

冬蟲夏草가 Hydrocortisone을 투여한 흰쥐의 Nitric Oxide Synthase 활성 및 Testosterone 함량에 미치는 영향

민건우, 박종혁, 윤철호, 정지천, 신억섭*, 한영환**

동국대학교 한의과대학 내과학교실, 동국대학교 의료원 약제과*, 동국대학교 자연과학대학 생물학과**

Effects of *Cordyceps militaris* on the penile nitric oxide synthase activity and the level of blood testosterone in hydrocortisone acetate-treated rats.

Gun-Woo Min, Jong-Hyuck Park, Cheol-Ho Yoon, Ji-Cheon Jeong, Uk-Seob Shin*, Yeong-Hwan Han**

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

Dept. of Pharmacy, Dongguk Medical Center*, Dept. of Biology, College of Natural Science, Dongguk Univ.**

The following are the results of the experimental studies of *Cordyceps militaris* (CM) on the penile nitric oxide synthase (NOS) activity and the level of blood testosterone in hydrocortisone acetate-treated rats. CM was tested for the effects on activity of xanthine oxidase and lipid peroxidation in penis of hydrocortisone acetate-treated rats. *In vitro*, CM didn't effect the levels of lipid peroxide and the activity of NOS. In the penis of hydrocortisone acetate-treated rats, lipid peroxide, the activities and ratio of type conversion of xanthine oxidase were increased but activity of NOS and content of nitrite were decreased. *In vivo*, after administration of CM to hydrocortisone acetate-treated rats, levels of lipid peroxide in penis was decreased. Also, the activities and ratio of type conversion of xanthine oxidase were decreased, too. The body weight and concentration of testosterone in the blood were increased. The effects of *Cordyceps militaris* Broth did better than the effects of *Cordyceps militaris* Mycelia.

These results suggest that CM decrease the activities of free radical generating enzymes such as xanthine oxidase which form lipid peroxide and increase the penile NOS activity and the level of blood testosterone in hydrocortisone acetate-treated rats. Conclusively, CM is capable of improving of sexual ability in hydrocortisone acetate-treated rats.

Key Word : *Cordyceps militaris*, hydrocortisone, nitrite, lipid peroxidation, testosterone.

I. 緒 論

생리적인 성기능 감퇴 시기 이전에 남성의 음경이 발기되지 않거나 발기력이 충분치 않아 성생활에 장애가 있는 경우를 발기부전이라고 한다. 이러한 발기부전은 심인성과 기질성으로 대별되며, 기질성은 다시 내분비성, 신경인성, 혈관성 등으로 나뉘어진다¹⁾.

발기의 정도는 음경평활근의 이완 정도에 따라 결정되며, 음경평활근의 이완

은 신경전달물질과 비신경전달물질에 의해 이루어진다²⁻⁵⁾. 최근에는 비신경전달물질인 prostaglandine과 endothelium-derived relaxing factor (EDRF)가 발기에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었고^{5,6)}, 특히 nitric oxide (NO)가 강력한 EDRF의 하나로 밝혀짐에 따라 NO의 역할에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다⁷⁻¹³⁾. NO는 혈관 평활근의 이완인자로서 혈관팽창을 유도하여 혈액유입량을 증가시킴으로써 음경의 팽

창을 유발시키는 내인성 물질로¹⁴⁾ nitric oxide synthase (NOS)에 의해서 생합성된다^{14,15)}.

발기부전은 한의학에서 '陽痿', '陰痿', '陰器不用', '陰不起' 등의 病證에 속하고, 病因은 腎陽虛, 心脾兩虛, 腎精虧虛, 肝氣鬱結, 濕熱下注 등이 있는데¹⁶⁾, 주로 腎陽虛로 인한 것이 많으며, 溫腎壯陽, 補腎填精, 疎肝解鬱, 清熱瀉濕, 補益心脾, 理氣活血 등의 治法이 응용되고 있다¹⁷⁻¹⁹⁾.

冬蟲夏草는 壯腎陽, 補肺益腎, 益精氣 등의 효능이 있어 陽痿, 遺精, 病後久虛

不復, 自汗盜汗, 咳血, 勞嗽, 虛喘 등을 치료한다²⁰⁻²³). 冬蟲夏草에 관한 실험연구로는 항암²⁴), 면역기능 증강효과²⁵) 등이 보고되었고, 陽痿에 대한 실험연구로는 streptozotocin에 의해 현저하게 억제되던 NOS 활성을 葫蘆巴 및 楮實子가 정상수준으로 회복시켰다는 보고가 있으나^{26,27}), 성기능 개선 관련 연구는 보이지 않는다.

이에 著者는 冬蟲夏草 배양액 및 균사체 추출물이 NO와 관련하여 성기능 개선 작용이 있는지를 검토하기 위하여 실험동물에 hydrocortisone으로 성기능 장애를 유발하여 유의성 있는 결과를 얻었으므로 보고하고자 한다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 材料

1) 약재

정선된 冬蟲夏草 (*Cordyceps militaris*)의 배양체 (*Cordyceps militaris* Broth : CMB)와 균사체 (*Cordyceps militaris* Mycelia : CMM)를 사용하였다.

2) 시약 및 기기

Bovine serum albumin (BSA), calmoduline, dithiothreitol, glutathione reduced (GSH), hydrocortisone acetate, nicotineamide adenine dinucleotide (NAD), nitro blue tetrazolium, sodium chloride, sodium hydroxide, thiobarbituric acid sodium salt, uric acid sodium salt, xanthine sodium salt는 Sigma사로부터, nicotineamide adenine dinucleotide phosphate reduced form (NADPH)은 Kohjin사, trichloroacetic acid는 Nakarai사로부터, potassium phosphate mono and dibasic은 Wako

pure Chemical사로부터 구입한 제품을 사용하였고, 모든 시약은 특급품을 구입하여 사용하였다.

3) 동물

동일한 조건 아래 사육된 외관상 건강한 웅성 Sprague-Dawley계 흰쥐 (체중 250 g 내외)를 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 冬蟲夏草 菌絲體 (mycelia) 배양

준비된 10 ml의 *Cordyceps militaris* 포자용액 (10^4 spores/ml)을 100 ml GYT 액체배지 (250 ml 삼각플라스크, 조성 : glucose 5%, yeast extract 0.5%, tryptone 0.2%)에 접종하여 27℃에서 10일간 진탕배양하였다. 준비된 액체 종균 100 ml을 20 l의 水桶 배양기에 접종하여 27℃에서 10일간 定置培養하였다. 水桶 배양기에는 에어펌프로부터 여과기 (milipore $\phi = 0.2 \mu m$)를 통과한 재균 공기가 배양기내의 액체배지에 산소가 충분히 공급되도록 하였다.

