

加味馬錢五子丸 추출물이 雄性 白鼠의 성기능에 미치는 효과

권강범 · 김복량¹ · 황인진 · 김은경 · 김구환 · 고광학 · 최연성 · 장근국 · 노성일² · 한동원² · 차 숙³ · 박대영³ · 류도곤*

원광대학교 한의과대학 생리학교실, 1: 원광대학교 의과대학 생화학교실,
2: 원광대학교 한의과대학 재활의학교실, 3: 원광대학교 한의과대학 간계내과학교실

Effects of *Gamimajeonjahwan* Extract on the Sexual Function in Male Rats

Kang Beom Kwon, Bok Ryang Kim¹, In Jin Hwang, Eun Kyung Kim, Goo Hwan Kim, Kwang Hak Ko, Yeon Seong Choi, Geun Gook Zhang, Seong Il Rho², Dong Won Han², Suk Cha³, Dae Young Park³, Do Gon Ryu*

Department of Physiology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University.
1: Department of Biochemistry, College of Medicine, Wonkwang University
2: Department of Oriental Rehabilitation Medicine, College of Oriental Medicine, Wonkwang University
3: Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

To evaluate effect of *Gamimajeonjahwan*(GMOH) water extract on sexual functions, we orally administered GMOH extract(1,100mg/kg) for four weeks in male rats impaired by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD) and ketoconazole(KZ). And we investigated the sexual behaviors such as mount latency, mount frequency, intromission latency, intromission frequency, ejaculation period and ejaculation latency. Serum testosterone concentrations also are evaluated in GMOH- and/or vehicle-treated male rats. The results were obtained as follows: GMOH inhibited the increase of intromission latency by TCDD in male rats. GMOH inhibited the decrease of intromission frequency by TCDD in male rats. GMOH inhibited the increase of ejaculation latency by TCDD in male rats. GMOH inhibited the decrease of serum testosterone concentration by TCDD in male rats. GMOH inhibited the decrease of serum testosterone concentration by KZ in male rats. These results suggest that GMOH water extract is active in improving sexual functions and protecting a decrease of testosterone concentrations induced by TCDD and KZ in male rats.

Key words : *Gamimajeonjahwan*, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin, ketoconazole, sexual behaviors, testosterone

서 론

현대사회가 문명의 발달로 복잡하여지면서 사회생활에서의 정신적 stress, 환경오염물질에의 노출에 의한 성기능의 유지에 관련된 기관의 손상 등으로 성기능의 장애로 인한 의학적 및 사회적인 문제가 증가 추세에 있다. 성기능의 장애는 신경학적 및 내분비학적 요인을 포함한 복잡한 원인에서 기인하기 때문에 단일 성분의 의약품으로써는 해결하기 어려운 문제이다. 한약 처방 중에는 오래전부터 성기능 개선의 목적으로 사용되어 왔던 비방들이 많이 있고 새로운 처방의 개발여지가 있음에도 불구하고 이의 타당성에 대한 현대의학적인 검토가 미흡한 실정이다. 박

등¹⁾에 의하면 성기능 회복의 목적으로 九氣雙和湯, 五精丸, 三子丸, 壯元丸, 保養志神丹, 不老回陽丸, 補陰補陽丸 등의 처방을 사용하였다고 보고하였다.

본 실험에서 웅성 랫드의 성기능을 저하시키는 물질로 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD)와 ketoconazole(KZ)을 이용하였다. TCDD는 대부분의 식물체에 존재하는 flavonoid 물질²⁾과 마찬가지로 호르몬 교란물질의 일종으로써 estrogen receptor에 결합하며 cytochrome P450 side chain cleavage enzyme (P-450sec)에 의해서 progesterone으로 전환되는 과정을 막아서 testosterone의 합성, 혈액내 testosterone의 농도, 교환 및 부고환의 발육 그리고 정자의 형성 등을 억제하는 물질로 알려져 있으며^{3,4)} KZ는 항진균 물질로 사람과 동물에서 testosterone의 합성을 저해하는 물질로 알려져 있다⁵⁾.

이에 저자는 加味馬錢五子丸이 TCDD와 KZ에 의하여 손상된

* 교신저자 : 류도곤, 전북 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 한의과대학
· E-mail : tkryu@wonkwang.ac.kr, · Tel : 063-850-6846
· 접수 : 2004/07/22 · 수정 : 2004/08/30 · 채택 : 2004/10/01

웅성 랫드의 성기능에 대한 방어효과를 조사하기 위하여 4주 동안 1,100mg/kg의 농도로 경구 투여 한 후 mounting latency, mounting frequency, intromission latency, intromission frequency, ejaculation latency, refractory period 등과 같은 성행동 (sexual behavior)을 조사하였으며 또한 혈청 내 testosterone 농도를 조사하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

실험동물은 체중 200-250 g 내외의 Sprague-Dawley계 백서를 물과 사료를 충분히 공급하여 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2) 약물

실험에 사용한 加味馬錢五子丸은 원광대학교 한의과대학 약산한방병원에서 구입하여 원광대학교 한의과대학 본초학교실에서 감정한 후 정선하여 사용하였고 加味馬錢五子丸의 내용과 분량은 다음과 같다.

Table 1. Prescription of Gamimajeonjahwan(GMOH)

| 한약명 | 생약명 | 중량(g) (한접량×4.5접) |
|-------|------------------------------|------------------|
| 人 蔘 | <i>Radix Ginseng</i> | 6.67×4.5 = 30.01 |
| 菟 絲 子 | <i>Semen Cuscutae</i> | 6.67×4.5 = 30.01 |
| 蛇 末 子 | <i>Fructus Torilis Crudi</i> | 6.67×4.5 = 30.01 |
| 淫 羊 藿 | <i>Herba Epimedii</i> | 6.67×4.5 = 30.01 |
| 五 味 子 | <i>Fructus Schizandrae</i> | 7.11×4.5 = 31.99 |
| 鹿 黃 | <i>Herba Ephedrae</i> | 7.11×4.5 = 31.99 |
| 馬 錢 子 | <i>Semen Strychni</i> | 4×4.5 = 18 |
| | 총 계 | 202.02 |

2. 방법

1) 전탕액의 제조

加味馬錢五子丸 4.5접 분량인 202.02g을 각각 환저플라스크에 넣고 냉각기를 부착하여 2시간동안 전탕한 후 3,000rpm에서 20분간 원심분리하고 진공 농축기로 감압농축한 후 동결건조기에서 24시간 동결건조하여 245.23g의 분말 사료를 얻었다.

