



Inhibitors of Antigen-induced Degranulation of RBL-2H3 Cells Isolated from *Amomum tsao-ko*

Wonsik Jeong¹ · Seong Su Hong¹ · Sun-Mi Park¹ · Jung A Lee¹ · Ju-Hyoung Park² · Eun-Kyung Ahn¹ · Chun Whan Choi¹ · Joa Sub Oh²

초과(草果)의 RBL-2H3 세포 항원 유도 탈과립 억제성분

정원식¹ · 홍성수¹ · 박선미¹ · 이정아¹ · 박주형² · 안은경¹ · 최춘환¹ · 오좌섭²

Received: 4 November 2020 / Accepted: 28 December 2020 / Published Online: 31 March 2021
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2021

Abstract Bioactivity-guided fractionation of EtOH extract of the dried fruits of *Amomum tsao-ko* led to isolation of three compounds (1-3). Their structures were elucidated by spectroscopic methods (MS, 1D and 2D-NMR) and comparison with literature values, as naringenin-5-*O*-methyl ether (1), helichrysetin (2), and cardamomin (3). Compound 2 was obtained from the genus *Amomum* for the first time. Among them, compounds 2 and 3 inhibited on the release of β -hexosaminidase from RBL-2H3 cells, with 99.1 and 21.3% at the concentration of 50 μ M, respectively.

Keywords *Amomum tsao-ko* · β -hexosaminidase · Flavonoid · RBL-2H3

서론

초과(草果, *Amomum tsao-ko*)는 생강과에 속하고 예로부터 향신료, 조미료, 그리고 중국 전통 의학으로 사용되어 왔으며[1,2] 따뜻하고 매운 성질의 초과는 전통적으로 소화불량, 위장병, 거담, 말라리아, 메스꺼움, 구토, 설사 그리고 복통 등에 사용해 왔다[3-5]. 이 식품에 대한 성분 연구로는 terpenoids, phenolic compounds, flavonoids, carbaldehydes, sterols, diaryheptanoids, benzaldehyde 및 cycloterpenals 등이 보고되어 있으며[6-11], 이들 성분중에서 He 등[12]은 diaryheptanoids 계열 amomutsaokols A-K에서 α -glucosidase 억제 활성(He 등 2020)과, Kim 등[13]은 pyranoflavanone과 pyranochalcone 계열 화합물로부터 강력한 nitric oxide 생성 억제 활성을 보고하였다. 또한, 초과의 생리활성 연구로는 항염, 항산화, 항진균 및 항비만 효능 등이 알려져 있다 [1,11,14-16]. IgE가 관여하여 일어나는 제 1형 과민반응은 allergy 또는 아토피 반응으로 불리우며, 아토피 질환, 천식, allergy성 비염 등을 포함하는 가장 흔한 만성 면역계 질환이다 [17]. 비만세포는 대부분의 allergy 질환에 중요한 역할을 하는 세포로 알려져 있으며, 항원과 항체의 결합을 통하여 활성화되며 세포의 과립 내에 저장되어 있던 히스타민, 염중축진 사이토카인과 케모카인, 류코트리엔, 그리고 프로스타글란딘과 같은 allergy 유발물질을 분비한다[18]. 따라서, allergy 유발물질의 탈과립 억제를 통한 비만세포 활성화 조절은 allergy 반응의 약물 개발에 중요한 자료로 활용될 수 있을 것이다[19]. Allergy 질환의 예방을 위한 기준에 연구된 천연물 소재로는 충울자(*Leonurus sibiricus*) 추출물[20], 검정콩 껍질 유래 안토시아닌[21], 곰솔(*Pinus thunbergii*)로부터 분리한 neolignane 등[22]이 보고되었다. 본 연구에서는 초과(草果)의 성분 및 효능에 대한 연구를 수행하였으며 에탄올 추출물로부터 분리 정제된 화합물의 RBL-2H3 세포로부터 탈과립 억제 활성을 확인하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

W. Jeong and S. S. Hong contributed equally.

Joa Sub Oh (✉)
E-mail: jaoh@dankook.ac.kr

¹Bio-Center, Gyeonggido Business & Science Accelerator (GBSA), Suwon, Gyeonggi 16229, Republic of Korea

²College of Pharmacy, Dankook University, Cheonan, Chungnam 31116, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

재료 및 방법

실험 재료

실험에 사용한 초과(草果)는 2012년 2월 서울 경동시장에서 구입하여 교신저자인 오좌섭 교수로부터 형태학적 평가를 통하여 동정 받은 후 사용하였으며, 표본(G47)은 (재)경기도경제과학진흥원 천연물연구팀 표본실에 보관하고 있다.

