

## KH-305 투여가 흰쥐 음경조직의 Nitric Oxide Synthase활성 및 Erectile Dysfunction에 미치는 영향

이은정 · 김희석 · 김병철 · 황성완 · 황성연<sup>†</sup>

(주)KMSI 부설 한국외과학연구소

### Effect of KH-305 on the Nitric Oxide Synthase Activity and Erectile Dysfunction in Young Rats

Eun Jeong Lee, Hee Seok Kim, Byoung Chul Kim, Sung Wan Hwang and Sung Yeoun Hwang<sup>†</sup>

Korea Medical Science Institute, Incheon 406-130, Korea

#### Abstract

This study was designed to investigate the effects of KH-305 on erectile dysfunction in young rats, via nitric oxide (NO)-cGMP pathways. After oral administration of the KH-305 mixture (50, 100, 200, 300 mg/kg) to young rats for 10 days, NOS and SOD protein expressions in penile tissue and testosterone in plasma were measured. cGMP degradation was also investigated using bovine vascular smooth muscle cells pretreated with an NO donor, S-nitroso-N-Acetylpenicillamine (SNAP). The penile expression levels of nNOS and eNOS-dependent NOS activities as well as SOD preventing oxidative stress by overproduction of NO were increased significantly. Also, the concentration of testosterone in the plasma was increased. *In vitro*, cGMP concentrations were decreased dose dependently in the KH-305. These results suggest that KH-305 may be useful in erectile dysfunction.

**Key words:** erectile dysfunction, NOS, cGMP, testosterone

#### 서 론

첨단과학 및 의학의 발달로 의식주의 수준이 높아지고 소득수준의 향상으로 생활의 여유와 건강한 삶을 중시하는 경향이 확산되면서, 생명에 직결되지 않으나 생활에 불편을 가져오는 증상들을 치료하여 개인의 삶을 풍요롭게 하는데 기여하는 QOL(quality of life-삶의질)관련 의약품에 대한 수요가 급증하고 있다(1). QOL의 대표적 의약품 중의 하나인 경구용 발기부전 치료제는 cGMP와 경쟁적 반응물질로 작용하는 합성유도체로서 PDE-5 단일 경로만을 차단하여 음경 해면체 내 cGMP 농도를 증가시키는 효과를 나타낸다(2). 이것은 흥분성 신경계 활성없이 인위적으로 유지시켜 주는 것으로 심혈관계와 시력장애 부작용 및 정상인에게는 효과가 거의 없다는 문제점(3)이 보고되고 있어, 현재 부작용 없는 발기부전 치료제를 천연물 및 생약에서 탐색하려는 많은 연구가 시도되고 있다(4-6).

발기부전은 성행위시 남성의 음경이 충분히 발기되지 않거나, 되더라도 지속되지 못하는 경우가 전체 성생활 중 25% 이상 일어날 경우를 일컫는다(7). 발기는 신경계와 혈관계 및 내분비계의 상호작용으로 발생하는 생리적인 현상

으로 발기의 정도는 음경평활근의 이완정도에 따라 결정된다(8). 이것은 신경정신적인 자극에 의해서 해면체 내의 동맥과 동상 혈관공내의 혈관확장에 의해서 일어나고 동상 혈관공 이완은 일차적으로 비아드레날린성, 비콜린성신경전달물질과 EDRF의 분비에 의해 이루어진다(9). EDRF중의 대표적인 물질인 NO는 혈관 평활근의 이완인자로서 혈관평창을 유도하여 혈액유입량을 증가시킴으로써 음경의 팽창을 유발시키는 내인성 물질로 nitric oxide synthase(NOS)에 의해서 생합성되어지고 생합성된 NO는 직접적으로 혈관 평활근의 확장에 관여하게 된다(10).

발기부전의 치료제로서 가능성이 있는 KH-204에 대하여 전보(11)에 발표한 적이 있는 본 연구팀은 KH-204의 효능을 향상시키면서 복용량을 줄이는 방안을 찾던 중 KH-305 물질을 개발하게 되었다. 이에, 한약재 복분자, 산수유, 토사자를 일정한 비율로 배합하여 열수추출한 물질인 KH-305의 발기부전 효과에 대해 발표하고자 한다. 본 실험은 *in vitro*에서 cGMP test를 실시하고, NO-pathway에 관련된 NOS(nitric oxide synthase), SOD의 발현증가를 western blot으로 확인, 남성호르몬을 평가하였다.