2) 실험군

| Group | 동물수(마리) | 투여용량 | 투여기간(회수) |
|------------|---------|-----------------------|---------------------------------------|
| Control | 10 | saline | 28일간(28회) 경구투여 |
| GMOH+ | 10 | 1,100mg/kg | 28일간(28회) 경구투여 |
| TCDD | 10 | 25ug/kg | 14일, 28일 투여(2회) 복강내 투여 |
| KZ | 10 | 100mg/kg | 15일-28일(14회) 복강내 투여 |
| GMOH+ TCDD | 10 | 1,100mg/kg + 25ug/kg | 28일간(28회) 경구투여 14일, 28일 투여(2회) 복강내 투여 |
| GMOH+ KZ | 10 | 1,100mg/kg + 100mg/kg | 28일간(28회) 경구투여 15일-28일(14회) 복강내투여 |

3) 약물의 투여 및 관련 장기의 적출

Sprague-Dawley계 웅성 백서(200-250g, 6-8주령)에 1,100mg/kg 加味馬錢五子丸을 4주간(28일) 연속으로 매일 1회 경구투여하고

시험을 실시하였다. 대조 동물에는 약물을 용해하기 위해 사용한 용매인 saline을 투여하였다. 행동학적 실험이 끝난 동물은 ether 마취 후 복대동맥을 통해 채혈하고 혈장을 분리하였다.

4) Ketoconazole(KZ)과 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD)의 투여

KZ는 100mg/kg의 농도로 실험 시작 후 15일과 28일에 복강내로 투여하였으며 TCDD는 20µg/kg의 농도로 15일부터 28일까지 14회 복강내로 투여하였다.

5) Sexual Behavior의 측정

약물을 1개월 투여 후 밤 8시부터 새벽 2시 사이에 암컷과 수컷을 1대1로 투명한 유리로 제작된 성행동관찰용 cage(60x50x30 cm)에 넣고 도입 30분간 성행동을 관찰하였다. 암컷은 시험시에 12주령인 동물들로 성교행동의 수동적 유발을 위해 시험 48시간 전에 estradiol propionate 20mg/kg, s.c., 시험 6시간 전에는 progesterone 을 20µg/rat의 용량으로 각각 투여하였다. 30분 동안 mounting 횟수, intromission의 횟수, ejaculation의 여부를 확인하였다. Intromission과정에서 순간적인 정지 후 backward jumping과 penial licking을 행하는 경우 ejaculation을 완성한 것으로 간주하였다. 또한 mounting latency, intromission latency, postejaculatory interval도 측정하였다.

● 용어정의

- mounting latency: 암수를 관찰상자에 넣는 시간부터 수컷이 암컷의 등위에 올라타는 행동의 개시까지의 시간
- mounting frequency: 최초의 삽입을 할 때까지의 mounting 횟수
- intromission latency: 최초의 mounting에서 삽입시까지의 시간
- intromission frequency: 최초의 사정전 intromission의 횟수
- ejaculation latency: 최초의 intromission에서 사정까지의 시간
- refractory period: 사정 후 mounting, intromission등의 성적행동 재개까지의 시간

6) 혈청 Testosterone의 측정

09:00부터 12:00까지 채혈 후 얼음 위에서 혈액을 응고시키고 혈청을 얻는다. 혈청은 분석할 때까지 -70°C에서 보관한다. testosterone의 농도는 Amersham (Amersham, UK)에서 판매하는 RIA kit (TRK 6009)로 측정하는데, RPN1910-2의 column으로 testosterone와 dihydrotestosterone를 분리한 후 분석하였다. 혈청 내의 testosterone를 diethyl ether로 추출하고 건조시킨 후 iso-octane에 녹인다. Iso-octane으로 평형시킨 상기의 column을 이용하여 두 남성 호르몬을 각기 분리하고 iso-octane을 건조시킨후 0.05M Tris, pH 8.0인 완충용액에 녹이고 tracer로 [3H]-testosterone를 첨가한다. 그 후 anti-testosterone항체를 첨가하고, 항체와 결합되지 않은 free testosterone을 charcoal로 제거하여 항체와 결합된 방사선의 양으로 testosterone의 농도를 측정하였다⁹⁾.

7) 통계적 처리

실험결과의 통계적 처리는 Stat View™ (Brain Power, Inc., Calabasas, CA., U. S. A.)를 사용하여 computer (Macintosh IIcx)로 처리하였으며 p-value가 최소한 0.05 이하인 경우 유의한 차이로 판정하였고, 실험치의 표현은 mean±SE로 하였다.

실험성적

1. 웅성 랫드의 무게에 미치는 영향

6개군(실험 재료 및 방법 참조)의 실험 기간(4주)동안의 랫드의 무게를 측정하였다. 加味馬錢子丸과 KZ를 투여한 군의 무게는 대조군에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았으나 TCDD를 단독 투여한 군에서는 3주째, 4주째 각각 308g, 308.5g으로 대조군 339g에 비하여 유의한 감소를 나타냈으며 加味馬錢子丸을 병용 투여한 군에서는 TCDD를 단독 투여한 군과 유의성은 나타나지 않았으나 대조군에 비하여 유의한 감소를 나타냈다. KZ를 단독 투여한 군과 加味馬錢子丸과 KZ를 병용 투여한 군의 무게는 대조군에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았다(Table 1).

