

## 토끼 음경해면체평활근 이완 및 10주간 경구투여한 흰쥐의 생식기능에 미치는 KH204의 효과

이현지 · 이은정 · 김희석 · 김시나 · 황성연<sup>†</sup>

(주)KMSI 부설 한국약과학연구소

## Effects of KH204 on the Relaxation Response of Rabbit Corpus Cavernosum and Reproductive Function in Male Rats

Hyun-Ji Lee, Eun Jeong Lee, Hee-Seok Kim, Si Na Kim and Sung-Yeoun Hwang<sup>†</sup>

Korea Medical Science Institute, Incheon 406-130, Korea

### Abstract

This study was designed to investigate the effects of KH204 on the relaxation response and reproductive function in male. Strips of rabbit corpus cavernosum were prepared for mounting and isometric tension measurement in an organ bath. On cavernosal strips contracted with  $1 \times 10^{-6}$  phenylephrine and KH204 was applied in increasing concentrations from 0, 61, 183 and 549 mg/L, causing dose-dependent relaxation. Male Sprague-Dawley rats were orally administered with 61, 183 and 549 mg/kg/day of KH204 for 10 weeks. We examined organ weights, testicular sperm head counts, epididymal sperm counts, motility and morphology. KH204 relaxed rabbit corpus cavernosal strip contracted by  $1 \times 10^{-6}$  phenylephrine in a dose-dependent manner. In the male rat, testicular weight was increased significantly in the KH204 treated groups compared with control group. Also in the testicular sperm head counts, epididymal sperm counts were increased significantly in the KH204-treated rats. In conclusion, the data suggest that KH204 could enhance erectile and reproductive function.

**Key words:** corpus cavernosum, KH204, sperm counting, rats, erectile function

### 서 론

산업사회에 접어들면서 최근 우리나라도 급속한 경제성장과 동시에 의료기술의 발달과 더불어 환경오염, 스트레스, 수명연장 등으로 성인병을 포함한 각종 질환이 계속 늘어나고 있으며, 특히 남성질환인 발기부전, 남성불임 및 역행성 사정 등과 같은 생기능장애가 해마다 증가하고 있다.

발기부전은 노인층뿐만 아니라 미혼 남성에게까지 그 연령층이 낮아지고 있는 추세이며 세계적으로 약 1억 명이 지니고 있는 것으로 추정되는 매우 흔한 질환이다. 우리나라에서도 40대 26%, 50대 37%, 60대 69%, 70대 85%에서 발기부전을 가지고 있는 것으로 조사되었다(1).

음경의 발기는 해면체신경과 해면체내피세포에서 분비되는 nitric oxide(NO)와 같은 비아드레날린성 비콜린성 신경전달물질에 의해 해면체 내의 동맥과 조직을 둘러싸고 있는 평활근이 이완되면서 음경으로의 동맥혈류량 유입이 증가되고 정맥혈류의 유출이 차단되어 나타나는 현상으로 알려져 있다(2). 따라서 해면체 평활근의 긴장도 증가나 내인성 이완기전의 장애는 남성 생기능 이상을 초래할 수 있으며

발기부전을 야기한다(3).

음경발기 이전에 작용하는 NO는 체내에서 nitric oxide synthase(NOS)라는 효소에 의해 생성되며, 다양한 생리학적 및 병태생리학적 역할을 지니는 중요한 생체활성 조절물질로 알려져 있다. NOS는 neuronal NOS(nNOS)와 endothelial NOS(eNOS) 및 iNOS 3종류의 isoform이 존재하며 음경의 발기에는 nNOS와 eNOS의 두 효소가 동시에 작용할 때 유발된다(4). NO는 음경평활근 세포막을 통과 후 확산되어 soluble guanylate cyclase의 heme 성분에 결합하여 3',5'-cyclic guanosine monophosphate(cGMP) 합성을 촉진시켜 음경발기를 유발한다(5).

발기부전 증가뿐 아니라 생식기계 질환 중에는 불임이 있으며, 남성불임 발생에 영향을 주는 요인 중에는 스트레스와 함께 음주, 흡연, 식습관, 환경오염 등과 같은 요인이 있다(6). 최근 남성의 정자수가 감소하는 경향을 나타낸다는 연구결과가 지속적으로 발표되고 있다(7).