<sup>†</sup>Corresponding author. E mail: blue@kmsi.co.kr  
Phone: 82 32 255 2500, Fax: 82 32 255 2505

## 재료 및 방법

### 시료의 조제 및 실험 재료

KH-305는 복분자, 산수유, 토사자를 각각 다른 비율(5:3:2)로 배합하여 총 100 g이 되게 하고 증류수로 환류장치를 한 용기에서 4시간 2회씩 수욕상에서 추출하여 여과한 후, 여액을 감압 농축, 동결건조 과정을 거쳐 갈색분말로 만들어 시료로 사용하였다. 복분자와 산수유는 옴니허브(영천, 대한민국)에서, 토사자는 경원 생약(부천, 대한민국)에서 제공 받았다. 이외 본 실험에 사용한 시약은 세포 배양 및 분석용 특급시약을 사용하였다.

### 실험동물 및 사육조건

수컷 흰쥐(100~120 g)를 중앙실험동물에서 분양 받아 최소 일주일 간 본 회사 실험 사육장 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 사육장은 인공조명에 의하여 조명시간을 아침 7시부터 저녁 7시까지 12시간으로 조절하였으며, 실내온도는 18~23°C로 유지하였다. 급수는 정수된 물을 사용하였으며, 사료와 급수는 제한하지 않았다.

### 시료의 투여

체중이 200 g(10 weeks) 수컷 흰쥐를 구입하여 본 실험실에서 일주일 간 적응 기간을 거친 후 동물의 체중에 따라 각 군의 평균체중을  $220 \pm 15$  g이 되도록 난괴법으로 각 8마리씩 4그룹으로 대조군(control)과 실험군(50, 100, 200, 300 mg/kg)으로 나눈 후 10일간 경구투여하였다. 체중과 식이섭취량은 실험사육기간 중 매일 오전 9시에 측정하고, 식이잔량을 산출하였다.

### 조직채취 및 효소원 제조

사육기간 종료 후 에테르로 채워진 데시케이터로 동물을 마취시킨 후 하복부를 절개하여 복부 대동맥으로부터 혈액을 채혈하고 회생시킨 다음 음경과 고환을 적출하였다. 적출한 조직은 0.9% 생리식염수로 혈액을 씻고 여과지로 염색액을 제거한 뒤 무게를 측정한 다음, 즉시 액체질소에서 급속 동결하였다. 한편 채혈된 혈액은 heparin 처리된 tube로 즉시 옮겨 담고 2,500 rpm(4°C)에서 15분간 원심 분리하여 혈장을 분리하였다. 분리된 혈장과 장기는 사용 전까지 -70°C에서 보관하였다. 조직 내 효소원 제조는 200 mM HEPES, 320 mM sucrose, 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 1 mM dithiothreitol(DTT), 10 µg/mL leupeptin, 2 µg/mL aprotinin, 1 µg/mL pepstatin, 10 µg/mL trypsin inhibitor, 1 mM phenylmethylsulfonylfluoride(PMSF) 용액에서 균질화시킨 후 원심분리하여(4°C, 10,000 rpm, 15분간) 상층액을 단백질 정량 후 -70°C에 보관하였다.

### 세포배양

Bovine vascular smooth muscle cell(BVSMCs) 세포는 (주)바이오 버드(서울, 대한민국)에서 구입하였다. 이 세포

를 10% heat inactivated fetal bovine plasma와 penicillin (100 µg/mL)/streptomycin(100 U/mL)이 함유된 DMEM에서 37°C, 5% CO<sub>2</sub>배양기에서 T-25 flask에 배양하였다. 배양액은 2 또는 3일 간격으로 교환해 주었다. 세포는 액체질소에 보존해 두었다가 같은 passage번호를 가진 세포를 녹여서 사용하였다.