2) 冬蟲夏草 菌絲體 및 培養濃縮 시료의 제조

① 冬蟲夏草 菌絲體 試料 (CMM)의 제조
액체 배양된 배양액을 두겹의 거즈로 여과한 후, 걸러진 균사체를 증류수로 2-3회 세척하였다. 회수된 균사체를 24시간 동안 동결 (-20℃)한 다음, 동결건조기 (-50℃, 9 mmTorr)로 건조하여 사용하였다.

② 冬蟲夏草 培養濃縮液 試料 (CMB)의 제조

액체 배양된 배양액을 두겹의 거즈로 여과한 후, 여액을 원심분리하여 胞子和 잔존하는 균사체를 제거하였다. 상등액을 감압농축하여 배양 농축액을 얻은

후, 24시간 동안 동결 (-20℃)하였다. 동결된 농축 시료를 동결건조기 (-50℃)로 건조한 후 사용하였다.

3) 약물의 투여

실험동물은 정상군, 冬蟲夏草군, hydrocortisone군, hydrocortisone · 冬蟲夏草군으로 나누었고, 실험 전 16시간 동안 물만 주고 절식시켰다. 정상군은 체중 kg당 200 mg의 생리식염수를 10일간 경구 투여하였고, 冬蟲夏草군은 CMM 및 CMB를 실험 동물의 체중 kg당 200 mg을 10일간 경구 투여하였다. Hydrocortisone군은 김의 방법²⁸⁾을 참조하여 hydrocortisone acetate를 체중 kg당 50 mg을 1일 1회 7일간 복강 주사하였고, hydrocortisone · 冬蟲夏草군은 실험동물에 hydrocortisone acetate를 투여하여 독성을 유발시킨 상태에서 冬蟲夏草 추출물을 일정기간 동안 투여한 후 실험에 이용하였다.

4) 효소원의 조제

실험을 완료한 동물을 마취시킨 다음 복부 정중선을 따라 하복부를 개복한 후 음경해면체를 적출하였다. 적출한 음경해면체는 생리식염수에 깨끗이 씻은 다음 여지로 이물질을 또는 생리식염수를 제거하였다. 음경해면체조직 1 g당 4배량의 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5, 이하 K.P. buffer로 약함)를 가하여 빙냉하에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하였으며 이 마쇄 균질액을 이용하여 과산화지질 및 nitrite 함량을 측정하였다. 마쇄균질액은 10,000 × g에서 20분간 원심분리하여 상정액을 얻고 이 fraction을 이용하여 xanthine oxidase 및 nitric oxide synthase 활성 측정의 효소원으로 사용하였다. 한편 혈액은 동물마취 후 개복할 때 복부

대동맥을 통하여 채혈한 후 heparin 처리하여 일정시간 방치시킨 다음 원심분리하여 혈장을 분리하여 testosterone 정량실험에 사용하였다. 이상의 모든 조작은 0-4℃에서 행하였다.

5) 효소 활성의 측정

① Xanthine oxidase 활성 측정

Xanthine oxidase (type O) 활성 측정은 Stirpe 등의 방법²⁹⁾에 준해 0.1 M K.P. buffer (pH 7.5) 일정량에 기질인 xanthine 60M 및 효소원을 첨가하여 37℃에서 5분간 반응시킨 다음 20% TCA를 가하여 제단백시키고 원심분리하였다. 이때 생성되어진 uric acid를 파장 292 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 한편 xanthine dehydrogenase (type D)의 활성은 type O의 활성 측정 반응액에 coenzyme인 NAD⁺ 100 mM을 첨가해 동일하게 반응시킨 다음 측정하여 나온 활성도 (total type : type D+O)에서 type O의 활성을 감한 값으로 산정하였다. 효소의 활성도는 1분당 1 mg의 단백질이 생성시킨 uric acid 양을 nmole로 나타내었다. 한편 xanthine oxidase의 형전환비 산출은 xanthine dehydrogenase 및 xanthine oxidase 반응에서 얻어진 효소의 활성도를 이용하여 xanthine dehydrogenase (type D)에서 xanthine oxidase (type O)로 의 형전환 비율을 O/O+D의 비로 산출하였다.

② Nitric oxide synthase 활성 측정

Nitric oxide synthase의 활성측정은 비색법 (colorimetric assay)으로 NADPH diaphorase 활성도 측정법³¹⁾을 이용하였다. 실험동물의 조직 효소원에 50 mM Hepes (pH 7.4) 용액과 L-arginine, NADPH, EDTA, CaCl₂,

dithiothreitol, calmodulin 및 nitro blue tetrazolium을 가하여, 37℃에서 5 분간 반응시켜 585 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. 효소의 활성도는 파장 585 nm에서 측정된 흡광도 수치에 사용한 단백질의 함량을 나눈 값으로 산정하였다.

6) Nitrite 함량 측정

조직중의 nitrite (NO₂)양의 측정은 비색법³⁰⁾으로 Griess reaction에 준하여 측정하였다. Griess시액은 1% sulfanilamide, 0.1% naphthylethylene diamine 및 2.5% 인산을 혼합하여 제조하였으며, 효소원 180 μl에 2 mM NADPH 및 L-arginine을 각각 10 μl 씩 가하여 최종용적이 200 μl가 되게 하였다. 반응은 37℃에서 1시간 지속시킨 후, 반응시킨 상징액 200 μl와 동량의 griess시액을 실온에서 10분간 반응시켜 550 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였으며, L-arginine과 NADPH를 첨가한 상징액에 대조상징액을 보정하여 산출하였다. Nitrite 양의 측정은 sodium nitrite를 이용한 표준곡선을 이용하여 산출하였고, 흰쥐 조직 g당 nitrite의 양을 μmole로 환산하여 나타내었다.

7) 과산화지질 함량 측정

과산화지질 함량 측정은 Ohkawa 등의 방법³¹⁾에 준해 음경해면체조직 마쇄 균질액 일정량에 8.1% sodium dodecyl sulfate, 20% acetate buffer (pH 3.5) 및 0.8% thiobarbituric acid (TBA) 용액을 가해 95℃에서 1시간동안 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 1 g당 MDA의 양을 nmole로 나타내었다.

8) 혈중 testosterone의 정량

혈액내의 testosterone의 농도를 측정하기 위하여 radioimmunoassay인 Coat A-count total testosterone kit를 사용하여 함량을 측정하였다³²⁾. Heparin 처리하여 분리한 혈장에 dispense reagent를 가하여 37℃에서 3 시간 동안 반응시킨 다음 꺼내어 반응액을 이용하여 Gamma counter로 측정하였다.

