

고지혈증 흰쥐에서 생약제제 KH-204의 발기부전 치료연구

이은정 · 김희석 · 손동완¹ · 김세웅¹ · 조용현¹ · 황성완 · 황성연*
(주)KMSI 부설 한국의과학연구소, ¹가톨릭대학교 의과대학 비뇨기과학 교실

The Effect of Herbal Formula KH-204 on Erectile Dysfunction in Hyperlipidemic Rat

Eun Jeong Lee, Hee Seok Kim, Dong Wan Sohn¹, Sae Woong Kim¹, Yong-Hyun Cho¹,
Sung Wan Hwang and Sung Yeoun Hwang*

Korea Medical Science Institute, Incheon 7-20, 406-130, Republic of Korea

¹Departments of Urology, College of Medicine, The Catholic University, Seoul 150-713, Korea

Abstract – This study was designed to investigate the effects of KH-204 on erectile dysfunction in hyperlipidemic rat. KH-204 has been evaluated antihyperlipidemic and antierectional dysfunction effects on experimental hyperlipidemic rats induced by high fat diet. After oral administration of the water extract KH-204 (50, 100, 200, 300 mg/kg) to hyperlipidemic rats for 8 weeks, the variables including body weight, total cholesterol, HDL and LDL levels in serum, the expression of eNOS and nNOS in penis were measured. And erectional function was determined by measurement of intracavernosal pressure (ICP) and maximal arterial pressure (MAP) after electrical stimulation of the cavernosal nerve. Oral administration of KH-204 significantly inhibited the increase of serum total cholesterol and LDL-cholesterol levels and the decreased of serum HDL-cholesterol levels in hyperlipidemic rats induced by high fat diet. The penile expression level of the two enzyme (eNOS, nNOS) were increased significantly after oral administration of the KH-204 50 mg/kg. Erectional function after 10 volts stimulation was significantly decreased in the hyperlipidemic rat compared with the normal rat, but increased in KH-204 group compared with hyperlipidemic group. These results suggest that KH-204 is effective for erectional dysfunction in hyperlipidemia.

Key words – Erectional dysfunction, Hyperlipidemia, ICP (intracavernosal pressure), NOS (nitric oxide synthase)

최근 식생활의 다양화 및 서구화로 고칼로리 음식, 동물성 식품의 섭취가 증가됨에 따라 비만, 뇌졸중, 동맥경화, 고혈압, 당뇨병 등의 각종 생활습관병이 늘어나고 있으며 특히 심혈관 및 순환계 질환의 발병률이 계속 증가하고 있다.¹⁾ 또한, 소득수준의 향상으로 생활의 여유와 건강한 삶을 중시하는 경향이 확산되면서 생명에 직결되지 않으나 생활에 불편을 가져오는 증상들을 치료하여 개인의 삶을 풍요롭게 기여하는 QOL(Quality of life)관련 의약품에 대한 수요가 급증하고 있다.²⁾ 고지혈증(hyperlipidemia)은 혈장내에 cholesterol이나 중성지질(triglyceride)이 비정상적으로 증가된 상태를 의미한다.³⁾ 고지혈증 중 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia)은 죽상동맥경화증을 유발시키는 것으로 이는 혈관벽을 따라 지질이 두껍게 쌓여 허혈성 심장 질환인 협심증 및 심근경색, 혈관성 발기부전의 원인이 되

므로 임상적으로 중요한 문제가 되고 있다.⁴⁾ 혈관성 발기부전 즉, 고지혈증으로 인한 죽상동맥경화의 초기에는 혈관의 내벽을 감싸고 있는 혈관내피의 기능부전이 발생하여 정상적인 내피 의존적 혈관이완작용이 손실되고 후기에는 혈관의 내강이 좁아지게 됨으로써 음경에 영향을 끼치게 된다.⁵⁾ 현재 경구투여용 발기부전 치료제는 PDE-5 억제제로써 시력장애, 심근경색, 안면홍조 등 많은 부작용이 보고되고 있으므로 부작용 및 안전성 있는 대체 물질이 절실히 필요하다.⁶⁾ KH-204의 구성 한약재인 구기자, 산수유, 복분자, 토사자, 오미자는 한방에서 따뜻한 성질을 가지고 있어 원기를 올리고 정기를 돋워 주는 약재이므로 남성 성기능 및 생식장기의 기능을 향상 시킬 것으로 사료된다.⁷⁾ KH-204는 이전 실험 연구에서 당뇨유발과 노화된 수컷 흰쥐에서 NOS활성과 cGMP 함량을 증가시켰으며 또한 토끼에서 음경 해면체 평활근을 농도의존적으로 이완시켰으며 생식장기인 고환 조직의 중량 및 정자수 증가에 유의한 효과를 나타내었다.^{8,9)}