KH204는 구기자, 산수유, 토사자, 복분자, 오미자의 5가지 천연물질로 구성되었으며 이들 천연물은 간과 신장의 경락에 작용하며 성질은 약간 따뜻하며 원기를 올려주고 신장기

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: blue@kmsi.co.kr  
Phone: 82-32-255-2500, Fax: 82-32-851-2508

능을 강화해 정기를 돋워주고, 눈을 밝게 하는 효능을 지니고 있다(8-10). 특히 남성의 성기능 및 생식장기의 기능을 향상시키는 작용이 있어 남성의 성기능 저하나 발기부전 치료와 남성불임 등을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있을 것으로 추정된다.

본 연구팀은 발기부전의 기능성 천연물질을 바탕으로 개발된 KH204에 대한 이전 실험 연구에서 KH204 100 mg/kg를 투여한 당뇨병유발과 노화된 수컷 흰쥐에서 음경 조직 내 NOS활성과 cGMP함량을 증가시켜 당뇨병성 및 노인성 발기부전에 효과를 보고 하였다(11).

따라서 본 실험에서는 토끼의 음경해면체 평활근 조직을 이용하여 KH204 축적용량별에 따른 평활근 이완력 측정을 시행하였고, KH204를 10주간 반복 경구투여한 수컷 흰쥐의 생식기능에 미치는 영향을 평가하였다.

## 재료 및 방법

### 시료의 조제 및 투여방법

본 실험에 사용된 산수유, 복분자, 오미자는 대영제약(부천)에서 구입하였고, 구기자, 오미자, 토사자는 경원(부천)에서 구입하여 사용하였다. 5가지 천연약재들은 각각 다른 비율로 총 100 g이 되도록 혼합하여 증류수로 2번 세척한 다음 4 L 증류수에 90분간 방치 후 3시간동안 열수추출하였다. 가열하여 얻은 추출액을 여과지로 여과한 후 감압농축하여 동결건조 과정을 거쳐 갈색분말로 만들어 시료(KH204)로 사용하였다.

대조군은 증류수를 투여하고 실험군은 동결건조된 분말을 증류수에 녹여 흰쥐의 체중 kg당 각각의 농도 별로 1일 1회 경구투여하였다

### 실험동물

5개월 된 수컷 New Zealand White rabbit을 샘타코(오산)로부터 입수하여 음경해면체이완 실험에 사용하였고 10주간의 반복투여에 따른 생식기관 변화실험에는 Sprague-Dawley종 수컷을 (주)오리엔트(성남)로부터 입수하여 사용하였다. 1주일동안 실험실 환경에서 적응 후 각 군당 10마리씩 대조군(control)과 실험군인 KH204 61, 183 및 549 mg/kg으로 나누어 10주간 경구투여하였다.

실험동물은 일정한 조건(온도:  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도:  $55 \pm 5\%$ , 명암: 12시간 주기 조명) 하에서 스테인레스제 망사육상자에 1마리씩 수용하여 사육하였다. 사료는 에그리브랜드 퓨리나코리아의 토끼용 고형사료와 pellet형 고형사료(Halran Co., Ltd)를, 물은 미세여과기와 자외선을 이용하여 소독한 음용지하수를 자유 섭취시켰다.

### 토끼 음경해면체 절편의 준비

토끼 이각정맥에 30 mg/kg의 용량으로 sodium pentobarbital을 주사하여 마취한 후 음경조직을 적출하고 회생시

켰다. 적출된 음경조직은 95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>의 혼합가스가 공급되는 Krebs-Hanseleit solution(NaCl 118.3 mM, KCl 4.7 mM, MgSO<sub>4</sub> 1.2 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2 mM, NaHCO<sub>3</sub> 25 mM, CaCl<sub>2</sub> 2.5 mM, glucose 11.4 mM, EDTA 0.016 mM), pH 7.4 내에서 결체조직 및 지방조직을 제거하고 음경해면체 2×2×6 mm 크기의 절편을 만들었다. Krebs-Hanseleit solution이 들어있는 organ bath에 평활근 절편을 고정하고 다른 한쪽 끝을 pressure transducer로 연결된 poly graph에 연결하였다.

### 장력 결정 및 평활근의 약물반응

평활근 절편의 초기 장력을 2 g 정도로 유지시키고 1~2 시간동안 Krebs-Hanseleit solution을 20분에 한 번씩 갈아주며 안정화시켰다. 안정상태에 도달한 다음  $1 \times 10^{-6}$  M pheylephrine(Sigma, USA)을 투여하여 수축정도를 관찰하였다. 이후 Krebs용액으로 3회 이상 씻어 안정된 상태로 회복시키고 다시  $1 \times 10^{-6}$  M pheylephrine을 투여하여 수축정도의 차이가 2회 연속으로 이전 수축의 10% 이내일 때 실험을 진행하였다.

