肝炎等 (Stamp *et al*. 2007)。另外，約有數萬分之一的機率，會引起嚴重的藥物過敏反應，如「史帝文 - 強生症候群」(Stevens-Johnson Syndrome) 及毒性表皮溶解症，致死率可達 20–25% (Mockenhaupt 2011; Kim *et al*. 2012)。因此，開發有效且副作用小的相關新藥，仍在醫藥界持續進行中。

從天然物尋找具有機能性功效，且具有較低副作用的醫藥原料，成為現代生命科學及醫學的顯學 (Sweeney *et al*. 2001)。青草藥通常泛指非中醫常用藥材，使用於民俗療法，是民間具有藥用歷史及價值的植物。青草藥植物通常適合當地氣候與土宜，若有科學證據支持具有保健功效，則相當適合作為國產特色機能性作物開發。本研究挑選 24 種在民間用於利尿、治療痛風，或是風濕性關節炎的本土青草藥材料，包括綠莧草 (*Alternanthera paronychioides* St. Hil.)、野莧 (*Amaranthus viridis* L.)、芹菜 (*Apium graveolens* L.)、艾草 (*Artemisia indica* Willd.)、紫背草 (*Emilia sonchifolia* DC.)、向日葵 (*Helianthus annuus* L.)、兔兒菜 (*Ixeris chinensis* Nakai)、黃鵪菜 (*Youngia japonica* DC.)、山葵 (*Eutrema japonica* Matsum.) 品種「真妻」(Mazuma) 及「台農 70-1-1 號」(Tainung 70-1-1)、化石草 (*Orthosiphon aristatus* Miq.)、仙草 (*Mesona procumbens* Hemsl.) 品系「桃園 2 號」(Taoyuan No. 2)、「農試 1 號」(TARI No. 1) 及「台 E」(Tai E)、丹蔘 (*Salvia miltiorrhiza* Bunge)、水丁香 (*Ludwigia octovalvis* Raven)、車前草 (*Plantago asiatica* L.)、通天草 (*Setaria viridis* P.Beauv.)、甜珠草 (*Scoparia dulcis* L.)、葉用枸杞 (*Lycium chinense* Mill.)、苦蘵 (*Physalis angulata* L.)、大南薑 (*Alpinia galanga* Willd.)、春鬱金 (*Curcuma aromatica* Salisb.) 及薑黃 (*Curcuma longa* L.)，以其酒精萃取物及水萃取物測試體外抑制 XO 活性之效果，其中發現大南薑及仙草之酒精萃取物具有較好之抑制效果。大南薑為薑科月桃屬植物，原產於東南亞，在民俗療法中常被用於治療過敏及支氣管相關疾病 (Seo *et al*. 2013)，亦可治療類風濕性關節炎 (Latha *et al*. 2009; Weerakkody *et al*. 2011)，顯示有消炎效果。然而過去並無明確文獻記載大南薑可用於緩解痛風性關節炎，或是調節尿酸之效果。本研究進一步探討大南薑具有抑制 XO 活性的有效成分，以提供未來產業利用、開發為調節尿酸產品之基礎資料。

材料與方法

試驗材料與萃取

青草藥試驗材料列於表 1，所有材料皆於 2014–2016 年由台灣各地採集。材料採回洗淨後，以 55℃烘箱熱風乾燥 2 d 以上至完全乾燥。所有乾燥材料使用桌上型磨粉機 (群策，台灣) 磨碎，再經過 6 mm 孔徑的篩網過篩收集粉末，之後進行萃取或冷藏於 4℃備用。萃取方法為索氏萃取法 (Soxhlet extraction)，使用 B-811 多功能萃取裝置 (BÜCHI，瑞典)，取 10–30 g 材料粉末放置於索氏萃取裝置中，加入 100 mL 溶劑，迴流 5 h 後收集萃取液。所有萃取液在進行後續試驗前皆以 0.45 μm PVDF 濾膜 (Merck，德國) 過濾。萃取液濃度之定義為：萃取液經減壓濃縮並徹底冷凍乾燥後之乾燥物乾重除以萃取液之體積。

體外 XO 抑制活性分析

XO 可將黃嘌呤氧化為尿酸，萃取物對 XO 的抑制率可藉由偵測尿酸合成降低的比率計算 (Nguyen *et al*. 2004)。試驗方法如下：240 μL 反應混合物，包括 100 μL 50 mM KH_2PO_4、120 μL 0.15 mM 黃嘌呤、12 μL 0.147 U mL^{-1} XO 以及 8 μL 待分析樣品。所有藥品皆購自 Sigma-Aldrich (美國)。每次試驗均同時分析正控制組 0.33、0.67、1.33 μg mL^{-1} Allopurinol (溶於 50 mM KH_2PO_4) 及空白組

表 **1.** 24 種青草藥抑制 XO 活性之分析。

Table 1. Analysis of XO inhibitory activity of 24 herbal medicinal plants.

