

고려인삼의 토끼 음경 해면체 평활근에 대한 작용

최영득 · 신중성 · 최형기

연세대학교 의과대학 비뇨기과학교실

(1996년 3월 16일 접수)

Effect of Korean Ginseng on the Isolated Rabbit Corpus Cavernosal Smooth Muscle

Young Deuk Choi, Zhong Cheng Xin and Hyung Ki Choi

Department of Urology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

(Received March 16, 1996)

Abstract : Rabbit corpus cavernosal smooth muscle strips submaximally precontracted with phenylephrine (5×10^{-6} M) and treated with increasing concentrations of Korean ginseng (1, 5, 10, 20, 30, 40 mg/ml) showed tension decrease concentration-dependently (1 mg/ml: 1.7%, 5 mg/ml: 10.2%, 10 mg/ml: 22.7%, 20 mg/ml: 44.0%, 30 mg/ml: 65.2%, 40 mg/ml: 95.6%). Relaxations to Korean ginseng were inhibited significantly by endothelial disruption, by pretreatment with methylene blue, pyrogallol, L-NNA and atropine. Pretreatment of the muscle strips with ginseng caused concentration-related inhibition of a phenylephrine induced contraction, and in calcium-free high potassium depolarizing solution, decreased basal tension as well as inhibited contraction induced by CaCl_2 . Korean ginseng also produced the reduction of responses to depolarizing medium (20, 40, 60 mM KCl). With these results we can confirm the relaxation effect of ginseng at a dose dependent on the cavernosal smooth muscle and suggest that its action is mediated by multiple action mechanisms that include increasing the release of nitric oxide from the corporal sinusoids, increasing intracellular calcium sequestration, and a hyperpolarizing action.

Key words : Korean ginseng, corpus cavernosum, erection, rabbit.

서 론

음경발기는 혈관과 내분비계, 신경계 등의 종합적 작용에 의하여 일어나는 복잡한 생리반응으로서 다양한 자극에 의하여 해면체 평활근이 이완되어 소공이 팽창되고 소동맥 확장으로 인한 혈류의 증가로 음경 내압이 증가됨에 따라 비교적 딱딱한 백막과 소공 사이에 존재하는 백막하 정맥이 소공의 팽창에 의해 눌러 정맥혈의 누출이 막혀짐으로써 음경내압이 더욱 증가하게 되면서 발기가 유발되는 것으로 요약할

수 있다.¹⁾ 이러한 음경발기의 생리현상이 밝혀지고 해면체 평활근에 대한 다양한 약제들의 약리작용과 기전이 연구됨에 따라 평활근에 이완작용이 있는 약제들을 발기부전의 치료에 이용해 보고자 하는 노력이 대두되고 있다. 현재 해면체 평활근을 이완시키는 물질로는 아드레날린성 α 수용체 봉쇄제, 콜린성 약물, EDRF, peptides, prostaglandins, histamine, 칼슘통로 차단제, 칼륨통로 개방제, 비특이성 혈관확장제 등이 있다.²⁻⁷⁾

고려인삼은 우리나라에서 오랜 역사를 통하여 영약으로 취급되어 여러 질병에 사용되어 왔다. 이러한 고려인삼은 단백질, 지질, 핵산 등의 물질대사와 내분

본 연구는 1995년도 한국담배인삼공사의 출연연구 결과임.

비계, 신경계, 순환기계, 소화기계에 관한 다양한 생리기능이 밝혀졌다.⁸ 이 중 순환기계에서는 고려인삼이 말초 혈관의 확장 및 말초 저항의 감소로 말초 순환 개선 작용이 있는 것으로 여겨지고 있다. 고려인삼의 성기능에 대한 연구는 적으나 현재까지의 결과는 고려인삼이 혈중 남성호르몬의 증가, 성생활의 개선, 만성 stress로 인한 성주기 이상 및 성행위 감소의 방지 및 만성 stress를 받은 동물의 성행위 감퇴에 대한 방어효과 등이 보고되고 있다.⁹ 실제 발기부전환자에서 고려인삼을 경구투여하여 좋은 효과를 관찰한 경우도 있다.¹²

따라서 본 연구에서는 불로장수의 영약으로 취급되어 부작용없이 여러 질병에 사용되어 왔으며제로 사용되어온 고려인삼이 음경발기유발에 관건이 되는 음경해면체 평활근에 미치는 영향을 토끼를 이용하여 평가하였다.

