

楮實子 抽出物이 Streptozotocin에 의한 糖尿病 흰쥐 陰莖海綿體의 Nitric oxide synthase 活性 및 Nitrite 含量에 미치는 影響

姜 祚 俊* · 鄭 智 天* · 申 億 燮**

ABSTRACT

Protective effects of extract of *Brousson etiae fructus* on the nitrite level and the nitric oxide synthase activity in corpus cavernosum of streptozotocin-induced diabetic rat.

Kang Jeong-Jun*, Jeong Ji-Cheon*, Shin Uk-Seob**

*Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk Univ.

**Dept. of Pharmacy, Dongguk Medical Center

The purpose of this study was to investigate the effect of *Brousson etiae fructus* (BF) on the urethral nitrite level and the urethral nitric oxide synthase (NOS) activity in streptozotocin (STZ) induced diabetic rats.

In vitro, the urethral NOS activity was not noted in the level of Dose of extract prepared from BF. *In vivo*, the urethral NOS activity was increased in normal rats and STZ induced diabetic rats by dose and term of extract prepared from BF. The the NOS activity decreased

* 東國大學校 韓醫科大學 內科學教室

** 東國大學校 醫療院 藥劑科

in STZ induced diabetic rats was increased as highly as normal group by the extract of BF. The level of urethral nitrite and glutathione was increased too. But the level of urethral lipid peroxide increased in STZ induced diabetic rats was decreased as lowly as normal group by the extract of BF.

In conclusion, the extract of BF can restore erectile dysfunction of STZ induced diabetic rats.

Key Words: *Brousson etiae fructus*, nitrite, nitric oxide synthase, glutathione, lipid peroxide, erectile dysfunction.

I. 緒 論

勃起不全은 남성의 음경이 여성의 질내에 삽입할 정도의 강직도를 얻지 못하는 질환으로, 환자 자신이나 性相對者의 삶의 질에는 심각한 영향을 미친다^{1,2)}. 이러한 발기부전은 40대에 5%, 70대에 15%정도가 경험하게 되며³⁾ 공해, 산업재해, 교통사고, 스트레스 등으로 증가하는 추세이다^{1,4)}.

발기부전의 원인은 정신적 원인과 기질적 원인으로 구별되며, 기질적 원인으로 당뇨병, 신장 질환, 심혈관계 질환, 폐기종, 간경화 및 노화 등이 있다. 특히 당뇨병은 기질적 발기부전의 가장 큰 원인으로, 발생률은 보고에 따라 차이가 있으나, 대략 35-75%이며 정상인 보다 10-15년 정도 빨리 증상이 나타난다⁵⁾.

음경이 발기하기 위해서는 먼저 음경해면체 동맥과 음경평활근의 완전한 이완과 음경해면체 내 동상 혈관강 (sinusoidal space)에 혈액이 축적되어야 한다^{1,2)}. 그리고 음경해면체 평활근은 신경전달물질에 의해 수축, 이완되며⁶⁻⁸⁾, 이완 정도에 따라 발기 정도가 결정된다²⁾.

한편, 미신경 전달물질인 prostaglandine과 endothelium derived relaxing factor (EDRF)에 의한 음경해면체내 평활근의 조절이 발기에 중요한 역할을 하고 있다고 밝혀졌다^{9,10)}. Palmer

등¹¹⁾에 의해 nitric oxide (NO)가 강력한 EDRF의 하나로 밝혀짐에 따라, 음경해면체 평활근 이완에 작용하는 NO의 역할에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다¹²⁻¹⁷⁾. Vernet 등¹⁸⁾에 의하면 당뇨병을 유발시킨 실험동물에서 발기부전 증상이 나타났으며 음경해면체에서 nitric oxide synthase (NOS) 활성이 현저하게 감소된다고 하였다.

韓醫學에서는 남성 음경의 발기가 원활하지 않은 것을 ‘陽痿’, ‘陰痿’, ‘陰器不用’, ‘陰不起’ 등으로 표현하고 있다^{19,20)}. 病因으로는 命門火衰, 心脾兩虛, 腎精虧虛, 肝虛不舒, 濕熱下注 등이 있으며²¹⁾, 濫腎壯陽, 補腎填精, 疎肝解鬱, 清熱瀉濕, 補益心脾, 理氣活血 등의 치법이 응용되고 있다²²⁻²³⁾.

현재까지 韓醫學에서 陽痿의 치료에 활용되는 한약제가 발기부전에 미치는 영향에 대한 보고가 없을 뿐 아니라, 특히 NO와 관련된 연구는 보이지 않았다.

이에 著者는 滋腎, 補腎強筋骨, 清肝 등의 효능으로 陽痿, 腰膝無力 등에 활용되는 楮實子²⁴⁻²⁷⁾가 발기부전에 효과가 있는 지를 검토하기 위하여 실험동물에 streptozotocin (STZ)으로 당뇨병을 유발시켜 발기부전 모델을 만든 후, 음경해면체내의 NOS 활성 등에 미치는 영향을 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻었으므로 보고하고자 한다.

II. 材料 및 方法

1. 材料

1) 약 재

楮實子 (*Brousson etiae fructus*)를 시중에서 구입한 후 정선하여 사용하였다.