			XO inhibitory activity (%)						Extraction rate (%)	
			8.3 μg mL^{-1}		16.7 μg mL^{-1}		33.3 μg mL^{-1}			
Family	Species	Tissue	E[z]	W[y]	E	W	E	W	E	W
Amaranthaceae	*Alternanthera paronychioides* St. Hil.	Whole grass	2.3	1.7	2.0	0.3	1.5	0.3	15.3	21.2
Amaranthaceae	*Amaranthus viridis* L.	Whole grass	-1.4	0.1	1.3	0.5	1.4	-1.0	12.8	5.9
Apiaceae	*Apium graveolens* L.	Seeds	-0.6	-6.7	0.5	-4.5	-3.4	0.8	11.1	13.3
Asteraceae	*Artemisia indica* Willd.	Leaves	-1.5	-0.2	-1.7	-3.3	-4.9	-6.1	22.8	28.8
Asteraceae	*Emilia sonchifolia* DC.	Leaves	-3.4	0.4	-2.3	-1.4	-1.7	0.8	18.7	23.3
Asteraceae	*Helianthus annuus* L.	Leaves	1.2	-7.5	0.1	-2.2	-2.1	-0.6	21.9	15.2
		Seeds	-4.0	-6.5	-5.1	-1.2	-2.6	5.1	26.4	8.0
		Roots	-2.6	-0.2	-3.6	0.8	-2.6	2.9	9.3	11.9
Asteraceae	*Ixeris chinensis* Nakai	Leaves	-2.5	2.0	-2.3	-2.9	-2.1	-2.9	38.0	14.7
Asteraceae	*Youngia japonica* DC.	Leaves	-3.8	-1.6	-1.9	-2.0	-2.5	-5.1	20.7	13.2
Brassicaceae	*Eutrema japonica* Matsum. 'Mazuma'	Leaves	-2.3	-3.4	0.4	-3.1	0.8	-0.8	2.8	2.9
Brassicaceae	*Eutrema japonica* Matsum. 'Tainung 70-1-1'	Leaves	0.9	2.1	1.2	0.5	-1.1	0.9	1.7	1.9
Lamiaceae	*Orthosiphon aristatus* Miq.	Whole grass	-10.0	3.9	-22.7	2.8	-22.4	4.4	17.4	25.8
Lamiaceae	*Mesona procumbens* Hemsl. 'Taoyuan No. 2'	Whole grass	-13.9	-7.3	-4.2	-7.7	3.6	-6.1	21.9	6.7
Lamiaceae	*Mesona procumbens* Hemsl. 'Tai E'	Whole grass	1.2	2.5	-0.9	2.5	**19.2**[x]	3.9	7.3	19.5
Lamiaceae	*Mesona procumbens* Hemsl. 'TARI No. 1'	Whole grass	3.3	1.3	1.9	0.3	6.3	2.2	9.7	19.3
Lamiaceae	*Salvia miltiorrhiza* Bunge	Whole grass	3.2	3.0	4.3	-0.6	-0.2	-0.8	8.1	4.1
Onagraceae	*Ludwigia octovalvis* Raven	Whole grass	3.2	3.9	1.8	5.9	2.9	6.0	5.6	9.3
Plantaginaceae	*Plantago asiatica* L.	Whole grass	-13.4	-11.3	-18.2	-16.7	-24.4	-25.9	19.7	12.0
Poaceae	*Setaria viridis* P. Beauv.	Roots	-22.9	-20.9	-21.8	-22.7	-22.4	-25.2	9.3	6.2
Scrophulariaceae	*Scoparia dulcis* L.	Whole grass	-1.1	1.8	-0.6	3.4	2.9	6.3	15.9	13.7
Solanaceae	*Lycium chinense* Mill.	Leaves	0.6	0.3	2.7	0.6	0.6	-1.9	13.6	7.4
		Stems	0.4	-1.4	2.9	-2.8	-5.6	-0.2	22.3	8.9
Solanaceae	*Physalis angulata* L.	Whole grass	0.1	0.8	-1.2	2.1	-0.2	3.1	7.8	14.4
Zingiberaceae	*Alpinia galanga* Willd.	Rhizomes	2.3	-0.8	**27.9**	0.4	**54.3**	2.2	10.4	6.9
		Leaves	-5.5	-5.3	-4.2	-9.0	4.6	-9.8	13.9	20.1
Zingiberaceae	*Curcuma aromatica* Salisb.	Rhizomes	-6.6	-6.0	-4.6	-6.0	-0.3	2.0	17.4	4.6
Zingiberaceae	*Curcuma longa* L.	Rhizomes	4.2	-5.6	1.2	4.2	2.7	-1.6	7.2	5.3
Standards			0.33 μg mL^{-1}		0.67 μg mL^{-1}		1.33 μg mL^{-1}			
Allopurinol			**29.1**		**48.9**		**94.1**			
Bisdemethoxycurcumin			-1.0		-0.9		0.2			

[z] 95% Ethanol extracts by using Soxhlet method.
[y] Hot water extracts by using Soxhlet method.
[x] Bold words indicate the XO inhibitory activity > 15.