재료 및 방법

1. 재료

(1) 고려인삼

본 실험에 사용한 고려인삼은 한국인삼연초연구원의 수원 경작시험장에서 재배된 6년근 원료수삼으로서 한국담배인삼공사에서 50% ethanol로 추출하여 제조한 홍삼 extract로 한국인삼연초연구원에서 공급받아 사용하였다.

(2) 실험동물

인체의 음경 해면체와 구조 및 생리학적 발기기전이 유사한 생후 4~6개월 된 New Zealand White rabbit 수컷 60마리를 대상으로 하였다.

2. 생체의 실험

(1) 음경 해면체 평활근 절편 준비

토끼 이각정맥을 통해 sodium pentobarbital(30~50 mg/kg)을 주사하여 마취시키고, 음경을 조심스럽게 절제하여 95% 산소와 5% 이산화탄소의 혼합기체가 공급되는 저온의 Tyrode-용액 내에서 해면체평활근을 분리하여 2×2×6 mm 크기의 절편을 만들고 Tyrode-용액이 들어있는 10 ml organ bath에 고정하였다. 절편의 한쪽 끝은 organ bath의 아래부분에 고정하고 다른 끝은 등력성 수축 기록계(Biopac systems, U.S.A)에 연결하여 해면체 평활근의 운동상태를 기록하였다. Organ bath내의 Tyrode-용액은

bath의 이중벽 사이로 보온된 물을 계속 순환시켜 37°C로 유지하고, 산소혼합기체를 계속 공급하며 pH 7.4로 유지하였다.

내피세포 제거는 해면체평활근을 비버 문질렀으며,¹³ 이러한 해면체 평활근 절편은 phenylephrine(PHE, 5×10^{-6} M)으로 수축을 유발시키고 acetylcholine(Ach)에 의한 이완효과의 유무로 내피세포의 존재 여부를 확인하였으며 탈내피 조작후 Ach에 대한 이완반응이 없거나 Ach에 대한 이완반응이 탈내피 조작전의 15%이내의 이완반응을 보이는 표본만을 골라 탈내피 평활근 절편으로 사용하였다.

(2) 등장력 수축을 위한 이상적 장력 결정

초기장력을 2g 정도로 유지시키고 Tyrode-용액을 갈아주면서 안정상태에 도달되도록 유지한 후 안정상태에서 PHE를 투여하여 수축정도를 관찰하였다. 이후 Tyrode-용액으로 절편을 3회 이상 씻어 안정상태로 회복시키고 장력을 올리거나 내려 안정상태에서 다시 같은 농도의 PHE에 의한 수축정도를 관찰하여 이와 같은 조작을 반복하여 최대수축을 유도하고 수축정도의 차이가 2회 연속으로 이전 수축의 10% 이내 일 때를 이상적 장력으로 정하고 이러한 이상적 장력 조건의 안정상태에서 약물 반응 실험을 시작하였다.

(3) 해면체 평활근의 약물반응

약물에 대한 반응의 실험을 시작하기 전에 PHE과 Ach의 투여로 내피세포의 존재를 확인하고 내피세포가 완벽하게 존재하는 표본만을 골라 실험에 사용하였으며 각각의 약물 반응을 관찰한 후 다음 실험까지는 3회 이상 Tyrode-용액으로 씻고 약 20분 이상 안정상태를 유지한 후 진행하였다.