Table 1. Body weight change during the experiment

| Group | Body weight (g) | | | | |
|-----------|-----------------|-----------|-----------|------------|------------|
| | week 0 | week 1 | week 2 | week 3 | week 4 |
| Control | 240.5±3.9 | 295.0±3.8 | 323.0±5.8 | 339.0±5.5 | 353.0±6.2 |
| GMOH | 238.0±5.9 | 303.0±3.0 | 335.0±3.3 | 350.5±2.2 | 356.5±2.2 |
| TCDD | 242.0±3.5 | 304.0±3.4 | 304.0±4.9 | 308.0±4.7* | 308.5±8.2* |
| KZ | 241.5±3.2 | 289.0±4.2 | 316.5±3.8 | 334.0±4.3 | 352.5±6.3 |
| GMOH+TCDD | 245.5±3.8 | 297.5±4.9 | 326.0±4.7 | 311.6±6.7* | 293.3±6.2* |
| GMOH+KZ | 242.5±3.7 | 296.5±3.4 | 321.0±4.4 | 326.5±6.2 | 331.5±5.6 |

Number of experiments: 10. GMOH: Gamimajeonjohwan(GMOH) water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days. TCDD: 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD) (20 μ g/kg) was administered orally to the mouse on the 15th day and 28th day after experiment beginning. KZ: Ketoconazole(KZ) (0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 15 days from 14th day after experiment beginning. GMOH+TCDD : GMOH water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days and TCDD(20 μ g/kg) was administered orally to the mouse on the 15th day and 28th day after experiment beginning. GMOH+KZ: GMOH water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days and KZ(0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 15 days from 14th day after experiment beginning. *: significantly different from the value of control group with p<0.05 with Student's t-test

2. 加味馬錢子丸이 성기능 관련 장기 무게에 미치는 영향

4주간 加味馬錢子丸 추출물, TCDD와 KZ를 투여한 후 성기는 관련 장기인 고환(testis), 전립선(prostate), 정낭(seminal vesicle), 간(liver)을 적출하여 무게를 측정하였다. 그 결과 TCDD 단독 투여군의 전립선, 정낭, 간의 무게는 각각 0.39g, 0.64g, 16.0g으로 나타나 대조군에 비하여 유의한 차이를 나타냈다. 그러나 TCDD와 加味馬錢子丸 추출물을 병용 투여한 군의 전립선, 정낭, 간의 무게는 각각 0.35g, 0.66g, 15.1g으로 TCDD를 투여한 군과는 유의한 차이가 나타나지 않았으나 대조군에 비하여 유의한 차이를 나타냈다. KZ 투여군, KZ와 加味馬錢子丸 병용 투여군에서는 고환, 전립선, 정낭, 간 무게에 대하여 유의한 차이가 나타나지 않았다(Table 2).

3. 加味馬錢子丸이 성행동에 미치는 영향

1) Mount latency에 미치는 영향

Mount latency는 숫컷 쥐가 암컷 쥐의 등위에 올라타는 행동의 개시까지의 시간을 가리키는 말로서 加味馬錢子丸 추출물과 KZ 단독 투여군의 mount latency는 대조군에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았다. TCDD 단독 투여군의 mount latency는 440초로 나타나 대조군에 비하여 약간 증가하였으며 加味馬錢子丸 추출물과 병용 투여군은 811.1초로 나타나 TCDD 단독 투여군과 대조군에 비하여 증가하였으나 통계적인

유의성은 나타나지 않았다. 또한 加味馬錢子丸 추출물과 KZ 병용 투여군의 mount latency는 617.8초로 나타나 KZ 투여군에 비하여 증가하였으나 유의성은 나타나지 않았다(Fig. 1).

Table 2. Effects of GMOH on testosterone-related organ weight in TCDD and KZ administered rats

| Group | Organ weight (g) | | | |
|-----------|--------------------|------------|-----------------|-----------|
| | testis | prostate | seminal vesicle | liver |
| Control | 1.73±0.10 | 0.58±0.05 | 1.28±0.05 | 13.6±0.4 |
| GMOH | 1.75±0.03 | 0.67±0.10 | 1.25±0.09 | 12.8±0.1 |
| TCDD | 1.75±0.02 | 0.39±0.02* | 0.64±0.04* | 16.0±0.4* |
| KZ | 1.71±0.04 | 0.47±0.03 | 1.19±0.03 | 14.1±0.4 |
| GMOH+TCDD | 1.54±0.11 | 0.35±0.02* | 0.66±0.09* | 15.1±0.5* |
| GMOH+KZ | 1.63±0.11 | 0.37±0.02* | 1.00±0.08* | 15.0±0.8 |

Number of experiments: 10. GMOH: Gamimajeonjohwan(GMOH) water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days. TCDD: 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD) (20 μ g/kg) was administered orally to the mouse on the 15th day and 28th day after experiment beginning. KZ: Ketoconazole(KZ) (0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 15 days from 14th day after experiment beginning. GMOH+TCDD : GMOH water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days and TCDD(20 μ g/kg) was administered orally to the mouse on the 15th day and 28th day after experiment beginning. GMOH+KZ: GMOH water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days and KZ(0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 15 days from 14th day after experiment beginning. *: significantly different from the value of control group with p<0.05 with Student's t-test

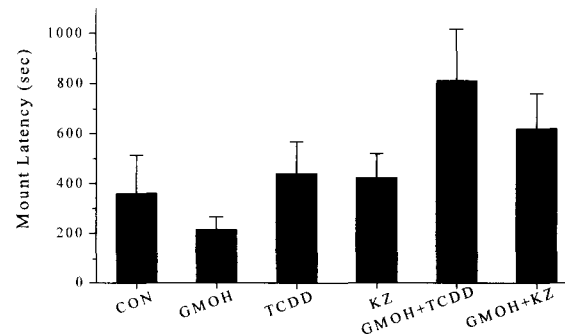


Fig. 1. Effects of GMOH on mount latency in TCDD and KZ administered rats. Number of experiments: 10. GMOH: Gamimajeonjohwan(GMOH) water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days. TCDD: 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD) (20 μ g/kg) was administered orally to the mouse on the 15th day and 28th day after experiment beginning. KZ: Ketoconazole(KZ) (0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 15 days from 14th day after experiment beginning. GMOH+TCDD : GMOH water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days and TCDD(20 μ g/kg) was administered orally to the mouse on the 15th day and 28th day after experiment beginning. GMOH+KZ: GMOH water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days and KZ(0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 15 days from 14th day after experiment beginning.

2) Mount frequency에 미치는 영향

Mount frequency는 최초 삽입(intromission) 할 때까지의 mount 횟수를 일컫는 말로서 加味馬錢子丸과 KZ 단독 투여군에서는 대조군에 비하여 유의한 변화가 나타나지 않았다. 그러나 TCDD 단독 투여군에서 mount frequency는 9.4번으로 대조군 30.7번에 비하여 유의하게 감소하였다. 加味馬錢子丸과 TCDD 병용 투여군의 mount frequency는 12.1번으로 TCDD 단독 투여군에 비하여 증가하였으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았다(Fig. 2).