50 mM KH_2PO_4，另外同時測試薑科植物中含量豐富之類薑黃素 bisdemethoxycurcumin (BDMC) 之活性。試劑混和後於 25℃下反應 30 min，以分光光度計偵測波長 290 nm 吸收值。XO 抑制率計算方法如下：

抑制率
= (1 − 樣品吸光值/對照組吸光值) × 100%

純化萃取物中抑制 XO 之活性成分

使用高效液相層析儀 (high performance liquid chromatography; HPLC) 分離大南薑根莖之酒精萃取物，機型為 Waters 600 (Waters，美國)，選用製備級管柱 Kromasil 100-5-C18 column 250 mm × 21.2 mm (AkzoNobel，瑞典)，管柱溫度 40℃，連接 Waters 2745 偵測器 (Waters，美國)，偵測吸收波長 220 nm，注射樣品 500 µL。流動相為二次水及甲醇 (methanol)，梯度條件一開始為 20% 甲醇，之後線性升高甲醇比例，至第 10 分鐘達 35% 甲醇，第 24 分鐘達到 100% 甲醇，最後保持 100% 甲醇到第 30 分鐘。流速 16 mL min^{-1}，每 8 mL 收集成一管，共分離為 60 個區分物，分別命名為 G01、G02 至 G60。上述區分物依體外 XO 抑制活性分析方法進行分析，選出抑制活性最高者，再進行後續活性成分之探討。

GC-MS 分析萃取物中抑制 XO 之活性成分

使用氣相層析儀-質譜儀 (gas chromatography-mass spectrum; GC-MS) 分析大南薑抑制 XO 活性最高之 HPLC 區分物，機型為 GCxGC_TOFMS (LECO，美國)。管柱使用 30 m × 0.25 mm × 0.25 µm Rtx-5MS (Fisher Scientific，美國)，流動相為氦氣，速率 1 mL min^{-1}。注射器溫度 250℃，GC 的起始溫度 40℃ 持續 1 min，之後以每分鐘 10℃的速度升高至 310℃，之後保持 8 min。Transfer line 溫度 300℃，數據擷取速率 10 spectra s^{-1}。偵測質譜範圍 m/z 50−600，離子來源溫度 200℃，偵測器電壓 1650 V。

結果

青草藥萃取物之抑制 XO 活性

本研究挑選 24 種 (品種) 本土青草藥，共製備 28 種材料樣品 (包含不同組織部位之相同植物)，進行 95% 酒精萃取及熱水萃取，再分別以 3 種不同萃取物濃度進行體外 XO 抑制活性分析 (表 1)。在 28 種樣品的萃取物中，使用濃度 33.3 µg mL^{-1} 試驗時，有 2 種青草藥萃取物的 XO 活性抑制率超過 15%，分別是大南薑根莖之酒精萃取物 (54.3%)，以及仙草「台 E」品系之酒精萃取物 (19.2%)。使用濃度為 16.7 µg mL^{-1} 時，超過 15% XO 活性抑制率者，只有大南薑根莖之酒精萃取物 (27.9%)。於濃度 8.3 µg mL^{-1} 時，所有萃取物之 XO 抑制率皆低於 15%。正控制組 allopurinol 之標準品在濃度為 1.33 µg mL^{-1} 時有 94.1% XO 抑制率。類薑黃素 BDMC 之標準品在濃度為 1.33 µg mL^{-1} 時，對 XO 的抑制率為 0.2% (表 1)。

大南薑不同溶劑萃取物之抑制 XO 活性

將大南薑根莖以 55℃熱風乾燥後，磨碎的粉末使用 95% 酒精、正己烷 (n-hexane)、甲醇及水 4 種溶劑，以索氏萃取法 (多功能萃取裝置) 進行萃取，其萃取率及萃取物之 XO 抑制活性詳見表 2。大南薑根莖使用甲醇溶劑之萃取率最高 (12.1%)，其次依序為酒精 (10.4%)、水 (6.9%) 及正己烷 (1.8%)。對 XO 的抑制活性，以酒精萃取物最高，在濃度為 33.3 µg mL^{-1} 時，對 XO 的抑制活性為 54.3%。其他溶劑萃取物對 XO 的抑制效果，依序為甲醇萃取物 (22.7%)、正己烷萃取物 (18.2%) 及水萃取物 (2.2%)。

大南薑 HPLC 區分物抑制 XO 之活性

大南薑酒精萃取物以 HPLC 分離產生之 60 個區分物，進行 XO 抑制活性分析，結果顯示大南薑酒精萃取物之區分物中，活性最高者為 G47，在濃度為 1.33 µg mL^{-1} 時之 XO 抑制率可達 67.3%，其他區分物之抑制活性皆低於 10% (圖 1)。

表 2. 大南薑之 4 種不同溶劑萃取物抑制 XO 活性。

Table 2. XO inhibitory activity of four solvent extracts from *Alpinia galanga* rhizomes.

XO inhibitory activity (%)															
8.3 μg mL^{-1}				16.7 μg mL^{-1}				33.3 μg mL^{-1}				Extraction rate (%)			
E[z]	H[y]	M[x]	W[w]	E	H	M	W	E	H	M	W	E	H	M	W
2.3	1.5	1.1	-0.8	27.9	0.8	-0.1	0.4	54.3	18.2	22.7	2.2	10.4	1.8	12.1	6.9

[z] 95% Ethanol extracts by using Soxhlet method.
[y] n-Hexane extracts by using Soxhlet method.
[x] Methanol extracts by using Soxhlet method.
[w] Hot water extracts by using Soxhlet method.