1) 고려인삼의 해면체 평활근에 대한 약물반응 검사

안정상태에 도달된 해면체평활근에 고려인삼을 측정용량으로 투여하여 해면체 평활근의 긴장도 변화를 관찰하고 PHE으로 수축된 해면체 평활근에 고려인삼을 측정용량으로 투여하여 긴장도 변화를 관찰하였다.

2) 고려인삼의 해면체 평활근 이완기전에 대한 실험

PHE으로 음경 해면체평활근 절편을 수축시킨 후 고려인삼의 이완작용 중 EDRF와의 관계를 알아보고자 guanylate cyclase 억제제인 methylene blue(10^{-4} M), 산소유리기 발생제로써 nitric oxide 비활성화제인 pyrogallol(10^{-4} M) 및 nitric oxide 생성 억제제인 L-NNA(N^G -nitro-L-arginine)를 각각 처치하고 고

려인삼의 이완효과를 관찰하였다.

또한 고려인삼의 이완작용 중 콜린성 신경전달인 자와의 관계를 알아보기로 atropine를 처치하고 고려인삼의 이완효과를 관찰하였으며, 고려인삼의 이완작용 중 prostanoids와의 관계를 알아보기로 indomethacin(10^{-4} M)를 처치하고 고려인삼의 이완효과를 관찰하였다.

고려인삼의 이완작용에 있어 내피세포와의 관계를 알아보기 위하여 탈내피 해면체 평활근을 PHE로 수축시키고 고려인삼을 투여하여 이완상태를 관찰하였다.

고려인삼과 아드레날린성 α 수용체와의 관련성도 알아보기 위해 고려인삼을 전처치하고 PHE를 투여하여 수축반응의 변화를 관찰하였다.

3) 고려인삼의 이완작용과 칼슘과의 관련성에 대한 실험

해면체 평활근 절편을 칼슘배제 고칼륨 탈분극 용액으로 씻어 해면체 평활근의 긴장도가 최저치로 떨어져 평형을 이루었을 때 $\text{CaCl}_2(10^{-3}$ M)를 보충하여 해면체 평활근의 수축반응을 관찰하고 고려인삼을 전처치한 후 $\text{CaCl}_2(10^{-3}$ M)를 보충하여 수축반응을 비교관찰하였다.

4) 고려인삼의 이완작용과 칼륨과의 관련성에 대한 실험

안정상태의 해면체 평활근에서 KCl 20, 40, 60, 80, 120 mM에 의하여 유발되는 수축곡선을 관찰하고 고려인삼을 전처치하고 KCl에 의해 유발되는 수축반응을 비교관찰하였다.

3. 사용 약물과 용액

Phenylephrine hydrochloride, acetylcholine chloride, pyrogallol, L-NNA, atropine sulfate, indomethacin은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, U.S.A.)의 제품을, methylene blue는 Mallinckrodt Chemical Co.(St. Louis, MO, U.S.A.)의 제품을 사용하였다.

실험에 사용된 정상 Tyrode액의 조성은 $\text{Na}^+(153.6)$, $\text{K}^+(5.3)$, $\text{Ca}^{2+}(3.0)$, $\text{Mg}^{2+}(1.2)$, $\text{Cl}^-(157.2)$, $\text{H}_2\text{PO}_4(0.6)$, $\text{SO}_4^{2-}(1.2)$, $\text{HCO}_3^-(7.1)$, glucose(11.4)이었으며 칼슘배제 고칼륨 탈분극 영양액의 조성은 $\text{Na}^+(17.0)$, $\text{K}^+(126.0)$, $\text{Mg}^{2+}(1.2)$, $\text{Cl}^-(128.8)$, $\text{H}_2\text{PO}_4(1.2)$, $\text{HCO}_3^-(15.4)$, glucose(11.4)이었다(mEq/L). KCl 20 mM, 40 mM, 80 mM, 120 mM 용액은 정상

Tyrode용액에서 나트륨 대신 칼륨으로 대체하여 삼투질농도를 정상 Tyrode액과 동일하게 하였다.

