

야콘을 포함한 수종 천연물의 남성호르몬 대사 억제효과 및 전립선비대 증상 개선효과

박정숙 · 유건동 · 서세민 · 한상배 · 홍진태 · 한건[#]

충북대학교 약학대학

(Received March 9, 2013; Revised August 14, 2013; Accepted August 22, 2013)

Inhibition Effect of Testosterone Metabolism of Some Natural Products Containing Yacon and their Ameliorative Effect of Benign Prostatic Hyperplasia Symptom

Jeong Sook Park, Gun Dong You, Se Min Seo, Sang-Bae Han, Jin Tae Hong and Kun Han[#]

College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

Abstract — We reported previously that the extracts of Yacon tuber and leaf have spermatogenic activity and testosterone level increasing effect in men. The aim of this study was to investigate the mechanism of testosterone level increasing effect of Yacon tuber and leaf extracts. In this study, we found that Yacon leaf extracts and chlorogenic acid, a constituent of Yacon extracts showed significantly inhibition effect of testosterone degradation in rat liver homogenate. We suggest that this could be a part of direct mechanism about increasing effect of testosterone level. Furthermore, we evaluated the inhibition effect of testosterone metabolism of *Torilis japonica* and *Coix lacryma-jobi* have been reported as 5 α -reductase inhibitor. The inhibition ratio of testosterone metabolism of these were *Torilis japonica*>*Coix lacryma-jobi*>Yacon. We also evaluated the benign prostatic hyperplasia (BPH) score with the preparation composed of these natural product, Yacon pill. It showed the decreased the BPH score in men. Rats with BPH showed significantly increased dihydrotestosterone (DHT) levels in the serum; however, Yacon pill extracts treated rats showed significant reduction of DHT levels compared with the BPH group. Conclusively, Yacon pill showed the possibility as ameliorable agents of BPH symptoms.

Keywords □ Yacon, testosterone, 5 α -reductase, DHT, BPH

야콘(*Smallanthus sonchifolius*)은 국화과(Asteraceae, Compositae)에 속하는 다년생 식물로 원산지는 남아메리카 안데스 지역의 에콰도르, 페루이며, 고산지역 인디언들의 식품 및 민간약으로 이용되어 왔으며, 우리나라에는 1985년에 일본에서 도입되어 현재 전국 각지에서 재배되고 있다.

야콘 잎과 뿌리의 약리활성에 대한 연구로는 혈당강하효과, 지방대사 촉진효과, 항산화 활성 등이 있는 것으로 보고되고 있으며,¹⁻³⁾ 활성성분은 chlorogenic acid, caffeic acid, ferulic acid 등의 페놀성 화합물과 프락토올리고(fructo-oligo)당이 다량 함유되어 있는 것으로 밝혀져 있다.^{4,5)}

본 연구자 등은 야콘추출물이 흰쥐 및 사람에게서 정자수 증가효과 및 남성호르몬 증가 효과가 있음을 보고한 바 있다.^{6,7)} 또한 본 연구자 등은 야콘 추출물 함유 시판품이 전립선비대 증상

개선효과가 있는 것을 발견하고 문헌을 검색해 본 결과, 야콘 등에 풍부하게 들어있는 것으로 보고되고 있는 polyphenol과 같은 물질들은 5 α -reductase를 억제하여 전립선비대 억제효과를 나타내는 것으로 보고되고 있다.⁸⁾

전립선에 이상이 생기면, 배뇨와 성생활에서 큰 장애를 일으키는데 특히 우리나라의 경우 현대사회로 넘어오면서 서구화된 식생활과 생활습관으로 인해 전립선염, 전립선비대증, 전립선암 등 전립선관련 질환이 크게 늘고 있다. 전립선 비대증의 발생 과정은 testosterone이 혈액 속에서 전립선 조직으로 유입되어 이것이 5 α -reductase의 작용으로 dihydrotestosterone(DHT)로 변하고, 전립선 세포내의 수용체와 결합하여 전립선이 커지고, 동시에 증식된다고 알려져 있다.⁹⁾