2) 시약 및 기기

Albumin serum bovine, citrulline, STZ, sodium citrate, L-arginine, glutathione reduced, β -nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced (NADPH), ethylene diamine tetra sodium salt (EDTA), calmodulin, nitroblue tetrazolium (NBT), sulfanilamide, naphthylethylene diamine, sodium nitrite, thiobarbituric acid sodium salt (TBA)는 Sigma사의 제품을, potassium phosphate mono and dibasic는 Wako사의 제품을, 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid), trichloroacetic acid는 Nakarai사의 제품을 각각 사용하였다. 그 외 실험에 사용한 시약은 시중에서 구입한 특급품 내지 일급품을 사용하였다. 한편 실험에 사용한 기기로는 refrigerator centrifuge (Hanil supra), ultracentrifuge (Hita-chi model), UV-visible spectrophotometer (shimadzu model 1201) 등이다.

3) 동물

동일한 조건 아래 사육된 외관상 건강한 웅성 Sprague-Dawley계 흰쥐 (150-180 g)를 사용하였다.

2. 方法

1) 楮實子 抽出物の 조제 및 투여

楮實子 200 g을 round flask에 methanol 1,000 ml와 함께 넣은 뒤 70°C가 유지되는 항온 수조에서 냉각기를 부착하고 24시간 씩 3회 반복 추출하여 추출액을 만든 다음, 이 추출액을 rotary evaporator로 감압 농축하여 건조시켜 약 19.7 g의 추출물을 얻었다.

실험동물은 아무런 처치도 하지 않은 정상군, STZ (60 mg/kg)를 투여하여 당뇨병을 유발시킨 대조군 및 당뇨병을 유발시킨 후 楮實子 抽出物을 투여한 실험군 등 세 군으로 분류하여 실험을 행하였다.

저실자 추출물을 실험동물의 체중 kg당 80 mg으로 당뇨병을 유발시킨 흰쥐에 1일 1회 15일간 경구 투여하였으며, 대조군은 동량의 생리식염수를 투여하였다.

2) 흰쥐에서 당뇨병 유도방법

0.1 M citrate buffer (pH 4.5)에 녹인 STZ 용액 (60 mg/kg)을 실험동물의 복강내로 주사하여 당뇨를 유도하였으며²⁸⁾, 대조군은 동량의 생리식염수를 사용하였다. 당뇨병의 발생은 STZ 주입 후 3일부터 urine strip으로 확인하였다. STZ 주입 1주에 실험을 시행하였으며 실험동물의 頸動脈에서 채혈하였다. 그 후 혈당측정기 (Accutiend TC, 독일)로 혈당을 측정하여 혈당치가 300 mg/ml 이상인 쥐를 실험에 이용하였다. 실험동물은 도살 전일 물을 제외하고 15-16시간 동안 절식시켰다.

3) 효소원의 조제

각 실험동물은 ether 마취하에 하복부를 절개하여 음경해면체를 적출하였다. 적출한 음경해면체 조직을 생리식염수로 세척한 후, 남아있는 혈액 및 식염수를 여지로 제거하였다. 조직 g당 4배량의 0.25 M sucrose 용액을 가하여 0-4°C에서 glass teflon homogenizer (Ultra-Turrax T25, JANKEI, IKA-Labortechnik, Germany)로 마쇄하여 균질액을 만들었다. 이 마쇄균질액을

냉장원심분리기 (Hitachi 20 PR-500, Hanil Supra 22K)로 600 ×g에서 10분간 원심 분리한 다음 상정액을 취하여 과산화지질의 함량, glutathione 및 nitrite 함량 측정에 이용하였으며, 이 상정액을 10,000 ×g에서 30분간 원심 분리한 뒤 얻은 상정액을 NOS 활성 측정 효소 원으로 이용하였다.

4) NOS 활성도 측정

NOS의 활성 측정은 Schmidt 등의 방법²⁹⁾에 준하여 비색법 (colorimetric assay)으로 NADPH diaphorase 활성도 측정법을 이용하였다. 실험 동물의 조직 효소원에 50 mM HEPES (pH 7.4) 용액과 L-arginine, NADPH, EDTA, CaCl₂, dithiothreitol, calmodulin 및 nitro blue tetrazolium을 가하여, 37°C에서 5분간 반응시켜 585 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. 효소의 활성은 파장 585 nm에서 측정된 흡광도 수치에 사용한 단백질의 함량을 나눈 값으로 산정하였다.

5) Glutathione 함량 측정

조직중 glutathione 함량 측정은 Ellman의 방법³⁰⁾에 준해 조직 마쇄액 일정량에 4% sulfosalicylic acid를 가해 제단백시켜 얻은 상정액 일정량에 0.1 mM 5, 5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid)를 함유한 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 8.0) 일정량을 넣고 반응시켜 생성된 p-nitrothiophenol의 흡광도를 파장 412 nm에서 측정하여 농도를 산정하였다. GSH 함량은 조직 g당 함유되어 있는 GSH의 양을 nmole로 나타내었다.

6) 과산화지질의 함량 측정

과산화지질 함량 측정은 Ohkawa 등의 방법³¹⁾에 준해 조직 마쇄균질액 일정량에 8.1% sodium dodesyl sulfate, 20% acetate buffer

(pH 3.5) 및 0.8% thiobarbituric acid (TBA) 용액을 가해 95°C에서 1시간 동안 반응시키고 실온으로 냉각한 다음 생성된 홍색의 TBA reactive substance를 n-Butanol : Pyridine (15 : 1) 혼합액으로 이행시켜 파장 532 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 정량하였다. 과산화지질의 함량은 조직 g당 MDA의 양을 nmole로 나타내었다.