9) 체중 측정

실험동물의 체중 변화 측정은 각각의 실험군별로 10마리씩 선정하여 시료투여 개시일부터 5일째와 10일째 몸무게를 측정하여 평균값을 산정한 후 표에 나타내었다.

10) 단백질의 정량

단백질의 정량은 Lowry 등의 방법³³⁾에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 행하였다. 한편 실험 결과의 유의성 검증은 Student's t-test를 이용하여 비교하였다.

III. 實驗成績

1. 체중 변화에 미치는 영향

정상군은 실험 시작전 255 g에서 실험종료시 263 g으로 약 9% 정도의 체중증가를 보였다. 그러나 hydrocortisone군은 253 g에서 188 g으로 약 26% 정도의 현저한 감소현상을 나타내었고, 冬蟲夏草군은 CMM 투여군의 경우 258 g에서 264 g으로 약 2% 정도의 체중증가가 있었고, CMB 투여군에서

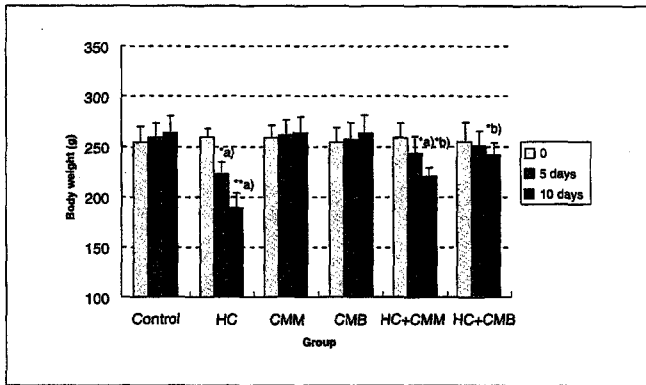


Fig. 1. Effect of the extract of CMM and CMB on the bodyweight in hydrocortisone acetate-treated rats. Flats were received with CMM and CMB extract (200 mg/kg, p.o.) daily for 0-10days and hydrocortisone acetate (50 mg/kg) intraperitoneally daily for 7days. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm SE for 10 animal. a) Significantly different from control b) Significantly different from hydrocortisone acetate-treated group. CMB : *Cordyceps militaris* Broth, CMM : *Cordyceps militaris* Mycelia. * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$

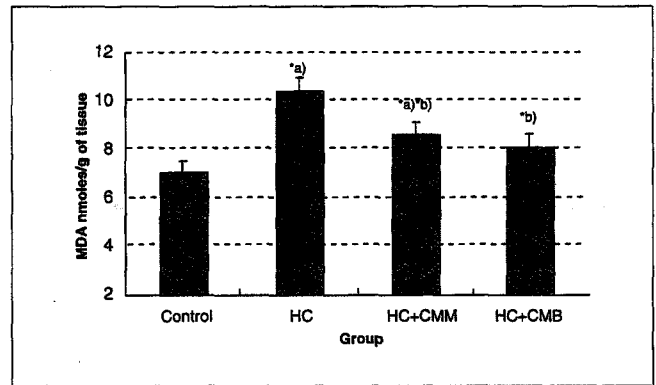


Fig. 2. Effect of the extract of CMM and CMB on the content of penile lipid peroxide in hydrocortisone acetate-treated rats. Flats were received with CMM and CMB extract (200 mg/kg, p.o.) daily for 10days and hydrocortisone acetate (50 mg/kg) intraperitoneally daily for 7days. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm SE for 5 animals. a) Significantly different from control b) Significantly different from hydrocortisone acetate-treated group. CMB : *Cordyceps militaris* Broth, CMM : *Cordyceps militaris* Mycelia. * : $P < 0.05$

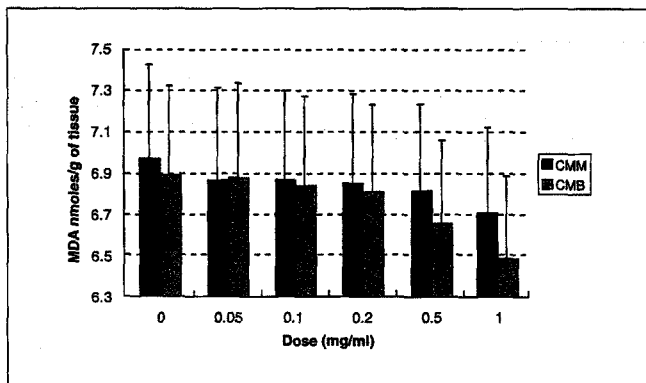


Fig. 3. Effect of the extract of CMM and CMB on the penile lipid peroxidation *in vitro*. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm SE for 3 separate experiments. CMB : *Cordyceps militaris* Broth, CMM : *Cordyceps militaris* Mycelia.

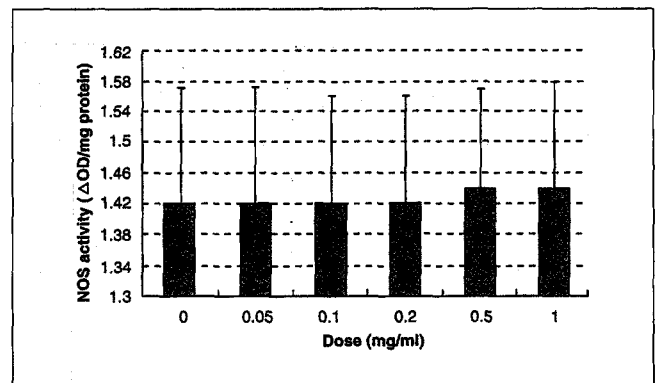


Fig. 4. Effect of the extract of CMM and CMB on the penile nitric oxide synthase activity *in vitro*. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm SE for 3 separate experiments. CMB : *Cordyceps militaris* Broth, CMM : *Cordyceps militaris* Mycelia.

는 253 g에서 264 g으로 약 4% 정도의 체중이 증가하여 정상군과 거의 유사한 양상을 나타내었다.

Hydrocortisone · 冬蟲夏草군의 경우 CMM를 투여한 군에서는 258 g에서 220 g으로 약 14% 정도 감소하였고, CMB를 투여한 군에서는 256 g에서 241 g으로 약 5% 정도 감소하여 hydrocortisone 투여에 의해 현저하게 억제되었던 체중이 정상수준 가깝게 회

복되는 결과를 관찰할 수 있었다. 특히, 군사체 추출물 투여군의 경우보다는 배양체 추출물 투여군의 경우가 체중의 정상회복속도가 훨씬 빠르게 나타났다 (Fig. 1).