*교신저자(E-mail):blue@kmsi.co.kr
(FAX):032-851-2508

따라서 최근 심혈관계 질환이 꾸준히 증가하고 있고 발기부전이 심혈관질환과 밀접한 연관이 있는 바 고지혈증 모델을 선택하게 되었다. 이에 KH-204를 고지방식으로 유도된 고지혈증 rat에서 혈액중의 지질 함량을 지표로 활성을 측정하였고 생체 내 음경발기 정도를 측정, 발기부전 관련 protein expression를 관찰해 본 결과 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

시료의 조제 및 실험 재료 - 본 실험에 사용되는 산수유, 복분자, 오미자는 대영제약(부천, 한국)에서 구입하였고, 구기자는 옴니허브(영천, 한국), 토사자는 경원(부천, 한국)에서 구입하여 사용하였다. 5가지 천연약재들은 각각 다른 비율(산수유:구기자:복분자:토사자:오미자 = 8:8:4:4:1)로 총 100g이 되도록 혼합하여 증류수로 2번 세척한 다음 4L증류수에 90분간 방치 후 3시간 동안 열수 추출 하였다. 가열하여 얻은 추출액을 여과지로 여과한 후 감압 농축하여 동결 건조 과정을 거쳐 갈색분말로 만들어 시료(KH-204)로 사용하였다. 이 외 본 실험에 사용한 시약은 세포 배양 및 분석용 특급 시약을 사용하였다.

실험동물 및 사육조건 - 수컷 흰쥐(100~120 g)를 중앙 실험 동물에서 분양 받아 최소 일주일간 본 회사 실험 사육장 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 사육장은 인공조명에 의하여 조명시간을 아침 7시부터 저녁 7시 까지 12시간으로 조절하였으며 실내온도는 18-23°C로 유지하였다. 급수는 정수된 물을 사용하였으며, 사료와 급수는 제한하지 않았다.

식이성 고지혈증 유도 및 시료의 투여 - 식이성 고지혈증 유도는 1.5% cholesterol과 0.25% cholic acid, 25% Lard를 첨가하여 조제한 식이(Table I)로 4주 유도 하였다. 음성대조군(normal)은 1 mL D.W.를 투여하였고, 고지혈증을 유발시킨 후 평균 360 g의 흰쥐를 선별하여 8마리씩 5그룹으로 나눈 양성대조군(High fat diet) 및 실험군(50, 100, 200, 300 mg/kg)은 KH-204 열수추출물을 1 mL D.W.에 녹여

Table I. Composition of basal and hyperlipidemic diet

| 성분 | 일반식이(%) | 고지방식이(%) |
|-------------|---------|----------|
| 조단백질 | 20.0 | 20.0 |
| 조지방 | 3.0 | 3.0 |
| 조섬유 | 10.0 | 10.0 |
| 조회분 | 10.0 | 10.0 |
| 칼슘 | 0.6 | 0.6 |
| 인 | 0.4 | 0.4 |
| 전분 | 56.0 | 29.0 |
| 콜레스테롤 | | 1.5 |
| Cholic acid | | 0.5 |
| Lard | | 25 |
| 합계 | 100 | 100 |

needle zonde를 이용하여 8주간 하루에 한번씩 경구투여 하였다. 체중과 식이섭취량은 실험사육기간 중 매일 오전 9시에 측정하고, 식이잔량을 산출하였다. 식이효율(Food efficiency)은 총 획득몸무게(Body weight gain)/식이섭취량(Food intake) 값을 나타낸다.

식이성 고지혈증 측정 - 체중은 10일 간격으로 한번씩 기록하였으며 고지혈증이 유도되었는지 확인하기 위하여 안와정맥에서 채혈하였고 실험이 완료된 후에는 복부대동맥으로부터 혈액을 채혈하였다. 채혈 시 12시간 동안 금식시키고 37°C에서 2시간 응고시킨 후 혈청을 15,000 rpm 원심 분리하여 상등액을 사용하였다.