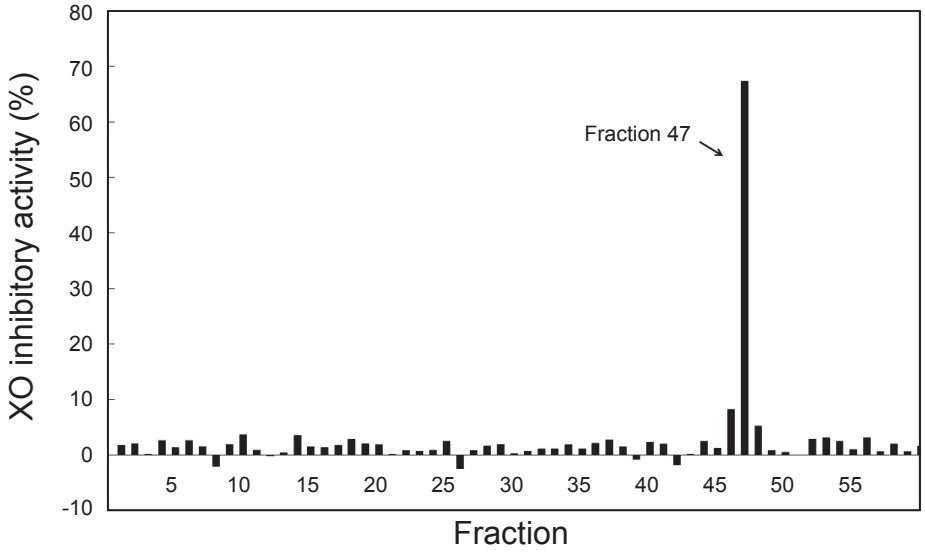


圖 1. 大南薑根莖酒精萃取物 HPLC 區分物 (G01–G60) 之抑制 XO 活性分析。試驗濃度為 1.3 μg mL^{-1}。

Fig. 1. XO inhibitory activity of HPLC fractions (G01–G60) separated from ethanol extracts of *Alpinia galanga* rhizomes. The activity was determined with samples at concentration of 1.3 μg mL^{-1}.

抑制 XO 活性成分之分子結構鑑定

以 GC-MS 分析大南薑 G47 區分物，結果如下：G47 在 16.6 min (Peak 1) 及 18.8 min (Peak 2) 各有一個波峰 (圖 2)，Peak 1 的質譜數據：m/z 55 (24)、77 (40)、103 (27)、105 (28)、121 (30)、131 (72)、132 (100)、133 (47)、149 (20)、150 (73)、174 (4)、192 (33)、234 (1)；Peak 2 的質譜數據：m/z 51 (31)、55 (23)、65 (28)、77 (65)、78 (27)、91 (30)、94 (55)、103 (44)、105 (38)、107 (47)、121 (70)、131 (69)、132 (44)、133 (77)、149 (100)、150 (69)、175 (3)、192 (85)、193 (11)、194 (2)、234 (16)、235 (2)。

Peak 1 之質譜符合 (1'*S*)-1'-acetoxychavicol acetate (ACA) 之質譜描述 (Noro *et al*. 1988; Yang & Eilerman 1999; Lin *et al*. 2016)，Peak 2 之質譜則符合 *p*-coumaryl diacetate (CDA) 之質譜描述 (Noro *et al*. 1988; Yang & Eilerman 1999)。

討論

我國中央健保署使用治療痛風的第一線降尿酸藥物「allopurinol」，其機制是抑制 XO 活性，因有造成嚴重藥物過敏反應「史帝芬-強生症候群」的風險，使醫師用藥有所顧忌，因此自 103 年 3 月 1 日起，將原第二線藥物