시약 및 기기

비선광도는 JASCO P-2000 polarimeter (Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. Nuclear magnetic resonance (NMR)은 Bruker Ascend III 700 (700 MHz, cryoprobe) spectrometer (Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten, Germany)를 이용하여 측정하였으며, Electrospray ionization (ESI) mass는 LTQ Orbitrap XL mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific Inc., MA, Waltham, USA)를 사용하였다. TLC plate는 Merck의 Kiesel gel 60 F₂₅₄ (0.25 mm, Darmstadt, Germany) 또는 RP-18_{254S} (0.25 mm)를 사용하였다. 컬럼 충전제는 실리카겔 60 (70-230 Mesh, Merck KGaA), 실리카겔 60 (230-400 Mesh, Merck KGaA), ODS-A (12 nm S-75 µm, YMC GEL), Sephadex™ LH-20 (GE Healthcare, IL, Chicago, USA)를 사용하였다. 발색시약으로는 10% vanillin/H₂SO₄ (in EtOH) 시약을 사용하였으며, UV의 검색은 254와 365 nm에서 확인하였다. 추출, 분획 및 컬럼 크로마토그래피에 사용한 모든 용매는 1급 시약을 사용하였다. 물은 초순수제조장치(Cascade™ RO water, Pall Corporation, NY, Port Washington, USA)를 이용하여 3차 증류수를 사용하였다.

추출 및 분리

건조분말 초과(草果) 5 kg에 80% 에탄올 (2×30 L)를 가하여 24 시간동안 냉침 추출하였다. 그 후 추출물을 여과하여 농축기 (Rotavapor R-250, Büchi Labortechnik GmbH, Flawil, Switzerland)로 40 °C에서 감압농축 하여 EtOH 추출물 219 g을 확보하였다. 농축된 시료에 대하여 증류수 500 mL을 가하여 현탁시키고 상법에 따라 동량의 methylene chloride (CH₂Cl₂), ethyl acetate (EtOAc) 및 *n*-BuOH 순으로 용매 분획한 후 농축시켜 CH₂Cl₂ 가용성 분획 66 g, EtOAc 가용성 분획 18 g, 및 *n*-BuOH 가용성 분획 50 g을 얻었다. CH₂Cl₂ 가용물을 다시 *n*-hexane에 현탁시키고 50% (32 g), 70% (8 g), 90% MeOH (12 g), 및 *n*-hexane (10 g) 순으로 각각 분획하였다. 항알러지 효과가 있는 70% MeOH 가용물에 대하여 CHCl₃-MeOH혼합용매를 이동상 (1:0→1:1, v/v, 2 L)으로 하여 silica gel (70-230 Mesh, Merck, Germany)을 이용한 컬럼 크로마토그래피(ø8×30 cm)를 수행하여 7개의 소분획(G47-70M-1-7)으로 나누었다. G47-70M-4 소분획물(1.1 g)에 대하여 MeOH와 증류수 혼합용매를 이동상 (20:80→100:0, v/v, 500 mL)으로 하여 역상 ODS-A (12 nm S-75 µm, YMC GEL)을 이용한 VLC (vacuum liquid chromatography, ø16×6 cm)를 수행하여 6개의 소분획(G47-70M-4-1-6)을 얻었다. G47-70M-4-4 (150 mg)에 대하여 CHCl₃-MeOH 혼합용매를 이동상(20:1→6:1, v/v, 200 mL)으로 하여 silica gel (230-400 Mesh, Merck, Germany)을 이용한 컬럼 크로마토그래피(ø1.5×25 cm)를 수행하여 화합물 1 (3.2 mg)을 분리하였다. 소분획

G47-70M-4-3 (600 mg)에 대하여 CHCl₃-MeOH (1:1, v/v, 2 L) 혼합용매를 이동상으로 하여 Sephadex™ LH-20을 이용한 컬럼 크로마토그래피(ø4×150 cm)를 수행하여 화합물 2 (5.7 mg)와 3 (7.3 mg)을 각각 분리 정제하였다.