콜레스테롤 측정은 Richmon의 효소법¹⁰⁾ 고밀도지질콜레스테롤 측정은 Noma 등¹¹⁾의 효소법에 의한 시판 Kit(아산 제약, Korea)를 사용하였으며 UV 흡광도 500 nm으로 측정하였다. 저밀도지질콜레스테롤은 Friedwald formula¹²⁾에 따라 다음 식으로 계산하였다.

$$\text{LDL-Cholesterol} = \text{Total cholesterol} - [(\text{HDL-Cholesterol}) - (\text{Triglyceride}/5)]$$

음경해면체 신경자극 - Zoletil 0.2 mL을 복강 내에 주사하여 전신마취를 유도한 후 기관절개를 통해 기도관(PE 240 polyethylene tube)을 삽입하여 기도를 확보하였다. 우측 경동맥에 폴리에틸렌관(PE 50 polyethylene tube)을 삽입한 후, 하복부부터 귀두표피까지 정중상으로 피부를 절개하여 복강과 음경해면체까지의 피하조직들을 노출시킨 다음 우측 음경해면체에 23 G 바늘을 삽입하여 폴리에틸렌관을 통해 압력변환기와 생리기록기에 연결하여 전신혈압과 음경해면체 내압을 동시에 측정하였다. 전산데이터처리시스템으로 ivory를 사용하였으며 모든 관들은 250 U/mL의 헤파린 처리를 하여 사용하였다. 노출된 하복부에서 방광과 전립선을 조심스럽게 박리한 다음, 우측 전립선의 후외부에 위치한 골반신경총과 해면체 신경을 확인하여 전기 자극을 위해 갈고리 모양의 바늘전극을 걸었다. 10 V, 2.4 mA 전기 자극 후 해면체 내압과 전신 혈압을 동시에 측정하였다. 그룹을 비교하는 주요발기능의 지표로는 최대해면체내압(Peak ICP), 최대해면체내압/평균동맥혈압(Peak ICP/MAP)이었다.

해면체 신경자극을 마친 후 혈액을 3 mL 채혈하고 penis와 testis를 적출하여 무게를 측정하고 액체질소에 보관하였다.

Western blotting - 절취한 음경조직을 0.32 M Sucrose, 0.2 M Hepes, pH 7.4 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, 그리고 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride(PMSF)를 포함한 완충액에서 균질화 하였다. 균질화된 완충액을 15분간 얼음 위에서 방치한 다음 4°C, 13,000 rpm에서 15

분간 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 분리된 시료는 bovine serum albumin을 사용한 Bradford 방법을 이용해 단백질량을 정량하였다. 정량한 단백질을 30 µg을 95°C에서 5분간 변성시킨 후 12% discontinuous sodium dodecylsulfate (SDS-PAGE)-polyacrylamide gel에서 전기영동 하였다. 전기영동 된 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)으로 30분간 실온에서 반응하여 차단하였다. eNOS, nNOS(BD Biosciences, USA) 각 항체들을 2시간 동안 반응시킨 후 TTBS를 사용하여 10분 간격으로 3회 세척 하였다. 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 한번 TTBS로 5분간 6회 세척하였다. ECL용액으로 2분간 반응하고 필름에 감광하여 나타난 band의 두께를 비교 하여 단백질 발현 유무 및 그 차이를 확인하였다.

통계분석 - 측정된 결과는 평균값과 표준 편차(mean ± SD)로 표시되었다. 대조군간의 비교를 위해서는 Student t-test를 사용하였으며 $p < 0.05$ 인 경우 유의한 차이로 간주하였다.

결 과

KH-204를 8주간 투여한 고지혈증 흰쥐에서의 체중증가, 식이섭취 및 식이효율 - 일반 흰쥐에 KH-204를 8주간 경구 투여 하여 각 군의 체중증가, 식이섭취 및 식이효율을 측정 하였다. KH-204를 투여한 모든 실험그룹에서 실험기간 중 특별한 이상이 없었으며 대조군과 비슷한 식이섭취와 체중 증가를 보였다. 이상과 같은 결과는 KH-204투여가 생체 내 거부반응 없이 본 실험에 적합함을 알 수 있다 (Table II).