### cGMP 측정

Bovine vascular smooth muscle cell(BVSMCs) 세포의 최종수를  $0.2 \times 10^6$  cell/mL로 조정하여 48 well plate의 각 well에 24시간 부착시킨 후 시료를 농도별로 10 µL씩 가하였다. PDE-5를 억제시킴으로써 cGMP의 농도를 증가, 발기부전치료제로 사용되어지는 sildenafil을 positive control로 사용하였으며 24시간 후에 상층액을 회수하여 cGMP kit(BD Biosciences, USA)를 이용하여 측정하였다.

### Western blotting

Bovine plasma albumin을 사용한 Bradford방법을 이용해 정량한 단백질 30 µg을 95°C에서 5분간 변성시킨 후 12% discontinuous sodium dodecylsul-fate(SDS-PAGE)-polyacrylamide gel에서 전기영동하였다. 전기영동된 단백질은 25 volt에서 2시간 30분 동안 0.2 µm polyvinylidenedifluoride(PVDF, Amershambioscience, USA) 막에 이동시켰다.

전기영동된 membrane은 blocking buffer(5% skim milk in TBS-T buffer)로 30분간 실온에서 반응하여 차단하였다. SOD/Mn, SOD/Cu, eNOS, nNOS(BD Biosciences, USA) 각 항체들을 2시간 동안 반응시킨 후 TTBS를 사용하여 10분 간격으로 3회 세척하였다. 2차 항체 anti-mouse IgG-HRP, anti-goat IgG-HRP(1:2,000 dilution)(Zymed Laboratories, USA)를 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 세척단계를 거쳐 다시 한 번 TTBS로 5분간 6회 세척하였다. ECL용액으로 2분간 반응하고 필름에 감광하여 나타난 band의 두께를 비교하여 단백질 발현 유무 및 그 차이를 확인하였다.

### 혈장 testosterone 측정

Testosterone 함량은 냉동 보관된 혈장을 4°C에서 녹인 다음 혈장 내 steroid displacement reagent를 처리 후 immunoassay kit(R&D Systems, USA)를 이용하여 측정하였다.

### 통계분석

측정된 결과는 평균값과 표준편차(mean ± SD)로 표시되었다. 대조군 간의 비교를 위해서는 Student *t*-test를 사용하였으며  $p < 0.05$ 인 경우 유의한 차이로 간주하였다.

## 결 과

### 체중증가, 식이섭취 및 식이효율

일반 흰쥐에 KH-305를 10일간 경구투여하여 각 군의 체중증가, 식이섭취 및 식이효율을 측정하였다. KH-305를 투

**Table 1. Body weight gain, food intake and food efficiency ratio of KH-305 treated young rats**

Group <sup>1)</sup>	Body weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	Food efficiency ratio <sup>2)</sup>
Control	7.59±2.73 <sup>3)</sup>	27.52±2.48	0.29±0.09
50	6.83±1.65	25.43±1.88	0.27±0.06
100	8.97±1.16	28.55±0.84	0.31±0.04
200	7.52±1.62	26.36±1.04	0.29±0.06
300	8.47±1.94	27.07±1.39	0.31±0.07

<sup>1)</sup>Rats of each experimental group were oral administered with water (control) or the KH 305 at the dose of 50, 100, 200 and 300 mg/kg body weight daily for 10 days.

<sup>2)</sup>Body weight gain (g/day)/Food intake (g/day).

<sup>3)</sup>All values are mean±SD.

**Table 2. Effect of KH-305 on penis and testis weight in young rats**

Group <sup>1)</sup>	Body weight (g)	Penis (g)	Testis (g)
Control	325.86±20.51 <sup>2)</sup>	0.25±0.01	1.57±0.15
50	321.03±23.98	0.26±0.03	1.52±0.34
100	327.39±22.29	0.26±0.02	1.62±0.21
200	318.25±16.22	0.26±0.02	1.58±0.18
300	322.45±20.06	0.25±0.02	1.54±0.21

<sup>1)</sup>Rats of each experimental group were oral administered with water (control) or the KH 305 at the dose of 50, 100, 200 and 300 mg/kg body weight daily for 10 days.