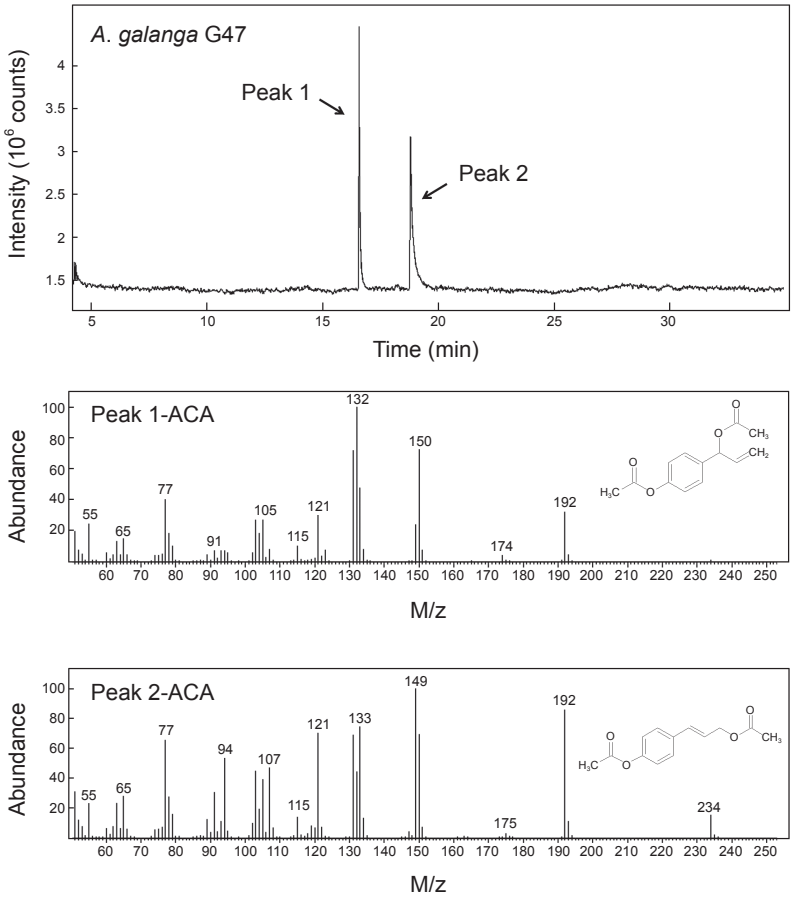


圖 2. 大南薑根莖酒精萃取物 HPLC 區分物 G47 之 GC-MS 層析圖以及質譜圖。

Fig. 2. GC-MS chromatograms and mass spectrums of HPLC fractions G47 separated from ethanol extracts of *Alpinia galanga* rhizomes.

febuxostat (價格較高) 開放給有尿酸性尿路結石或尿酸性腎結石之慢性痛風病人可於第一線使用。然而，包含 febuxostat 在內，其他治療痛風的藥物如 benzbromarone、probenecid、sulfinpyrazone 等，亦都有各式不同的副作用 (Boger & Strickland 1955; Kaegi *et al*. 1974; Love *et al*. 2010)，同時這些藥物均僅適用於已有慢性痛風症狀之病患，用以維持痛風不發作，無法預防高尿酸血症之發生。尋找適當天然可日常食用的食材，調降尿酸、降低痛風發生的機率，就成為一個極佳的保健策略。同時，XO 是超氧化物的產生酵素 (superoxide-producing enzyme)，高活性時容易升高體內的氧化壓力，所以適度的抑制其活性有利於人體的整體健康 (Liu *et al*. 2012)。

許多研究報告同樣是針對抑制 XO 酵素的活性，於各地的民俗青草藥中尋找可以治療痛風的植物，這些研究來自中國 (Kong *et al*. 2000)、澳洲 (Sweeney *et al*. 2001)、越南 (Nguyen *et al*. 2004) 及巴拿馬 (Gonzalez *et al*. 1995) 等國家。台灣融合華人及南島文化，民間利用的民俗青草藥種類繁多，但尚無一研究進行較大規模之抑制 XO 活性篩選。本研究從 24 種台灣民俗青草藥材料製備的 28 種萃取物中，發現大南薑根莖及仙草「台 E」的酒精萃取物具有最佳之 XO 抑制活性 (表 1)。

檢索文獻發現前人已經證實大南薑根莖之酒精萃取物具有抑制 XO 之活性 (Noro *et al*.

1988；Yumita *et al*. 2013)，本研究則進一步試驗不同溶劑的效應，顯示大南薑根莖之甲醇及正己烷萃取物亦具有抑制 XO 之活性，水萃取物則無 XO 抑制活性 (表 2)。大南薑莖葉之水及酒精萃取物皆無抑制 XO 活性 (表 1)，顯示大南薑之活性成份主要儲存於根莖。

以 GC-MS 分析大南薑酒精萃取物抑制 XO 活性最高的區分物，發現包含 2 個主要化合物：ACA 及 CDA (圖 2)。ACA 及 CDA 為大南薑根莖中之已知成分 (Yang & Eilerman 1999)，且已經證實兩者均為良好的 XO 抑制劑， 其 IC_{50} 與 Allopurinol 相 近 (Noro *et al*. 1988)，據此推測 ACA 及 CDA 很可能為本研究中，大南薑抑制 XO 活性之主要成分。ACA 的功效被研究得相當廣泛，目前已知具有護腦 (Kojima-Yuasa *et al*. 2016)、抗癌 (Moffatt *et al*. 2000; Ito *et al*. 2005; Yaku *et al*. 2011)、抗氣喘 (Seo *et al*. 2013)、抗過敏 (Matsuda *et al*. 2003)、抗肥胖 (Ohnishi *et al*. 2012) 等諸多功效。相較於 ACA，CDA 的研究較少，目前僅知可能具有抗菌的效果 (Aziz *et al*. 2013)。然而不論 ACA 或 CDA，迄今都尚無動物或人體研究報告驗證是否具有治療痛風或高尿酸血症之功效。大南薑根莖酒精萃取物幾無急毒性及慢性毒性 (Qureshi *et al*. 1992)，其活性成分 ACA 也被認為不影響正常細胞生長 (In *et al*. 2012)，若未來於動物及人體實驗驗證其具有調節尿酸之功效，大南薑根莖酒精萃取物將有潛力開發為預防高尿酸血症及痛風之保健產品或新藥。

除 ACA 及 CDA 之外，前人曾在大南薑根莖氯仿萃取物中發現另外 3 種化合物具有抑制 XO 的活性，包括 coniferyl diacetate、(1'*S*)-1'-acetoxyeugenol acetate 及 4-hydroxybenzaldehyde (Noro *et al*. 1988)。然而在 G47 的質譜中，並無發現這 3 種化合物的特徵片段 (圖 2)，推測使用不同的萃取溶劑 (該研究使用氯仿，本研究使用 95% 酒精)，有效成分的組成可能因此不同。大南薑根莖富含類薑黃素 BDMC (Lo *et al*. 2013)，此分子具有抗癌、抗氧化活性 (Huang *et al*. 1995; Sandur *et al*. 2007; Pei *et al*. 2016)，然而本研究證實 BDMC 並無抑制 XO 的活性 (表 1)，G47 的質譜亦沒有發現 BDMC 的特徵片段，顯示確實不是大南薑根莖抑制 XO 的活性成分。

