사군자추출분말(HU033)의 Quisqualic Acid 성분 분석법 검증

— 연구노트 —

김명일 · 윤지수 · 오명환 · 손락호 · 연성흠

(주)휴온스

Validation of Analytical Method of Quisqualic Acid for Standardization of *Quisqualis indica* Extract Powder (HU033)

Myeong-Il Kim, Ji-Soo Yoon, Myeong-Hwan Oh, Rak-Ho Son, and Sung-Hum Yeon

R&D Center, Huons Co., Ltd.

ABSTRACT In the current study, high performance liquid chromatography was used to validate and establish a method for identification of quisqualic acid (QA) in *Quisqualis indica* extract powder (HU033), which is widely used in health functional foods. Sample preparation was achieved by applying *o*-phthalaldehyde derivatization and protein hydrolysis. Analysis was performed on a C18 column with a gradient elution containing a mixture of sodium acetate (0.01 M, pH 4.6) and acetic acid (0.2 M) in water, and a flow rate of 1.0 mL/min methanol, detected at 338 nm. Method validation was achieved by measuring the specificity, linearity, accuracy and precision. Calibration curve of QA showed high linearity ($R^2=1$), and limits of detection and quantification were determined to be 1.0 and 3.0 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Recovery rate ranged from 98.66% to 101.11%, and QA content in HU033 was approximately 1.09%. Based on these results, we conclude that the developed method can be applied for quantifying QA in *Quisqualis indica* extract powder (HU033).

Key words: HPLC method, HU033, quisqualic acid, *Quisqualis indica*, validation

서 론

사군자(*Quisqualis indica* Linne.)는 사군자과에 속하는 덩굴나무로 미얀마, 말레이시아 등이 원산지인 식물이며, 특히 꽃이 아름답고 향기가 좋아 필리핀, 인도 등에서는 정원 관상용으로 많이 재배되는 식물이다(Sahu 등, 2012; Bairagi 등, 2012a). 사군자 나무는 2.5~8 m까지 성장하며(Pitchaiah 등, 2012) 전체적인 모양은 타원형~난원형으로 약용 부위인 열매는 5줄의 종름이 있고 흑갈색~자흑색을 띠며 길이 2.5~3 cm의 좁은 타원형이다. 예로부터 전통적인 약초로 널리 사용되는 사군자 열매는 약리학적으로는 항염, 해열, 항산화, 항균, 구충제, 면역 기능 조절 등의 약리활성을 가지는 것으로 알려져 있다(Pitchaiah 등, 2012; Anusree 등, 2016; Bose 등, 2009). 또한 기침, 설사, 신체통증, 구충제, 치통, 심혈관계 질환 등 다양한 질병에서 단독 혹은 다른 성분과 혼합하여 사용되어 왔다(Bairagi 등, 2012a). 이러한 사군자의 주요 성분으로는 alkaloid, glycoside, flavonoid, tannin, amino acid 등이 있는 것으로

알려져 있고, 특히 함유된 화합물인 tannin, alkaloid, saponin, flavonoid 등이 이질, 설사를 개선하는 것으로 연구가 보고되었다(Singh 등, 2013; Lin 등, 1997; Bairagi 등, 2012b). 사군자가 함유한 아미노산은 L-proline, L-asparagine 등이 있으며, 이들은 각각 콜라겐 생성을 촉진하고 알코올성 간 손상에 효능이 있는 것으로 보고되었다(Sahu 등, 2012). 함유된 아미노산의 일종으로 quisqualic acid는 사군자에서 처음 분리 정제된 아미노산으로 천연에서는 quisqualis종의 종자에 함유되어 있는 특유의 아미노산으로 분류된다(Shinozaki 등, 1974).