<sup>2)</sup>All values are mean±SD.

여한 모든 실험그룹에서 실험기간 중 특별한 이상이 없었으며 대조군과 비슷한 식이섭취와 체중증가를 보였다. 이상과 같은 결과는 KH-305투여가 생체 내 거부 반응 없이 본 실험에 적합함을 알 수 있다(Table 1).

#### 장기 중량 측정

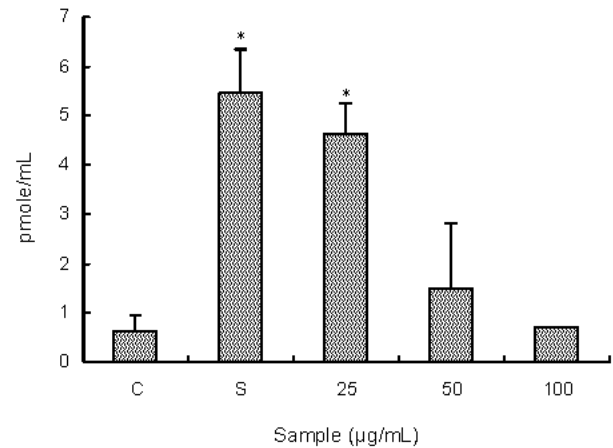
일반 흰쥐에 KH-305를 10일간 경구투여하여 성기능 관련 장기인 고환, 음경을 적출하여 무게를 측정하였다. KH-305 투여에 따른 생식장기의 무게 변화를 측정한 결과 음경조직과 고환장기 무게는 대조군과 비교할 때 KH-305투여 모든 군에서 유의적인 차이는 관찰되지 않았다(Table 2).

#### KH-305의 cGMP 농도별 측정

KH-305 열수 추출물은 BVSMCs cell line에서 25, 50 및 100 µg/mL의 농도로 처리하여 cGMP를 농도를 측정하였으며(Fig. 1) 양성대조군은 PDE-5를 억제시킴으로써 cGMP 농도를 증가시키는 sildenafil 50 µM을 사용하였다. NO-donor인 SNAP과 해당 약물들을 동시에 처리하였을 경우 sildenafil그룹은 가장 두드러진 증가를 하였다. 그러나 KH-305는 25 µg/mL(4.63±0.16), 50 µg/mL (1.47±1.34), 100 µg/mL(0.7±0.02)로 KH-305 농도가 증가할수록 cGMP 농도가 감소하였다.

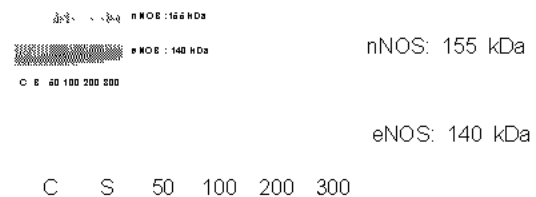
#### KH-305 농도별 투여에 따른 흰쥐의 음경조직 내 NOS 발현

KH-305 열수추출물의 일반 쥐 음경조직 내 NOS 단백질 발현 증가 정도를 측정하기 위하여 western blot 실험을 실

**Fig. 1. Effect of KH-305 on the cGMP in SNAP-pretreated BVSMCs.**

cGMP concentration measured in media after KH-305, sildenafil, water treatment in SNAP-pretreated BVSMCs.

C: water+SNAP, S: sildenafil+SNAP, KH-305: 25, 50, 100+SNAP. All values are mean±SD. \*p<005: significantly different from control group.

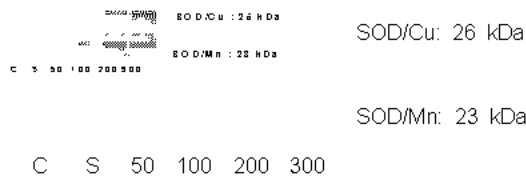
**Fig. 2. Effect of KH-305 on expression of nNOS and eNOS in penile tissue.**

After oral administration of the KH-305 water extract, 50 mg, 100 mg, 200 mg or 300 mg per 1 kg of body weight for 10 days. We examined the expressions and activities of two enzymes: neuronal NO synthase (nNOS) and endothelial NO synthase (eNOS). eNOS: 140 kDa, nNOS: 155 kDa.