화합물 1 (naringenin-5-*O*-methyl ether): White amorphous powder; $[\alpha]_D^{24}$ -17.2 (*c* 0.1, CH₂Cl₂); UV (CH₃OH) λ_{max} nm (log ϵ): 226 (4.12), 283 (3.93), 323sh (3.25); ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 700 MHz): δ 7.29 (2H, d, *J*=8.5 Hz, H-2', 6'), 6.77 (2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3', 5'), 6.05 (1H, d, *J*=2.1 Hz, H-6), 5.95 (1H, d, *J*=2.1 Hz, H-8), 5.33 (1H, dd, *J*=12.6, 2.8 Hz, H-2), 3.73 (3H, s, OCH₃), 2.99 (1H, dd, *J*=16.8, 12.6 Hz, H_a-3), 2.48 (1H, dd, *J*=16.8, 2.8 Hz, H_b-3); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 175 MHz): δ 188.2 (C-4), 164.8 (C-7), 164.7 (C-9), 162.7 (C-5), 158.0 (C-4'), 129.8 (C-1'), 128.6 (C-2', 6'), 115.6 (C-3', 5'), 104.9 (C-10), 96.1 (C-8), 93.7 (C-6), 78.5 (C-2), 56.1 (OCH₃), 45.2 (C-3); ESIMS (negative ion mode) *m/z* 285 [M-H]⁻.

화합물 2 (helichrysetin): Yellow amorphous powder; UV (CH₃OH) λ_{max} nm (log ϵ): 364 (4.13); ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 700 MHz): δ 13.94 (1H, s, 2'-OH), 10.61 (1H, s, 4'-OH), 10.09 (1H, s, 4-OH), 7.67 (1H, d, *J*=15.4 Hz, H- α), 7.63 (1H, d, *J*=15.4 Hz, H- β), 7.57 (2H, dd, *J*=8.4 Hz, H-2, 6), 6.84 (2H, dd, *J*=8.4 Hz, H-3, 5), 6.01 (1H, d, *J*=2.1 Hz, H-5'), 5.91 (1H, d, *J*=2.1 Hz, H-3'), 3.88 (3H, s, OCH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 175 MHz): δ 191.7 (C=O), 166.3 (C-2'), 164.6 (C-4'), 162.5 (C-6'), 159.9 (C-4), 142.7 (C- β), 130.4 (C-2, 6), 125.9 (C-1), 123.7 (C- α), 115.9 (C-3, 5), 105.0 (C-1'), 95.8 (C-3'), 91.6 (C-5'), 55.9 (OCH₃); ESIMS (negative ion mode) *m/z* 285 [M-H]⁻.

화합물 3 (cardamomin): Yellow amorphous powder; UV (CH₃OH) λ_{max} nm (log ϵ): 343 (4.25); ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 700 MHz): δ 13.72 (1H, s, 2'-OH), 10.61 (1H, s, 4'-OH), 7.83 (1H, d, *J*=16.1 Hz, H- α), 7.72 (2H, dd, *J*=7.7, 1.4 Hz, H-2, 6), 7.66 (1H, d, *J*=16.1 Hz, H- β), 7.46 (3H, overlapped, H-3, 4, 5), 6.03 (1H, d, *J*=2.1 Hz, H-5'), 5.93 (1H, d, *J*=2.1 Hz, H-3'), 3.89 (3H, s, OCH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 175 MHz): δ 191.7 (C=O), 166.2 (C-2'), 165.0 (C-4'), 162.7 (C-6'), 141.7 (C- β), 134.9 (C-1), 130.3 (C-4), 129.0 (C-3, 5), 128.3 (C-2, 6), 127.5 (C- α), 105.1 (C-1'), 95.8 (C-3'), 91.7 (C-5'), 56.0 (OCH₃); ESIMS (negative ion mode) *m/z* 269 [M-H]⁻.