2. 과산화지질 함량에 미치는 영향

Hydrocortisone군의 음경해면체 조직중 과산화지질 함량은 10.31 nmoles로서 정상군 7.02 nmoles 보다 약 30%

정도 증가하였다. Hydrocortisone · 冬蟲夏草군의 경우 CMM을 투여한 경우 8.51 ± 0.52 nmoles/g이고 CMB를 투여한 경우 8.02 ± 0.57 nmoles/g로 hydrocortisone군의 10.31 nmoles/g에 비해 각각 17%, 22% 정도 과산화지질 함량이 감소하였으며, 군사체의 효능보다는 배양체의 효능이 훨씬 강하게 나타났다 (Fig. 2).

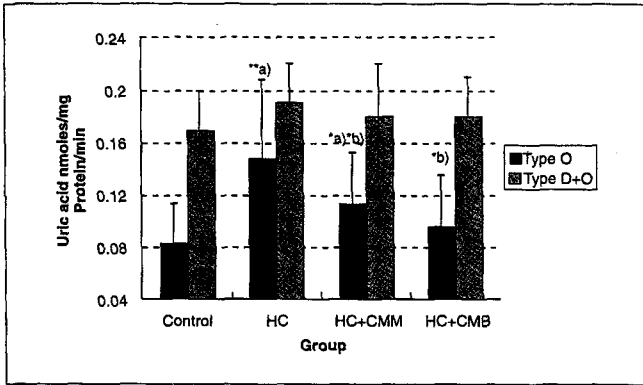


Fig. 5. Effect of the extract of CMM and CMB on the penile xanthine oxidase activity in hydrocortisone acetate-treated rats. Rats were received with CMM and CMB extract (200 mg/kg, p.o.) daily for 10days and hydrocortisone acetate (50 mg/kg) intraperitoneally daily for 7days. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm SE for 5 animals. a) Significantly different from control b) Significantly different from hydrocortisone acetate-treated group. CMB : *Cordyceps militaris* Broth, CMM : *Cordyceps militaris* Mycelia. * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$

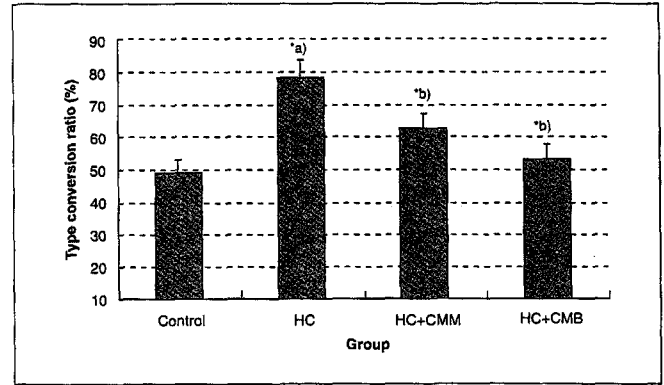


Fig. 6. Effect of the extract of CMM and CMB on the type conversion of penile xanthine oxidase in hydrocortisone acetate-treated rats. Rats were received with CMM and CMB extract (200 mg/kg, p.o.) daily for 10days and hydrocortisone acetate (50 mg/kg) intraperitoneally daily for 7days. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm SE for 5 animals. a) Significantly different from control b) Significantly different from hydrocortisone acetate-treated group. CMB : *Cordyceps militaris* Broth, CMM : *Cordyceps militaris* Mycelia. * : $P < 0.05$

3. 시험관내에서 과산화지질 함량에 미치는 영향

동물실험에서 冬蟲夏草의 과산화지질 생성 억제효과가 생체 외에서도 동일한 반응을 나타내는지 검토할 목적으로 시험관내에서 생체조건과 유사한 반응 조건을 만든 다음 冬蟲夏草 추출물을 농도별로 첨가시켜 지질의 과산화반응을 관찰하였다. CMM과 CMB를 1 mg/ml의 농도까지 첨가시킨 후 지질의 과산화반응을 관찰하였으나 별다른 영향을 나타내지 못하였다 (Fig. 3).

4. 시험관내에서 nitric oxide synthase 활성에 미치는 영향

冬蟲夏草가 nitric oxide synthase 활성에 미치는 효과를 우선 시험관내에서 검토한 다음, CMM 및 CMB의 첨가 농도를 증가시켜 가면서 비교관찰하였을 때 정상치의 nitric oxide synthase 활성과 별다른 차이를 나타내지는 않았다 (Fig. 4).

5. Xanthine oxidase 활성에 미치는 효과

정상군의 음경해면체 조직중의 xanthine oxidase 활성은 0.083 nmoles이었으나 hydrocortisone군에서는 효소활성이 0.148 nmoles로 정상군에 비하여 약 78% 정도 증가하였다.

Hydrocortisone · 冬蟲夏草군의 xanthine oxidase 활성은 CMM를 투여한 경우 0.112 nmoles이고 CMB를 투여한 경우가 0.094 nmoles로 정상동물수준으로 활성이 억제되었으며, 특히 군사체의 효능보다 배양체의 효능이 강함을 알 수 있었다 (Fig. 5).

6. Xanthine oxidase 형전환에 미치는 효과

정상군의 xanthine oxidase 형전환비 48.8%에 비해 hydrocortisone군의 형전환비는 77.9%로 현저하게 증가하였다. Hydrocortisone · 冬蟲夏草군에서는 CMM 투여군의 경우 62.2%, CMB

투여군의 경우 52.2%로 정상화되고 있음을 관찰할 수 있었다 (Fig. 6).

7. Nitric oxide synthase 활성에 미치는 영향

정상군의 NOS 활성 1.29 Δ OD/mg에 비해 hydrocortisone군의 경우 0.94 Δ OD/mg로 정상군에 비하여 약 27% 정도 유의성 있게 감소하였다. Hydrocortisone · 冬蟲夏草군에서의 NOS 활성은 CMM 투여군에서 1.11 Δ OD/mg, CMB 투여군에서 1.22 Δ OD/mg로 각각 18%, 29% 정도 유의성 있게 증가하여 거의 정상수준으로 회복되었다 (Fig. 7).