시하였다(Fig. 2). 흰쥐에 KH-305를 50, 100, 200, 300 mg/kg/10 days 경구투여했을 경우 eNOS와 nNOS 단백질 발현 정도를 나타내는 것으로 대조군과 비교해 볼 때 모든 그룹에서 eNOS, nNOS 효소발현이 증가하였다. eNOS는 농도가 증가할수록 감소하는 경향을 보였으며, 50 mg/kg을 투여했을 때 eNOS 발현이 가장 뚜렷하였다. nNOS 또한 50, 100, 200 mg/kg 투여군에서 뚜렷이 발현되었으나 다른 투여군에 비하여 300 mg/kg 투여군은 발현정도가 둔화되는 경향을 나타내었다.

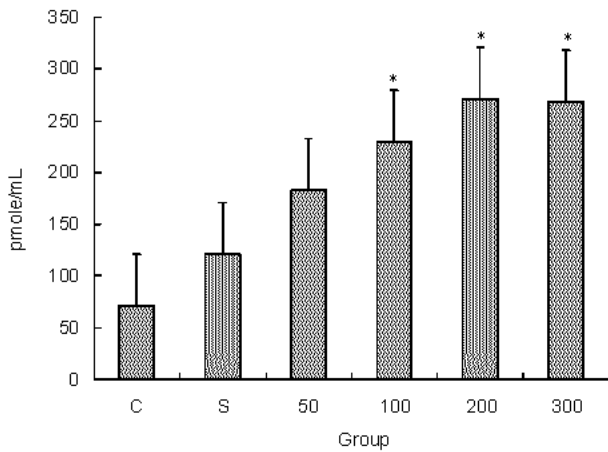
#### KH-305 농도별 투여에 따른 흰쥐의 음경조직 내 SOD 발현

흰쥐에 KH-305를 50, 100, 200, 300 mg/kg/10 days 경구 투여했을 경우 SOD/Mn, SOD/Cu에 대한 단백질 발현정도를 측정하기 위하여 western blot을 실시하였다(Fig. 3). SOD/Cu는 200 mg/kg 이상, SOD/Mn는 100 mg/kg 투여했을 경우 control과 대조군보다 단백질 발현정도가 증가하는



**Fig. 3. Effect of KH-305 on expression of SOD/Mn and SOD/Cu in penile tissue.**

After oral administration of the KH-305 water extract, 50 mg, 100 mg, 200 mg or 300 mg per 1 kg of body weigh for 10 days. We examined the expressions and activities of two enzymes: SOD/Mn, SOD/Cu. SOD/Cu: 26 kDa, SOD/Mn: 23 kDa



**Fig. 4. Effect of KH-305 on the level of blood testosterone in young rats.**

After young rats oral administration of the KH-305 water extract, 50, 100, 200, 300 mg per 1 kg of body weigh for 10 days. We examined the level of blood testosterone. All values are mean  $\pm$  SD. \* $p < 0.05$ : significantly different from control group.

경향을 보였으며, 농도 의존적 효과가 있음을 확인하였다.

KH-305 농도별 투여에 따른 흰쥐 혈청에서의 testosterone 농도 측정

흰쥐에 KH-305를 50, 100, 200, 300 mg/kg/10 days 경구 투여한 경우 남성호르몬에 미치는 영향을 알아보기 위해 혈장 내 testosterone 농도 변화를 측정하였다(Fig. 4). 흰쥐의 실험 대조군 혈청 내 testosterone 농도는  $71.67 \pm 17.21$  pmole/mL 이었고, KH-305를 50, 100, 200, 300 mg/kg 투여한 군에서는 각각  $183.33 \pm 72.66$  pmole/mL,  $230.66 \pm 71.14$  pmole/mL,  $271 \pm 31.09$  pmole/mL,  $323.66 \pm 20.13$  pmole/mL 로 유의있게 증가하였다( $p < 0.05$ ).