KH-204를 8주간 투여한 고지혈증 흰쥐에서의 혈중 콜레스테롤, HDL-C, LDL-C 측정 - 본 실험은 1.5% cholesterol과 0.25% cholic acid, Lard 25%를 첨가한 식이로 고지혈증을 유발시킨 실험동물을 8주간 경구투여 하여 각 군간 비교실험을 하였다. 고지방식을 30일 동안 섭취

Table II. The body weight gain, food intake and food efficiency ratio in KH-204 treated hyperlipidemic rat

| Group | Body weight gain (g/day) | Food intake (g/day) | Food efficiency (ratio) |
|-------|--------------------------|---------------------|-------------------------|
| N | 1.06 ± 0.80 | 28.93 ± 1.96 | 0.04 ± 0.03 |
| H | 0.75 ± 0.73 | 30.93 ± 3.44 | 0.03 ± 0.02 |
| 50 | 0.64 ± 0.63 | 31.81 ± 4.49 | 0.02 ± 0.02 |
| 100 | 0.59 ± 0.32 | 28.33 ± 3.34 | 0.02 ± 0.03 |
| 200 | 1.17 ± 0.94 | 31.72 ± 9.75 | 0.04 ± 0.03 |
| 300 | 1.42 ± 1.35 | 30.28 ± 5.87 | 0.05 ± 0.03 |

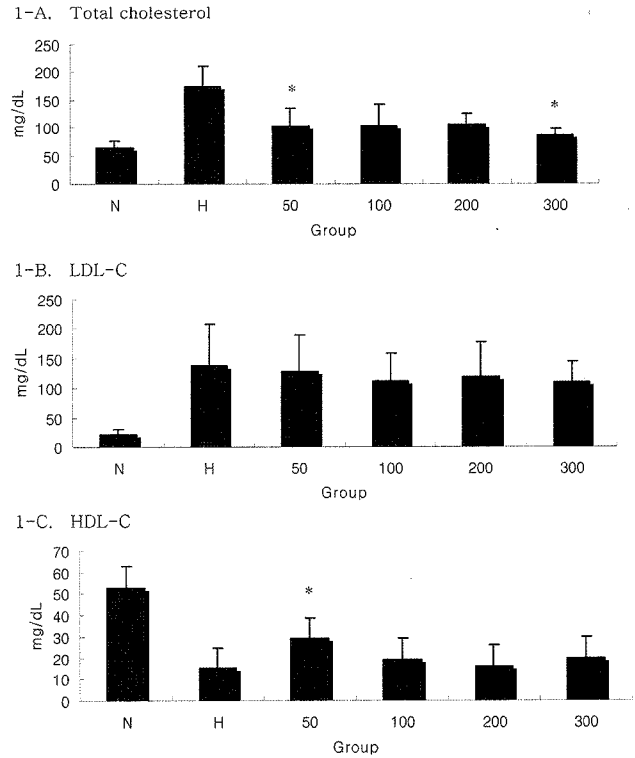


Fig. 1. The effects of the KH-204 water extract on total cholesterol, LDL-C and HDL-C. Rats of experimental group were oral administered with water (control, H.F) or the KH-204 at the dose of 50, 100, 200 and 300 mg/kg. Group N: normal diet, Group H: high fat diet. Data are expressed as mean ± S.D. and are significantly different from that of the H (high fat diet) at $*p < 0.05$.

취시켰을 때 혈중 콜레스테롤 농도는 일반식이그룹과 고지방식이 5그룹 간에 유의한 차이를 보여 고콜레스테롤 혈증이 유발됨을 확인하였다. 8주제 경구투여 후 KH-204 그룹은 고지방식이그룹보다 Total cholesterol, LDL-C의 수치가 감소, HDL-C이 증가되는 경향을 보였다. 그 중에 KH-204 50 mg/kg 그룹은 total cholesterol이 104.5 ± 32 mg/dL, 고지방식이 그룹은 174.2 ± 38.1 mg/dL에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었다. 또한 HDL-C 이 29.7 ± 4.9 mg/dL, 고지방식이그룹은 15.5 ± 8.4 mg/dL으로 유의하게 증가하였다 (Fig. 1).