안정한 상태에 도달한 해면체 평활근에 KH204를 61, 183, 549 mg/L 농도(250 μL/25 mL/bath)로 가하여 평활근 긴장도 변화를 측정하였다. Krebs 용액으로 3회 이상 씻어 안정화시킨 뒤  $1 \times 10^{-6}$  M pheylephrine 투여하여 평활근 절편을 수축시킨 후 KH204를 축적용량으로 가하여 평활근 긴장도 변화를 측정하였다. 새로운 Krebs용액으로 3회 이상 씻어 안정화시킨 뒤 다시  $1 \times 10^{-6}$  M pheylephrine 투여하여 평활근 절편을 수축시켰다. 수축시킨 후 양성대조물질(sodium nitroprusside, SNP)을  $10^{-8} \sim 10^{-5}$  M까지 가하여 평활근의 긴장도를 측정하였다.

이완율의 산출은  $1 \times 10^{-6}$  M pheylephrine 처리로 수축시킨 평활근 절편의 측정치 피크 높이를 100%로 설정하여 이완되는 비율(% relaxation)을 평균표준편차로 산출하였다.

### 고환의 정자두부수 및 부고환 미부에서의 정자수 측정

KH204 투여개시 10주 후 고환의 중량을 측정하고, 좌측 정소의 백막을 제거한 다음 12 mL의 증류수가 들어있는 tube에 넣었다. Homogenizer를 이용하여 충분히 균질화한 후 균질액을 초음파기를 이용하여 4~7°C에서 3분간 초음파 처리하였다. 이 균질액을 혈구계산판(heacytometer, Germany)에 고르게 퍼지게 주입하고 5분 이상 방치한 후에 광학현미경을 이용하여 200배율로 관찰한 다음 고환당 총 정자 두부수를 계산하였다.

부고환 정자 수 측정을 위해서는 중량을 측정한 좌측 부고환의 미부를 petri-dish상에서 가위로 세절하였다. 그 다음 세절한 부고환의 미부를 10 mL의 생리식염수가 들어있는 tube에 넣고 정자두부수와 같은 방법으로 실험하여 부고환 미부당 정자수를 계산하였다.

**정자 운동성 검사**

중량을 측정된 우측의 부고환 미부를 정자배양액이 10 mL들어있는 1회용 배양접시에 넣고 가위로 2~3회 세절한 다음 37°C 배양기에서 5분간 배양하였다. 이 정자배양액을 37°C로 유지된 흡이 파진 슬라이드 글라스에 한 방울 떨어뜨린 후 커버글라스로 덮어서 광학현미경의 항온판(micro warm plate)에 놓은 다음 200배율로 검경하였으며, 각 개체 당 200마리의 정자에 대하여 운동성여부를 관찰하였다.

운동성의 판단은 1초에 최소한 10 µm 이상을 움직인 경우 운동성이 있는 것(양성)으로 정의하고 양성율(%)을 산출하였다.

**정자형태검사**

좌측 부고환 미부에서 얻은 정자배양액을 슬라이드 글라스에서 1% Eosin Y와 2:1로 잘 혼합한 다음 커버글라스를 덮어서 염색표본을 만든 후, 각 개체당 200마리의 정자에 대하여 형태학적인 이상 유무를 관찰하였다.

**결과분석**

모든 실험결과는 평균표준편차(mean ± SD)로 표현하였다. 결과에 대한 통계분석은 microsoft excel 프로그램을 이용한 Student's *t*-test를 이용하였다. 통계분석 후 신뢰구간(p value)이 0.01 및 0.05보다 작은 경우 통계학적으로 유의한 것으로 판단하였다.