## 고 찰

본 실험은 예로부터 민간에서 단방으로 자양보양약으로 쓰였던 복분자, 산수유 및 토사자를 일정한 비율로 배합하여 열수추출로 얻어진 KH-305를 일반쥐에 투여해서 해면체 평활근 이완에 관련된 세포 내 신호전달체계 NO-cGMP pathway에 관여하는 NOS와 SOD의 protein expression, 혈

액내의 testosterone, BVSMCs cell에서 cGMP 농도를 측정하여 음경발기 지속 및 촉진에 미치는 영향을 보았다. cGMP 농도를 높이는 약제인 KH-305에 배합되는 복분자, 산수유, 토사자는 한방에서 보양약으로 빈번히 사용되는 한약재로 복분자는 장미과에 속하는 낙엽관목의 복분자, 산딸기의 미성숙한 위과로서 catechin, vitamin C를 함유하고 있으며 삼정(澁精), 축뇨(縮尿), 명목(明目), 조양(助陽)의 효능이 있다. 산수유는 낙엽성 교목인 산수유의 성숙과실의 씨를 제거한 것으로 tannin, 유기산 malic acid, iridoide 배당체인 morroniside, loganin 등이 함유되어 있으며 한방에서 강장수렴제(強壯收斂劑)로서 사용한다. 토사자는 메꽃과에 속하는 다년생 초본의 새삼씨이며 기미가 맵고 달면서 성질은 평하여 보간신(補肝腎), 익정수(益精髓), 명목(明目)효능을 가지고 있으며 teraxanthin, lutein, carotene의 성분을 함유하고 있다(12).

음경발기는 중추신경계에서부터 시작되어 음경해면체 내 흥분성신경계에 해당되는 nNOS발현과 해면체혈관계에 해당되는 eNOS발현으로 NO생성이 유도된다. NO(nitric oxide)는 혈압조절, 신경전달, 혈액응고, 면역기능 등의 역할을 하는 것으로 알려져 있으며 여러 조직과 세포에 분포되어 있는 L-arginine으로부터 nitric oxide synthase에 의해 합성된다(13). NO는 평활근 세포 내로 확산해 들어가 guanylyl cyclase에 의해 GTP를 cGMP로 전환, 활성화된 cGMP는 세포 내 칼슘농도를 감소시켜 해면체 평활근과 소동맥을 이완 및 확장시켜 발기를 유발시킨다(14). 따라서, 발기부전을 포함한 평활근 기능부전에서 약리학적 표적은 cGMP 농도를 조절하는 것이며, 음경의 혈액유입량의 감소로 인한 발기부전 증상은 NO의 생성을 촉진시키는 factor와 밀접한 관계가 있으므로 NOS와 cGMP를 측정하여 KH-305 약물의 발기부전 효능을 평가하였다. KH-305의 투여에 따른 발기효능을 보기 위하여 흰쥐에게 농도별(50, 100, 200, 300 mg/kg)로 경구투여한 후 단백질 양을 측정된 결과, 모든 그룹에서 eNOS와 nNOS가 증가하였으며 특히 50 mg, 100 mg/kg에서는 뚜렷하게 증가하는 경향이 보였다. 반면에 PDE-5억제제로 실제 임상에서 발기부전 치료제로 사용되는 양성대조군 sildenafil은 eNOS와 nNOS 단백질 발현정도가 음성대조군인 control과 큰 차이가 없었다. 또한 음경발기의 생체 biomaker인 cGMP를 측정하기 위하여 BVSMCs cell에서 KH-305를 25, 50 및 100  $\mu$ g/mL로 약물 처리한 결과 KH-305는 농도별로 감소함을 알 수 있었으며, 25  $\mu$ g/mL 일 때 가장 좋은 활성을 보임으로써 저용량 사용 시에도 발기부전에 효과적일 것이라는 가능성을 주었다. 이와 같은 앞의 실험 결과는 KH-305이 생체 내에 필수적으로 존재하는 생리적 기능의 NO유리기와 세포내 2차 신호전달물질로 알려진 cGMP농도의 증가를 촉진하므로 음경발기 기전의 2가지 작용경로에 동시에 작용하는 것으로 판단되며 양성대조군인 sildenafil은 cGMP와 경쟁적으로 반응하는 물질로

작용하는 합성유도체이므로 PDE-5 효소작용 단일경로만을 차단하여 cGMP농도를 증가한다.