4. 자료분석

결과는 개인용 컴퓨터의 Stat Works 프로그램에서 평균과 표준오차를 구하였고 각 측정군간의 의의 판정은 Mann-Whitney U test나 student's t test를, 약물농도별 평활근 장력의 변화는 simple regression test를 이용하여 $p < 0.05$ 일 때 의의있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 안정상태의 해면체 평활근에 미치는 고려인삼의 효과

안정상태의 해면체 평활근에서 고려인삼은 저농도나 고농도에서 수축작용은 없었으나 자발운동이 있는 경우 고려인삼 5mg/ml에서 부터 자발운동을 억제하였다.

2. PHE에 의해 수축된 절편에서의 고려인삼의 효과

고려인삼은 1 mg/ml에서 부터 농도의존적으로 이완작용을 보였다(Fig. 1). 이완정도는 고려인삼 1 mg/ml에서 $1.72 \pm 11.20\%$, 5 mg/ml에서 $10.20 \pm 5.50\%$ 였으며 10, 20, 30, 40mg/ml에서 각각 22.74 ± 16.37 , 44.01 ± 12.57 , 65.20 ± 6.93 , $95.60 \pm 5.13\%$ 이었다(Fig. 2).

이러한 고려인삼의 이완효과는 내피세포를 제거한 경우와 methylene blue전처치, pyrogallol, atropine, L-NNA에 의의있게 영향을 받았다($p < 0.05$). 그러

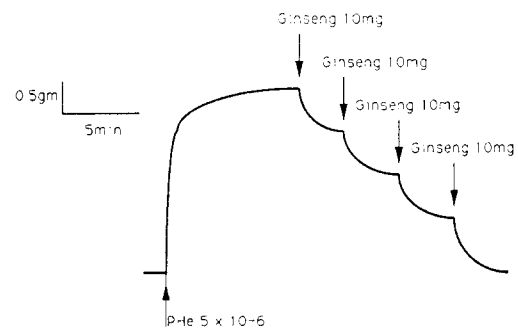


Fig. 1. Representative tracing of ginseng effects on the isolated rabbit corpus cavernosal smooth muscle precontracted by phenylephrine. Ginseng relaxed submaximally precontracted muscle strip in a rapid fashion.

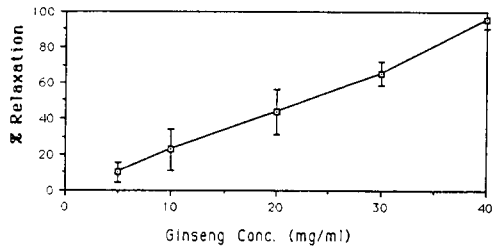


Fig. 2. Effects of ginseng on the submaximally contracted muscle strips by phenylephrine (n=10). Note the contraction dependent relaxation up to 95% at 40mg/ml of ginseng.

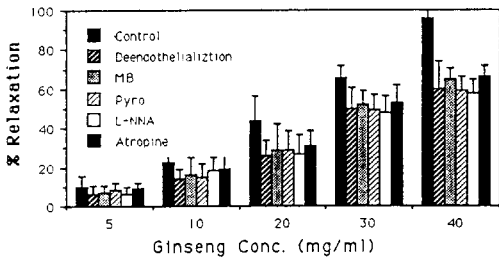


Fig. 3. Effects of various treatments on the relaxation response of muscle strips to ginseng. Deendothelialization, treatments by methylene blue, pyrogallol, L-NNA or atropine significantly reduced the relaxation effects of ginseng ($p < 0.05$) (n=25).

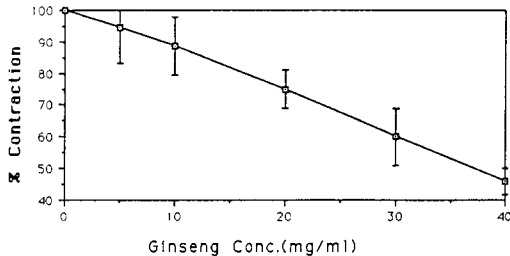


Fig. 4. Effects of ginseng pretreatment on phenylephrine induced contraction of muscle strip. Pretreatment of ginseng causes dose dependent inhibition of phenylephrine induced contraction of muscle strips (n=6).