최근 전 세계적으로 노령인구 증가로 인해 고령화가 사회적 이슈로 대두됨에 따라(Cutler 등, 1990) 노년층 인구의 건강한 삶에 대한 관심도 함께 높아지고 있다. 이에 따라 건강기능식품에 대한 관심과 수요가 증가함과 동시에 남성 갱년기 질환에 대한 관심도 증가하고 있다(Jin과 Woo, 2012). 남성 갱년기란 남성의 연령이 증가하면서 경험하게 되는 성적 기능, 활력 저하 등의 전형적인 증상들과 혈중 테스토스테론 농도가 저하됨을 의미하는 것으로 대표적으로 전립선 비대이며 남성의 85% 이상이 겪는 흔한 비뇨 생식기 질환으로 알려져 있다(Lee 등, 2015; Wijerathne 등, 2017). 선행 연구로 사군자 열매의 전립선 비대에 관한 기능성 소재 가능성 검토를 시작으로 표준화된 원료 사군자추출분말(HU033)의 전임상 연구를 통해 전립선 건강 개선의 우수한 효능을 확인

하였다(Wijerathne 등, 2017; Baek 등, 2019).

이러한 사군자 열매를 건강기능식품 소재로 개발하는 데 있어 원료에 대한 표준화 연구는 반드시 필요하다. 표준화 연구란 천연물에 함유되어 있는 고유의 성분을 유효 혹은 지표성분으로 설정하고, 이에 대한 기준을 확립하여 생산 전반에 걸쳐 일정한 품질이 유지되도록 하는 기술과 정보의 관리를 말한다. 생산 공정에서 기능성 원료의 품질이 일정하게 유지되는 것을 확인하기 위해 지표성분을 설정하고 관리하는데 기준 규격을 설정하기 위해서는 분석법의 타당성 및 신뢰성이 검증되어야 한다. 지표성분 설정 시에는 특이성과 높은 함량이 중요한 요소이다. 본 연구에서는 천연에서 사군자에서만 발견되는 아미노산의 일종인 quisqualic acid를 지표성분으로 설정하였다. 사군자에 많이 함유된 quisqualic acid는 원생약 수입 시 타 원생약의 혼입을 사전에 근본적으로 방지하고, 생산 원료의 품질 관리 측면에서 절대적인 지표라 할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 사군자를 이용하여 건강기능식품 개별인정원료 개발을 위한 원료 표준화를 위해 지표성분 quisqualic acid의 분석법을 확립하였고, 이에 대한 분석법 밸리데이션을 실시하였다(KFDA, 2019).

재료 및 방법

실험재료

본 실험에서 사용한 사군자(*Q. indicia*)는 중국 쓰촨성에서 재배, 채취된 사군자를 조분쇄(Rotary Cutter Mill, Sung-chang Machinery Co., Ltd., Namyangju, Korea)하여 사용하였다. 70% 주정(Samchun Pure Chemical, Seoul, Korea)을 이용하여 80±5°C에서 6시간 동안 2회 반복 환류 추출(MS-EAMDSD 9704-06, Misung, Seoul, Korea)한 후 여과 및 농축(N-1300S-w, EYELA, Tokyo, Japan)하고 고형분 대비 100%의 텍스트린을 첨가하여 분말로 제조한 것을 시료(사군자추출분말; HU033)로 사용하였다. HU033은 50% 메탄올(Burdick&Jackson, Muskegan, MI, USA)에 녹여 0.45 µm membrane filter로 여과한 후 HPLC 분석에 사용하였다. 분석에 사용한 용매는 각각 HPLC급 메탄올과 증류수(Burdick&Jackson)를 사용하였다. 본 실험에 사용한 표준품 quisqualic acid와 유도체화 시약 phthaldialdehyde reagent는 Sigma Aldrich(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

표준용액 조제

표준품을 이용한 검량선 작성을 위해 quisqualic acid 표준품 8 mg을 취한 후 20 mL 정용플라스크를 이용하여 50% 메탄올을 넣고 50°C에서 30분 동안 초음파 추출 후 이를 표준원액으로 하였다. 제조된 표준원액을 이용하여 12.5, 25, 50, 100, 200, 400 µg/mL가 되도록 50% 메탄올로 희석하여 quisqualic acid 함량을 구하였다.

$$\text{Quisqualic acid 함량(mg/g)} = \frac{\text{시험용액 농도}(\mu\text{g/mL}) \times \text{시험용액(mL)} \times \text{순도}(\%)}{\text{시료량(mg)} \times 100}$$

유도체화

Quisqualic acid 유도체 화합물을 분석하기 위해 Agilent 1260 series system(Agilent, Santa Clara, CA, USA)을 사용하여 분석하였다. 분석에 사용된 컬럼은 Eclipse C18 (4.6×250 mm, 5 µm, Agilent)을 사용하여 Table 1과 같은 조건으로 분석하였다. 유도체화 반응을 위해 sampler injector program을 사용하였다. Program은 제조된 표준용액 및 시험용액 10 µL에 phthaldialdehyde reagent(OPA 시약) 50 µL를 혼합하여 6분간 반응을 진행한 후 주입하도록 설정하였다(Molnar-Perl, 2001; Bartolomeo와 Maisano, 2006).