本研究發現仙草的酒精萃取物也具有些許抑制 XO 的活性。仙草在民間被認為有利尿的功效 (Lai *et al*. 2001) ，亦有報導仙草酒精萃取物可減輕大鼠高尿酸血症 (Jhang *et al*. 2016)，所以仙草可能也具有開發作為調節尿酸產品之潛力。值得注意的是，不同仙草品種的 XO 抑制效果差異極大，本研究所使用的 3 種仙草品系中，「台 E」的酒精萃取物具有較強的抑制 XO 活性，其他 2 種品系「桃園 2 號」及「農試 1 號」的酒精萃取物則幾乎無抑制活性 (表 1)。仙草含有高量的酚類及類黃酮 (Jhang *et al*. 2016)，而許多酚類及類黃酮被認為有抑制 XO 的效果 (Bindoli *et al*. 1985; Pauff & Hille 2009)。但是 Jhang *et al*. (2016) 認為仙草抑制 XO 之活性成分可能並非酚類及類黃酮，仙草抑制 XO 之活性成分仍需進一步研究。

誌謝

本研究承蒙中央研究院植物暨微生物學研究所謝明勳副研究員、吳玉菁小姐，以及中央研究院農業生物科技研究中心代謝體實驗室林芝毓博士協助進行 GC-MS 分析，謹致謝忱。

引用文獻

Aziz, A. N., H. Ibrahim, D. Rosmy Syamsir, M. Mohtar, J. Vejayan, and K. Awang. 2013. Antimicrobial compounds from *Alpinia conchigera*. J. Ethnopharmacol. 145:798−802.

Bindoli, A., M. Valente, and L. Cavallini. 1985. Inhibitory action of quercetin on xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase activity. Pharmacol. Res. Commun. 17:831−839.

Boger, W. P. and S. C. Strickland. 1955. Probenecid (Benemid): Its uses and side-effects in 2,502 patients. A.M.A. Arch. Intern. Med. 95:83−92.

Cameron, J. S., F. Moro, and H. A. Simmonds. 1993. Gout, uric acid and purine metabolism in paediatric nephrology. Pediatr. Nephrol. 7:105−118.

Chang, S. J., Y. C. Ko, T. N. Wang, F. T. Chang, F. F. Cinkotai, and C. J. Chen. 1997. High prevalence of

gout and related risk factors in Taiwan's aborigines. J. Rheumatol. 24:1364−1369.

Chien, K. L., M. F. Chen, H. C. Hsu, W. T. Chang, T. C. Su, Y. T. Lee, and F. B. Hu. 2008. Plasma uric acid and the risk of type 2 diabetes in a Chinese community. Clin. Chem. 54:310−316.

Chou, C. T. and J. S. Lai. 1998. The epidemiology of hyperuricaemia and gout in Taiwan aborigines. Br. J. Rheumatol. 37:258−262.

Chuang, S. Y., S. C. Lee, Y. T. Hsieh, and W. H. Pan. 2011. Trends in hyperuricemia and gout prevalence: Nutrition and health survey in Taiwan from 1993−1996 to 2005−2008. Asia Pac. J. Clin. Nutr. 20:301−308.

Gonzalez, A. G., I. L. Bazzocchi, L. Moujir, A. G. Ravelo, M. D. Correa, and M. P. Gupta. 1995. Xanthine oxidase inhibitory activity of some Panamanian plants from Celastraceae and Lamiaceae. J. Ethnopharmacol. 46:25−29.

Huang, M. T., W. Ma, Y. P. Lu, R. L. Chang, C. Fisher, P. S. Manchand, H. L. Newmark, and A. H. Conney. 1995. Effects of curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin and tetrahydrocurcumin on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion. Carcinogenesis 16:2493−2497.

In, L. L., N. M. Arshad, H. Ibrahim, M. N. Azmi, K. Awang, and N. H. Nagoor. 2012. 1'-Acetoxychavicol acetate inhibits growth of human oral carcinoma xenograft in mice and potentiates cisplatin effect via proinflammatory microenvironment alterations. BMC Complement Altern. Med. 12:179.

Ito, K., T. Nakazato, M. J. Xian, T. Yamada, N. Hozumi, A. Murakami, H. Ohigashi, Y. Ikeda, and M. Kizaki. 2005. 1'-acetoxychavicol acetate is a novel nuclear factor kappa B inhibitor with significant activity against multiple myeloma *in vitro* and *in vivo*. Cancer Res. 65:4417−4424.

Jhang, J. J., J. W. Ong, C. C. Lu, C. L. Hsu, J. H. Lin, J. W. Liao, and G. C. Yen. 2016. Hypouricemic effects of *Mesona procumbens* Hemsl. through modulating xanthine oxidase activity *in vitro* and *in vivo*. Food Funct. 7:4239−4246.