8. Nitrite 함량에 미치는 효과

정상군의 nitrite 함량 0.58 μ moles에 비해 hydrocortisone군의 경우 음경해면체 조직중의 nitrite 함량이 0.42 μ moles로 약 30% 정도 저하되었다. Hydrocortisone · 冬蟲夏草군에서는

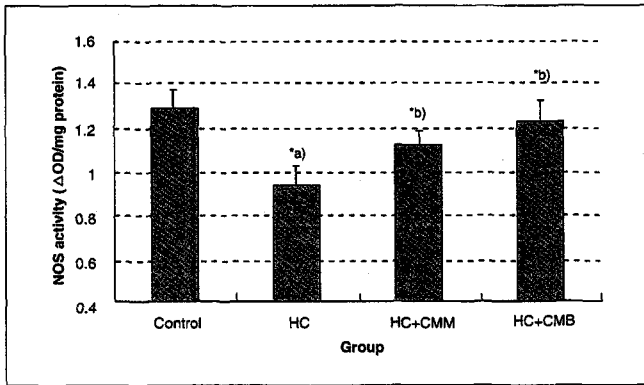


Fig. 7. Effect of the extract of CMM and CMB on the penile nitric oxide synthase activity in hydrocortisone acetate-treated rats. Rats were received with CMM and CMB extract (200 mg/kg, p.o.) daily for 10days and hydrocortisone acetate (50 mg/kg) intraperitoneally daily for 7days. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm SE for 5 animals. a) Significantly different from control b) Significantly different from hydrocortisone acetate-treated group. CMB : *Cordyceps militaris* Broth, CMM : *Cordyceps militaris* Mycelia. * : $P < 0.05$

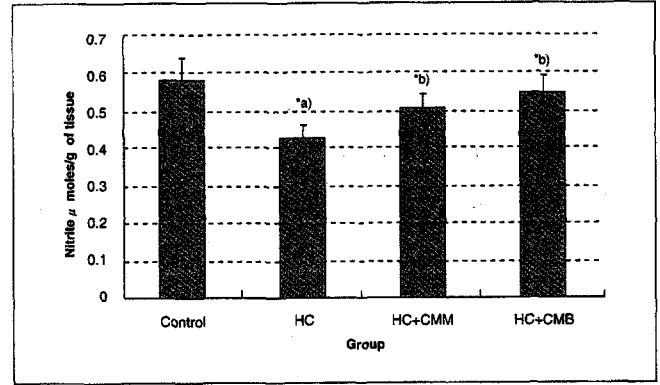


Fig. 8. Effect of the extract of CMM and CMB on the content of penile nitrite in hydrocortisone acetate-treated rats. Rats were received with CMM and CMB extract (200 mg/kg, p.o.) daily for 10days and hydrocortisone acetate (50 mg/kg) intraperitoneally daily for 7days. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm SE for 5 animals. a) Significantly different from control b) Significantly different from hydrocortisone acetate-treated group. CMB : *Cordyceps militaris* Broth, CMM : *Cordyceps militaris* Mycelia. * : $P < 0.05$

CMM 투여군의 경우 0.50 μ moles, CMB 투여군의 경우 0.54 μ moles로 hydrocortisone군에 비해 각각 19%와 28% 정도 유의성 있게 증가하여 정상군 수준으로 회복되었다 (Fig. 8).

9. 혈중 testosterone 함량에 미치는 효과

Hydrocortisone군의 testosterone 함량은 8.44 nmoles로 정상수준 13.12 nmoles에 비해 약 35% 정도 현저하게 감소되었다. Hydrocortisone · 冬蟲夏草군에서는 CMM 투여군의 경우 11.28 nmoles, CMB 투여군의 경우 12.38 nmoles로 hydrocortisone군에 비해 각각 33%, 46% 정도 유의성 있게 증가하여 거의 정상군 수준으로 회복되었다 (Fig. 9).

IV. 考 察

성기능 장애는 임상적으로 남성의 발기부전증, 조루증, 지루증과 여성의 전

반적 성기능 장애, 극치감 장애, 동통성 성교 및 질경련으로 분류된다³⁴⁾. 발기부전은 성관계의 50% 이상에서 강제성 발기가 일어나지 않거나 일어나더라도 유지가 안되는 경우로 심인성과 기질성으로 대별된다³⁵⁾. 기질성 발기부전은 다시 그 원인에 따라 신경인성, 혈관성, 내분비성 발기부전증으로 분류되지만 기능장애의 유형에 따라 유도장애, 충만장애, 저장장애 등으로 분류할 수 있다³⁶⁾.

음경의 발기는 신경정신적인 자극에 의해서 해면체 (corpora cavernosa) 내의 동맥과 洞狀 血管腔 (sinusoidal space) 내의 혈관 확장에 의해서 일어나고, 洞狀 血管腔 이완은 일차적으로 비아드레날린성 · 비콜린성 신경전달물질 (NANC)과 EDRF의 분비에 의해 이루어진다³⁵⁾. 이들은 nitric oxide (NO)의 유사물질들로서 NO 제거제 및 NO 합성억제제가 洞狀 血管腔의 이완 억제와 관련이 있다³⁵⁾.

NO는 혈관 평활근의 이완인자로서 혈관팽창을 유도하여 혈액유입량을 증

가시킴으로써 음경의 팽창을 유발시키는 내인성 물질로¹⁴⁾ nitric oxide synthase에 의해서 생합성되어지고, 생합성된 nitric oxide는 직접적으로 혈관 평활근의 확장에 관여하게 된다^{14,15)}. 따라서 음경의 혈액유입량의 감소로 인한 발기부전증상은 nitric oxide의 생성을 촉진시키는 factor의 조절로 개선할 수 있을 것으로 생각된다.

Hydrocortisone은 당류코르티코이드의 일종으로 결체조직을 감소시키고, 골형성 및 림프구의 생성과 기능을 억제하며, 식욕증가, 성욕감소, 불면증 등을 유발한다³⁶⁾. 실험연구로는 대량의 hydrocortisone acetate²⁸⁾를 투여한 실험동물에서 나타나는 消耗現狀을 陽虛證으로 응용하였고^{37,38)}, 흰쥐에서 命門火衰型 陽痿를 유발하였다³⁹⁾. 또한 hydrocortisone acetate를 투여한 실험동물의 간조직에서 xanthine oxidase 활성과 oxygen free radical의 생성이 증가되고, 과산화지질 함량이 증가되었다²⁸⁾. 치료제로서 스테로이드제제의 사용이