전립선비대의 약물치료는 크게 전립선 크기를 줄여주는 약물인 5 α -reductase 억제제와 항남성호르몬제 등과 전립선 요도를 열어주는 약물(α -차단제)로 나뉜다. 5 α -reductase는 1형과 2형 2가지가 존재하는 데, 시판되고 있는 5 α -reductase 억제제로는 2형만 억제하는 '프로스카(finasteride)와 두 가지를 모두 억제하

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 043-261-2820 (팩스) 043-273-3350
(E-mail) khan@chungbuk.ac.kr

는 '아보다트(dutasteride)'가 있다. 화학적으로 합성된 5 α -reductase 억제제인 finasteride, dutasteride 등은 성욕과 발기 기능에 중요한 역할을 담당하는 testosterone이 DHT로 바뀌는 변화를 억제하는 것으로, 장기 복용 시 발기부전, 성욕감소 및 사정량 감소 등의 부작용이 보고되고 있다. 따라서 이러한 부작용이 없는 천연물유래 5-환원효소 억제제를 이용하여 탈모 치료제 및 전립선비대증 치료제를 개발하려는 노력이 시도되어 왔다.^{10,11)}

본 연구에서는 야콘의 전립선비대 증상 개선효과의 원인을 규명하기 위해 전립선비대와 관련이 있는 것으로 밝혀진 testosterone과 DHT 농도에 미치는 야콘추출물의 영향을 *in vitro* 와 *in vivo* 시험을 통하여 추적관찰 하였다.

한편, 앞서 밝혔듯이 전립선 비대의 치료방법은 5 α -reductase 억제제 또는 α -차단제 등이 사용되고 있으며, 이들을 병용하는 방법도 사용되고 있다. 이에 본 연구자 등은 화학약제에 비해 부작용은 적으나 약효가 떨어지는 단점을 보완하고자 병용처방을 구성하고자 하였다. 따라서 야콘 이외에 기존에 5 α -reductase 억제제로 밝혀진 사상자,¹²⁾ 의이인¹³⁾에 대해서도 testosterone 대사에 미치는 영향을 측정하고 약재를 선별하였다. 또한 α -차단 효과를 나타내는 천연물을 검색한 결과 석창포가 유력한 것으로 나타났다.

본 연구에서 사용 된 약재들의 특성을 살펴보면 사상자는 미나리과(Umbeliferae)에 속하는 1년생 또는 월년생(越年生) 초본인 별사상자 및 동속 근연식물의 성숙한 과실을 사용하는 데, 우리나라에서는 *Toriolis japonica*의 성숙한 과실을 쓰고 있다. 사상자의 효능은 항균작용, 항바이러스작용 및 남성 호르몬 비슷한 작용이 있는 것으로 밝혀져 있다.¹²⁾

의이인(Coix lachryma-jobi)은 벼과(Gramineae)에 속하는 1년생 초본인 염주 및 울무의 종인(種仁)으로 우리나라 전국 각지에서 재배되고 있다. 의이인은 식품의 소재로도 많이 사용되는 약재로 암세포사멸효과,¹⁴⁾ 알러지에 대한 면역조절효과¹⁵⁾ 및 위장 보호 활성 등¹⁶⁾에 대한 연구보고들이 있으며, 특히 항암 및 면역 등 대사억제와 관련된 연구보고들이 다수 있었다.