RBL-2H3 세포배양 및 탈과립화 측정

Rat basophilic leukemia 셀 라인인 RBL-2H3 세포주를 15% FBS, 100 unit/mL의 페니실린과 스트렙토마이신을 포함하는 MEM 배지와 37 °C, 5% CO₂ 조건에서 24 well plate에 2×10⁵ cells/well로 분주한 후 24시간 배양하였다. 상등액을 제거 후 25 ng/mL anti-DNP IgE가 포함된 MEM 배지를 넣고 4시간 배양 후 PIPES buffer 500 µL로 두 번 세척하고 4 mM MgCl₂, 5.6 mM glucose, 0.1% BSA를 포함시킨 PIPES buffer를 180 µL 넣고 10분 동안 배양하였다. 전 배양 후 실시예의

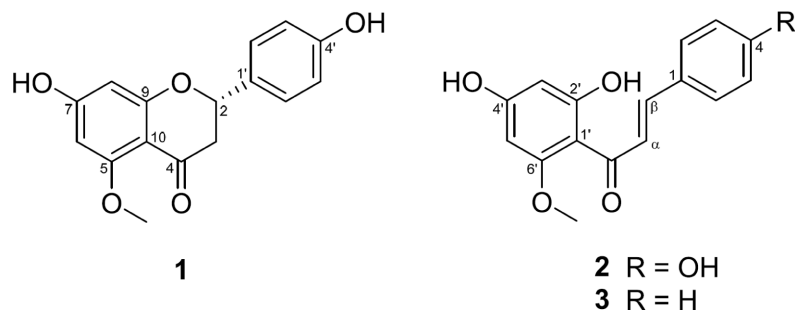


Fig. 1 Chemical structures of compounds 1-3 identified from the fruits of *A. tsao-ko*

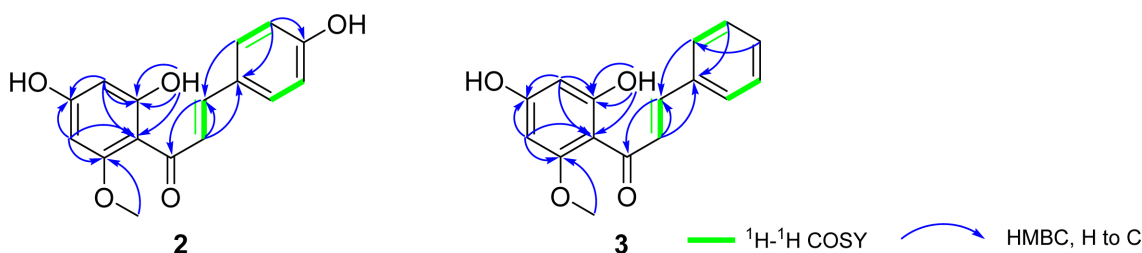


Fig. 2 Selected ¹H-¹H COSY and HMBC correlation of compounds 2 and 3

시료를 25, 50, 100 µg/mL의 농도로 20분간 처리 후 50 ng/mL DNP-BSA 20분간 반응시켰다. Ice에서 10분 방치하여 반응을 종결시킨 후 상등액을 30 µL씩 96 웰 플레이트에 넣고, 1 mM P-니트로페닐-아세틸-β-D-글루코사미나이드를 30 µL 넣은 후 37 °C에서 1시간 반응시켰다. stop solution (0.1 M NaHCO₃, 0.1 M Na₂CO₃)을 넣고 반응을 종결시킨 후 405 nm 파장대에서 ELISA 리더로 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

초과(草果)로부터 얻은 80% 에탄올 추출물에 대하여 통상적인 방법으로 분획하여 CH₂Cl₂, EtOAc 및 *n*-BuOH 분획물을 제조하였다. 이 중 CH₂Cl₂ 분획물에 대하여 *n*-hexane과 50, 70, 90% MeOH로 분획하였고, 70% MeOH 가용 분획물에 대하여 실리카겔, ODS, Sephadex LH-20 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 3종의 화합물을 분리, 정제하였다. 분리한 화합물은 1D-, 2D-NMR 및 MS 등의 기기분석 및 문헌과의 비교를 통하여 그 구조를 규명하였다(Fig. 1).