3) Intromission latency에 미치는 영향

Intromission latency는 최초의 mount에서 삽입시까지의 시간을 나타내는 말로서 加味馬錢子丸과 KZ 단독 투여군에서는 대조군에 비하여 유의한 변화가 나타나지 않았다. 그러나 TCDD

단독 투여군에서 intromission latency는 1800초로 나타나 대조군 778.1초에 비하여 유의하게 증가하였다. 加味馬錢五子丸과 TCDD 병용 투여군의 intromission latency는 1545.7초로 나타나 TCDD 단독 투여군에 비하여 유의한 감소를 나타내 TCDD에 의한 성기능 감소를 방어하는 것으로 나타났다(Fig. 3).

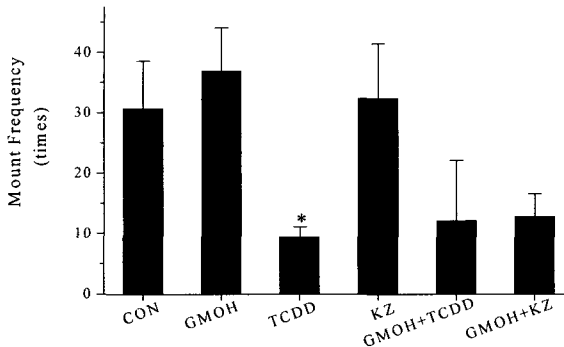


Fig. 2. Effects of GMOH on mount frequency in TCDD and KZ administered rats. Number of experiments: 10. GMOH: Gamimajeonjohwan(GMOH) water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days. TCDD: 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD) (20 μ g/kg) was administered orally to the mouse on the 15th day and 28th day after experiment beginning. KZ: Ketoconazole(KZ) (0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 15 days from 14th day after experiment beginning. GMOH+TCDD : GMOH water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days and TCDD(20 μ g/kg) was administered orally to the mouse on the 15th day and 28th day after experiment beginning. GMOH+KZ: GMOH water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days and KZ(0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 15 days from 14th day after experiment beginning. * : significantly different from the value of control group with p<0.05 with Student's t-test

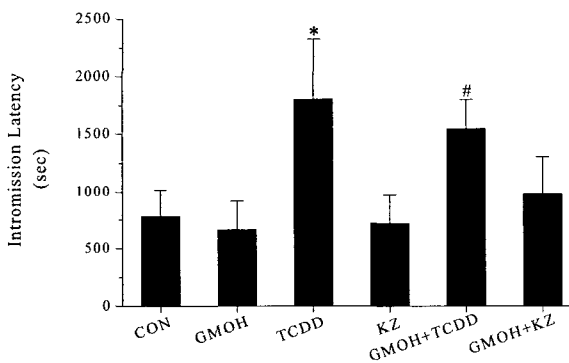


Fig. 3. Effects of GMOH on intromission latency in TCDD and KZ administered rats. Number of experiments: 10. GMOH: Gamimajeonjohwan(GMOH) water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days. TCDD: 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD) (20 μ g/kg) was administered orally to the mouse on the 15th day and 28th day after experiment beginning. KZ: Ketoconazole(KZ) (0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 15 days from 14th day after experiment beginning. GMOH+TCDD : GMOH water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days and TCDD(20 μ g/kg) was administered orally to the mouse on the 15th day and 28th day after experiment beginning. GMOH+KZ: GMOH water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days and KZ(0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 15 days from 14th day after experiment beginning. * , # : significantly different from the value of control and TCDD group respectively with p<0.05 with Student's t-test

4) Intromission frequency에 미치는 영향

Intromission frequency는 최초의 사정전 intromission의 횟수를 나타내는 말로서 加味馬錢五子丸과 KZ 단독 투여군에서는 대조군에 비하여 유의한 변화가 나타나지 않았다. 그러나 TCDD 단독 투여군에서 intromission latency는 거의 나타나지 않아 성기능이 유의하게 감소하였으며 加味馬錢五子丸과 TCDD 병용 투여군의 intromission frequency는 8.6번으로 나타나 TCDD 단

독 투여군에 비하여 유의한 증가를 나타내 TCDD에 의한 성기능 감소를 방어하는 것으로 나타났다(Fig. 4).

5) Ejaculation latency에 미치는 영향

Ejaculation latency는 최초의 intromission에서 사정까지의 시간을 나타내는 말로서 加味馬錢五子丸과 KZ 단독 투여군에서는 대조군에 비하여 유의한 변화가 나타나지 않았다. 그러나 TCDD 단독 투여군에서 ejaculation latency는 1800초로 나타나 대조군 640.6초에 비하여 유의하게 증가하여 웅성 백서의 성기능을 손상시켰다. 加味馬錢五子丸과 TCDD 병용 투여군의 ejaculation latency는 1542.9초로 나타나 TCDD 단독 투여군에 비하여 유의한 감소를 나타내 TCDD에 의한 성기능 감소를 방어하는 것으로 나타났다(Fig. 5).

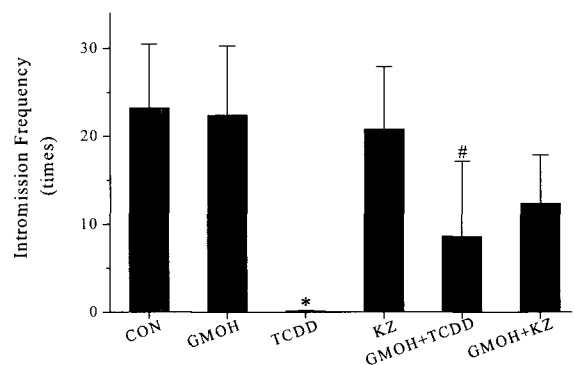


Fig. 4. Effects of GMOH on intromission frequency in TCDD and KZ administered rats. Number of experiments: 10. GMOH: Gamimajeonjohwan(GMOH) water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days. TCDD: 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD) (20 μ g/kg) was administered orally to the mouse on the 15th day and 28th day after experiment beginning. KZ: Ketoconazole(KZ) (0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 15 days from 14th day after experiment beginning. GMOH+TCDD : GMOH water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days and TCDD(20 μ g/kg) was administered orally to the mouse on the 15th day and 28th day after experiment beginning. GMOH+KZ: GMOH water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days and KZ(0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 15 days from 14th day after experiment beginning. * , # : significantly different from the value of control and TCDD group respectively with p<0.05 with Student's t-test