석창포는 천남성과(Araceae)에 속하는 다년생 초본으로 학명은 *Acorus gramineus*로 뿌리줄기에 0.5~0.9%, 신선한 잎에 0.25%의 정유가 들어있는 것으로 밝혀져 있다. 정유의 63~81%는 β -아사론이며, 이 밖에 α -아사론 8~14%, 카리오펀렌 1~4% 등 다양한 정유성분이 들어 있으며, 그 외에 팔미트산, 페놀성 물질, 미량원소 등이 들어있다. 현재까지 밝혀진 석창포의 약리작용으로는 진정, 진경작용이 있어 신경정신성 질환에 임상에서 자주 이용되고 있다.¹⁷⁾

따라서 본 연구자 등은 야콘 이외에 전립선 크기를 줄여줄 것으로 기대되는 5 α -reductase 억제 천연물로 밝혀진 사상자 및 전립선 요도를 열어주는 α -차단제 기능을 가지는 것으로 판단되는 석창포를 동시에 함유하는 처방을 구성하여 전립선지수가 8 이

상인 자발적 지원자에 투여해 본 결과 전립선 비대증상 개선제로서의 개발 가능성을 나타낸 결과를 얻었기에 이에 보고하고자 한다.

실험방법

야콘, 사상자 및 의이인 추출물의 제조

건조한 야콘 괴근과 야콘잎은 "온당야콘"(충북 옥천)에서 구입하고 사상자 및 의이인은 한약건재상(푸른약업사, 서울)에서 구입한 것을 추출하기에 적당한 크기로 자른 후 물 또는 에탄올(30%, 50%, 70%) 주정을 넣고 60°C, sonication 하에서 5시간 동안 때때로 저어 주면서 3회 추출한 후 여과하여 여액을 수집 하였다. 이 여액을 회전식 증발농축기를 써서 농축하여 -70°C 냉동고에 넣어 얼린 후 동결건조기를 이용하여 건조시켜 추출물 분말을 제조하였다.

야콘, 사상자, 의이인 추출물의 testosterone 분해억제효과 측정

효소액의 제조 - 간 마이크로솜 현탁액은 Liu 등¹⁸⁾의 방법을 사용하여 제조하였다. 24시간 절식한 성숙한 숫컷 Sprague-Dawley rat(생후 7~8주)을 diethylether로 치사시키고, 간장을 빙냉한 pH 7.2 Krebs-Ringer phosphate buffer로 관류하였다. 적출한 간장에 5배량의 빙냉한 Tri-HCl buffer(pH 7.2)를 가하여 균질화 하고, 900×g, 10분 간 원심 분리하였다. 상층을 5,000×g, 10분 간 원심분리하고, 그 상층을 9,000×g, 10분 간 원심분리 하여 얻은 상층을 효소액으로 사용하였다. 효소액은 -70°C에서 동결보존 하였다.

효소액의 단백질농도 정량 - 효소액 중의 단백질농도는 dye-binding assay 방법으로 측정하였다.¹⁹⁾ 간 homogenate 일정 희석액에 dye binding assay kit 희석액 일정량을 가하고 흡광도(595 nm)를 측정하였으며, standard로서 bovine serum albumin을 사용하여 작성한 검량선으로 부터 protein 농도를 산출하였다. 이 검량선으로 부터 protein 농도를 구하고 그 농도가 0.125 mg/ml이 되도록 Tris-HCl 완충액으로 homogenate를 희석하여 testosterone 분해효소 농도를 일정하게 조정한 후 시험액으로 하였다.

Testosterone 대사억제 실험 - Testosterone 대사억제 실험은 Matsuda 등²⁰⁾의 방법을 사용하였다. 즉, Tris-HCl 완충액(pH 7.2) 1.5 ml에 500 ppm 농도의 testosterone 0.3 ml를 가하고, 각각의 천연물 추출물 10 mg/ml, 20 mg/ml, 50 mg/ml, 100 mg/ml 용액 0.2 ml 및 효소액 1.0 ml를 가하여 혼합하였다. 따라서 전체 배양액 중 추출물의 최종 첨가농도는 각각 6.67 μ g/ml, 13.34 μ g/ml, 33.34 μ g/ml 및 66.67 μ g/ml가 되도록 하였다. 이어서 NADPH (0.77 mg/ml) 0.5 ml를 가하여 반응을 개시하고, 37°C에서 10분 간 배양하였다. 일정시간 간격으로 샘플을 채취한 후 dichloro-