**결 과**

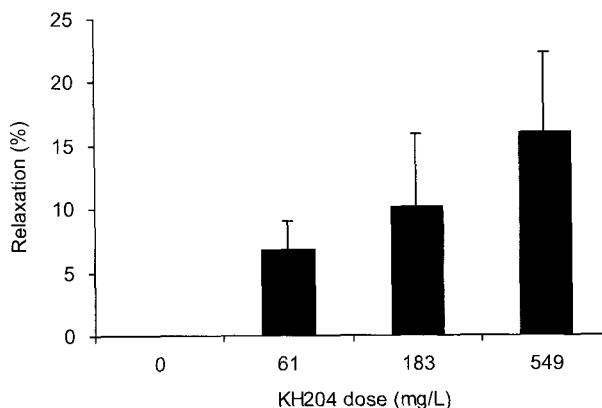
**토끼 음경해면체평활근 조직에서의 KH204 효과**

토끼 음경해면체 평활근 조직절편에 대한 KH204 농도별 이완효과를 측정하였다. 안정된 상태에 도달한 평활근에 KH204 0, 61, 183 및 549 mg/L 각각 투여한 결과 해면체 평활근의 장력에는 영향을 미치지 않았다.  $1 \times 10^{-6}$  M phenylephrine으로 수축시킨 후 KH204를 0, 61, 183 및 549 mg/L의 측정용량으로 처리하여 각각 6.8, 10.1 및 16%의 용량의존적인 이완효과를 보여 주었다(Fig. 1-A). 양성 대조물질 SNP 또한 측정용량  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  및  $10^{-5}$  M로 처리하였을 때 각각 14.1, 41.3, 89.0 및 99.7%의 용량의존적인 이완율을 나타내었다(Fig. 1-B).

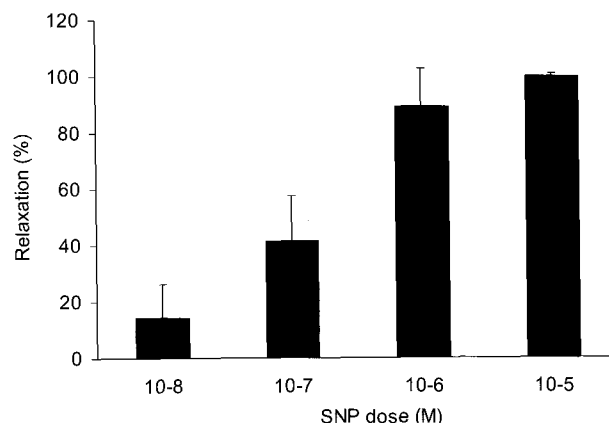
**KH204를 10주간 투여한 흰쥐에서의 체중과 생식기 중량 효과**

KH204를 성숙흰쥐에 10주간 경구투여한 각 군의 체중 증가량 변화에 미치는 영향을 Fig. 2에 나타내었다. KH204 548 mg/kg의 고농도 투여군에서도 실험기간 중 특별한 이상이 없었으며 대조군과 비슷한 체중증가를 보였다. 이상과 같은 결과는 KH204 투여가 생체 내 거부반응 없이 본 실험에 적합함을 알 수 있다.

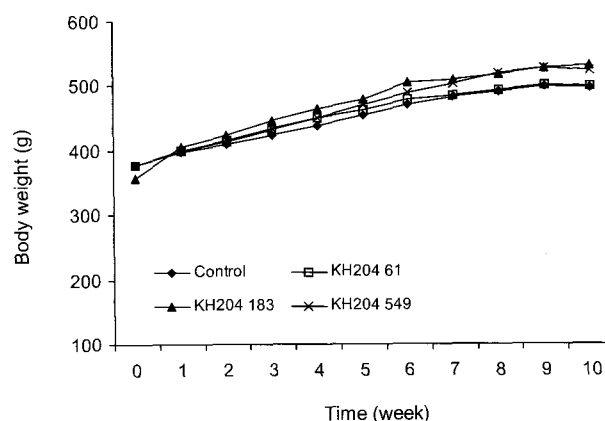
10주간 투여 후 부검한 대조군과 KH204 농도별 투여군의



**Fig. 1-A.** Effects of KH204 on the isolated rabbit corpus cavernosum contracted by  $10^{-6}$  M phenylephrine. All values are mean ± SD (n=10).



**Fig. 1-B.** Effects of sodium nitroprusside on the isolated rabbit corpus cavernosum contracted by  $10^{-6}$  M phenylephrine. All values are mean ± SD (n=10).



**Fig. 2.** Effect of KH204 on body weights in male rats. Data are expressed as mean ± SD.

주요 생식장기에 대해서 절대중량을 측정된 결과(Table 1) KH204 183 mg/kg 투여군에서는 좌측고환이 대조군에 비교하여 10.2% 유의한 증가를 나타내었다( $p < 0.05$ ).

Table 1. Effect of KH204 on absolute organ weights (g) in male rats

Group <sup>1)</sup>	Testicle		Epididymis		Penis
	Left	Right	Left	Right	
Control	1.75±0.15 <sup>2)</sup>	1.78±0.16	0.66±0.05	0.67±0.06	0.33±0.03
KH204 61	1.88±0.14	1.85±0.13	0.66±0.07	0.67±0.05	0.35±0.03
KH204 183	1.93±0.12*	1.89±0.09	0.70±0.07	0.70±0.07	0.36±0.04
KH204 549	1.77±0.15	1.77±0.15	0.67±0.07	0.66±0.07	0.34±0.04

<sup>1)</sup>Rats of each experimental group were oral administered with water (control) or the KH204 at the dose of 61, 183 and 549 mg/kg body weight daily for 10 weeks.