7) Nitrite 함량 측정

조직 중의 nitrite (NO₂⁻)양의 측정은 비색법으로 Griess reaction³²⁾에 준하여 측정하였다. Griess 시액은 1% sulfanilamide, 0.1% naphthylethylene diamine 및 2.5% 인산을 혼합하여 제조하였으며, 효소원 180 μl에 2 mM NADPH 및 L-arginine을 각각 10 μl씩 가하여 최종 부피가 200 μl가 되게 하였다. 반응은 37°C에서 1시간 지속시킨 후, 반응시킨 상정액 200 μl와 동량의 griess 시액을 실온에서 10분간 반응시켜 550 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였으며, L-arginine과 NADPH를 첨가한 상정액에 대조 상정액을 보정하여 산출하였다. Nitrite 양의 측정은 sodium nitrite를 이용한 표준곡선을 이용하여 산출하였고, 흰쥐 조직 g당 nitrite의 양을 μmole로 환산하여 나타내었다.

8) 단백질의 정량 및 통계처리

단백질의 정량은 Lowry 등의 방법³³⁾에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 행하였다. 한편 위와 같이 얻어진 성적의 유의성은 Student's t-test를 이용하여 검정하였으며, p-value가 0.05 미만일 때 유의한 것으로 판정하였다.

III. 成績

1. 시험관내에서 음경해면체 NOS 활성에 미치는 영향

정상 반응조건에서는 효소 활성이 1.36 Δ OD/mg protein이었으며, 楮實子 抽出物을 첨가시킨 경우의 효소활성은 첨가 농도를 증가시켜도 효소활성은 대조치와 비교하였을 때 유의한 변화를 관찰할 수 없었다(Fig.1).

2. 楮實子 抽出物의 투여 기간에 따른 음경해면체의 NOS 활성 변화

정상군의 효소 활성은 1.36 Δ OD/mg protein이었으나 楮實子 抽出物을 5일 투여군은 효소 활성이 1.47 Δ OD/mg protein, 10일 투여군은 1.60 Δ OD/mg protein으로 투여 기간 의존적으로 증가하였으며, 특히 楮實子 抽出物을 15일간 경구 투여한 후 실험군의 효소 활성은 1.88 Δ OD/mg protein으로 정상군에 비하여 약 40% 정도 유의성 있게 증가됨을 확인할 수 있었다(Fig.2).

3. 楮實子 抽出物의 투여 용량에 따른 음경 해면체의 NOS 활성 변화

정상군의 효소 활성이 1.36 Δ OD/mg protein이었으나, 20 mg/kg을 투여한 실험군의 효소 활성은 1.46 Δ OD/mg protein이었으며, 40 mg/kg을 투여한 실험군은 1.56 Δ OD/mg protein, 60 mg/kg을 투여한 실험군은 1.61 Δ OD/mg protein으로 투여 용량에 비례하여 효소 활성이 증가하였다. 특히 楮實子 抽出物 80 mg/kg을 15일간 투여한 실험군의 효소 활성은 1.90 Δ OD/mg protein으로 정상군에 비하여 약 40% 정도 유의성 있게 증가되었다(Fig.3).

4. 당뇨병 유발 모델동물의 음경해면체의 NOS 활성에 미치는 영향

정상군의 NOS 활성은 1.36 Δ OD/mg protein

인데 비하여 당뇨병 유발 대조군은 효소 활성이 0.91 Δ OD/mg protein으로 약 33% 정도 유의하게 효소 활성이 억제되어 있음을 확인할 수 있었다. 그러나 楮實子 抽出物을 투여한 실험군의 경우는 효소 활성이 1.33 Δ OD/mg protein으로 유의성 있게 회복되고 있음을 관찰할 수 있었다(Fig.4).

5. 당뇨병 유발 모델동물 음경해면체의 Nitrite 함량에 미치는 영향

Nitrite 함량은 정상군이 0.51 μ mole/g of tissue인데 비하여 당뇨병 유발 대조군은 0.29 μ mole/g of tissue로 현저하게 감소하였으나, 楮實子 투여군은 0.48 μ mole/g of tissue로 유의성 있게 증가됨을 관찰할 수 있었다(Fig.5).

6. 당뇨병 유발 모델동물 음경해면체의 glutathione 함량에 미치는 영향

Glutathione 함량은 정상군이 2.25 nmoles/g of tissue이었으나, 당뇨병 유발군은 1.44 nmoles/g of tissue로 정상군에 비하여 약 36%정도 현저하게 減少되었으며, 楮實子 抽出物을 투여한 실험군의 경우는 2.11 nmoles/g of tissue로 유의성 있게 증가되는 현상을 나타냈다(Fig.6).

7. 당뇨병 유발 모델동물 음경해면체의 과산화지질의 함량에 미치는 영향

정상군의 과산화지질 함량이 8.40 nmoles/g of tissue이었으나, 당뇨병 유발군은 12.22 nmoles/g of tissue로 유의성 있게 증가되었으며, 楮實子 抽出物을 투여한 실험군의 경우는 8.77 nmoles/g of tissue로 유의성 있게 저하되고 있음을 볼 수 있었다(Fig.7).

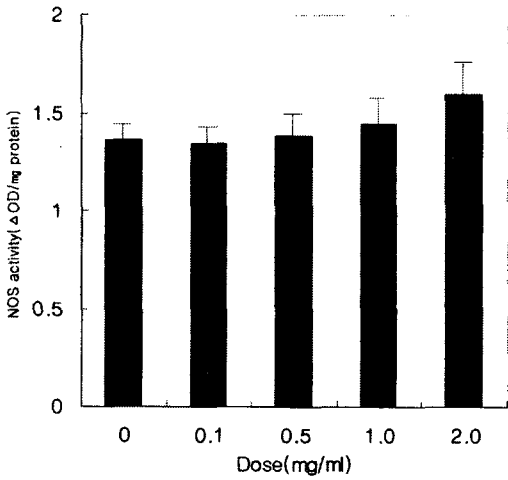


Fig 1. Effect of the methanol extract of *Brousson etiae fructus* on the urethral nitric oxide synthase activity *in vitro*. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±S.E. for 5 separate experiments.