KH-204를 8주간 투여한 고지혈증 흰쥐에서의 생체 내 음경발기 실험 - KH-204의 약물투여군이 최대해면체내압에 도달하는 평균시간은 고지방식이 그룹에 비해 유의하게 단축되어 일반식이그룹과 차이가 없었다. 고지방식이 그룹과 비교해서 KH-204투여 모든 그룹이 최대해면체 내압의 증가를 보였으나 그 중 KH-204 50 mg/kg을 투여한 그룹이 가장 유의성이 있었다. 최대해면체내압을 전신동맥압으로 보정한 ICP/MAP 또한 KH-204 50 mg/kg 투여군 > 일반식이 투여군(Normal) > KH-204 100 mg/kg 투여군 순으로 뚜

고 찰

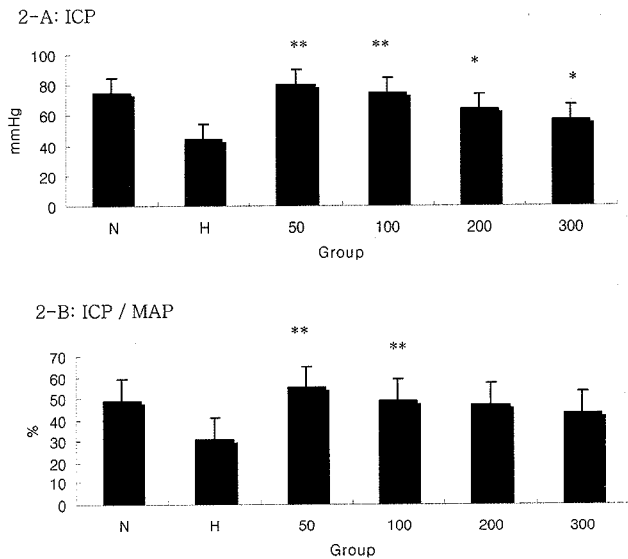


Fig. 2. The effects of the KH-204 water extract on intracavernous pressure (ICP) and ICP/MAP. Rats of experimental group were oral administered with water (control, H.F) or the KH-204 at the dose of 50, 100, 200 and 300 mg/kg. Group N: normal diet + water, Group H: high fat diet + water. Data are expressed as mean ± S.D. and are significantly different from that of the H (high fat diet) at * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$.

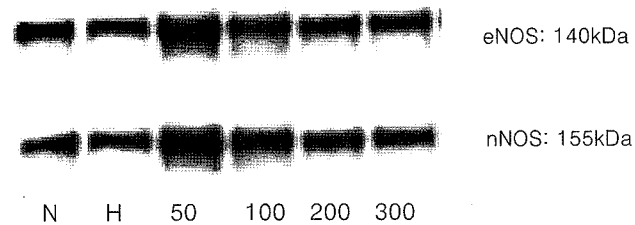


Fig. 3. The effects of the KH-204 water extract on the expression of eNOS/nNOS in hyperlipidemic rat.

After oral administration of the KH-204 water extract, 50 mg, 100 mg, 200 mg, 300 mg per 1 kg of body weight for 8 weeks, we examined the expression and activity of two enzyme: eNOS, nNOS.

N: normal diet + water, H: high fat-diet + water, KH-204: high fat-diet + KH-204 50, 100, 200 and 300 mg/kg.

몇한 증가를 보였다 (Fig. 2).

KH-204를 8주간 투여한 고지혈증 흰쥐에서의 eNOS와 nNOS 단백질 발현 - KH-204열수추출물의 음경조직 내 NOS단백질발현정도를 측정하기 위해 고지방식이로 유도된 rat에서 50, 100, 200 and 300 mg/kg 농도로 8주간 경구투여, western blotting을 실시하였다. Fig. 3은 eNOS와 nNOS의 단백질발현정도를 나타내는 것으로 High fat group(H)과 비교해 볼 때 모든 그룹에서 증가하는 경향을 보였으며 50 mg/kg을 투여했을 때 가장 현저히 증가되었다.