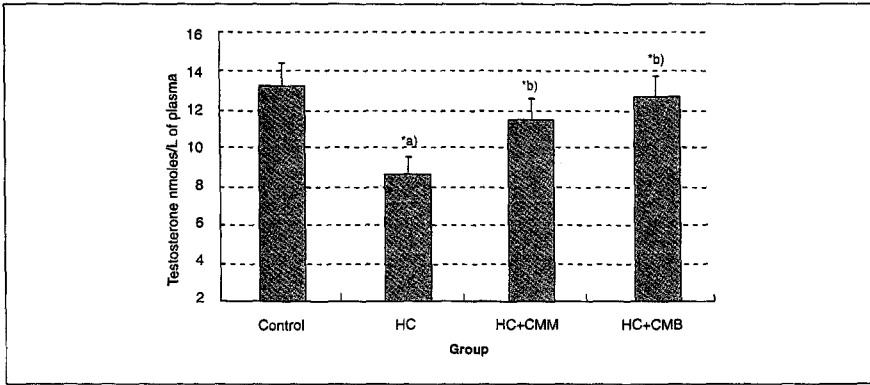


Fig. 9. Effect of the extract of CMM and CMB on the level of blood testosterone in hydrocortisone acetate-treated rats. Rats were received with CMM and CMB extract (200 mg/kg, p.o.) daily for 10days and hydrocortisone acetate (50 mg/kg) intraperitoneally daily for 7days. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm SE for 5 animals. a) Significantly different from control b) Significantly different from hydrocortisone acetate-treated group. CMB : *Cordyceps militaris* Broth, CMM : *Cordyceps militaris* Mycelia. * : $P < 0.05$

증가함에 따라 부신피질 기능부전의 발생이 흔하므로³⁵⁾ hydrocortisone의 대량 투여는 副腎의 작용을 억제할 것으로 사료된다.

冬蟲夏草는 곰팡이의 일종인 冬蟲夏草菌이 주로 온도, 습도가 높아지는 시기에 살아있는 곤충의 몸속으로 들어가 발육, 증식하면서 기주곤충을 죽이고 얼마 후 子實體를 곤충의 표피에 형성하는 일종의 약용버섯이다. 원래 冬蟲夏草는 박주나방과의 유충에서 나온 *Cordyceps sinensis*를 지칭하는 것이나 오늘날에는 곤충 뿐만 아니라 거미, 균류 등에서 나오는 버섯을 총칭해서 冬蟲夏草라 한다²⁰⁻²²⁾. 效能 및 主治는 壯腎陽, 補虛損, 益精氣, 補肺腎, 止喘咳하여, 陽痿, 遺精, 病後久虛不復, 自汗盜汗, 痰飲喘嗽, 虛喘, 勞嗽, 咳血, 腰膝酸痛에 사용된다^{20,23-25)}.

이에 著者는 hydrocortisone을 이용하여 陽虛證을 유발시킨 動物模型에 冬蟲夏草 (*Cordyceps militaris*)의 菌絲體와 培養濃縮液을 투여하여 항산화작용과 NOS 활성 및 testosterone의 혈중 함량 등에 미치는 영향을 살펴보고

자 한다.

실험동물에 hydrocortisone²⁸⁾을 투여하여 체중이 현저하게 감소되었으나 冬蟲夏草를 투여함으로써 정상수준 가깝게 회복되는 결과를 관찰할 수 있었으며, 군사체 추출물 투여군의 경우보다는 배양체 추출물 투여군의 경우에서 체중의 정상회복속도가 훨씬 빠르게 나타났다. 이러한 실험결과로 독성유발인자에 의해서 비정상화된 체내의 생리기능을 冬蟲夏草가 정상화시켜 주는 효능을 지니고 있을 것으로 사료된다.

지질의 과산화반응은 생체내에서 이루어지는 산화반응의 일종으로 생체의 반응 중 생성되는 oxygen free radical의 연쇄반응에 의해서 세포에 oxidative stress를 주게되고⁴¹⁾, 결과적으로 체내의 세포기능을 억제하거나 소실시켜 정상적인 생체반응을 억제시키며 이로 인해서 노화반응이나 성인병 또는 다양한 만성질환을 유발시키는 중요한 요인이 될 수 있다⁴¹⁾.

독성유발물질로 성기능을 저하시킨 모델동물을 만든 다음 冬蟲夏草를 투여하여 성기능 개선효과를 관찰하였을 때,

hydrocortisone의 투여로 음경조직 중의 과산화지질 함량은 정상군에 비해서 상당히 증가되었으나, 冬蟲夏草를 병행 투여함으로써 과산화지질의 감소효과를 관찰할 수 있었으며 군사체의 효능보다는 배양체의 효능이 훨씬 강하게 나타났다. 이러한 실험결과로 보아 冬蟲夏草 (*Cordyceps militaris*)는 성기능 개선 작용이 클 것으로 사료된다.

冬蟲夏草의 다양한 약리작용은 시험관내에서는 전혀 반응하지 않는 것으로 보아 체내에서 흡수되어진 다음 대사반응의 1차과정을 거친 후 생리활성을 나타내는 것으로 사료된다.

冬蟲夏草가 nitric oxide synthase 활성에 미치는 효과를 우선 시험관내에서 검토하였을 때 冬蟲夏草 군사체 및 배양체의 첨가농도를 증가시켜 가면서 비교관찰하여도 정상치의 nitric oxide synthase 활성과 별다른 차이를 나타내지는 않았다. 이 성적과 시험관내에서 지질 과산화반응에 미치는 효과는 서로 유사한 결과를 나타내었는데 冬蟲夏草는 체외에서는 별다른 반응이나 효과를 나타내지는 않지만 생체내에서는 흡수 및 대사되는 과정에서 어떤 특수한 활성물질로 변화되어 강한 약리작용을 나타내고 있음을 시사한다.

Oxygen free radical은 세포막의 불포화지방산을 쉽게 과산화시킴으로써 세포막을 손상하고 비정상적인 체내반응과 생리활동을 유발할 수 있는데⁴²⁻⁴⁴⁾, 陽虛證을 유발시킨 모델동물에 冬蟲夏草를 투여하여 oxygen free radical의 생성효소인 xanthine oxidase 활성 변화를 관찰하였을 때 xanthine oxidase 활성이 증가하고 음경해면체 조직 중의 oxygen free radical의 생성이 상당히 증가되어 조직의 손상을 예측할 수 있다. 그러나 冬蟲夏草의 투여로 인해서

xanthine oxidase 활성은 정상동물 수준으로 억제되는 효과를 관찰할 수 있었으며, 특히 군사체의 효능 보다는 배양체의 효능이 강함을 알 수 있었다. 따라서 冬蟲夏草는 체내에서 oxygen free radical의 생성을 억제하여 장기의 기능을 향상시키고, 음경해면체 조직중에서도 강한 효과를 나타내어 성기능을 개선시키는 효능이 있을 것으로 사료된다.