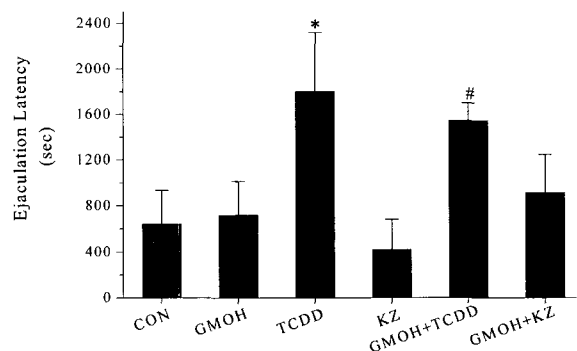


Fig. 5. Effects of GMOH on ejaculation latency in TCDD and KZ administered rats. Number of experiments: 10. GMOH: Gamimajeonjohwan(GMOH) water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days. TCDD: 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD) (20 μ g/kg) was administered orally to the mouse on the 15th day and 28th day after experiment beginning. KZ: Ketoconazole(KZ) (0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 15 days from 14th day after experiment beginning. GMOH+TCDD : GMOH water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days and TCDD(20 μ g/kg) was administered orally to the mouse on the 15th day and 28th day after experiment beginning. GMOH+KZ: GMOH water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days and KZ(0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 15 days from 14th day after experiment beginning. * , # : significantly different from the value of control and TCDD group respectively with p<0.05 with Student's t-test

6) Ejaculation period에 미치는 영향

Ejaculation period는 사정 후 mounting, intromission등의 성적행동 재개까지의 시간을 나타내는 용어로 加味馬錢五子丸과 KZ 단독 투여군에서는 대조군에 비하여 유의한 변화가 나타나지 않았다. 그러나 TCDD 단독 투여군에서 ejaculation period는 1810초로 대조군 758.9초에 비하여 유의하게 감소하였다. 그러나 加味馬錢五子丸과 TCDD 병용 투여군의 ejaculation period는 1543초로 TCDD 단독 투여군에 비하여 감소하였으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았다(Fig. 6).

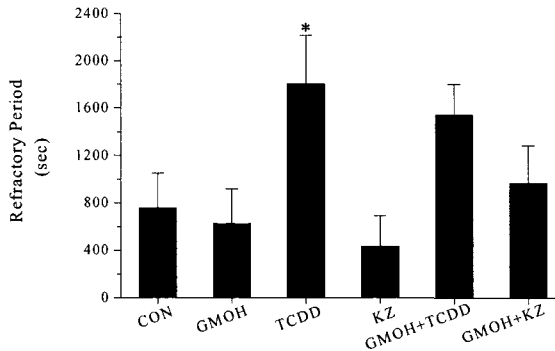


Fig. 6. Effects of GMOH on refractory period in TCDD and KZ administered rats. Number of experiments: 10. GMOH: Gamimajeonjohwan(GMOH) water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days. TCDD: 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD) (20µg/kg) was administered orally to the mouse on the 15th day and 28th day after experiment beginning. KZ: Ketoconazole(KZ) (0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 15 days from 14th day after experiment beginning. GMOH+TCDD : GMOH water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days and TCDD(20µg/kg) was administered orally to the mouse on the 15th day and 28th day after experiment beginning. GMOH+KZ: GMOH water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days and KZ(0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 15 days from 14th day after experiment beginning. * : significantly different from the value of control group with p<0.05 with Student's t-test

4. TCDD와 KZ이 혈청 testosterone에 미치는 영향

1) TCDD의 영향

TCDD (25µg/kg) 투여 후 바로 나타난 testosterone 농도는 3.02±0.36ng/ml 였다. TCDD (25µg/kg) 투여 후 1일에 testosterone 농도는 2.13±0.3 ng/ml로 유의한 감소를 나타내지 않았다. 그러나 3일, 7일, 14일에는 각각 1.46±0.17 ng/ml, 0.36±0.05 ng/ml, 0.46±0.07 ng/ml로 유의한 감소(p<0.05)를 나타냈다(Table 3).

2) KZ의 영향

Ketoconazole (100mg/kg) 투여 후 바로 나타난 testosterone 농도는 2.96±0.32 ng/ml였다. Ketoconazole (100mg/kg) 투여 후 30분에 testosterone 농도는 2.49±0.30 ng/ml로 유의성을 나타내지 않았다. 그러나 4시간, 8시간 후에는 각각 1.09±0.20 ng/ml, 0.74±0.10 ng/ml로 유의한 감소(p<0.05)를 나타냈으며, 12시간, 24시간 후에는 각각 1.95±0.25 ng/ml, 2.52±0.35 ng/ml로 testosterone 농도가 회복되는 경향을 나타냈다 (Table 4).

Table 3. Time course for effect of TCDD treatment on serum concentration of testosterone in rats.

| Time(day) | 0 | 1 | 3 | 7 | 14 |
|----------------------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| Testosterone (ng/ml) | 3.02±0.36 | 2.13±0.34 | 1.46±0.17* | 0.36±0.05* | 0.46±0.07* |

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD)(25µg/kg) was administered orally to the rats. *: significantly different from the value of the control time at p<0.05 with Student's t-test

Table 4. Time course for effect of Ketoconazole treatment on serum concentration of testosterone in rats.

| Time(hr) | 0 | 0.5 | 4 | 8 | 12 | 24 |
|----------------------|-----------|-----------|------------|------------|-----------|-----------|
| Testosterone (ng/ml) | 2.96±0.32 | 2.49±0.30 | 1.09±0.20* | 0.74±0.10* | 1.95±0.25 | 2.52±0.35 |

Ketoconazole (0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 14 days * : significantly different from the value of control group with p<0.05 with Student's t-test

5. 加味馬錢五子丸이 혈청 testosterone에 미치는 영향

4주간 加味馬錢五子丸 추출물과 TCDD, KZ를 투여한 후 혈액을 채취하여 혈청(serum)을 분리한 후 방사성 동위원소법을 이용하여 testosterone 농도를 측정하였다. 그 결과 TCDD를 투여한 군의 testosterone 농도는 0.4ng/ml로 나타나 대조군에 비하여 86% 감소하여 통계적인 유의성을 나타냈으며 KZ 투여군도 0.6ng/ml의 testosterone을 나타내 대조군에 비하여 유의한 감소를 나타냈다. 그러나 TCDD와 加味馬錢五子丸을 병용 투여한 군의 testosterone 농도는 0.8ng/ml의 농도로 TCDD 단독 투여군에 비하여 유의한 증가를 나타냈다. KZ와 加味馬錢五子丸을 병용 투여한 군의 testosterone 농도는 1.6ng/ml의 농도로 KZ 단독 투여군에 비하여 유의한 증가를 나타냈다(Table 5).