나 고려인삼의 이완효과는 indomethacin에는 영향을 받지 않았다($p > 0.05$)(Fig. 3).

3. 고려인삼이 PHE 수축에 미치는 영향

PHE 수축력은 고려인삼 5 mg/ml에서 $94.75 \pm 7.43\%$ 로 감소되었고, 10, 20, 30, 40mg/ml에서 각각 88.73 ± 8.34 , 75.01 ± 11.58 , 60.00 ± 5.58 , $45.67 \pm 5.50\%$ 로 감소되어 고려인삼은 농도의존적으로

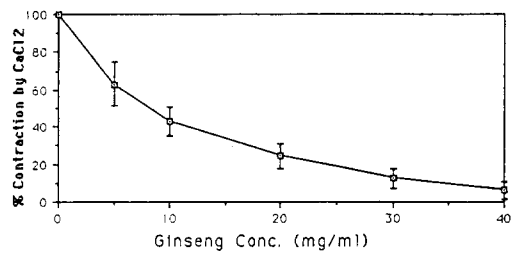


Fig. 5. Effect of ginseng on calcium induced contraction of muscle strips in calcium free media. Pretreatment of ginseng causes dose dependent inhibition of calcium(10^{-3} M) induced contraction of muscle strips (n=8).

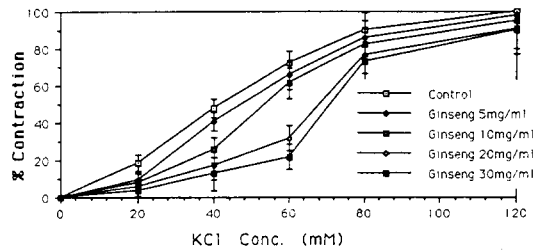


Fig. 6. Effect of ginseng on potassium induced contraction of muscle strips. Pretreatment of ginseng inhibits the contraction of muscle strips at lower dose of KCl (20-40mM) ($p < 0.05$) (n=20).

PHE의 수축력을 감소시켰다($p < 0.001$)(Fig. 4).

4. 칼슘배제 고칼륨 탈분극 영양액에서 고려인삼의 작용

칼슘배제 고칼륨 탈분극 영양액내에서 안정상태로 평형을 유지한 해면체 평활근에서 고려인삼은 기저 장력을 더욱 떨어뜨렸다. 칼슘배제 고칼륨 탈분극 용액에 $\text{CaCl}_2 10^{-3}$ M 투여시 긴장도는 2.12 ± 1.21 g이 었으나 고려인삼 5, 10, 20, 30 mg/ml은 $\text{CaCl}_2 10^{-3}$ M에 의한 수축력을 각각 62.85 ± 11.58 , 43.00 ± 7.60 , 24.44 ± 6.80 , $12.5 \pm 5.42\%$ 로 감소시켰다($p < 0.01$)(Fig. 5).

5. KCl 작용에 대한 고려인삼의 효과

고려인삼은 5 mg/ml에서부터 KCl 20, 40, 60 mM에 의한 해면체 평활근의 수축반응에 영향을 주었다($p < 0.05$)(Fig. 6).

고 찰

생약제는 약제내에 고유의 여러 성분을 함유하고

있다. 그러므로 용량에 따라 서로 다른 작용이 나타날 수 있으며 일정용량에서도 조건에 따라 각 성분이 서로 다른 부위에 작용하여 약물반응의 증강 및 길항 작용이 다양하게 나타날 수 있다.

고려인삼은 생체의 실험에서 직접 음경해면체평활근을 농도의존적으로 이완시켰으며 생체내 실험에서도 그 이완효과를 입증할 수 있었다. 이러한 고려인삼의 이완기전으로는 다양한 경로를 생각할 수 있다.