methane 5 ml을 가하여 반응을 정지시키고, 내부 표준물질 (ibuprofen, 250 µg/ml) 0.5 ml를 가하여 10분간 진탕하고, 5,000×g 서 15분 간 원심분리 하였다. 상층을 제거한 후, dichloromethane 층을 남기고 질소로 유기용매를 날린 다음, methanol 500 µl을 가하여 고속 액체크로마토그래피(HPLC)용 시료로 사용하였다.

효소액 중에서 각 추출물의 testosterone의 대사억제율은 다음 식을 이용하여 산출하였다.

$$\text{Testosterone 대사 억제율(\%)} = \frac{\text{시험액을 가할 때의 testosterone 양-cont 1의 testosterone 양}}{\text{cont 0의 testosterone 양-cont 1의 testosterone 양}}$$

cont 0: 추출물을 가하지 않고, NADPH를 가하기 전에 dichloromethane을 가해서 반응을 일으키지 않도록 한 것

cont 1: 추출물을 가하지 않고 수행한 것

HPLC에 의한 testosterone의 정량 - HPLC는 Hitachi사(L-6000 pump, L-6200 intelligent pump, L-4200 UV-VIS Detector 및 D-2500 Chromato-integrator)의 것을 사용하였으며, 컬럼은 C₁₈ column(Vydac, 250×4.6 mm)을 사용하였다. HPLC 분석조건으로 용매는 CH₃CN 45%를 사용하였으며, 유속은 0.8 ml/min, 시료 주입량은 25 µl, 파장은 UV 242 nm이었다. 시료 중 testosterone의 정량은 Kumar 등²¹⁾의 방법을 수정하여 사용하였다.

야콘환의 제조

기본 처방을 구성하고 이들로 이루어진 환제를 제조하였다. 즉, 야콘, 사상자 및 석창포 2:1:1 혼합물(야콘환) 2 kg를 약탕기에 넣고 물 10리터를 가한 다음 3시간 끓인 후 여과하였다. 여액을 50 Brix가 되도록 농축하고, 별도로 상기 처방의 약제 1 kg을 준비하여 분말화 하였다. 마지막으로 분말화한 약제를 농축액을 써서 반죽 후 제환하였다.

전립선증상(비뇨기증상) 점수 설문조사

전립선 비대증에 있어서의 질환의 중증도는 요류 동태 검사, 전립선 중량, 그리고 국제 전립선 증상 점수(International Prostate Symptom Score; I-PSS, Table I) 등의 평가를 이용하여 판정되고 있는데, 본 연구에서는 하부 요로 증상의 중증도를 평가하는 지표의 하나인 I-PSS를 이용, 상기 환제의 복용 전과 후 질문에 대한 회답을 점수화하여 전립선 비대증에 수반되는 임상 증상의 개선 작용을 확인하고자 하였다.

각 항의 질문에 대하여 해당사항의 숫자를 합산하여 합산한 점수가 0점인 경우 증상없음, 1~7점인 경우 경미한 증상, 8~19점은 중증도의 증상, 20~35점은 심한 증상으로 판정하였다.

전립선비대증상 점수에 미치는 야콘환의 영향

본 연구자 등은 상기 설문응답자 중 전립선지수가 8 이상이며, 자발적으로 상기 처방의 환제를 복용하겠다고 한 남성 59명을

Table I - International Prostate symptom score (I-PSS).
Patient Name: _____ Date of birth: _____ Date completed _____