Table 5. Effects of GMOH on serum testosterone concentration in TCDD and KZ administered rats.

| Group | testosterone concentrations(ng/ml) | |
|-----------|------------------------------------|--------------|
| | mean±S.E. | % of control |
| Control | 2.84±3.6 | 100 |
| GMOH | 3.06±4.8 | 107.7 |
| TCDD | 0.4±0.06(*) | 14.0 |
| KZ | 0.6±0.08(*) | 21.0 |
| GMOH+TCDD | 0.8±0.09(#) | 28.0 |
| GMOH+KZ | 1.6±0.3(&) | 56.3 |

Number of experiments: 10. GMOH: Gamimajeonjohwan(GMOH) water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days. TCDD: 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD) (20µg/kg) was administered orally to the mouse on the 15th day and 28th day after experiment beginning. KZ: Ketoconazole(KZ) (0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 15 days from 14th day after experiment beginning. GMOH+TCDD : GMOH water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days and TCDD(20µg/kg) was administered orally to the mouse on the 15th day and 28th day after experiment beginning. GMOH+KZ: GMOH water extracts(1.1g/kg) was administered orally to the rats, daily for 28 days and KZ(0.1g/kg) was administered orally to the mouse for 15 days from 14th day after experiment beginning. *,#,& : significantly different from the value of control, TCDD, KZ group, respectively, with p<0.05 with Student's t-test

고찰

한의학에서 발기부전은 陽痿 또는 陰痿의 범주로 인식⁷⁾되며, 원인은 命門火衰를 중심으로 하여 心脾兩虛, 肝虛不舒, 驚恐傷腎, 濕熱下注 등으로 분류하고 있다⁸⁾. 한의학적인 치료 방법은 주로 약물요법과 침구요법으로 대별는데최근의 보고들은 이러한 방법에 의한 치료가 매우 효과적임을 보고하고 있으며 실험적으로 김 등^{9,10)}은 九氣雙和湯과 淫羊藿合菟絲子丸이 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD)와 ketoconazole(KZ)에 의해 손상된 웅성 백서의 성기능에 대하여 방어효과를 나타낸다고 보고하였으며 최 등¹¹⁾은 右歸鈔 추출물의 방어효과를 보고하였다. 또한 중국에서 발표된 성기능에 대한 방어효과를 보인 한약재의 효과를 살펴보면 三寶振雄丹을 1896례의 환자에 투여하여 완치 1399례(73.8%), 호전 438례(23.1%), 무효 59례(3.1%)로 96.9%의 총유효율의 결과를 얻었으며, 투약 후 당일 발기한 경우가 311례

나 되었다고 발표하였고¹²⁾, 변증치료에 대한 결과로 當歸, 蜈蚣, 露蜂房에 변증이 따라 命門火衰 환자에는 右歸飲을, 陰虛火旺인 경우에는 知柏地黃丸을, 肝氣鬱結에는 柴胡疎肝散을, 腎精虧虛에는 五子衍宗丸을, 心脾兩虛에는 歸脾湯을, 肝膽濕熱에는 龍膽瀉肝湯을 합방하여 투여한 결과 166례의 환자중 110례, 현효 39례의 결과를 얻었다¹³⁾고 하였다. 또한 22-52세에 이르는 150례의 陽痿 환자에게 壯陽起痿丸을 기본적으로 1개월을 투여한 바 현효 64%(96례), 호전 24%(36례), 무효 12%(18례)로 88%의 총유효율을 얻었으며 환자 중에는 정자수와 활동성이 증가하고 기형율이 감소하는 효과도 있었다고 보고하였으¹⁴⁾며, 蜈蚣, 當歸, 白芍, 甘草로 구성된 尙痿靈을 투여하여 737례의 환자 중 환치 655례(88.9%), 호전 77례(10.4%), 무효 5례(0.7%)의 결과를 얻었다고 보고하였으¹⁵⁾며, 이외에도 滋陰起痿湯¹⁶⁾과 馬錢五子丸¹⁷⁾ 및 蜻蟻展勢丹¹⁸⁾ 등에 대한 임상효과가 보고되었다.

본 논문에서는 인삼, 토사자, 사상자, 음양곽, 오미자, 마황, 마전자로 구성된 加味馬錢五子丸이 TCDD와 KZ에 의해 손상된 웅성 랫드의 성행동 장애와 혈청 testosterone 농도에 대한 방어효과를 조사하였다. Ketoconazole은 사람과 동물에서 testosterone의 합성하는 효소들을 억제하여 testosterone의 합성을 저해하는 물질이며⁹⁾, TCDD는 대부분의 식물체에 존재하는 flavonoid 물질²⁾과 마찬가지로 호르몬 교란 물질의 일종으로써 testosterone의 합성, 혈액내 testosterone의 농도, 고환및 부고환의 발육 그리고 정자의 형성을 억제하는 물질이다^{3,4)}.