해면체평활근 이완에는 내피세포의존인자(EDRF, 현재는 nitric oxide로 여김)가 관여하는 것으로 알려져 있다.¹³¹ EDRF을 생성하는 물질은 내피세포의 세포막에 있는 수용체에 결합하여 내피세포내 유리 칼슘의 농도를 증가시키며 이 증가된 칼슘은 EDRF의 합성과 유리를 촉진시킨다. 유리된 EDRF가 평활근 세포내로 들어가 평활근의 guanylate cyclase를 활성화시켜 cGMP의 생성이 증가된다. 이 cGMP 증가에 의하여 평활근 이완이 일어난다.^{2, 141} 음경해면체평활근에서의 이러한 내피세포의존인자와 고려인삼과의 관계에 대하여서는 확실히 보고된 바는 없다. 본 실험에서 고려인삼의 해면체평활근 이완효과는 내피세포를 제거한 경우이나, Ach의 작용을 억제하는 atropine, guanylate cyclase 억제제인 methylene blue, nitric oxide 비활성제인 pyrogallol, nitric oxide 생성 억제제인 L-NNA(NW-nitro-L-arginine)의 투여에 영향을 받았다. 따라서 고려인삼의 해면체 평활근 이완효과는 내피세포가 관여하고 EDRF 및 nitric oxide와 관계가 있는 것으로 여겨진다.

고려인삼은 안정상태의 해면체평활근에 수축이나 이완작용은 없었으나 자발운동이 있는 경우 자발운동을 억제시켰다. 이러한 평활근의 자발운동은 직접 평활근에서 기인한 것으로서 대부분 신경성 약물로는 억제되지 않고 칼슘이나 칼륨 관계 약물, prostaglandin생성억제제 등에 의해 소실됨이 보고되고 있다.¹⁵¹ 따라서 고려인삼이 자발운동을 억제함으로써 고려인삼은 해면체 평활근에 직접 작용함을 알 수 있다.

칼슘이 배제된 고칼륨영양액에 절편을 노출시키면 평활근의 기저장력이 거의 없이 되고, 여기에 칼슘을 보충하면 칼슘의 세포내 유입에 의하여 기저장력이 회복되어 수축이 일어난다. 이러한 작용은 주로 천천히 활성화되는 막전압 의존성 칼슘통로를 통하여 일어나는 작용으로 알려져 있다.^{16, 171} 본 실험에서는 칼슘

배제 고칼륨영양액내의 기저장력이 거의 없이 안정상태에 도달된 해면체 평활근 절편에서 고려인삼은 해면체 평활근의 기저장력을 더욱 떨어뜨렸다. 이는 세포질내 칼슘의 이동에 기인한 것으로서 세포질내의 칼슘을 더욱 유출시켰거나 세포질내의 근소포체로 칼슘이 유입되어 세포질내의 유리 칼슘을 더욱 감소시켜 평활근의 기저장력을 떨어뜨린 것으로 여겨진다. 또한 고려인삼은 칼슘배제 고칼륨영양액내에서의 CaCl₂에 대한 수축력을 농도의존적으로 감소시켰다. 이는 고려인삼의 작용이 천천히 활성화되는 막전압 의존성 칼슘통로를 통하여 칼슘의 세포내로의 이동을 어느 정도 억제하여 세포질내의 칼슘이 감소됨으로써 이완을 유발하는 것으로 생각할 수 있겠다.