분석법 검증

식품의약품안전처의 기능성 원료 인정 가이드라인(KFDA, 2019)을 근거로 하여 기능성 원료로 등록하기 위한 지표성분으로서의 특이성(specificity), 직선성(linearity), 정확성(accuracy), 정밀성(precision), 검출한계(limit of detection, LOD) 및 정량한계(limit of quantitation, LOQ) 항목에 대한 분석법 검증을 수행하였다.

HU033의 quisqualic acid를 분석할 수 있는 최적의 분석 조건을 Table 1과 같이 확립하였다. 표준물질인 quisqualic acid는 아미노산의 일종으로 기존 보고된 아미노산 분석에 관한 논문의 최적 분석 파장인 338 nm로 설정하였다(Bartolomeo와 Maisano, 2006).

Table 1. HPLC conditions for quantitative analysis of quisqualic acid in *Quisqualis indica* extract powder (HU033)

Parameter	Condition
Instrument	Agilent 1260 series
Column (temp.)	Agilent Eclipse Plus C ₁₈ (4.6×250 mm, 5 µm, 30°C)
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	60 µL (sample 10 µL + phthaldialdehyde reagent 50 µL)
Detector	338 nm (reference 390.2 nm)
	A: 0.2 M acetic acid : 0.01 M sodium acetate : water = 51:49:900 (v/v)
	B: Methanol
	Time (min) A (%) B (%)
	0 80 20
	5 80 20
Mobile phase	14 70 30
	30 50 50
Gradient	35 0 100
	38 0 100
	40 80 20
	43 80 20
	Post time: 3 min

특이성

특이성은 불순물, 배합성분 등이 혼재된 상태에서 분석대상물질을 선택적으로 정확하게 측정할 수 있는 능력을 나타낸다. 확립된 분석법을 통해 분리된 quisqualic acid 피크가 HU033 내 다른 화합물과 분리가 되었는지 피크를 검토하였다. 또한 표준용액과 시험용액에서 해당 성분에 대한 머무름시간(retention time, RT) 및 스펙트럼의 패턴이 일치하는 것을 확인함으로써 간섭물질에 대한 영향 유무를 확인하였다.

직선성

검체 중 분석대상물질의 양(또는 농도)에 대하여 일정한 범위 내에 직선적인 측정값을 얻어낼 수 있는 능력을 뜻한다. 직선성 검증을 위해 12.5, 25, 50, 100, 200, 400 µg/mL 농도의 quisqualic acid를 3회 반복 측정하였다. HPLC 분석 후 피크 면적과 시료 농도를 변수로 하여 검량선을 작성하였고, 상관계수(R^2) 값이 0.998 이상의 수준으로 직선성을 확인하였다.

정확성

측정값이 이미 알고 있는 분석값에 근접한 정도를 뜻하는 것으로 시료에 표준용액을 넣은 후 분석에 의해 회수되는 회수율(recovery)을 측정한 것이다. 분석법에 근거하여 제조한 HU033에 표준용액을 1.25, 5, 10 µg/mL 농도로 첨가하여 시험용액을 조제하고, 3회 반복 측정하여 얻은 결과를 회수율로 나타내었다. 회수율의 상대표준편차(RSD)를 이용하여 정확성을 확인하였다.