일반 쥐 혈액에서 KH-305를 50, 100, 200, 300 mg/kg으로 투여한 바 testosterone은 농도 의존적으로 증가하였다. 일반적으로 안드로젠 작용을 하는 물질들을 투여하면 남성생식관련 장기들의 무게가 증가하는 것으로 알려져 있다(15). 특히 남성들의 성기능 향상을 위하여 testosterone 등의 안드로젠 호르몬의 투여는 전립선 암을 비롯한 남성 생식관련 장기들의 암유발 가능성이 문제가 되고 있다(16). KH-305 투여에 의한 혈중 testosterone치가 증가되었으므로 남성 생식관련 장기들의 무게를 측정할 바 대조군과는 큰 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과를 보았을 때, KH-305는 testosterone치의 증가에 따른 성기능 향상을 나타내는 용량에서 남성생식에 대한 암유발 위험이 상대적으로 낮은 약물일 것이라 예상된다. KH-305 고농도의 경구투여가 젊은쥐의 성장과정에 문제점이 있는지 10일간 체중증가 및 식이섭취량을 측정할 결과 대조군과 유사한 성장 발육을 보였으며 이는 1일 KH-305의 300 mg/kg 고농도 투여에서도 생체 내 거부반응 등의 문제점이 없음을 시사한다. 과도하게 생산된 NO는 free radical인 superoxide anion과 반응하여 독성중간물질인 peroxyntirite를 형성하게 된다(17). Peroxyntirite는 염증 시에 생성되며 주로 마크로파지, 호중구, 내피세포에서 생성되는데 이는 thiol산화, 지질과산화 등을 야기하며, 세포독성을 가지고 tyrosine, lysine, arginine 등의 아미노산을 변형시키며, 에너지 대사, DNA 손상 등의 강력한 조직 손상 작용을 가진다(18). 따라서, 음경해면체 조직에 free radical이 많이 생기면 조직의 세포들이 고유기능을 상실할 가능성이 많으므로 음경해면 조직에서의 항산화 반응 및 발기부전 증상과는 상당히 관련이 있을 것으로 예상할 수 있다. 일부 NO의 반응으로 peroxyntirite가 형성되는 것을 세포질 내에 SOD/Cu, 사립체 안의 SOD/Mn가 조절함으로써 세포 내 단백질 변성 및 세포 내 신호 전달 장애를 예방할 수 있을 것이라 생각하여(19) KH-305를 10일간 투여 후 생식장기인 penis에서의 SOD발현정도를 측정할 결과, SOD/Mn는 200 mg/kg, SOD/Cu는 300 mg/kg 투여 시 가장 많은 단백질이 발현되었으므로 NO활성으로 인한 비정상적인 체내 반응을 조절할 수 있을 것이라 사료된다.

이상의 실험 결과를 종합하여 볼 때, KH-305는 NO-pathway에 관여하는 NOS의 발현증가, 낮은 농도에서의 cGMP농도 증가, testosterone의 수치를 증가시킴으로써 발기유지 및 촉진시키고, 동시에 음경조직내의 활성산소 및 NO 합성에서 나타나는 독성을 조절하여 주는 SOD발현이 증가됨으로써 활성산소에 의한 음경피로도를 경감시켜 음경해면체 평활근의 이완장애를 일으키는 발기부전 증상을 개선시킬 것으로 생각된다.

따라서, 일반쥐 모델에서의 검토가 있는 바 특정질환을 가진 발기부전 모델에 대한 실험이 수행된다면 부작용 없는

평범의 발기부전 치료제 천연물 신약 후보약재가 될 수 있리라 사료된다.