<sup>2)</sup>Data are expressed as mean±SD (n=10).

Significantly different from control group, \*p<0.05.

Table 2. Effect of KH204 on sperm test in male rats

Group <sup>1)</sup>	Sperm head count				Sperm motility	Sperm abnormality (%)
	Testis		Epididymis			
	1 Division	Testicle (×10 <sup>6</sup> /testis)	1 Division	Epididymis (×10 <sup>6</sup> /epididymis)	Positive (%)	
Control	66.5±5.8 <sup>2)</sup>	228.6±19.4	66.6±12.8	171.3±33.2	86.7±10.3	2.9±1.7
61	75.0±8.2	264.3±30.7	72.2±11.2	186.7±29.2	92.2±2.3	2.3±0.9
183	72.4±3.1*	253.0±12.2**	75.0±8.0	193.7±20.3	89.2±4.3	2.8±1.4
549	68.2±8.3	234.7±28.5	62.2±9.2	163.9±22.5	89.1±6.0	2.6±1.2

<sup>1)</sup>Rats of each experimental group were oral administered with water (control) or the KH204 at the dose of 61, 183 and 549 mg/kg body weight daily for 10 weeks.

<sup>2)</sup>Data are expressed as mean±SD (n=10).

Significantly different from control group, \*p<0.05, \*\*p<0.01.

#### KH204를 10주간 투여한 흰쥐에서의 정자검사

KH204를 농도별로 10주간 투여가 흰쥐의 정자생성물과 운동성에 미치는 영향을 Table 2에 나타내었다. KH204 투여 모든 군에서 고환당 정자수가 의미있는 증가양상을 보였으며 특히 KH204 183 mg/kg 투여군이 대조군의 고환당 정자수와 비교하여 10.7%의 유의한 증가를 나타냈다(p<0.01). 부고환당 정자수 측정에서는 KH204 61과 183 mg/kg 투여군에서 각각 186.7±29.2와 193.6±20.3으로 대조군 171.3±33.2에 비교하여 8.99%, 13.7% 향상을 나타내었다. 정자 운동성에 있어서는 대조군에 비교하여 KH204 투여 모든군에서 증가하는 양상을 보였다.

좌측 부고환 미부에서 얻은 정자의 형태학적 이상을 관찰한 결과, 비정형두부(amorphous head)와 소두부(small head), 이중두부/미부(double heads/tails), 두부각도과다(excessive hook), 두부각도과소(blunt hook), 미부접힘(folded tail), 미부짧음(short tail) 및 미부탈락(detached tail)을 포함하는 이상정자가 KH204 61, 183 및 549 mg/kg 투여군에서 각각 2.3, 2.8 및 2.6%로 관찰되었으나 대조군(정자기형률, 2.9%)과 비슷한 결과로 정상적 범위를 확인하였다.

#### 고 찰

본 연구팀은 오래 전부터 남성 성기능 강화물질로 알려진 산수유, 구기자, 복분자, 토사자 그리고 오미자의 5가지 천연물을 혼합하여 발기부전에 효과적인 KH204를 개발하였다. KH204를 100 mg/kg 농도로 노화된 수컷흰쥐와 당뇨를 유

발한 노화흰쥐에 투여한 결과 음경발기에 관련된 음경조직 내 NOS 단백질 발현률을 향상시키고 cGMP농도를 높여 노인성 및 당뇨병성 발기부전 개선에 효과적임이 관찰되었으며, KH204가 NO donor로 작용할 가능성이 있음을 시사하였다(11).

따라서 보고된 결과를 바탕으로 KH204가 음경해면체 이완과 남성질환 중 하나인 불임에 대한 효능을 알아보고자 토끼의 음경해면체 이완 및 정자수와 운동성에 미치는 효과를 관찰하였다.

음경발기현상은 신경계, 혈관계 및 내분비계의 상호작용에 의하여 나타나고 음경해면체 평활근의 이완은 이의 핵심적인 과정이다. 평활근 이완작용에는 푸린성, 베타교감신경성 등 여러가지 기전이 관여하며, 음경해면체 내 신경말단이나 내피세포에서 분비되는 nitric oxide(NO)가 평활근의 이완에 주된 신경전달물질로 밝혀졌다(5). NO는 혈관의 생리 기능을 조절하는 가장 대표적인 물질로 이는 L-arginine이 nitric oxide synthase(NOS)라는 효소에 의해 생성되며, 일반적으로 음경해면체 평활근 내로 확산 유입되어 평활근 세포내의 soluble guanylate cyclase의 heme component와 상호작용하여 cGMP 생성을 촉진시켜 음경해면체 평활근 이완과 혈관확장 등을 야기한다(12,13).