칼륨통로개방제들은 평활근의 세포막에서 칼륨전도를 증가시킴으로써 과분극을 일으켜 막전압 의존성 칼슘통로가 열리는 것을 막아 평활근 이완을 유발한다고 보고되고 있다.^{4, 181} Cromakalim은 낮은 농도의 KCl에 의해 유발되는 긴장도를 유효하게 봉쇄하나 높은 농도의 KCl에 의해 야기되는 수축에는 영향이 없는 것으로 알려져 있다.^{4, 181} 이는 영양액내에 칼륨이온을 첨가하면 세포막의 전압이 새로운 칼륨평형전압으로 유도되어 낮게 형성되며 이 상태에서의 수축은 새로이 형성된 칼륨평형전압이 막전압 의존성 칼슘통로가 열리는 전압보다 음전압이 적게 될 때 수축이 유발된다. 이러한 전압의 기준은 약 -40에서 -50 mV로 보고되고 있으며 따라서 칼륨통로개방제의 특징은 낮은 농도의 KCl에 의한 수축은 봉쇄하나 높은 농도의 KCl에 의한 수축에는 효과가 없는 것으로 알려져 있다.^{4, 181} 본 실험에서 고려인삼은 KCl 20, 40 60 mM의 반응에 영향을 주었다. 따라서 해면체평활근에서 고려인삼은 칼륨통로와 관계가 있음을 알 수 있다.

결론적으로 고려인삼은 토끼의 음경 해면체 평활근에 대해 복합적인 이완작용을 보였다. 따라서 고려인삼의 이들 복합작용을 향후 더 밝히고 나아가 고려인삼의 복합성분을 분리하여 각 성분에 대한 약리작용 및 기전을 밝히는 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

요 약

토끼의 음경 해면체평활근에서 고려인삼은 농도의

존적인 이완작용이 있으며 이러한 이완작용은 내피 세포나 EDRF, 과분극과 관계가 있으며 직접 음경 해면체 평활근에 작용하여 세포질내의 Ca^{2+} 농도를 감소시킴으로써 평활근의 이완이 이루어지는 복합적 음경 해면체 평활근 이완의 효과로 여겨진다.

인 용 문 헌

1. Lue, T. F. and Tanagho, E. A. : *J. Urol.* **137**, 829 (1987).
2. Andersson, K. E. and Holmquist, F. : *Int. J. Impotence Res.* **2**, 209 (1990).
3. Goldstein, I., Payton, T. and Padma-Nathan, H. : *Cardiovasc. Interven. Radiol.* **11**, 237 (1988).
4. Hamilton, T. C. and Weston, A. H. : *Gen. Pharmacol.* **20**, 1 (1989).
5. Lee, L. M., Stevenson, R. W. D. and Szasz, G. : *J. Urol.* **141**, 549 (1989).
6. Montorsi, F., Guazzoni, G., Bergamaschi, F., Dodesini, A., Rigatti, P., Pizzini, G. and Miani, A. : *Urology*, **42**(5), 554 (1993).
7. Tong, Y. C., Broderick, G., Hypolite, J. and Levin, R. M. : *Pharmacology*, **45**(5), 241 (1992).
8. 한국인삼연초연구원 : 고려인삼, 재판, 천일인쇄사, 대전, p. 63 (1994).
9. 한국인삼연초연구원 : 고려인삼, 재판, 천일인쇄사, 대전, p. 138 (1994).
10. 고려인삼학회 : 고려삼의 이해, 초판, 도서출판 한림원, 서울, p. 9 (1995).
11. 생약학연구회 : 현대생약학. 초판, 학창사, 서울, p. 9 (1993).
12. 최형기, 성도환 : 고려인삼학회지, **19**, 17 (1995).
13. Kim, N., Azadzo, K. M., Goldstein, I. and Tejada, I. S. : *J. Clin. Invest.* **88**, 112 (1991).
14. Rapoport, R. M., Draznin, M. B. and Murad, F. : *Nature*, **306**, 174 (1983).
15. Christ, G. J., Maayani, S., Valcic, M. and Melman, A. : *Br. J. Pharmacol.* **101**, 375 (1990).
16. Hof, R. P. and Vuorela, H. J. : *J. Pharmacol. Methods*, **9**, 41 (1983).
17. Karaki, H. and Weiss, G. B. : *Life Sci.* **42**, 111 (1988).
18. Holmquist, F., Andersson, K. E., Fovaeus, M. and Hedlund, H. : *J. Urol.* **144**, 146 (1990).