정밀성

분석법에 따라 처리하고 균질화된 검체로부터 여러 번 채

취하여 얻은 시료를 정해진 조건에 따라 측정하였을 때 각각의 측정값들 사이의 근접성(분산 정도)을 나타낸다. 균질화된 시료를 5회 이상 주입하여 면적과 머무름시간의 반복성(repeatability)을 확인하였다. 실험실 내 정밀성(intermediate precision)은 균일한 검체를 여러 번 채취하여 하나의 실험실에서 서로 다른 실험 일자, 기기 또는 장비 등을 이용하여 얻은 측정값의 상대표준편차를 통해 판단하였다. 완전성은 일내(intra-day) 정밀성을 1일 3구간 진행하였고, 일간(inter-day) 정밀성을 1일 1구간으로 3일간 반복하여 분석하였다. Quisqualic acid를 3가지 농도로 하여 시료 내 분석대상물질 함량의 상대표준편차로 판단하였다.

검출한계 및 정량한계

검출한계는 시료 내 포함되는 분석대상물질의 검출 가능한 최소량 혹은 최저 농도를 뜻한다. 정량한계는 시료 중에 포함되어 있는 분석대상물질의 정량 가능한 최소량 또는 최저 농도를 의미한다. Quisqualic acid의 검출한계와 정량한계는 검량선의 기울기 및 표준편차에 근거하였으며 다음 식을 이용하여 확인하였다.

검출한계(LOD) = $3.3 \times y$ 절편의 표준편차 / 검량선 기울기의 평균값

정량한계(LOQ) = $10 \times y$ 절편의 표준편차 / 검량선 기울기의 평균값

결과 및 고찰

특이성 검증

표준물질인 quisqualic acid와 HU033의 HPLC 크로마토그램을 비교하였을 때, 다른 성분의 간섭 없이 quisqualic acid가 선택적으로 분리되는 것을 확인하였다(Fig. 1). 또

Fig. 1. HPLC chromatograms of quisqualic acid (1). (A) Blank (50% MeOH), (B) Standard solution, (C) *Quisqualis indica* extract powder (HU033).

Fig. 2. UV spectrums of quisqualic acid. (A) Standard solution, (B) *Quisqualis indica* extract powder (HU033).

Fig. 3. Calibration curves of quisqualic acid.

한, HU033과 표준물질의 머무름시간이 일치하는 것을 확인하였고 UV 스펙트럼 결과도 동일한 스펙트럼을 나타내었으며, 이를 통해 본 시험법의 특이성을 확인하였다(Fig. 2).

직선성 확인

Quisqualic acid 표준용액을 12.5, 25, 50, 100, 200, 400 µg/mL 농도로 단계 희석하여 3 반복 분석한 결과, 범위는 정확도와 정밀도를 확인할 수 있는 범위이고 상관계수 (R^2)는 각각 0.9997, 0.9986, 0.9990으로 나타나 높은 수준의 직선성을 확인하였다(Fig. 3).

정확성 확인

정확성을 측정하기 위해 기재된 방법과 같이 HU033에 1.25, 6, 10 µg/mL 농도로 첨가한 용액을 조제하고 동일한 HPLC 조건으로 3회 반복 주입한 후 시험하였다. 회수율 구간은 98.66~101.11%로 우수한 정확성을 확인하였다(Table 2).

Table 2. Accuracy of HPLC analysis for quisqualic acid

Parameters	Recovery (%)	
	Quisqualic acid	
Concentration (µg/mL)	Mean±SD	RSD (%)
1.25	101.11±0.82	0.81
5	98.66±0.91	0.93
10	101.00±0.71	0.70

정밀성 확인

반복성: 검체를 균질화한 후 다수의 시료를 취해 반복적인 분석을 실시하여 각 시험의 결과가 일치하는 정도를 반복성이라고 한다. HU033의 검체량을 7.5 mg/mL, 10 mg/mL, 12.5 mg/mL로 시험용액을 제조하고 동일한 HPLC 분석 조건으로 5회 반복 측정하여 Table 3과 같은 결과를 얻었다. 분석 결과 면적값의 상대표준편차(RSD) 구간이 0.53~2.44%로 확인되었다. 최종적으로 RSD 2%대 수준의 높은 반복성을 확인하였다(Table 3).