Xanthine oxidase는 type O와 type D로 구분할 수 있으며 생체내에 존재할 때는 주로 type D의 형태로 존재하고 있다가 병태생리 조건이 부여되면 type O로의 형전환이 이루어져서⁴⁵⁾ oxygen free radical을 생성하고 조직의 손상을 유발시킨다⁴⁶⁻⁴⁸⁾. Hydrocortisone을 이용하여 陽虛모델을 만든 다음 冬蟲夏草를 투여하여 흰쥐 음경해면체 조직 중의 xanthine oxidase 형전환을 관찰한 결과 陽虛모델 실험군에서 현저하게 증가하던 xanthine oxidase의 형전환비가 冬蟲夏草 추출물의 투여로 정상화되고 있음을 관찰할 수 있었다. 冬蟲夏草는 xanthine oxidase의 type D에서 type O로의 형전환을 억제시킴으로써 활성산소의 생성을 감소시키고 이로 인해서 장기의 기능저하현상을 예방할 수 있을 것으로 생각된다.

직접적으로 음경의 발기유발과 관련이 있는 내인성 물질인 nitric oxide는 non-adrenergic non-cholinergic (NANC) hormone성 물질로서 강력한 혈관 평활근 확장물질이고¹⁴⁾, 음경해면체 조직내의 혈관에 nitric oxide의 함량과 음경의 발기능은 비례관계이다. NO를 생성시키는 효소인 nitric oxide synthase 활성^{14,15)}에 미치는 冬蟲夏草의 효과를 검토한 실험에서 실험동물에 hydrocortisone을 투여하였을 때 음경해면체 조직중의 nitric oxide synthase

활성이 정상동물에 비하여 현저하게 억제되었으나, 冬蟲夏草를 투여함으로써 nitric oxide synthase 활성이 유의성 있게 증가하여 거의 정상수준으로 회복됨을 알 수 있었다. 冬蟲夏草에 의한 nitric oxide synthase 활성의 정상화는 冬蟲夏草가 nitric oxide의 생성을 정상화시켜 저하되었던 발기능을 정상수준으로 회복시킨다고 사료된다.

음경해면체중의 nitric oxide 함량과 음경의 발기정도는 상호 비례하므로 음경조직중의 nitric oxide 함량측정은 직접적으로 발기능을 측정하는 것과 같은 의미로 해석할 수 있다. Nitric oxide의 체내 반감기가 0.5초 정도밖에 되지 않아 직접 nitric oxide를 정량하기가 매우 힘든 관계로 일종의 간접적인 정량법인 nitrite 측정법³⁰⁾을 이용하여 nitric oxide의 함량을 측정하였다. 실험동물에 hydrocortisone을 투여한 경우 정상군에 비해 조직중의 nitrite 함량이 약 30% 가까이 저하되어 있었으나 冬蟲夏草를 병행 투여함으로써 nitrite 함량이 정상수준으로 증가되었다. 이 결과로 冬蟲夏草는 음경조직중의 nitrite 함량을 증가시켜 발기능을 개선시킬 수 있을 것으로 사료된다.

남성의 성징을 나타내는 대표적인 호르몬인 testosterone은 성욕과 성기능의 증강에 필수인자로 작용하고 있다⁴⁹⁾. Hydrocortisone을 투여한 경우 testosterone 함량은 정상수준에 비해 현저한 함량 감소현상이 관찰되었으나 冬蟲夏草를 병행 투여함으로써 혈중 testosterone 함량이 거의 정상동물 수준 가깝게 회복되는 현상을 나타내었다. 이 성적으로 보아 冬蟲夏草는 체내농도가 현저하게 저하된 testosterone의 함량을 정상 수준으로 회복시켜 성기능을 개선시키는 효능을 지니고 있을 것으로 사

료된다.

이상의 실험 결과들을 종합하여 볼 때 冬蟲夏草는 음경해면체 조직중에서 oxygen free radical의 생성을 억제시켜 음경조직 중의 oxidative stress를 해소함으로써 저하된 성기능을 회복시키고, 동시에 음경발기인자인 nitric oxide의 생성을 증가시켜 발기부전 증상을 회복시킬 수 있을 것으로 사료되며, 특히 군사체와 배양체를 비교하였을 때 전반적으로 배양액의 효능이 우수한 것으로 관찰되었다.

V. 結 論

冬蟲夏草가 성기능 장애에 효과가 있는지 검토하기 위해 hydrocortisone을 투여하여 인위적으로 성기능 장애를 유발시킨 동물에서 음경해면체 조직의 nitric oxide synthase 활성 및 혈중 testosterone 농도의 증가에 미치는 영향을 관찰하였다.

시험관내 실험에서 冬蟲夏草는 과산화지질의 생성반응과 nitric oxide synthase 활성에 별다른 영향을 미치지 않았다. Hydrocortisone을 투여에 의해 현저하게 감소한 실험동물의 체중이 冬蟲夏草를 투여함으로써 정상수준으로 회복되었고, 음경조직중의 과산화지질 함량은 hydrocortisone에 의해 유의하게 증가되었다가 冬蟲夏草 투여에 의해 정상 수준으로 감소되었다. 그리고 hydrocortisone 투여로 증가되었던 xanthine oxidase 활성과 형전환비가 冬蟲夏草 투여에 의해서 정상동물의 수준으로 회복되는 경향을 보였고, 현저하게 억제되었던 nitric oxide synthase 활성이 유의성 있게 증가되었다. 음경조직의 nitrite 함량과 혈중 testosterone 농도 또한 hydrocortisone 투여로 현저하

게 감소하였다가 冬蟲夏草 투여에 의해 거의 정상으로 회복되었다. 이상의 모든 실험에서 균사체보다는 배양액 추출물이 더욱 우수한 효능을 나타내었다.