## 요 약

복분자, 산수유 및 토사자를 일정한 비율로 배합하여 열수 추출로 얻어진 KH-305를 일반쥐에 투여해서 해면체 평활근 이완에 관련된 세포 내 신호전달체계 NO-cGMP pathway에 관여하는 NOS, 혈액내의 testosterone, BVSMCs cell에서 cGMP농도를 측정하여 음경발기 지속 및 촉진에 미치는 영향을 보았으며 음경조직의 활성산소제거와 관련하여 SOD/Mn, SOD/Cu의 단백질 발현정도를 측정하였다. KH-305는 NO-pathway에 관여하는 NOS의 발현증가, 낮은 농도에서의 cGMP농도 증가, testosterone의 수치를 증가시킴으로써 발기유지 및 촉진시키고, 동시에 음경조직내의 활성산소 및 NO 합성에서 나타나는 독성을 조절하여 주는 SOD발현이 증가됨으로써 활성산소에 의한 음경피로도를 경감시켜 음경해면체 평활근의 이완장애를 일으키는 발기부전 증상을 개선시킬 것으로 생각된다.

## 문 헌

1. 한국과학기술정보연구원. 2004. 발기부전치료제의 시장동향 분석. 한국과학 기술정보연구원 기술산업정보분석 보고서. p 85.
2. 송태석. 2002. 경구용 발기부전증 치료제 관련 기술가치 평가. 기술신용보증 기금. p 1.
3. 최형기. 2003. 발기부전 치료의 새로운 PDE 5억제제들. 대한 의사협회지. p 1050.
4. 안태건, 정지천. 2005. 五子丸이 ethanol로 발기부전을 유도한 흰쥐의 성 기능 개선에 미치는 영향. 대한한방내과학회지 26: 605 614.
5. 민건우, 박종혁, 윤철호, 정지천, 신억섭, 한영환. 2000. 동충하초가 hydrocortisone을 투여한 흰쥐의 nitric oxide synthase 활성 및 testosterone 함량에 미치는 영향. 대한한방내과학회지 2: 389 398.
6. 김경동, 정지천. 1998. 금앵자 추출물이 음경해면체의 nitric oxide synthase 활성 및 항산화 효과에 미치는 영향. 대한한방내과학회지 19: 452 465.
7. 김세철. 1995. 남성성기능 장애의 진단과 치료. 일조각, 서울. p 36.
8. Andersson KE, Wagner G. 1995. Physiology of penile erection. *Physiol Rev* 75: 191 236.
9. Kurt J. 1997. 내과학. 정담, 서울. p 287.
10. Andersson KE. 2003. Erectile physiological and pathophysiological pathways involved in erectile dysfunction. *J Urol* 170: 6 13.
11. Lee HJ, Lee EJ, Kim HS, Kim SN, Hwang SY. 2006. Effects of KH 204 on the relaxation response of rabbit corpus cavernosum and reproductive function in male rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 847 852.
12. 문관심. 1991. 약초의 성분과 이용. 일월서각, 서울. p 310, 250, 450.
13. Stamler JS, Singel DJ, Loscalzo J. 1992. Biochemistry of nitric oxide and its redox activated forms. *Science* 258: 1898 1902.

14. 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.
15. Kwon KB, Kim BR, Hwang IJ, Kim EK, Kim GH, Ko KH, Choi YS, Zhang GG, Rho SI, Han DW, Cha S, Park DY, Ryu DG. 2004. Effect of Gamimajeonjahwan extract on the sexual function in male rats. *Korean J Oriental Physiol Pathol* 18: 1410-1417.
16. Na CS, Choi BR, Choo DW, Choi WI, Kim JB, Kim HJ, Chung YJ, Park YI, Dong MS. 2005. The effect of flavonoid fraction extracted *Rhus verniciflua* Stokes on sexual behavior in SD male rats. *Yakhak Hoeji* 49: 471-476.
17. Torreilles F, Salman TS, Guerin M. 1999. Neurodegenerative disorders: the role of peroxynitrite. *Brain Res Brain Res Rev* 30: 153-163.
18. Bruce NA, Mark KS, Tory MH. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90: 7915-7922.
19. John ML, Song W. 2002. Specificity of antioxidant enzyme inhibition in skeletal muscle to reactive nitrogen species donors. *Biochem Biophys Res Comm* 294: 1093-1100.

(2006년 9월 13일 접수; 2007년 2월 20일 채택)