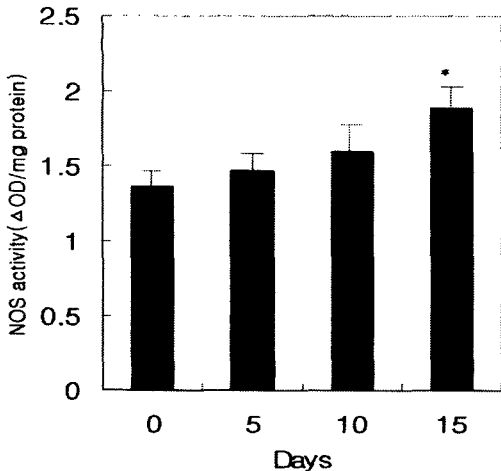


Fig 2. Time course of the treatment of *Brousson etiae fructus* methanol extract on the urethral nitric oxide synthase activity in rats. Rats were received the methanol extract of *Brousson etiae fructus* (80 mg/kg, p.o) daily for 0-15 days. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±S.E. for 10 animals. Significantly different from control(* : p<0.05).

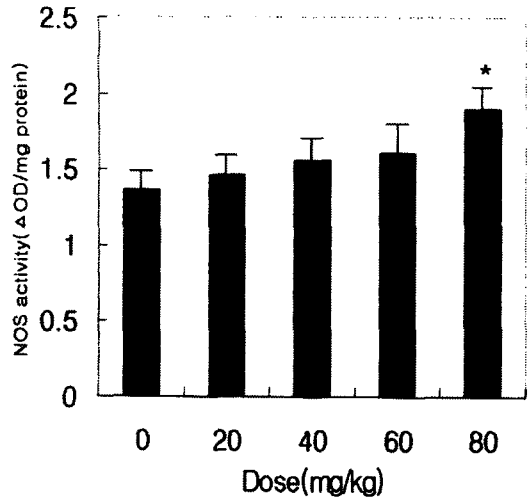


Fig 3. Dose response of the extract of *Brousson etiae fructus* on the urethral nitric oxide synthase activity in rats. Rats were received the methanol extract of *Brousson etiae fructus* (0-80 mg/kg, p.o) daily for 15 days. The assay procedure was described in the experimental methods.

Values are mean \pm S.E. for 10 animals.
Significantly different from control
(* : $p < 0.05$).

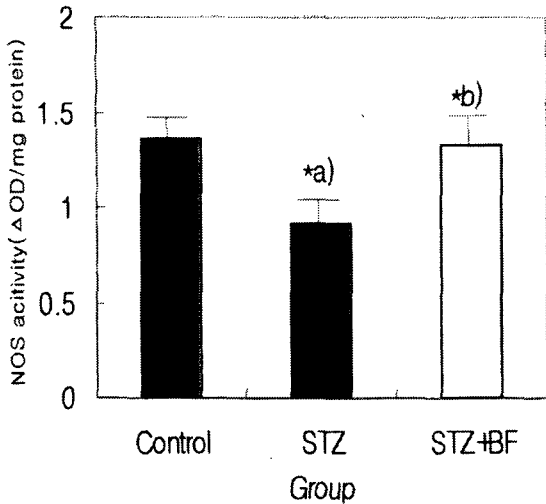


fig 4. Effect of the extract of *Brousson etiae fructus* on the urethral nitric oxide synthase activity in STZ-induced diabetic rats.

Rats were injected intraperitoneally with 60 mg/kg of STZ, and the methanol extract of *Brousson etiae fructus* (80 mg/kg, p.o) treated to rats for 15 days.

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm S.E. for 10 animals.

- a) significantly different from control,
- b) significantly different from STZ-treated group (* : $p < 0.05$). STZ : streptozotocin, BF : *Brousson etiae fructus* extract.

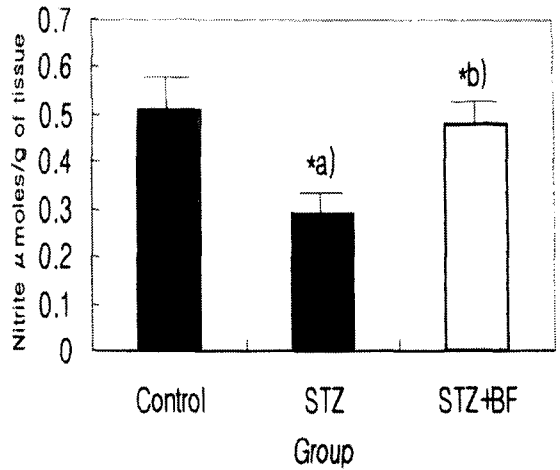


Fig 5. Effect of the extract of *Brousson etiae fructus* on the urethral nitrite level in STZ-induced diabetic rats.

Rats were injected intraperitoneally with 60 mg/kg of STZ, and the methanol extract of *Brousson etiae fructus* (80 mg/kg, p.o) treated to rats for 15 days.

The assay procedure was described in the experimental methods.

Values are mean \pm S.E. for 10 animals. a) significantly different from control. b) significantly different from STZ-treated group (* : $p < 0.05$). STZ : streptozotocin, BF : *Brousson etiae fructus* extract.