화합물 1은 흰색 무정형 분말로서 226, 283, 323sh nm의 UV 흡수극대치와 NMR 및 ESI-MS spectral data로부터 분자량 286 (*m/z* 285 [M-H]⁻)의 flavanone 화합물로 추정하였다 [23,24]. ¹H-NMR 스펙트럼의 δ_H 7.29 (2H, d, *J*=8.5 Hz) 및 6.77 (2H, d, *J*=8.5 Hz)에서 flavanone B-ring의 *p*-disubstituted benzene ring에 의한 signal이 관찰되었고, δ_H 6.05 (1H)와 5.95 (1H)에서 H-6 및 H-8 proton이 커플링 상수 *J*=2.1 Hz의 doublet으로 각각 나타났다. δ_H 5.33 (1H, dd, *J*=12.6, 2.8 Hz), 2.99 (dd, *J*=16.8, 12.6 Hz), 및 2.48 (dd, *J*=16.8, 2.8 Hz)에서 flavanone 유도체임을 알 수 있는 C-ring의 H-2, H_a-3, H_b-3 proton signal과, δ_H 3.73 (3H, s)에서 한 개의 methoxy

그룹을 각각 확인하였다. ¹³C-NMR와 DEPT 스펙트럼에서 *p*-disubstituted benzene ring의 중복된 탄소(δ_C 128.6과 115.6)와 δ_C 56.1의 methoxy 그룹을 포함하여 총 16개의 신호를 확인하였으며, HMBC 스펙트럼으로부터 methoxy 그룹의 수소(δ_H 3.87)가 C-5 (δ_C 163.2)와 correlation 하는 것을 통해 methoxy 그룹은 C-5 위치에 결합하고 있음을 결정하였다. 또한, C-2 위치의 stereochemistry는 H-2와 H-3 proton의 커플링 상수와 비선광도 측정치 ([α]_D²⁴ -17.2)를 문헌([α]_D²⁵ -14.0)과 비교하여 *S*-form임을 알 수 있었으며, 이상의 결과를 문헌과의 비교로 화합물 1은 naringenin-5-*O*-methyl ether로 구조를 규명하였다[25]. 화합물 2는 황색 무정형 분말로 분리, 정제되었으며, negative 이온 모드의 ESI-MS에서 285 [M-H]⁻의 이온 피크를 관찰하여 분자량은 286으로 확인하였다. UV spectrum에서 흡수극대파장 (λ_{max})이 364 nm에서 나타나 chalcone 계열에 속하는 것으로 예상되었다[26,27]. ¹H-NMR 스펙트럼에서 chalcone 골격의 C-α와 C-β 위치에 해당하는 한 쌍의 *trans* olefinic 수소를 δ_H 7.67 (1H, d, *J*=15.4 Hz, H-α)와 7.63 (1H, d, *J*=15.4 Hz, H-β)에서 확인하였고, *p*-disubstituted benzene ring의 수소 δ_H 7.57 (2H, d, *J*=9.1 Hz, H-2, 6)과 6.85 (2H, d, *J*=9.1 Hz, H-3, 5)를 관찰하였다. 또한, *meta*-coupling을 하고 있는 aromatic doublet 수소를 δ_H 6.03 (1H, d, *J*=2.1 Hz, H-5')과 5.93 (1H, d, *J*=2.1 Hz, H-3')에서, 한 개의 hydrogen-bonded hydroxy group [δ_H 13.94 (s)]과 methoxy 그룹 [δ_H 3.87 (3H, s)]을 확인하였다. ¹³C-NMR와 DEPT 스펙트럼에서 *p*-disubstituted benzene ring의 중복된 탄소를 포함하여 총 16개의 신호를 확인하였으며, 그 중 1개분에 해당하는 탄소를 포함하여 chalcone 골격에 methoxy 그룹 1개가 결합하고 있는 구조로 유추하였다. HMBC 스펙트럼에서 methoxy 그룹이 C-6'에 correlation (δ_H 3.87/δ_C 163.2) 하는 것을 통해 C-6'번 위치에 결합한 methoxy 그룹을 확인하였으며(Fig. 2), 이를 참고문헌과 비교하여 화합물