Johnson, R. J., D. H. Kang, D. Feig, S. Kivlighn, J. Kanellis, S. Watanabe, K. R. Tuttle, B. Rodriguez-Iturbe, J. Herrera-Acosta, and M. Mazzali. 2003. Is there a pathogenetic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease? Hypertension 41:1183−1190.

Kaegi, A., G. F. Pineo, A. Shimizu, H. Trivedi, J. Hirsh, and M. Gent. 1974. Arteriovenous-shunt thrombosis: Prevention by sulfinpyrazone. N. Engl. J. Med. 290:304−306.

Kim, H. I., S. W. Kim, G. Y. Park, E. G. Kwon, H. H. Kim, J. Y. Jeong, H. H. Chang, J. M. Lee, and N. S. Kim. 2012. Causes and treatment outcomes of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in 82 adult patients. Korean J. Intern. Med. 27:203−210.

Kojima-Yuasa, A., T. Yamamoto, K. Yaku, S. Hirota, S. Takenaka, K. Kawabe, and I. Matsui-Yuasa. 2016. 1'-Acetoxychavicol acetate ameliorates age-related spatial memory deterioration by increasing serum ketone body production as a complementary energy source for neuronal cells. Chem. Biol. Interact. 257:101−109.

Kong, L. D., Y. Cai, W. W. Huang, C. H. Cheng, and R. X. Tan. 2000. Inhibition of xanthine oxidase by some Chinese medicinal plants used to treat gout. J. Ethnopharmacol. 73:199−207.

Lai, L. S., S. T. Chou, and W. W. Chao. 2001. Studies on the antioxidative activities of Hsian-tsao (*Mesona procumbens* Hemsl.) leaf gum. J. Agric. Food Chem. 49:963−968.

Latha, C., V. D. Shriram, S. S. Jahagirdar, P. K. Dhakephalkar, and S. R. Rojatkar. 2009. Antiplasmid activity of 1'-acetoxychavicol acetate from *Alpinia galanga* against multi-drug resistant bacteria. J. Ethnopharmacol. 123:522−525.

Lin, L. Y., K. H. Shen, X. Y. Yeh, B. Y. Huang, H. E. Wang, K. C. Chen, and R. Y. Peng. 2016. Integrated process for production of galangal acetate, the "wasabi-like" spicy compound, and analysis of essential oils of rhizoma *Alpinia officinarum* (Hance) Farw. J. Food Sci. 81:H1565−1575.

Liu, S., J. Xing, Z. Zheng, F. Song, Z. Liu, and S. Liu. 2012. Ultrahigh performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry inhibitors fishing assay: A novel method for simultaneously screening of xanthine oxidase inhibitor and superoxide anion scavenger in a single analysis. Anal. Chim. Acta. 715:64−70.

Lo, C. Y., P. L. Liu, L. C. Lin, Y. T. Chen, Y. C. Hseu, Z. H. Wen, and H. M. Wang. 2013. Antimelanoma and antityrosinase from *Alpinia galangal* constituents. Scientific World J. 2013:1−5.

Love, B. L., R. Barrons, A. Veverka, and K. M. Snider. 2010. Urate-lowering therapy for gout: Focus on febuxostat. Pharmacotherapy 30:594−608.

Massey, V., H. Komai, G. Palmer, and G. B. Elion. 1970. On the mechanism of inactivation of xanthine oxidase by allopurinol and other pyrazolo [3,4-d] pyrimidines. J. Biol. Chem. 245:2837−2844.

Matsuda, H., T. Morikawa, H. Managi, and M. Yoshikawa. 2003. Antiallergic principles from *Alpinia ga-*

langa: Structural requirements of phenylpropanoids for inhibition of degranulation and release of TNF-α and IL-4 in RBL-2H3 cells. Bioorg. Med. Chem. Lett. 13:3197−3202.

Mockenhaupt, M. 2011. The current understanding of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. Expert Rev. Clin. Immunol. 7:803−813.

Moffatt, J., M. Hashimoto, A. Kojima, D. O. Kennedy, A. Murakami, K. Koshimizu, H. Ohigashi, and I. Matsui-Yuasa. 2000. Apoptosis induced by 1'-acetoxychavicol acetate in Ehrlich ascites tumor cells is associated with modulation of polyamine metabolism and caspase-3 activation. Carcinogenesis 21:2151−2157.

Nguyen, M. T., S. Awale, Y. Tezuka, Q. L. Tran, H. Watanabe, and S. Kadota. 2004. Xanthine oxidase inhibitory activity of Vietnamese medicinal plants. Biol. Pharm. Bull. 27:1414−1421.

Noro, T., T. Sekiya, M. Katoh, Y. Oda, T. Miyase, M. Kuroyanagi, A. Ueno, and S. Fukushima. 1988. Inhibitors of xanthine oxidase from *Alpinia galanga*. Chem. Pharm. Bull. 36:244−248.

Ohnishi, R., I. Matsui-Yuasa, Y. Deguchi, K. Yaku, M. Tabuchi, H. Munakata, Y. Akahoshi, and A. Kojima-Yuasa. 2012. 1'-Acetoxychavicol acetate inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and in high fat-fed rats. Amer. J. Chin. Med. 40:1189−1204.

Pauff, J. M. and R. Hille. 2009. Inhibition studies of bovine xanthine oxidase by luteolin, silibinin, quercetin, and curcumin. J. Nat. Prod. 72:725−731.