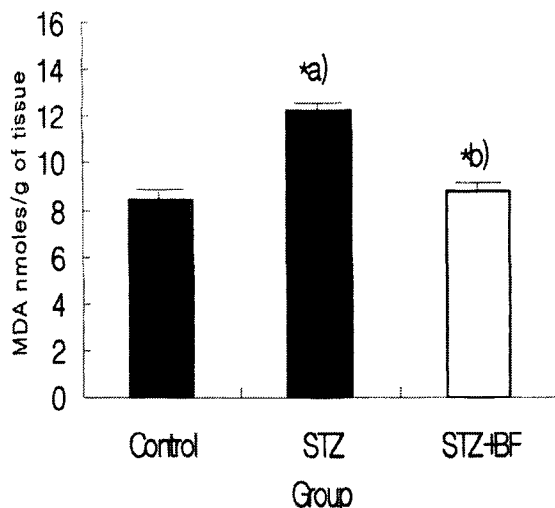
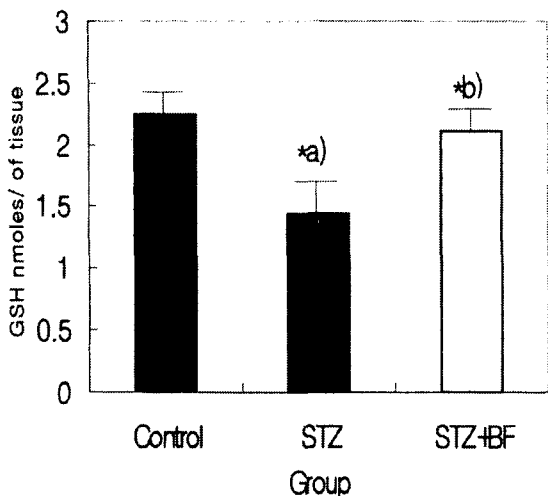


Fig 6. Effect of the extract of *Brousson etiae fructus* on the urethral glutathione level in STZ-induced diabetic rats.

Rats were injected intraperitoneally with 60 mg/kg of STZ, and the methanol extract of *Brousson etiae fructus*(80 mg/kg, p.o) treated to rats for 15 days.

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±S.E. for 10 animals.

a) significantly different from control, b) significantly different from STZ-treated group (*:p<0.05). STZ : streptozotocin, BF : *Brousson etiae fructus* extract.

Fig 7. Effect of the extract of *Brousson etiae fructus* on the urethral lipid peroxide level in STZ-induced diabetic rats.

Rats were injected intraperitoneally with 60 mg/kg of STZ, and the methanol extract of *Brousson etiae fructus*(80 mg/kg, p.o) treated to rats for 15 days.

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±S.E. for 10 animals.

a) significantly different from control, b) significantly different from STZ-treated group(*: p<0.05). STZ : streptozotocin, BF : *Brousson etiae fructus* extract.

IV. 考 察

발기부전은 미국 NIH (National Institutes of Health)의 보고에 의하면 미국에서는 전 성인 남성 인구의 11.9%, 유럽에서는 12.8%, 라틴 아메리카에서는 8.4%, 아시아-태평양지역에서는 8.7%로 추산하고 있다. 우리 나라에서도 산업재해와 교통사고가 늘어나며 복잡한 현대생활로 육체적인 피로와 정신적 스트레스가 연속됨에 따라 발기장애환자가 증가 추세에 있다.⁴⁾

사람의 발기현상은 신경계, 혈관계, 내분비계 및 정신적 요소의 복잡한 상호작용에 의하여 일어난다고 한다. 발기부전의 원인은 약 90%가 정신적 원인이고 약 10% 만이 기질적인 원인으로 보고되고 있으나, 최근에는 진단기술의 발달로 과거에 심인성 원인으로 간주되었던 많은 경우가 기질적 원인에 의한 것으로 밝혀져 약 50%가 기질적 원인에 의한 것으로 진단된다.³⁴⁾ 기질적 원인에 의한 발기부전은 크게 내분비적 원인과 신경성 원인, 혈관성 원인, 전신질환 및 기타 원인으로 구분된다. 발기부전의 원인이 되는 전신질환으로는 당뇨병, 심장질환, 심혈관계 질환, 폐기종, 간경화 및 노화 등이 거론되고 있다. 특히 당뇨병은 기질적 발기부전의 가장 많은 원인 질환으로 신경성, 혈관성 원인을 야기한다고 한다. 당뇨병 환자에서 발기부전의 발생률은 보고에 따라 차이가 있으나 35-75%이며 정상인 보다 10-15년 정도 빨리 증상이 나타난다고 하였다.⁵⁾

음경이 발기하기 위해서는 먼저 음경해면체동맥과 음경평활근의 완전한 이완 이후 음경해면체내로 혈류유입의 증가가 있어야 하고 다음에 이완된 육주평활근 (trabecular smooth muscle)이 탄력성백막 (tunica albuginea)을 압박하여 음경해면체내 동상 혈관강 (sinusoidal space)에 혈액이 소실되지 않고 축적되어야 한다¹²⁾. 그리고 음경해면체 평활근은 아드레날린성 신경전달물질에 의해 수축하고, 콜린성 및 비아드레날린

성 비콜린성 (NANC : nonadrenergic noncholinergic) 신경 전달물질에 의해 이완되며⁶⁻⁸⁾ 이완 정도에 따라 발기의 정도가 결정된다²⁾.

한편 비신경 전달물질인 prostaglandine과 EDRF에 의한 음경해면체내 평활근의 조절이 발기에 중요한 역할을 하고 있음이 밝혀졌다^{9,10)}. 최근 연구에서 Palmer 등¹¹⁾에 의해 NO가 강력한 EDRF의 하나로 밝혀짐에 따라, 음경해면체 평활근 이완에 대한 NO의 역할에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다¹²⁻¹⁷⁾.