실험실 내 정밀성: 하나의 실험실에서 시험 일자별 분석과 시험자별 분석을 하고 얻은 측정값들 사이의 근접성을 통해 정밀성 확인이 가능하다. 시험 일자와 시험자를 다르게 하여 실시한 실험실 내 정밀성은 피크의 머무름시간과 면적을 이용하여 얻은 함량의 RSD를 통해 확인할 수 있다. 분석 결과 면적의 RSD가 Table 4와 같이 0.72~0.75%로 나타나

Table 3. Intermediate precision of quisqualic acid analysis

Instrument	Parameters	Precision	
		Mean±SD	RSD (%)
HPLC 1260 series	Concentration (7.5 mg/mL)	RT	15.73±0.02
		Area	423.50±7.94
	Concentration (10 mg/mL)	RT	15.71±0.01
		Area	563.16±2.98
	Concentration (12.5 mg/mL)	RT	15.70±0.08
		Area	708.10±17.27

Table 4. Intermediate precision of quisqualic acid analysis by different users

		Quisqualic acid	
		Mean±SD	RSD (%)
User 1	RT	15.83±0.01	0.06
	Area	571.44±4.09	0.72
User 2	RT	15.89±0.01	0.04
	Area	532.77±3.97	0.75

Table 5. Precision of quisqualic acid in HU033 for validation

		Precision	
		Mean±SD	RSD (%)
Intra-day	Concentration (mg/mL)		
	7.5	10.87±0.04	0.32
	10	10.85±0.06	0.24
Inter-day	12.5	10.81±0.04	0.41
	7.5	10.85±0.01	0.66
	10	10.85±0.03	0.02
	12.5	10.97±0.03	0.12

Table 6. Limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) of quisqualic acid

Instrument	LOD	LOQ
HPLC 1260 series	0.976	2.958

RSD 2% 이하로 확인되었다(Table 4).

완전성: 시험방법 중 일부 조건을 의도적으로 변경하였을 때 측정값에 영향을 미치는가에 대한 척도를 나타낸다. 상기의 전처리법에 따라 처리한 시험용액을 intra-day와 inter-day로 나누어 실험을 진행하였다. 분석 결과는 Table 5와 같으며, intra-day에서의 정밀도(RSD)는 0.24~0.41%로 확인되었고, inter-day에서는 0.02~0.66%의 정밀성을 확인하였다(Table 5).

검출한계 및 정량한계

검출한계는 균질화된 검체 중 존재하는 분석대상물질의 최소한의 검출 가능한 양을 뜻하며, 정량한계는 적절한 정밀성과 정확성을 가진 검체 중 정량값으로 표현할 수 있는 분석대상물질의 최소량을 나타낸다. 식품의약품안전처의 기능성 원료 인정 가이드라인(KFDA, 2019)에 근거하여 분석한 결과, 검량선의 기울기(S)와 표준편차(σ)를 이용하여 얻은 검출한계는 0.976 $\mu\text{g/mL}$ 이고, 정량한계는 2.958 $\mu\text{g/mL}$ 로 확인되었다(Table 6).

요 약

사군자추출분말(HU033)을 식약처 건강기능식품 개별인정 원료로 개발하기 위한 연구의 일환으로 원료 표준화를 위해 지표성분인 quisqualic acid의 HPLC 분석법을 설정하였고 이에 대한 검증을 실시하였다. 그 결과 표준용액과 HU033