먼저 성기능 관련 장기인 고환, 전립선, 정낭, 간의 무게에 대한 加味馬錢五子丸의 효과를 조사한 결과 각 군간의 유의한 차이는 나타나지 않았다(Table 2). 다음으로 랫드의 성행위로 알려져 있는 mount latency, mount frequency, intromission latency, intromission frequency, ejaculation latency, refractory period를¹⁹⁾ 조사하였다. 加味馬錢五子丸을 28일 투여하는 동안 TCDD를 14일과 28일에 각각 1회씩 투여하여 병태모형을 유도하였다. 그 결과 TCDD를 단독으로 투여한 군은 대조군에 비하여 mount frequency의 감소(Fig. 2), intromission latency의 증가(Fig. 3), intromission frequency의 감소(Fig. 4), ejaculation latency의 증가(Fig. 5), refractory의 증가(Fig. 6)와 같은 성행동의 이상 현상이 나타났다. 그러나 KZ를 실험 시작 후 15일째부터 14일간 14회 투여한 군은 대조군에 비하여 유의한 차이성이 나타나지 않았다. 그러나 TCDD와 加味馬錢五子丸을 병용 투여한 군은 TCDD를 단독 투여한 군에 비하여 intromission latency의 감소(Fig. 3), intromission frequency의 증가(Fig. 4), ejaculation latency의 증가(Fig. 5)를 나타내 TCDD에 의한 성행동의 감소를 방어하는 것으로 나타났다. 남성 호르몬은 시상하부-뇌하수체의 지배하에 정소에서 분비된 다음 체내 거의 모든 세포에 작용하여 남성화작용(androgenic action) 또는 단백질화작용을 일으키는 물질로 생식기와 2차 성특징(secondary sex characteristics)형성에 관여한다²⁰⁾. 또한 태중에 분비된 testosterone은 남성 성기발육과 정소를 고환으로 이동시키며 여포자극 호르몬에 의한 정자형성 과정 및 제 단백질형성에 필요한 단백 동화작용(protein anabolic effect)에 관여한다²¹⁾. 남아 모두 성호르몬이 주로 성교능력을 지

배하는 근원이 되며 이러한 성호르몬이 정상으로 분비되는데는 성선자극 호르몬인 gonadotropin과 남성호르몬인 testosterone의 농도와 성교빈도 등에 좌우된다. 즉 aging factor에 의존적으로 남성호르몬의 농도가 감소하며 이에 비례하여 성교빈도와 발기빈도가 줄어들고 이에 반해서 impotence의 발생이 증가된다^{7,8)}고 알려져 있다. 실험에서 TCDD와 KZ를 투여한 군에서 testosterone 농도는 유의하게 감소하여(Table 3, 4) Bookstaff 등²²⁾과 Engelhardt 등⁵⁾이 보고한 결과와 일치하였다. TCDD와 KZ에 의해 감소한 testosterone 농도에 대한 加味馬錢五子丸 추출물의 방어효과를 조사하기 위하여 4주간 加味馬錢五子丸 추출물, TCDD, KZ을 단독 또는 병용 투여한 군의 혈청을 획득한 후 testosterone 농도를 측정하였다. 그 결과 加味馬錢五子丸 추출물과 TCDD 병용 투여군의 testosterone 농도는 0.8ng/ml로 나타나 TCDD 단독 투여군 0.4ng/ml의 농도에 비하여 100% 방어효과를 나타냈다(Table 5), 또한 KZ와 加味馬錢五子丸 추출물의 병용 투여군의 testosterone 농도는 1.6ng/ml로 KZ 단독투여군에 비하여 유의한 방어효과를 나타냈다(Table 5).

척추동물에서 남성의 생식기능은 남성 호르몬 (androgen 즉, testosterone, androstenedione 및 dehydroepiandrosterone 등)을 만들어 성기의 발육과 남성화를 촉진시켜 종의 번식에 기여한다. Hypothalamus에서 분비되는 gonadotropin releasing hormone (GnRH)은 pituitary gland를 자극하여 Luteinizing hormone (LH)를 분비하는데, 이 LH는 고환의 Leydig cell을 자극하여 testosterone을 합성하고 합성된 testosterone는 feedback control의 방식으로 hypothalamus와 pituitary gland에 작용하여 GnRH 와 LH 및 follicle stimulating hormone(FSH)의 분비를 억제한다²³⁾. Testosterone의 체내 합성은 남성에서는 고환의 Leydig cell에서 진행되는데, cytochrome P450 side chain cleavage enzyme (P450sc)에 의해 cholesterol이 pregnenolone으로 전환되며 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase, P45017 α hydroxylase 및 C17-20 lyase의 작용에 의해서 androstenedione이 형성된 후 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase에 의해서 최종적으로 testosterone이 만들어진다. 그 후 seminal vesicle, prostate 및 external genitalia에 존재하는 5 α -reductase에 의해 testosterone의 활성 형태인 dihydrotestosterone(DHT)으로 활성화된다²⁴⁾. 사람이나 랫드에서 testosterone의 주된 target organ은 생식기관으로 정자의 형성과정, accessory sex organ의 발육과 기능 발현, 그리고 libido의 야기 등에 필수적이며, 골격과 근육의 증가, 공격적인 행동 등 여러 기능을 촉진시킨다¹⁹⁾. Testosterone이 정상적으로 합성되지 않는다면 혈액내 testosterone의 농도가 감소되어 testicular feminization syndrome을 초래하고 feedback control에 의한 LH 농도를 조절하지 못해 Leydig cell이 암세포로 전환되는 과정을 야기하는 부작용을 보인다²⁵⁾.

위의 결과에서 나타난 加味馬錢五子丸 추출물의 KZ와 TCDD의 testosterone 농도 감소에 대한 방어효과는 testosterone 대사 과정에서 나타나는 P450 효소에 영향을 미쳐서 효과가 나타났을 수도 있으며 또는 testosterone의 합성에 영향을 미쳐서 나타난 것으로 사료되며 앞으로 이에 대한 연구가 필요하리라 사료된다.

종합하면 加味馬錢五子丸 추출물은 TCDD에 의한 웅성 랫드의 성행동 손상을 방어하였으며 이는 혈청 testosterone 농도 감소에 대한 방어효과에 기인한 것으로 사료되며 자세한 기전적인 연구가 필요하리라 사료된다. 또한 加味馬錢五子丸 추출물은 testosterone 합성을 저해하는 물질인 KZ⁵⁾에 의한 testosterone 농도의 감소를 유의하게 방어하였다. 앞으로 加味馬錢五子丸 추출물의 성기능과 성호르몬 감소에 대한 방어효과를 성기능 관련 호르몬인 성선자극호르몬과 시상하부-뇌하수체 관련해서 연구를 진행하고 효과 기전을 규명하고자 한다. 또한 위의 연구를 바탕으로 임상적인 연구를 시행한다면 성기능 감소에 대한 새로운 신약으로서 加味馬錢五子丸이 한 후보물질이 될 것으로 사료된다.