NOS는 대뇌피질, 간장, 신장, 음경조직 등 생체 전반적으로 널리 분포되어 있는 효소로서 L-arginine과 반응하여 NO를 생성시키는 것으로 알려져 있다³⁵⁻³⁷⁾. NO는 대기 중에 존재하는 불안정한 기체로써 인체내에서 다양한 생리활성을 나타낸다고 알려져 있으며 특히 혈관내피이완성 인자로 많이 보고되고 있다³⁸⁾. 근래에는 심혈관계, 신경계, 면역계 등의 질환에서 NO의 분비 정도에 따라 여러 질병의 병인이 규명되고 있으며 NO의 분비를 조절해 주는 방법이 고혈압, 협심증, 폐혈성 속 등의 치료로서 시도되고 있다³⁹⁻⁴¹⁾. 생체내 혈관의 내피세포에서 NO가 유리되어지며 이때 혈관평활근에 작용하여 혈관을 이완시키는 강력한 물질로 알려져 있다³⁸⁾.

楮實子は 性寒味甘하여 無毒하고 肝, 脾, 腎經에 入하여 滋腎, 補腎強筋骨, 清肝 등의 效能으로 陰痿, 腰膝無力, 頭暈眼花 등에 活用되며 특히 腎虛로 인한 陽痿를 치료하는데 活用되어 왔다²⁴⁻²⁷⁾. 따라서 著者들은 楮實子が NO와 關聯하여 발기부전에 효과가 있는 지를 검토하고자 본실험을 시도하였다.

시험관내에 楮實子 抽出物을 농도별로 첨가시켜 NOS 활성화에 미치는 영향을 검토하였을 때 농도 의존적으로 효소 활성의 증가현상을 관찰할 수 있었다. 시험관내실험에서 楮實子 抽出物이 NOS 활성화에 변동을 나타내고 있는 결과가 생체내에서도 나타나는 지 확인하고자 실험동물에 楮實子 抽出物을 투여한 후 NOS 활성화 변화

를 관찰하였을 때 楮實子 抽出物의 투여 용량 및 투여 기간 의존적으로 NOS 활성의 증가현상을 관찰하였다. 이러한 성적은 楮實子 抽出物에 함유되어 있는 어떤 특정 성분이 생체기능에 영향을 미칠 가능성이 있음을 시사해주고 있다.

STZ는 항암제로 널리 사용되고 있는 약물로서 이 약물은 체내에서 독성 반응에 의하여 당뇨병을 유발시키는 것으로 알려져 있다⁴²⁾. 일반적으로 만성질환에 시달리고 있는 환자들에게서 나타나는 특징적인 증상 중의 하나가 성기능장애라고 한다¹⁸⁾ 당뇨병 모델동물에서 발기부전 증상이 나타났으며 음경해면체에서 NOS 활성이 현저하게 감소되어진다는 Vernet 등⁸⁾의 보고를 참조하여 저자는 당뇨병을 유발시킨 발기부전 실험동물을 만든 다음 楮實子 抽出物을 일정기간 투여하여 NOS 활성 변화를 검토하였다. 그 결과 당뇨병 유발군에서 현저하게 감소하던 NOS 활성이 楮實子 抽出物의 투여에 의하여 정상수준으로 개선되는 결과를 확인할 수 있었다.

NOS에 의해서 생성된 NO는 체내 반감기가 너무 짧기 때문에 직접 정량하는 방법은 대단히 어려우므로 간접적으로 정량할 수 있는 방법³²⁾인 Nitrite의 조직중 함량 변화를 관찰하였을 때 NOS 활성 변화 경향과 유사하게 음경해면체 조직중의 함량 변화를 나타내었다. 이러한 실험 결과들은 楮實子 抽出物이 체내에서 NOS 활성을 증가시켜 혈관이완인자인 NO를 생합성을 촉진시켜 결과적으로 향상된 혈관이완작용에 의해서 혈액의 혈관내 충만도가 증가되어 발기부전 증상을 치료할 수 있을 것으로 예상할 수 있다.

Glutathione은 생체내의 간장 등에서 생합성되며 3종류의 아미노산으로 구성된 펩타이드로서 간단한 구조를 가지고 강한 생리활성을 지니고 있으며 생체내 대부분의 조직에 분포하는 일종의 생체 방어인자이다. 이는 외부에서부터 유입된 독성물질들이나 체내에서 생성되며 독성반

응을 나타내는 내인성물질로부터 생체를 보호하는 기능을 담당하고 있다⁴³⁾. 따라서 생체 방어인자로서 작용하는 생화학적 기능을 지니고 있는 조직중의 glutathione 함량을 측정하므로써 독성물질에 대한 생체보호능력을 간접적으로 측정할 수 있다. 음경해면체 중의 glutathione 함량 변화를 검토한 실험에서 STZ 투여로 발기부전을 유발시킨 모델동물에서 유의성 있게 감소하던 glutathione 함량이 楮實子 抽出物 투여에 의해 거의 정상수준으로 회복되고 있음을 관찰할 수 있었다. 이러한 실험결과는 楮實子 抽出物이 생체내에서 glutathione의 생합성을 유도하여 독성유발물질의 배설을 촉진시키므로써 독성물질의 반응을 억제시켜 나타나는 작용이라고 예상할 수 있다.