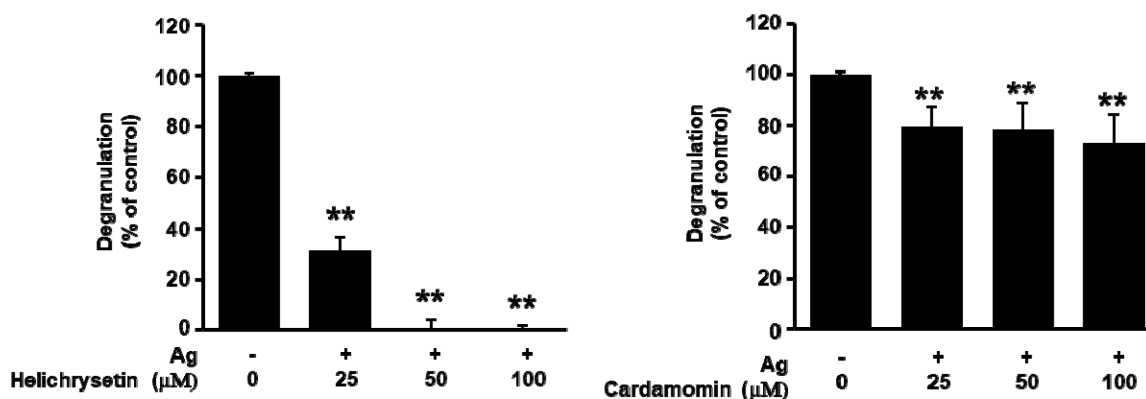


Fig. 3 Effect of helichrysetin (2) and cardamomin (3) on degranulation in RBL-2H3 cells. Cells were grown on 24 well plates (3×10^5 cells/well) and pretreated with compounds (25, 50, 100 μM) for 20 min, followed by antigen stimulation for 30 min. Degranulation was determined by measuring the activity of β -hexosaminidase as described in Materials and Method. Data are expressed as mean \pm SD, ** $p < 0.01$, compared with antigen-treated cells)

2를 helichrysetin (2',4,4'-trihydroxy-6'-methoxy chalcone)으로 규명하였다[28]. 이는 *Amomum*속 식물로부터 처음 분리, 보고되는 화합물이다.

화합물 3은 황색 무정형 분말로 분리되었으며, negative 이온 모드의 ESI-MS에서 269 [M-H]⁻의 이온 피크를 관찰하여 분자량은 270으로 확인하였다. UV spectrum에서 흡수극대파장 (λ_{max})이 343 nm에서 나타나 화합물 3 역시 chalcone 계열에 속하는 것으로 예상되었다[26,27]. 화합물 3의 ¹H 및 ¹³C-NMR 스펙트럼은 화합물 2와 유사하였다. 그러나 화합물 2와 달리 mono-substituted benzene ring에 기인하는 수소 δ_{H} 7.72 (2H, dd, $J=7.7, 1.4$ Hz, H-2, 6)와 7.45 (3H, overlapped, H-3, 4, 5)의 관찰과 ESI-MS에서도 amu 16의 차이로 화합물 2의 B 환에서 hydroxy 그룹이 결합된 화합물로 추정하였다. HMBC 스펙트럼에서 methoxy 그룹의 signal이 C-6'에 correlation (δ_{H} 3.88/ δ_{C} 163.2)하는 것을 확인하였고(Fig. 2), 참고문헌[29]과 비교하여 화합물 3은 cardamomin (2',4'-dihydroxy-6'-methoxy chalcone)으로 동정하였으며 이 식물에서 처음 분리, 보고되는 화합물이다. 초과 추출물에서 분리된 화합물 3종을 이용하여 항알러지 효능을 확인하기 위해 RBL-2H3 세포로부터 β -hexosaminidase assay를 수행한 결과 naringenin-5-*O*-methyl ether (1)은 탈과립화 억제 효과가 없었고 helichrysetin (2)와 cardamomin (3) 처리군에서는 β -hexosaminidase 억제 효과가 있는 것으로 나타났다(Fig. 3). Table S1에서 보는 바와 같이 helichrysetin (2)는 100 mM에서 99.7%이고 cardamomin (3)은 29.7%의 탈과립 억제 효과를 보였다. 이들 화합물 3종은 flavonoid 계열의 화합물로 그 중에서도 화합물 1은 flavanone 골격을 함유하며, 화합물 2와 3은 chalcone 골격으로 차이를 보이며 탈과립화 억제 효과는 chalcone 골격 화합물이 활성을 나타내었으나, 구조-효능 상관 관계를 규명하기에는 더 많은 화합물이 필요하다고 사료된다.