본 연구팀은 발기현상에서 핵심적 과정인 음경해면체 평활근 이완률(14,15) 증가에 효과적인 치료제 개발에 있어서 매우 중요한 일임을 인식하고 KH204 기존의 결과(11) 바탕으로 본 실험을 수행하였다.

토끼의 음경해면체 평활근 조직을 이용하여 해면체 평활

근 이완의 세포내 신호전달체계에서 핵심적인 역할을 담당하는 NO-cGMP축에 작용하는 NO 공여물질인 SNP를 양성 대조군으로하고 KH204의 이완율을 실험하였다. 음경해면체 조직에서 phenylephrine에 의한 수축을 KH204 0, 61, 183 및 549 mg/L 농도처리에서 KH204를 처리하지 않은 군과 비교 시 각각 6.8, 10.1 및 16%의 용량의존적인 이완효과를 나타내어 음경발기력 개선의 가능성을 확인하였다(Fig. 1-A, B).

현재 불임부부에서 불임의 원인 중 남성요인이 50%정도를 차지하고 있다(6). 그 중에서 정자의 생성이나 질의 장애가 불임의 원인 중 30~50%를 차지한다(16). 남성불임이 되는 경우는 무정자증인 경우, 정자는 만들어지는데 정관이 막혀 정자가 밖으로 사출되지 못하는 경우, 정자생성 부족, 정자의 운동성 부족, 희소정자증, 호르몬 이상 등이다(17). 최근 젊은남성의 정자수가 감소하는 경향을 나타냄에 따라 정자를 생산하는 고환의 손상을 보호해 주며 불임예방 및 치료 가능한 기능성 천연물질에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다(18-20). 본 연구팀은 천연물로 혼합 구성된 KH204가 남성불임의 효능여부를 확인하기 위해서 수컷흰쥐를 이용하여 10주간 농도별 경구투여 후 생식기관의 장기 및 고환의 정자생성과 운동성에 대한 실험을 실시하였다.

생식장기인 고환내에는 안드로겐을 생산하는 Leydig세포와 정자형성에 관계하는 세정관의 Sertoli세포와 정자세포로 구성되어있고, 남성호르몬인 테스토스테론의 95% 이상이 고환에서 분비되고 5%정도가 부신에서 만들어진다. 남성호르몬은 남성생식기의 발생과 발육에 필수적이며, 2차성징의 발현과 유지에도 필요하다. 남성호르몬이 생식장기에 미치는 영향은 고환에서 정자를 형성시키고 전립선, 정낭 등의 위축을 방지하여 그 기능을 유지하는 것으로 알려져 있다(21,22).

생식장기의 중량측정 결과, KH204 183 mg/kg 투여군에서 대조군 비교 시 좌측 고환무게가 10.2%의 유의성 있는 증가효과를 나타내었고 음경조직에서는 대조군에 비해 9% 증가양상을 관찰하였다(Table 1). 이와 같은 의미있는 결과는 나이가 들면서 고환이나 부신으로부터 생산되는 혈청 남성 호르몬의 점진적인 감소에 따른 남성화와 생식능력의 감소(23,24)를 강화하는데 효과가 있을 것이라 사료된다. 더불어 테스토스테론이 저하된 환자 및 갱년기 남성에서 천연물질로 구성된 KH204 복용은 경구용 테스토스테론 제제의 가장 심각한 간독성 문제 해결과 함께 신체전반의 기능개선에 효과적인 물질이라 판단된다. Wester 등(25)이 각종 플라스틱 첨가제, 산업용 촉매, 살충제, 살균제, 목재 보존제 등으로 널리 사용되고 있는 유해화학물질 중 tributyltin(TBT) 화합물에 대한 임상적 독성실험에서 흰쥐의 간이나 신장 등의 무게는 증가하였고, 정소의 무게는 감소하였다고 보고하였다. 미성숙 수컷생쥐에 tributyltin acetate(TBTA)의 경구투

여 처리농도 증가에 따라 체중, 정소, 저정낭 등의 생식기관 무게감소와 더불어 혈청 내 테스토스테론과 estradiol이 감소하였다. Table 1의 결과들을 바탕으로 KH204 투여군에서 고환조직의 증가는 현대인의 환경호르몬과 같은 환경오염 등 독성 물질로부터 고환손상을 보호할 수 있는 물질로 사료된다.