본 연구팀은 오래 전부터 남성 성기능 강화물질로 알려진 복분자, 산수유, 토사자, 구기자, 오미자 5가지 천연물을 일정한 비율로 혼합하여 열수추출로 얻어진 KH-204를 식이성 고지혈증이 유발된 rat에 투여하여 발기부전에 효과적인 KH-204로 개발하였다. KH-204에 배합되는 약재 중 토사자(*Cuscuta chinensis* Lam)⁷⁾는 원래 메꽃과에 속하는 다년생 초본의 새삼씨로 기미가 맵고 달면서 미온하다. Tetraxanthin, lutein, α -carotene, β -carotene등이 들어있으며 간과 신장, 비장에 작용하여 간기능을 도와 근육을 발달시키고 신장의 기능을 튼튼하게 하여 유정(遺精)과 소변을 자주 보는 증상, 정력감퇴 등에 효과가 있다. 복분자(*Rubus coreanus* Miquel)는 장미과에 속하는 산딸기의 미성숙한 위과(偽果)로서 기미가 산하면서 감하며 미온하다. Malic acid, tartaric acid, isocitric acid, astragaline, isoquercitrin, citronene등이 함유되어 있으며 신(腎)기능 허약으로 인한 유정(遺精), 몽정(夢精), 유뇨(遺尿) 또는 소변을 자주 볼 때, 양기가 부족할 때 쓰이며 간기능을 활성화시켜 시력을 증강시키고 기운이 나게 하며 흰머리를 검게 할 때 쓰인다. 산수유(*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc)는 층층나무의 산수유의 과핵을 제거한 과육으로 kaempferol, loganin, malic acid, morroniside 등을 함유하고 있으며 간과 신장의 기운을 북돋아주고 따뜻하게 하며 유정(遺精)과 땀을 그치게 하는 작용을 가지고 있다. 이뇨작용, 혈압강화작용, 항암작용, 억균작용 등이 보고되고 있으며 단백질의 소화를 돕고 혈중 백전액(煎液)은 현저한 이뇨작용이 있다. 구기자(*Lycium chinense* Mill)는 가지과에 속하는 구기자나무의 성숙한 과실을 건조한 것으로 감하고 평하다. Zeaxanthin, physalein, carotene, betaine 등의 성분이 함유되어 있으며 면역증강작용과 강장제로 사용되고 있다. 구기자의 열매와 잎은 강장, 건위, 당뇨, 폐결핵에 쓰이고 가지 및 뿌리껍질은 해열, 부스럼에 쓰인다. 오미자(*Schizandra chinensis* Baillon)는 오미자과에 속하는 오미자의 열매로 온하면서 윤하다. Schizandrol, schizandrin, gomisin, α -chamigrene, β -chamigrene 등을 함유하고 있으며 기와 폐를 보하고 기침을 멈추며 신경(腎精)을 보한다. 또한 갈증을 멈추고 가슴이 답답한 것을 낮게 하며 중추신경계통 흥분 작용, 피로회복 촉진작용, 심장혈관계통기능 회복작용, 위액분비 조절작용, 이담작용, 글리코젠을 늘이는 작용이 보고되고 있다. 음경발기부전에 관여하는 신경전달물질에는 아세틸콜린, ATP, NO 등이 알려져 있으며 이 중 발기부전에 가장 중요한 물질인 NO는 혈관확장작용, 혈액응고작용, 항산화작용, 항염증 작용 등의 역할을 통해서 혈관의 항상성을 유지한다.¹³⁾ 고지혈증은 심혈관 질환이나 혈관성 발기부전증의 주 위험인자로 음경해면체 평활근의 내피의존성 이완반응의 장애와 평활근세포자체의 변형으로 발기부전을 초래하는 것으로 알