초 록

전통생약으로서 다양한 효능과 향신료, 조미료로서 사용되어온

초과(草果)의 항알러지 성분연구를 위해 80% 에탄올 추출물 중 CH_2Cl_2 , 분획으로부터 3 종의 flavonoid를 분리하였으며, 이들의 물리화학적 성상과 분광분석 데이터로부터 구조를 확인한 결과 naringenin-5-*O*-methyl ether (1), helichrysetin (2) 및 cardamomin (3)로 각각 동정하였다. 이들 화합물 중 화합물 2는 *Amomum*속으로부터 처음 규명되었고, 화합물 3은 이 식물에서 처음 보고되는 화합물이다. 또한 화합물 2와 3은 RBL-2H3 세포로부터 β -hexosaminidase assay를 수행한 결과 탈과립 억제효과를 나타내었다. 따라서 초과의 chalcone 성분은 탈과립 억제효과를 통하여 알러지 질환에 유용할 것으로 사료된다.

Keywords 초과 · *Amomum tsao-ko* · β -hexosaminidase · Flavonoid · RBL-2H3

감사의 글 본 논문은 농촌진흥청 연구사업(세부과제번호: PJ01323301)의 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

1. Moon SS, Lee JY, Cho SC (2004) Isotsaokoin, an antifungal agent from *Amomum tsao-ko*. *J Nat Prod* 67: 889–891
2. Yang Y, Yan RW, Cai XQ, Zheng ZL, Zou GL (2008) Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Amomum tsao-ko*. *J Sci Food Agric* 88(12): 2111–2116
3. Lim, TK (2013) Edible medicinal and non-medicinal plants. Springer 5: 813–816
4. Yu L, Shirai N, Suzuki H, Sugane N, Hosono T, Nakajima Y, Kajiwara M, Takatori K (2010) The effect of methanol extracts of tsao-ko (*Amomum tsao-ko* Crevost et Lemaire) on digestive enzyme and antioxidant activity *in vitro*, and plasma lipids and glucose and liver lipids in mice. *J Nutr Sci Vitaminol* 56: 171–176
5. Zhao ZZ, Xiao PG (2010) Encyclopedia of medicinal plants. World Publishing Corporation, Hong kong 4: 36–38
6. Hong SS, Lee JH, Choi YH, Jeong W, Ahn EK, Lym SH, Oh JS (2015) Amomum tsao-ko A-C, benzaldehyde and cycloterpenal from *Amomum tsao-ko*. *Tetrahedron Lett* 56: 6681–6684
7. Lee JY, Kim SH, Sung SH, Kim YC (2008) Inhibitory constituents of lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in BV2 microglia