고환내에 존재하는 정자는 부고환(epididymis)을 거치는 동안 고환 후 성숙(post-testicular sperm maturation)을 통해 수정능력을 얻게 된다. 성숙과정에서 정자는 세포표면 항원의 변화, 투명대 결합능력, 침제반응 능력 및 직진운동 능력 등 수정과 관련된 기능적 변화를 수행한다(26-28).

정자검사 실험에서 고환, 부고환 당 정자수는 KH204 투여군에서 의미있는 증가를 나타내었으며 특히 KH204 183 mg/kg 군에서 대조군과 비교 시 각각 10.7과 13.1%의 증가효과를 확인하였다(Table 2). 또한 남성의 수태력을 결정하는 가장 중요한 요소인 정자운동성에서는(29,30) 대조군에 비교하여 증가양상을 보였다. 위의 결과, KH204 투여는 고환에서 정자의 생성을 담당하는 생식세포와 함께 운동성과 수정능력을 획득하는 부고환에 효과적인 작용을 미치는 것으로 유추할 수 있다. 따라서 KH204를 노화된 흰쥐 및 외부환경으로 인한 생식기능이 손상된 흰쥐에 투여할 경우 정자생산이나 운동성 및 질의 개선효과는 높을 것으로 사료된다. 또한 감정자증이나 약정자증을 보인 환자에게 KH204의 복용은 정자 수와 운동성이 의미 있게 호전될 것으로 생각된다.

본 실험결과들은 KH204의 고농도 장기투여에서 체중과 생식기관 중량 및 정자 형성과정에 독성이 없음을 확인하였고 생식장기의 기능 활성화 및 남성불임 환자에게 효과적인 기능성 약재로 판단된다.

## 요 약

KH204가 음경해면체 이완과 생식기능에 미치는 영향을 규명하기 위해 효능을 실험한 결과 토끼의 음경해면체를  $1 \times 10^{-6}$  M phenylephrine으로 수축시킨 후 KH204를 61, 183 및 549 mg/L의 축적용량으로 처리하여 각각 6.8, 10.1 및 16%의 용량의존적인 이완효과를 관찰하였다. 흰쥐를 이용한 생식기능 실험은 KH204를 61, 183 및 549 mg/kg으로 10주간 장기투여에서 생식장기인 고환조직의 중량 및 정자수 증가에 유의한 효과를 나타내었다. 정자 형태검사는 대조군과 비슷한 수치로 나타내어 고농도로 장기투여에도 정자 기형에 문제가 없음을 확인하였다. 이상의 결과로 KH204가 특별한 부작용이 없이 음경해면체를 농도의존적으로 이완시키 효과가 있어, 음경발기력 개선시키는 효과뿐만 아니라 고환성 원인 또는 정자생산 기능부전으로 보이는 남성불임에서 또한 효능이 있음을 시사하였다.

## 감사의 글

본 연구는 2005년도 중소기업기술혁신개발사업으로 연구 되었으며, 이에 감사드립니다.