생체조직이나 장기의 독성 정도를 나타내는 지표로 과산화지질을 들 수 있는데 과산화지질은 세포막에 다량 존재하는 다가불포화지방산이 독성반응에 의해서 지질성분의 산화반응이 촉진되어 나타나는 반응산물이다^{44,45)}. 음경해면체 조직에 지질의 과산화반응이 촉진되면 조직이 지니고있는 고유기능이 억제될 가능성이 많으므로 음경해면체 조직의 과산화정도와 발기부전 증상과는 상당히 관련이 있을 것으로 예상된다. 음경해면체 중의 과산화지질의 함량 측정 실험에서 STZ 투여로 발기부전을 유발시킨 모델동물에서 증가하던 과산화지질의 함량이 楮實子 抽出物 투여에 의해 정상군 수준으로 함량이 감소되고 있음을 관찰할 수 있었다. 이는 楮實子 抽出物이 항산화작용을 나타내는 성분을 함유하고 있어 지질의 과산화반응에 의해서 음경해면체 조직 중에 나타날 수 있는 독성반응인 발기부전 증상을 개선시킬 수 있을 것으로 사료된다.

이상의 결과들을 종합하여 볼 때 楮實子 抽出物은 당뇨병에 의해서 인위적으로 유발되는 발기부전 증상을 상당히 개선시키는 작용을 하고 있음을 확인할 수 있었다. 앞으로 이러한 몇 가지 실험 성적들을 토대로 하여 구체적인 작용

양상과 기전에 대한 더 많은 연구가 필요하다고 생각된다.

V. 結 論

韓方臨床에서 滋腎, 補腎強筋骨 등의 효능으로 陰痿, 腰膝無力, 頭暈眼花 등의 치료에 활용되는 약제인 楮實子의 발기부전 개선효과를 관찰하고자 본실험을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 시험관내에서 nitric oxide synthase 활성화는 楮實子 抽出物の 첨가농도 의존적으로 증가되는 경향을 관찰할 수 있었으나 유의성은 없었다.
2. 실험동물에 楮實子 抽出物을 투여하였을 때 투여 기간과 투여 용량 의존적으로 nitric oxide synthase 활성을 증가시켰다.
3. Streptozotocin으로 당뇨병을 유발시켜 만든 발기부전 모델동물에서 현저하게 억제되던 nitric oxide synthase 활성이 楮實子 抽出物の 투여에 의해 정상수준으로 회복되었다.
4. 발기부전 모델동물에서 유의성 있게 감소되던 음경해면체 조직중의 Nitrite 함량이 楮實子 抽出物の 투여에 의해 정상동물 수준으로 증가되었다.
5. 발기부전 모델동물에서 현저하게 억제되던 glutathion 함량이 楮實子 抽出物の 투여에 의해서 정상군에 가깝게 증가되었다.
6. 발기부전 모델동물에서 현저히 증가하던 과산화지질의 함량이 楮實子 抽出物の 투여에 의해 정상수준으로 감소되었다.

參考文獻

- 1) Christ, G. J. : The penis as a vascular

- organ, *Urol Clin North Am*, **22(4):727-745**, 1995.
- 2) 송봉근 : 발기부전 치료의 한의학적 접근 방법에 관한 연구, 대한한의학회지, **17(2):74-76**, 1996.
- 3) Zonszein, J. : Diagnosis and managemeng of endocrine disorders of erectile dysfunction, *Urol Clin North Am*, **22(4):789-802**, 1995.
- 4) 김세철 : 남성성기능장애의 진단과 치료, 서울, 일조각, p. 36, 70, pp.184-262, 1995.
- 5) 신호승, 최형기 : 당뇨시 발기부전의 원인, 대한비뇨기과학회지, **31(3):442-445**, 1990.
- 6) Saenz de Tejada, I., Blanco, R., Goldstein, L., Azadzi, K., Morenas, A., Krane, R. J. and Cohen, R. A. : Cholinergic neurotransmission in human corpus cavernosum. I. Responses of isolated tissue. *Am J. Physiol.*, **254:H459-H467**, 1988.
- 7) Adaekan, P.G. and Ratnam, S. S. : Pharmacology of penile erection in humans. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.*, **11:191-194**, 1988.
- 8) Saenz de Tejada, I., Goldstein, I. and Krane, R. J. : Local control of penile erection. *Urol. Clin. N. Amer.*, **15(1):9-15**, 1988.
- 9) Hedlund, H. and Andersson, K. E. : Contraction and relaxation induces by some prostanoids in isolated human penile erectile tissue and cavernous artery. *J. Urol.*, **15(1):9-15**, 1988.
- 10) Saenz de Tejada, I., Goldstein, I., Azadzi, K., Krane, R. I. and Cohen, R. H. : Impaired neurogenic and endothelium mediated relaxation of penile smooth