려져 있다.¹⁴⁾ 죽상동맥 초기에는 혈관의 내벽을 감싸고 있는 혈관 내피에서, NO를 생산하는 nitric oxide synthase(NOS)의 감소, free radical의 증가로 생산된 NO의 감소가 일어나 내피 의존적 혈관이완작용이 손실되고 후기에는 혈관의 내강이 좁아지게 됨으로써 발기에 영향을 미치게 된다.¹⁵⁾ 따라서, 고지혈증에 주요인자인 total cholesterol, HDL-C 그리고 LDL-C이 혈관성 발기부전에서 중요한 예측 인자가 될 수 있다고 보고하고 있다.¹⁶⁾ 본 실험은 KH-204를 1.5% cholesterol, 0.25% cholic acid 그리고 Lard 25%를 첨가한 식이로 고지혈증을 유발시킨 실험동물을 8주간 경구투여 하여 각 그룹간 비교실험을 하였다. 먼저, 체중증량 및 먹이 효율은 일반식이그룹과 고지방그룹간, 실험군간 큰 차이가 없었으며 (Table II) 이는 실험이 약 20주간 진행되었으므로 일반식이그룹도 몸무게가 자연스럽게 증가된 것으로 생각되어진다. 혈중 총 콜레스테롤 경우 고지방식이그룹과 비교 시 모든 KH-204 모든 그룹에서 감소를 보였으며 그 중 KH-204 50, 300 mg/kg을 투여 한 그룹에서 유의성있는 감소를 나타내었다. 또한, KH-204그룹은 고지방식이그룹보다 높은 고밀도콜레스테롤 수치와 낮은 저밀도콜레스테롤 수치를 보였으며 HDL-C에서 KH-204 50 mg/kg투여 시 유의성있는 증가를 나타내었다. KH-204에 배합되는 약재 중에 노 등¹⁷⁾은 고지혈증 흰쥐에서 산수유의 지질저하 효과에 대해 보고 하였고 이 등¹⁸⁾은 복분자와 백출메탄추출물의 난소절제 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향 및 안전성을 보고 하였다. 또한 전¹⁹⁾은 복분자제품을 섭취할 경우 혈장콜레스테롤, LDL-C, 유리지방산을 감소시키고, 혈장 HDL-C농도와 SOD활성을 유의적으로 증가시키는 보고를 하였으며 옥²⁰⁾은 오미자추출물이 고지혈증을 유발시킨 쥐에서 혈중 지질 및 간 조직 중 total cholesterol, total lipid 그리고 triglycerol을 크게 감소시켰다고 보고하였다. 또한 손 등²¹⁾은 구기자, 고혈압, 고지혈증, 고혈당에 대한 효과를 입증하였다. 따라서, 혈장 중 지방단백질의 양상 및 총 콜레스테롤의 결과를 통해서 볼 때 KH-204 투여로 인해 고지방식이로 유도된 고지혈증이 다소 개선되고있음을 확인하였다. KH-204가 음경발기에 직접적인 영향이 있는지 확인하고자 전기자극으로 발기를 유도한 결과 주요 발기능지표인 최대해면체내압, ICP/MAP의 유의한 증가를 보이는 것으로 나타났으며 그 중 KH-204 50 mg/kg을 투여한 그룹이 가장 효능이 좋았다. 따라서, KH-204가 실제로 음경 내에서 작용하며 발기능과 밀접한 관계를 가지고 있다는 직접적인 증거를 제시할 수 있었다. NO는 혈관 평활근의 이완인자로서 혈관팽창을 유도하여 혈액유입량을 증가시킴으로써 음경의 팽창을 유발 시키며 NOS에 의해 생합성된다. 고지혈증 및 고혈압등의 혈관위험인자가 있으면 음경발기에 중요한 nNOS와 혈관 속 eNOS가 계속 감소함으로 혈관의 탄력성 및 혈액의 유입량이 적어진다. 따라서, 발기부전 치료 약물은 nNOS

및 관련 NOS의 단백질 발현을 촉진 시켜야만 한다. 따라서 고지혈증 모델에서 KH-204를 농도별로 경구투여, penis 적출한 후 eNOS와 nNOS의 발현정도를 본 결과, 50 mg/kg 일 때 현저하게 증가함을 보이는 바 KH-204는 저용량 사용시에도 발기부전에 효과적일 것이라는 가능성을 제시할 수 있었다. 추후에, 고지혈증 모델에서의 Testosterone 측정, 내피관련 단백질 발현 및 활성도 등의 연관성 관련 실험 수행, 짧은 시간동안 과도하게 생산되는 NO 때문에 생성되는 독성 중간 물질인 peroxy-nitrite를 체내에서 조절할 수 있는 KH-204의 적정투여 범위가 정해진다면 음경해면체 평활근의 내피의존성이완반응에 장애를 일으키는 고지혈증 발기부전에 효능이 있는 약물이 될 수 있을 것이라 사료된다.

결 론

저자들은 1.5% cholesterol과 0.25% cholic acid, Lard 25% 첨가한 식이로 고지혈증을 유발시킨 실험동물에 KH-204를 8주간 경구투여 하여 혈중콜레스테롤과 HDL-C, LDL-C 등을 측정하여 지질대사에 미치는 영향을 용량별로 측정하였다. 또한, 음경발기 촉진 및 지속에 미치는 영향을 보고자 최대해면체내압을 측정하였으며 해면체이완에 관련된 세포 내 신호전달 체계 NO-cGMP pathway에 관여하는 NOS의 단백질발현정도를 측정하였다. 그 결과 KH-204를 투여한 모든 그룹에서 고지방식이 그룹보다 총 콜레스테롤 수치와 LDL-C를 낮추었고 HDL-C의 수치를 높였으며 그 중 50 mg/kg투여 한 그룹이 가장 유의성이 있었다. 최대해면체 내압에서는 KH-204투여 그룹이 고지방식이 그룹보다 최대해면체 내압에 이르는 시간이 짧았고 최대해면체 내압의 수치가 높았으며 이 중 50 mg/kg일 경우 가장 효과가 좋았다. 또한, penis에서 eNOS와 nNOS의 발현정도를 측정해본 결과 모든 투여 농도에서 증가하였으며 50 mg/kg을 투여 시 가장 현저히 증가하였다. 따라서, 혈중 콜레스테롤을 낮추면서 NOS의 단백질 발현이 증가, 최대해면체내압이 큰 KH-204는 고지혈증으로 유발된 발기부전에 효능이 있는 약물이 될 수 있으리라 사료된다.