Pei, H., Y. Yang, L. Cui, J. Yang, X. Li, Y. Yang, and H. Duan. 2016. Bisdemethoxycurcumin inhibits ovarian cancer via reducing oxidative stress mediated MMPs expressions. Sci. Rep. 6. doi:10.1038/srep28773.

Quinones Galvan, A., A. Natali, S. Baldi, S. Frascerra, G. Sanna, D. Ciociaro, and E. Ferrannini. 1995. Effect of insulin on uric acid excretion in humans. Amer. J. Physiol. 268:E1−5.

Qureshi, S., A. H. Shah, and A. M. Ageel. 1992. Toxicity studies on *Alpinia galanga* and *Curcuma longa*. Planta Med. 58:124−127.

Ramallo, I. A., S. A. Zacchino, and R. L. Furlan. 2006. A rapid TLC autographic method for the detection of xanthine oxidase inhibitors and superoxide scavengers. Phytochem. Anal. 17:15−19.

Sandur, S. K., M. K. Pandey, B. Sung, K. S. Ahn, A. Murakami, G. Sethi, P. Limtrakul, V. Badmaev, and B. B. Aggarwal. 2007. Curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin, tetrahydrocurcumin and turmerones differentially regulate anti-inflammatory and anti-proliferative responses through a ROS-independent mechanism. Carcinogenesis 28:1765−1773.

Seo, J. W., S. C. Cho, S. J. Park, E. J. Lee, J. H. Lee, S. S. Han, B. S. Pyo, D. H. Park, and B. H. Kim. 2013. 1'-Acetoxychavicol acetate isolated from *Alpinia galanga* ameliorates ovalbumin-induced asthma in mice. PLoS One 8(2):e56447.

Stamp, L. K., J. L. O'Donnell, and P. T. Chapman. 2007. Emerging therapies in the long-term management of hyperuricaemia and gout. Intern. Med. J. 37:258−266.

Sweeney, A. P., S. G. Wyllie, R. A. Shalliker, and J. L. Markham. 2001. Xanthine oxidase inhibitory activity of selected Australian native plants. J. Ethnopharmacol. 75:273−277.

Weerakkody, N. S., N. Caffin, L. K. Lambert, M. S. Turner, and G. A. Dykes. 2011. Synergistic antimicrobial activity of galangal (*Alpinia galanga*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and lemon iron bark (*Eucalyptus staigerana*) extracts. J. Sci. Food Agric. 91:461−468.

Yaku, K., I. Matsui-Yuasa, H. Azuma, and A. Kojima-Yuasa. 2011. 1'-Acetoxychavicol acetate enhances the phase II enzyme activities via the increase in intranuclear Nrf2 level and cytosolic p21 level. Amer. J. Chin. Med. 39:789−802.

Yang, X. and R. G. Eilerman. 1999. Pungent principal of *Alpinia galangal* (L.) swartz and its applications. J. Agric. Food Chem. 47:1657−1662.

Yumita, A., A. G. Suganda, and E. Y. Sukandar. 2013. Xanthine oxidase inhibitory activity of some Indonesian medicinal plants and active fraction of selected plants. Intl. J. Pharm. Sci. 5:293−296.

Inhibitory Activity of *Alpinia galanga* Rhizomes on Xanthine Oxidase

Tzu-Huan Hung[1], Jui-Sheng Lai[2], Su-Yue Lin[3], Chieh Yang[3], and Ya-Lin Lee[4,*]

Abstract

Hung, T. H., J. S. Lai, S. Y. Lin, C. Yang, and Y. L. Lee. 2017. Inhibitory activity of *Alpinia galanga* rhizomes on xanthine oxidase. J. Taiwan Agric. Res. 66(4):333–342.

Hyperuricemia is a risk factor for causing gout, diabetes and some metabolic diseases. The reduction of uric-acid biosynthesis and alleviating the symptom of hyperuricemia may be intervened by inhibiting the xanthine oxidase (XO) activity. In this study, the XO inhibitory activity of ethanol or water extracts of 24 indigenous medical plants were evaluated. Results showed that the ethanol extract of *Alpinia galanga* rhizomes possessed the best XO inhibitory activity. The ethanol extract of *Mesona procumbens* line 'Tai E' showed mild activity as well. The active XO inhibitors in the *A*. *galanga* rhizomes were suggested to be (1'*S*)-1'-acetoxychavicol acetate and *p*-coumaryl diacetate based on the analytical results of gas chromatography-mass spectrum (GC-MS). Both compounds were reported exhibiting similar XO inhibitory activities as allopurinol, a common medicine for hyperuricemia treatment. These results suggest that *A*. *galanga* is a potential herb for developing functional food or therapeutic agent to regulate the biosynthesis of uric acid.

Key words: Hyperuricemia, Xanthine oxidase, Inhibitory activity, *Alpinia galangal*.

Received: January 5, 2017; Accepted: April 14, 2017.
* Corresponding author, e-mail: ylleet@tari.gov.tw
[1] Assistant Research Fellow, Biotechnology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.
[2] Assistant Research Fellow, Crop Improvement Division, Miaoli District Agricultural Research and Extension Station, Miaoli, Taiwan, ROC.
[3] Research Assistants, Biotechnology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.
[4] Associate Research Fellow, Biotechnology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.