- isolated from *Amomum tsao-ko*. *Planta Med* 74(8): 867–869
8. Lee JY (2003) Bioactive compounds from medicinal plant, *Amomum tsao-ko*: Isolation and chemical structures. Dissertation, Kong Ju University
 9. Teresita SM, Hiroe K, Masashi H, Nobuji N (2000) Constituents of *Amomum tsao-ko* and their radical scavenging and antioxidant activities. *JAOCS* 77(6): 667–673
 10. Wang W, Yang CR, Zhang YJ (2005) Phenolic constituents from the fruits of *Amomum tsao-ko* (Zingiberaceae). *Acta Bot Yunnan* 31(3): 284–288
 11. Yang Y, Yue Y, Runwei Y, Guolin Z (2010) Cytotoxic, apoptotic and antioxidant activity of the essential oil of *Amomum tsao-ko*. *Bioresour Technol* 101: 4205–4211
 12. He XF, Wang HM, Geng CA, Hu J, Zhang XM, Guo YQ, Chen JJ (2020) Amomutsaokols A–K, diarylheptanoids from *Amomum tsao-ko* and their α -glucosidase inhibitory activity. *Phytochemistry* 177: 112418/1–112418/10
 13. Kim JG, Jang H, Le TPL, Hong HR, Lee MK, Hing JT, Lee D, Hwang BY (2019) Pyranoflavanones and pyranochalcones from the fruits of *Amomum tsao-ko*. *J Nat Prod* 82: 1886–1892
 14. Kim MS, Ahn EK, Hong SS, Oh JS (2016) 2,8-Decadiene-1,10-diol inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory responses through inactivation of Mitogen-activated protein kinase and Nuclear Factor- κ B signaling pathway. *Inflammation* 39(2): 583–591
 15. Lee JA, Park YJ, Jeong W, Hong SS (2017) Anti-obesity effect of *Amomum taso-ko* ethanol extract in 3T3-L1 adipocytes. *J Appl Biol Chem* 60(1): 23–28
 16. Li B, Choi HJ, Lee DS, Oh H, Kim YC, Moon JY, Park WH, Park SD, Kim JE (2014) *Amomum tsao-ko* suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW264.7 macrophages via Nrf2-dependent heme oxygenase-1 expression. *Am J Chin Med* 42(5): 1229–1244
 17. Kawamoto Y, Kondo H, Hasegawa M, Kurimoto C, Ishii Y, Kato C, Botei T, Shinya M, Murate T, Ueno Y, Kawabe M, Goto Y, Yamamoto R, Iida M, Yajima I, Ohgami N, Kato M, Takeda K (2019) Inhibition of mast cell degranulation by melanin. *Biochem Pharmacol* 163: 178–193
 18. Nugrahini AD, Ishida M, Nakagawa T, Nishi K, Sugahara T (2019) Anti-degranulation activity of caffeine: *In vitro* and *in vivo* study. *J Funct Foods* 60: 103422/1–103422/8
 19. Hu J, Chen Y, Zhu J, Gao M, Li J, Song Z, Xu H, Wang Z (2020) Anti-degranulation response of herbal formula in RBL-2H3 cells. *Micron* 130: 102819/1–102819/6
 20. Jung Y, Jeon Y, Kim HJ, Kang KS, Kim YK, Kim SN (2014) Anti-allergic and anti-inflammatory effect of *Leonurus sibiricus* seed ethyl acetate fractions. *Yakhak Hoeji* 58(5): 294–299
 21. Chung MJ, Ha TJ, Choi HN, Lee JS, Park YI (2011) Inhibitory effects of anthocyanins isolated from black soybean (*Glycine max* L.) seed coat on degranulation and cytokine generation in RBL-2H3 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40(12): 1662–1667
 22. Hong SS, Jeong W, Kim JK, Kwon JG, Lee JY, Ahn EK, Oh J, Seo DW, Oh JS (2014) Neolignan inhibitors of antigen-induced degranulation in RBL-2H3 cells from the needles of *Pinus thunbergii*. *Fitoterapia* 99: 347–351
 23. Li X, Zhu LJ, Chen JP, Shi CY, Niu LT, Zhang X, Yao XS (2019) C-Methylated flavanones from the rhizomes of *Matteuccia intermedia* and their α -glucosidase inhibitory activity. *Fitoterapia* 136: 104147/1–104147/10
 24. Passreiter CM, Suckow-Schnitker AK, Kulawik A, Addae-Kyereme J, Wright CW, Wätjen XW (2015) Prenylated flavanone derivatives isolated from *Erythrina addisoniae* are potent inducers of apoptotic cell death. *Phytochemistry* 117: 237–244
 25. Kim JG, Le TPL, Hong HR, Han JS, Ko JH, Lee SH, Lee MK, Hwang BY (2019) Nitric oxide inhibitory constituents from the fruits of *Amomum tsao-ko*. *Nat Prod Sci* 25(1): 76–80
 26. Yoshimura M, Sano A, Kamei, JI, Obata A (2009) Identification and quantification of metabolites of orally administered naringenin chalcone in rats. *J Agric Food Chem* 57(14): 6432–6437
 27. Iwase Y, Takahashi M, Takemura Y, Ju-Ichi M, Ito C, Furukawa H, Yano M (2001) Isolation and identification of two new flavanones and a chalcone from *Citrus kinokuni*. *Chem Pharm Bull* 49(10): 1356–1358
 28. Aponte JC, Castillo D, Estevez Y, Gonzalez G, Arevalo J, Hammond GB, Sauvain M (2010) *In vitro* and *in vivo* anti-Leishmania activity of polysubstituted synthetic chalcones. *Bioorg Med Chem Lett* 20: 100–103
 29. Potipiranun T, Adisakwattana S, Worawalai W, Ramadhan R, Phuwapraisirisan P (2018) Identification of pinocembrin as an anti-glycation agent and α -glucosidase inhibitor from fingerroot (*Boesenbergia rotunda*): the tentative structure-activity relationship towards mg-trapping activity. *Molecules* 23(12): 3365/1–3365/13