## 문헌

- Kim T, Chung TG, Ahn TY. 1998. Relation between lower urinary tract symptoms and erectile dysfunction: epidemiologic study in Jeong-eup, Korea. *Kor J Androl* 16: 87-91.
- Foumier GR Jr, Juenemann KP, Lue TF, Tanagho EA. 1987. Mechanisms of venous occlusion during canine penile erection: Anatomic demonstration. *J Urol* 137: 163-167.
- Lerner SE, Melman A, Christ GJ. 1993. A review of erectile dysfunction: new insights and more questions. *J Urol* 149: 1246-1255.
- Rajfer J, Aronson WJ, Bush PA, Dorey FJ, Ignarro LJ. 1992. Nitric oxide as a mediator of relaxation of the corpus cavernosum in response to nonadrenergic, noncholinergic neurotransmission. *N Engl J Med* 326: 90-94.
- Andersson KE. 2003. Erectile physiological and pathophysiological pathways involved in erectile dysfunction. *J Urol* 70: 6-13.
- Joo HS. 2002. The diagnostic of male infertility using DNA chip. *MS Thesis*. Hanyang University of Seoul, Korea.
- Jouannet P, Wang C, Eustache F, Kold-Jensen T, Auger J. 2001. Semen quality and male reproductive health: The controversy about human sperm concentration death. *APMIS* 109: 333-344.
- Jung GT, Ju IO, Choi JS. 2000. The antioxidative, antimicrobial and nitrite scavenging effects of *Schizandra chinensis* RUPRECHT (Omija) seed. *Korean J Food Sci Technol* 32: 928-935.
- 정임명, 강석봉. 1998. 五子衍宗丸이 백서의 성호르몬 및 항피로 효과에 미치는 영향. *제한동의학술원 논문집* 20: 77-92.
- Chi HJ. 1999. *Health foods from herbs*. 1st ed. Seoul National University Press, Seoul. p 68-69.
- Park CS, Ryu SD, Hwang SY. 2004. Elevation of intracavernous pressure and NO-cGMP activity by a new herbal in penile tissues of aged and diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 94: 85-89.
- Furchgott RF. 1984. The role of endothelium in the responses of vascular smooth muscle to drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 24: 175-197.
- De May JG, Vanhoutte PM. 1981. Role of the intima in cholinergic and purinergic relaxation of isolated canine femoral arteries. *J Physiol* 316: 347-355.
- Garban H, Marquez D, Magee T, Moody J, Rajavashisth T, Rodriguez JA, Hung A, Vernet D, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF. 1997. Cloning of rat and human inducible penile nitric oxide synthase. Application for gene therapy of erectile dysfunction. *Biol Reprod* 56: 954-963.
- Bivalacqua TJ, Champion HC, Mehta YS, Abdel-Mageed AB, Sikka SC, Ignarro LJ, Kadowitz PJ, Hellstrom WJ. 2000. Adenoviral gene transfer of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) to the penis improves age-related erectile dysfunction in the rat. *Int J Impot Res* 12: S8-17.
- Schlegel PN. 1991. How to do a workup for male infertility. *Med Aspects Hum Sex* 25: 28-32.
- Lee JK. 2001. A study on the stress and depression suffered by sterile men. *MS Thesis*. Hanyang University, Seoul, Korea.
- Yu KW, OH Sh, Choi YS, Hwang WJ, Suh HJ. 2001. The reduction effect of yeast hydrolysate SCP-20 on premenstrual syndrome. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1000-1003.
- Hong JW, Kim IH, Yoo SH, Lee HS. 2004. The effects of yeast hydrolysate SCP-20 on reproductive function in male mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 451-454.
- Kim YT, Lee HL, Lee SC, Shin KH. 2002. Effect of panax ginseng water extract for treatment of male infertility. *Korean J Androl* 20: 94-99.
- Gray A, Feldman HA, McKinlay JB, Longcope C. 1991. Age, disease, and changing sex hormone levels in middle aged men; results of Massachusetts Male Aging Study. *J Clin Endocrinol Metab* 73: 1016-1025.
- Gooren LJ. 1997. The benefits and risks of androgen therapy in the aging male: prostate disease, lipids and vascular factors. In *Progress in the management of the menopause*. Wren BG, ed. Parthenon Publishing, New York. p 340-351.
- Behre HM, Baus S, Kliesch S, Keck C, Simoni M, Nieschlag E. 1995. Potential of testosterone buciclate for male contraception: endocrine differences between responders and nonresponders. *J Clin Endocrinol Metab* 80: 2394-2403.
- Buvat J, Lemaire A. 1997. Endocrine screening in 1,022 men with erectile dysfunction: clinical significance and cost-effective strategy. *J Urol* 158: 1764-1767.
- Wester PW, Krajnc EI, Van Leeuwen FXR, Loeber JG, Van Der Heijden CA, Vaessen HA, Hellemans PW. 1990. Chronic toxicity and carcinogenicity of bis (tri-n-butyltin) oxide (TBTO) in the rat. *Food Chem Toxicol* 28: 179-186.
- Klem M, Engel W. 1991. On the of mouse spermatozoa for spontaneous acrosome reaction in the male and female genital tract. *Andrologia* 23: 427-433.
- Biegler BE, Aarons DJ, George BC, Poirier GR. 1994. Induction of physiological acrosome reaction in caput epididymal spermatozoa of mice. *J Reprod Fertil* 100: 219-224.
- Hoskins DD, Vijayaraghavan S. 1990. A new theory on the acquisition of sperm motility during epididymal transit. In *Controls of sperm motility. Biological and clinical aspects*. CRC Press, Boca Raton. p 53-62.
- Balsco L. 1984. Clinical tests of sperm fertilizing ability. *Fertil Steril* 41: 177-181.
- Dohlberg B. 1988. Sperm motility infertile men and males in infertile units: *In vitro* test. *Arch Androl* 20: 509-513.

(2006년 5월 8일 접수; 2006년 8월 4일 채택)