인용문헌

1. Levy, R. I. (1991) Cholesterol, lipoprotein, apoprotein and heart disease : present status and future prospects. *Clin. Chem.* 27: 653-657.
2. 한국과학기술정보연구원 (2004) 발기부전치료제의 시장 동향 분석. 85. 한국과학기술정보 연구원 기술산업 정보분석 보고서. 서울.
3. 고지혈증치료지침제정위원회 (1998) 고지혈증과 동맥경화증. 23. 신광 출판사. 한국.

4. Virag, R., Bouilly, P. and Fryfman, D. (1985) Is impotence an arterial disorder? A study of arterial risk factors in 440 impotent man. *Lancet* **1**: 181-184.
5. Park, K., Son, H., Kim, S. W. and Paick J. S. (2005) Initial validation of a novel rat model of vasculogenic erectile dysfunctionI with generalized atherosclerosis. *Int J Impot Res.* **17**: 424-30.
6. Noboru, T., Kazuhede, A. and Tomio, O. (2005) Nitric oxide and penile erectile function. *Pharma & Therapeu.* **106**: 233-266.
7. 한국생약학교수협의회 (2004) 본초학. 863, 865, 768, 802, 845. 아카데미서적. 한국.
8. Park, C. S., Ryu, S. D. and Hwang, S. Y. (2004) Elevation of intracavernous pressure and NO-cGMP activity by a new herbal in penile tissue of aged and diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* **94**: 85-89.
9. Lee, H. J., Lee, E. J., Kim, H. S., Kim S. N. and Hwang S. Y. (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.
10. Richmond, W. (1976) Use of cholesterol oxidase for assay of total and free cholesterol in serum by continuous flow analysis. *Clin. Chem.* **22**: 1579-1588.
11. Noma, A., Nakayama, K. N., Kota, M. and Okabe, H. (1978) Simultaneous determination of serum cholesterol in high and low density lipoprotein with use of heparin, Ca²⁺ and an anion exchange resin. *Clin. Chem.* **24**: 1504-1508.
12. Fridewald, W. T., Levy, R. I. and Fedreicson, D. S. (1972) Estimation of concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* **18**: 499-502.
13. Parmer, R. M., Ferrige, A. G. and Monacada, S. (1987) Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factor. *Nature* **327**: 524-526.
14. 김수웅 (2005) Erectile dysfunction as a risk marker of cardiovascular risk. 41-49. 제 11차 대한 남성과학회 연구강좌. 서울.
15. Azadzoi, K. M. and Saenz de Tajade, I. (1991) Hypercholesterolemia impairs endothelium-dependent relaxation of rabbit corpus cavernosum smooth muscle. *J. Urol Res.* **146**: 238-240.
16. Roumegueré, T., Wespes, E., Carpentier, Y., Hoffmann, P. and Schulman, C. C. (2003) Erectile dysfunction is associated with a high prevalence of hyperlipidemia and coronary heartdisease. *Eur. Urol.* **44**: 355-359.
17. 노삼현, 최현숙, 이계웅, 이명렬 (2003) 고콜레스테롤혈증 흰쥐에서 산수유의 지질 저하 효과. 한국식품영양과학회 연합학술대회 제 53차.
18. 이항림, 최상원, 최영선, 조성희 (2003) 복분자와 백출메탄올 추출물의 난소절제 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향 및 안전성. 한국식품영양과학회 연합학술대회 제 54차.
19. 전영중 (2003) 복분자로부터 분리한 혈당 강하 활성성분의 평가 및 이를 이용한 당뇨 개선 기능성 제품개발. 아미코젠 주식회사 연구보고서. **98**.
20. 옥은성 (1995) 오미자 추출물이 고지혈증 흰쥐에 미치는 영향. 한국영양식량학회지. **24**: 658-662.
21. 손예건 (1993) 구기자, 구기엽, 지골피가 고혈압, 고지혈증 및 고혈당에 미치는 영향. 경희대 대학원 석사논문.

(2007년 1월 10일 접수)