의 HPLC 크로마토그램을 비교하여 다른 물질의 간섭 없이 피크가 선택적으로 분리되었으며, 표준용액과 HU033의 피크 머무름시간이 정확히 일치하는 것을 확인하였다. 또한 동일한 스펙트럼을 나타내는 것을 확인하여 본 시험법의 특이성을 확인하였다. 검량선의 상관계수(R^2)는 모두 0.998 이상으로 높은 직선성을 확인하였고, 직선성의 검출한계는 0.976 $\mu\text{g/mL}$, 정량한계는 2.958 $\mu\text{g/mL}$ 로 확인되었다. HU033에 1.25~10 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 표준물질을 첨가하여 조제한 용액을 동일한 조건으로 반복 실험하여 시험한 결과, 전체 평균 회수율은 100.26%로 분석의 높은 정확성을 확인하였다. HU033의 검체량을 달리하여 각각 5회 반복 분석한 결과 전체 RSD(%) 구간은 0.52~1.90%로 확인되었고, quisqualic acid 분석의 정밀성을 확인하고자 intra-day와 inter-day 정밀성을 확인하였다. Intra-day 정밀성은 0.24~0.41%, inter-day 정밀성은 0.02~0.66% 수준으로 확인되어 높은 정밀성을 나타내었다. 따라서 본 연구를 통해 HU033의 지표성분 quisqualic acid 분석법은 적합한 시험방법임을 검증하였으며 향후 기능성 원료 개발을 위한 기초자료로 활용될 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 농생명산업기술개발사업의 지원을 받아 수행되었으며(2016190262) 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Anusree SS, Nisha MS, Sheela MS. Insecticidal activity of *Quisqualis indica* L. flower extract on *Spodoptera Litura* Fabricius. *Int J Appl Pure Sci Agric*. 2016. 2(10):98-103.
- Baek JM, Kim HJ, Nam MW, Park HJ, Yeon SH, Oh MH, et al. Standardized seed extract of *Quisqualis indica* (HU-033) attenuates testosterone propionate-induced benign prostatic hyperplasia via $\alpha 1$ -adrenergic receptors and androgen/estrogen signaling. *Prev Nutr Food Sci*. 2019. 24:492-497.
- Bairagi VA, Sadu N, Senthikumar KL, Ahire Y. Anti-diabetic potential of *Quisqualis indica* Linn in rats. *Int J Pharm Phyto-pharm Res*. 2012a. 1:166-171.
- Bairagi VA, Shinde PR, Senthikumar KL, Sandu N. Isolation and characterizations of phytoconstituents from *Quisqualis indica* Linn. (Combretaceae). *Res Rev J Pharmacogn Phytochem*. 2012b. 4:229-233.
- Bartolomeo MP, Maisano F. Validation of a reversed-phase HPLC method for quantitative amino acid analysis. *J Biomol Tech*. 2006. 17:131-137.
- Bose A, Bose S, Maji S, Chakraborty P. Free radical scavenging property of *Quisqualis indica*. *Int J Pharm Biomed Res*. 2009. 3:1-4.
- Cutler DM, Poterba JM, Sheiner LM, Suumers LH. An aging society: opportunity or challenge?. *Brook Pap Econ*. 1990. 1990: 1-73.
- Jin HJ, Woo HD. A prospect for growth and economic size of foods-for-elderly industry — focused on health functional foods and foods for special dietary uses—. *J Food Hyg Saf*. 2012.

- 27:399-348.
- Korea Food&Drug Administration. 2018 Guide to submission materials for the recognition of functional ingredient. 2019 [cited 2020 May 14]. Available from: https://nifds.go.kr/brd/m_15/view.do?seq=12639&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=101
- Lee KS, Lee EK, Kim SY, Kim TH, Kim HP. Effect of a mixed extract of fenugreek seeds and *Lespedeza cuneata* on testosterone deficiency syndrome. Korean J Food Sci Technol. 2015. 47:492-498.
- Lin TC, Ma YT, Wu J, Hsu FL. Tannins and related compounds from *Quisqualis indica*. J Chin Chem Soc (Peking). 1997. 44: 151-155.
- Molnar-Perl I. Derivatization and chromatographic behavior of the *o*-phthalaldehyde amino acid derivatives obtained with various SH-group-containing additives. J Chromatogr A. 2001. 913:283-302.
- Pitchaiah G, Sharma JVC, Satyavati D. Analgesic and anti-Inflammatory activity of methanolic extract of leaves of *Quisqualis indica*. J Nat Rem. 2012. 12:135-140.
- Sahu J, Pater PK, Dubey B. *Quisqualis indica* Linn: A review of its medicinal properties. Int J Pharm Phytopharm Res. 2012. 1:313-321.
- Shinozaki H, Shibuya I. A new potent excitant, quisqualic acid: effects on crayfish neuromuscular junction. Neuropharmacology. 1974. 13:665-672.
- Singh N, Mohan G, Sharma RK, Gnaneshwari D. Evaluation of anti-diarrhoeal activity of *Quisqualis indica* L. leaves. Indian J Nat Prod Resour. 2013. 4:155-160.
- Wijerathne CUB, Park HS, Jeong HY, Song JW, Moon OS, Seo YW, et al. *Quisqualis indica* improves benign prostatic hyperplasia by regulating prostate cell proliferation and apoptosis. Biol Pharm Bull. 2017. 40:2125-2133.