결 론

加味馬錢五子丸이 웅성 랫드의 성기능에 미치는 효과를 규명하기 위하여 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD), ketoconazole (KZ), 加味馬錢五子丸 추출물을 투여한 쥐를 이용하여 성행동 및 혈청 testosterone 농도를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

加味馬錢五子丸 추출물은 TCDD에 의한 intromission latency의 증가를 유의하게 방어하였다. 加味馬錢五子丸 추출물은 TCDD에 의한 intromission frequency의 감소를 유의하게 방어하였다. 加味馬錢五子丸 추출물은 TCDD에 의한 ejaculation latency의 증가를 유의하게 방어하였다. 加味馬錢五子丸 추출물은 TCDD에 의한 refractory period의 증가를 유의하게 방어하였다. 加味馬錢五子丸 추출물은 KZ에 의한 혈청 testosterone 농도의 감소를 유의하게 방어하였다. 加味馬錢五子丸 추출물은 TCDD에 의한 혈청 testosterone 농도의 감소를 유의하게 방어하였다.

앞으로 加味馬錢五子丸의 성기능 보호 효과에 대한 기전 연구와 임상 연구가 필요하리라 사료된다.

감사의 글

본 논문은 1997년도 한국 한의학 연구원 한의학 발전 연구 지원 사업 지원에 의하여 수행됨.

참고문헌

1. 朴炳昆 : 增補韓方臨床四十年, 서울, 大光文化社, pp. 255-261, 1979.
2. Miksicek RJ : Commonly occurring plant flavonoids have estrogenic activity, Mol. Pharmacol., 44 : 37-43, 1993.
3. Peterson RE, Theobald HM, Kimmel GL: Developmental and reproductive toxicity of dioxins and related compounds; Cross species comparisons, Crit. Rev. Toxicol., 23:283-335, 1993.
4. Wilker C, Johnson L & Safe S : Effects of developmental exposure to indole-3-carbinol or 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on reproductive potential of male rat offspring, Toxicol. Appl. Pharmacol., 141 : 68-75, 1996.

5. Engelhardt D, Weber MM, Miksch T, Abedinpour F & Jespers C: The influence of ketoconazole on human adrenal steroidogenesis; Incubation studies with tissue slices, Clin. Endocrinol., 35:163-168, 1991.
6. Ando S, Canonaco M, Beraldi E, Valenti A, Maggiolini Piro A., Tavolaro R. & Dessi-Fulgheri F.: The evaluation of androgen circulating levels following castration in adult male rats, Experiment. Clin. Endocrinol., 91 : 311-318, 1988.
7. 이희영 : 남성의 성기능 장애, 최신의학, 7 : 709-928, 1964.
8. 이희영, 최낙규 : 남성성기능에 관한 연구, 남성성활동에 미치는 각종 요인에 관한 임상적 연구, 대한의학협회지, 22 : 1041-1050, 1979.
9. 김용복, 박준수, 권강범, 이호섭, 김강전, 박관하, 김복량, 류도곤 : TCDD와 Ketoconazole에 의하여 抑制된 雌性 白鼠의 性行動 및 性호르몬에 미치는 淫羊藿合 絲子丸의 效果, 동의생리학회지, 14(1) : 135-141, 1999.
10. 김용복, 권강범, 박준수, 박관하, 김복량, 이호섭, 류도곤 : 구기쌍화탕 전탕액이 웅성 백서의 성행동 및 성호르몬에 미치는 영향, 동의병리학회지, 13(1) : 152-157, 1999.
11. 최기방, 박준수, 권강범, 이호섭, 박관하, 김복량, 류도곤 : 右歸飲 전탕액이 웅성 백서의 성행동 및 성호르몬에 미치는 영향, 동의생리학회지, 14(1) : 77-83, 1999.
12. 陳長義 : 三寶振雄丹治療陽痿 1896例療效觀察, 新中醫, 8:30, 1993.
13. 沈堅華 : 166例陽萎治療體會, 新中醫, 5:39-40, 1993.
14. 蔣瑞峰, 俞瑜 : 壯陽起痿丸治療陽萎150例療效小結, 新中醫, 2 : 36, 1989.
15. 陳玉梅 : 亢痿靈治療陽痿737例療效觀察, 中醫雜誌, 4:36, 1981.
16. 劉春甫 : 滋陰起痿湯治療陽萎21例療效觀察, 浙江中醫雜誌, 5 :205, 1989.
17. 上官双全 : 馬錢五子丸治療陽萎, 上海中醫藥雜誌, 10:27, 1989.
18. 石志超 : 家傳治陽痿概述, 浙江中醫雜誌, 1 : 14, 1990.
19. Sachs BD & Meisel RL: The physiology of male sexual behavior, in The physiology of reproduction, Knobil E, Neill JD, Ewing LL, Greenwald GS, Markert CL, & Pfaff DW (eds), pp. 1393-1485, Raven Press, New York, 1988.
20. Anderson DD: "Endocrine Function of the Testis" O, Riordan, J. L. H. ed., Recent Advance in Endocrinology and Metabolism, Edinburgh, Churchill Livingstone, pp. 111-136, 1978.
21. Bardin CW, Pausen CA: "The Testis," William, R. H. ed., Textbook of Endocrinology, 6th ed., Philadelphia, Saunders, pp. 293-354, 1981.
22. Bookstaff RC, Moore RW, Peterson RE: 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin increases the potency of androgens and estrogens as feedback inhibitors of Leuteinizing hormones secretion in male rat, Toxicol. Appl. Pharmacol., 104:212-224, 1990.
23. Capen CC: Toxic responses of the endocrine system, in Klaassen CD (ed): Toxicology, the basic science of poisons, McGraw-Hill, NY, USA, pp. 617-640, 1996.

24. Hanukoglu I: Steroidogenic enzyme; Structure, function, and role in regulation of steroid hormone biosynthesis, J. Steroid Biochem, Molec. Biol., 43:779-804, 1992.
25. Murakami M, Hosokawa S & Yamada T: Species-specific mechanism in rat Leydig cell tumorigenesis by procymidone, Toxicol. Appl. Pharmacol., 131:244-252, 1995.