- muscle from diabetic men with impotence. *New Engl. J. Med.*, **320**:1025-1030, 1989.
- 11) Palmer, R. M. J., Ashton, D. S and Moncada, S. : Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature.*, **333**:664-666, 1989.
 - 12) Rajfer, J., Arosón, W. J., Bush, P. A., Dorey, F. J. and Ignarro, L. J. : Nitric oxides as mediator of relaxation of the corpus cavernosum in response to nonadrenergic, noncholinergic neurotransmission. *N. Engl. J. Med.*, **326**:90-94, 1992.
 - 13) Knispel, H. H., Goessl, C. and Beckmann, R. : Basal and acetylcholine-stimulated nitric oxide formation mediates relaxation of rabbit cavernous smooth muscle. *J. Urol.*, **146**:1429-1433, 1991.
 - 14) Azadzi, K. M., Kim, N., Brown, M. L., Goldstein, I., Cohen, R. A. and Saenz de Tezada, I. : Endothelium derived nitric oxide and cyclooxygenase products modulate corpus cavernosum smooth muscle tone. *J. Urol.*, **147**:220-225, 1992.
 - 15) Kim, N., Azadzi, K.M., Goldstein, I. and Saenz de Tezada, I. : A nitric oxide-like factor mediates nonadrenergic-noncholinergic neurogenic relaxation of penile corpus cavernosum smooth muscle. *J. Clin. Invest.*, **88**:112-118, 1991.
 - 16) Bush, P. A., W. J., Buga, G. M., Rajfer, J. and Ignarro, L. J. : Nitric oxide is a potent relaxant of human and rabbit corpus cavernosum. *J. Urol.*, **147**:1650-1655, 1992.
 - 17) Pickard, R. S., Powel, P. H. and Zar, M. A. : The effect of inhibitors of nitric oxide biosynthesis and cyclic GMP formation on nerve-evoked relaxation of human cavernosal muscle. *Br. J. Pharmacol.*, **104**:755-759, 1991.
 - 18) Vernet, D., Cai, L., Garban, H., Babbitt, M. L., Murray, F. T., Rajfer, J. and Gonzalez, N. F. : Reduction of penile nitric oxide synthase in diabetic BB/WORp(Type I) and BBZ/WORp(Type I I) rats with erectile dysfunction. *Endocrinology*, **136**(12), 5709-5717, 1995.
 - 19) 杜鎬京 : 東醫腎系學, 서울, 東洋醫學研究院, pp. 610-616, 1991.
 - 20) 徐平 : 實用中醫腎病學, 서울, 一中社, pp. 475-477, 1992.
 - 21) 최훈섭 김철중 : 양위에 대한 문헌적 고찰, *혜화의학*, **5**(1): 212-235, 1996.
 - 22) 江海身, 康力生 : 中醫男科講座, 북경, 中國醫藥科技出版社, pp. 94-111, 1992.
 - 23) 林蘭 主編 : 糖尿病的中西醫結合論治, 北京科學技術出版社, p. 328, 1992.
 - 24) 朴鐘甲 : 增補本草備要, 대구, 東洋綜合通信教育院出版部, p. 111, 1985.
 - 25) 지형준, 이상인 : 대한약전의 한약(생약) 규격집 주해서, 서울 한국메디칼인덱스사, p. 322, 1988.
 - 26) 康秉秀 外 : 本草學, 서울, 永林社, p. 605, 1995.
 - 27) 李尙仁 : 本草學, 서울, 醫藥社, p. 136, 1975.
 - 28) H.C Chung : Role of nitric oxide in penile erection, Ph. D. thesis Yeungnam Univ. 1995.
 - 29) Schmidt, H. W., Smith, R. M., Nakzue, M. and Murad, F. : Ca²⁺/Calmodulin-dependent NO synthase Type-1 : A bipteroflavoprotein with Ca²⁺/Calmodulin-independent diaphorase and reductase Activities. *Biochem.*, **31**, 3243-3249, 1992.

- 30) Ellman, G. L. : Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70-77, 1959.
- 31) Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. : Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, **95**, 351-358, 1979.
- 32) Tracey, W. R., Linden, J., Michael, J. P. and Roger. A. J.: comparison of spectrophotometric and biological assay for nitric oxide and endothelium-derived relaxing factor(EDRF) : Neurospecificity of the diazotiazation reaction for NO and failure to detect EDRF. *J. Pharmacol.*, **252**, 922-928, 1990.
- 33) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275, 1951.
- 34) 이회영 : 남성과학, 서울, 서울대학교출판부, pp. 232-239, 1987.
- 35) Brecht, D. S., Ferris, C. D. and Snyder, S. H. : Nitric oxide synthase regulatory sites. *J. Biol. Chem.*, **267**(16), 1976-1981, 1992.
- 36) Brecht, D. S., Hwang, P. M. and Snyder, S. H. : Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. *Nature*, **347**, 768-770, 1990.
- 37) Burnett, A. L., Tillman, S. L., Chang, T. S. K., Epstein, J. I., Lowenstein, C. J., Brecht, D. S., Snyder, S. H. and Walsh, P. C. : Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the autonomic innervation of the human penis. *J. Urol.*, **150**, 73-76, 1993.
- 38) Dawson, T. M., Dawson, V. L. and Snyder, S. H. : A novel neuronal messenger molecule in brain : The free radical, nitric oxide. *Ann. Neurol.*, **32**, 297-311, 1992.
- 39) Anggard, E. : Nitric oxide : Mediator, murderer and medicine, *Lancet*, **343**, 1199-1206, 1994.
- 40) Epstein, E. : Mechanism of disease, *England J. Med.*, **329**(27), 2002-2012, 1993.
- 41) Lowenstein, C. J., Dinerman, J. L. and Snyder, S. H. : Nitric oxide : A physiologic messenger, *Ann. Intern. Med.*, **120**, 227-237, 1994.
- 42) Hates, A. W. : Principles and methods of toxicology, 3rd Ed., Raven press, pp. 1040-1063, 1994.
- 43) Ross, D. : Glutathione, free radicals and chemotherapeutic agents : Mechanism of free radical induced toxicity and glutathione dependent protection. *Pharmacol. Ther.*, **37**(2), 231-239, 1988.
- 44) Barry, H : Oxidants and human disease : Some new concepts. *FASEB. J.*, **1**, 358-364, 1987.
- 45) David, R. : Mechanistic toxicology : A radical perspective. *J. Pharm. pharmacol.*, **41**, 505-511, 1989.