VI. 參考文獻

1. 이종욱 외 : 비뇨기과학, 고려의학, 서울, 1996, pp. 462-463.
2. 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.*, 1988, 254:H459-H467.
3. Adaekan, P. G. and Ratnam, S. S. : Pharmacology of penile erection in humans. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.*, 1988, 11:191-194.
4. Saenz de Tejada, I., Goldstein, I. and Krane, R. J. : Local control of penile erection. *Urol. Clin. N. Amer.*, 1988, 15(1):9-15.
5. Hedlund, H. and Andersson, K. E. : Contraction and relaxation induces by some prostanoids in isolated human penile erectile tissue and cavernous artery. *J. Urol.*, 1988, 15(1):9-15.
6. 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.* 1989, 320:1025-1030.
7. Palmer, R. M. J., Ashton, D. S. and Moncada, S. : Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature.* 1989, 333:664-666.
8. Rajfer, J., Arosen, 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.*, 1992, 326:90-94.
9. Knispel, H. H., Goessl, C. and Beckmann, R. : Basal and acetylcholine-stimulated nitric oxide formation mediates relaxation of rabbit cavernous smooth muscle. *J. Urol.*, 1991, 146: 1429-1433.
10. Azadzi, K. M., Kim, N., Brown, M. L., Goldstein, I., Cohen, R. A. and Saenz de Tejada, I. : Endothelium derived nitric oxide and cyclooxygenase products modulate corpus cavernosum smooth muscle tone. *J. Urol.*, 1992, 147:220-225.
11. Kim, N., Azadzi, K. M., Goldstein, I. and Saenz de Tejada, I. : A nitric oxide-like factor mediates nonadrenergic-noncholinergic neurogenic relaxation of penile corpus cavernosum smooth muscle. *J. Clin. Invest.*, 1991, 88:112-118.
12. Bush, P. A., W. J., Buga, G. M., Razfer, J. and Ignarro, L. J. : Nitric oxide is a potent relaxant of human and rabbit corpus cavernosum. *J. Urol.*, 1992, 147:1650-1655.
13. 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.*, 1991, 104:755-759.
14. H. C. Chung : Role of nitric oxide in penile erection, Ph. D. thesis, Yeungnam Univ., 1995.
15. Schmidt, H.W., Smith, R.M., Nakzne, M. and Murad, F. : Ca²⁺/Calmodulin-dependent NO synthase Type-1 : A biopteroflavoprotein with Ca²⁺/Calmodulin-independent diaphorase and reductase Activities. *Biochem.*, 1992, 31:3243-3249.
16. 두호경 : 東醫腎系學, 서울, 東洋醫學研究院, 1991, pp. 610-616.
17. 徐平 : 實用中醫腎病學, 서울, 一中社, 1992, pp. 475-477.
18. 최훈섭, 김철중 : 陽痿에 대한 문헌적 고찰, 韓化의학, 1996, 5(1):212-235.
19. 江海身, 康力生 : 中醫男科講座, 북경, 中國醫藥科技出版社, 1992, pp. 94-111.
20. 江蘇新醫學院 : 中藥大辭典, 上海, 上海科學技術出版社, 1978, pp. 497-498.
21. 王浴生 : 中藥藥理與應用, 北京, 人民衛生出版社, 1983, pp. 357-360.
22. 신길구 : 申氏本草學, 서울, 수문사, 1988, pp. 143-144.
23. 吳儀洛 : 增補本草從新, 台北, 文光圖書有限公司, 1986, p. 28.
24. 楊東喜 : 本草備要解析, 新竹, 國興出版社, 1987, p. 295.
25. 趙學敏 : 本草綱目拾遺, 北京, 人民衛生出版社, 1983, pp. 138-139.
26. 김광진, 신현철, 정지천 등 : 胡蘆巴 抽出物이 발기부전 개선효과에 관한 실험적 연구, 한방성인병학회지, 1998, 4(1):210-222.
27. 강정준, 정지천, 신역섭 : 栲實子 抽出物이 음경해면체의 Nitric oxide synthase 활성 및 Nitrite 함량에 미치는 영향, 대한한의학회지, 1998, 19(2):112-124.
28. 김성수 : Hydrocortisone acetate로 유발한 양허동물모형에 관한 연구, 대한한의학회지, 1986, 7(2):103-106.
29. Stirpe, F. and Della Corte, E. : The regulation of rat liver xanthine oxidase : Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J. Biol. Chem.*, 1969, 244: 3855-3863.
30. 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.*, 1990, 252:922-928.
31. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. : Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, 1979, 95:351-358.
32. Demetriou, J. A. : Testosterone. In Pesce, A. J., Kaplan, L. A. editors. *Methods in clinical chemistry.* St. Louis. The Mosby Company. 268, 1987.
33. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, 193: 265-275.
34. 강순범 외 : 가정의학, 서울대학교출판부, 서울, 1997, pp. 861-862.
35. Kurt J. Isselbacher 외 : 내과학, 정담, 서울, 1997, pp. 287-288, p. 2134.
36. 민현기 : 임상내분비학, 고려의학, 서울, 1990, pp. 299-301.
37. 張家慶 등 : “陽虛”動物脫氣核糖核酸合成率和助陽藥作用的研究, 中醫雜誌

- 1982, 23:224-226.
38. 耿排力 등 : 溫陽藥及其有效成分對陽虛動物模型模型些免役功能的影響, 中醫雜誌, 1983, 24:221-224.
39. 윤종화 : 鹿茸水鍼刺戟이 命門火衰型 陽痿에 미치는 영향, 한의학 연구소 논문집, 1993, 2(1):55-71.
40. Pryor, W. A. : Free radical in biology : Involvement of radical reaction in aging and carcinogenesis in medicinal chemistry. Elsevier, Amsterdam. pp. 1977, 331-361.
41. Barry, H : Oxidants and human disease : Some new concepts. FASEB. J., 1987, 1:358-364.
42. McCord, J. M. : Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. N. Engl. J. Med., 1985, 312(3):159-163.
43. Atalla, S.L., Toledo-Pereyra, L. H., McKenzie, G. H. and Cederna, J. P. : Influence of oxygen derived free radical scavengers on ischemic livers. Transplantation, 1985, 40(6):584-589.
44. Cutler, R. G. : Antioxidants, aging and longevity. Free Radicals in Biology, Academic Press, Vol. 6, 1984, pp. 371-424.
45. Batteli, N. G., Lorenzoni, E. and Stirpe, F. : Milk xanthine oxidase type D and type O : Purification and inter-conversion and some properties. Bio chem. J., 1973, 131:191-198.
46. David, R. : Mechanistic toxicology: A radical perspective. J.Pharm. pharmacol., 1989, 41:505-511.
47. Larry, W. O and Terry, B. O : Free radicals, aging and degenerative disease. Alan R. Liss. Inc. 1986, pp. 325-371.
48. Beauchamp, C. and Fridovich, I. : A mechanism for the production of ethylene from methional : The generation of the hydroxyl radical by xanthine oxidase. J. Biol. Chem., 1970, 245:4641-4646.
49. Glover, T. D. : Recent progress in the study of male reproductive physiology : Testis stimulation, sperm formation, transport and maturation, semen analysis, storage and artificial insemination. In MTP International Review of Science: Physiology, Baltimore, University Park Press, 1974, p. 221.