	In the past month:	Not at All	Less than 1 in 5 times	Less than Half the Time	About Half the Time	More than Half the Time	Almost Always	Your score
1. Incomplete Emptying How often have you had the sensation of not emptying your bladder?		0	1	2	3	4	5	
2. Frequency How often have you had to urinate less than every two hours?		0	1	2	3	4	5	
3. Intermittency How often have you found you stopped and started again several times when you urinated?		0	1	2	3	4	5	
4. Urgency How often have you found it difficult to postpone urination?		0	1	2	3	4	5	
5. Weak Stream How often have you had a weak urinary stream?		0	1	2	3	4	5	
6. Straining How often have you had to strain to start urination?		0	1	2	3	4	5	
		None	1 Times	2 Times	3 Times	4 Times	5 Times	
7. Nocturia How many times did you typically get up at night to urinate?		0	1	2	3	4	5	
Total I-PSS Score								

Score: 1~7: Mild 8~19: Moderate 20~35: Severe.

대상으로 본 처방의 환제를 1개월간 투여 한 후 설문지를 다시 작성하도록 하여 본 처방의 환제가 전립선비대 증상(비뇨기증상)에 미치는 영향을 분석하였다.

전립선비대 억제효과 동물실험

시약 - 본 실험에 사용한 테스토스테론은 Jenasterone(Jena hexal pharma GmbH, Germany)을 사용하였으며, 양성대조약으로 finasteride(한올제약, Korea)를 사용하였다.

실험동물 - 실험동물은 평균 체중이 350~360 g인 12주령의 수컷 S.D. rat을 썬타코(경기도)에서 구입하여 5일간의 순화기간을 거친 후 실험에 사용하였다. 사육실 및 실험실의 환경은 온도 23±2°C, 상대습도 55±10%, 조명주기 12시간(07:00~19:00), 조도 150~300 lux로 조절하였다. 식이는 rat용 고형사료를, 물은 정제수를 자유롭게 섭취하도록 하였다.

본 연구에서의 모든 동물실험은 충북대학교 실험동물센터 동물 실험윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC)의 승인 하에 동 센터의 표준작업순서(Standard Operation Procedures, SOP) 및 1989년 미국독성학회(Society of Toxicology, SOT)에서 채택한 "Guide Principles in the Use of Animals in Toxicology"에 따라 수행되었다.

야콘추출물의 제조 - 야콘환의 구성 약재 즉, 야콘, 사상자 및 석창포 2:1:1 혼합물 100 g에 증류수 1 l를 가하여 열탕 추출기에서 3시간 추출하여 얻은 추출액을 여과한 후 이를 회전식 감압증류기(EYELA, Japan)로 농축하고, 동결건조기(EYELA FD-5N, Japan)를 써서 건조한 후 실험동물에 투여할 때 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

전립선비대 동물모델의 제작 - 본 연구의 실험군은 정상대조군(normal control group), 전립선비대 유발군(Benign Prostate Hypertrophy, BPH group), 양성대조군인 finasteride 투여군(positive control group) 및 야콘추출물 투여군(200 mg/kg, 400 mg/kg) 등 5군으로 나누어 진행하였고, 각 군당 9마리씩을 배정하였다.

전립선비대를 유발하기 위해 처음 30일 동안 정상군은 기제로 사용한 올리브오일을 피하주사 하였다. 반면에, BPH 유발군, 양성대조군 및 야콘추출물 투여군(200 mg/kg, 400 mg/kg) 모두에게 약물투여 없이 테스토스테론(3 mg/kg)을 피하주사 하였다.

이후 다시 30일 간 BPH 유발군, 양성대조군 및 야콘추출물 투여군(200 mg/kg, 400 mg/kg) 모두에게 테스토스테론(3 mg/kg)을 피하주사 하여 유발된 전립선비대가 지속적으로 유지되도록 하였다. 테스토스테론 피하주사(정상대조군은 올리브오일만 주사함)와 함께 양성대조군 및 BPH 유발군은 정제수를 경구투여 하였으며, 양성대조군에는 finasteride를 10 mg/kg 용량으로 경구투여 하였고, 야콘추출물 투여군은 야콘추출물을 각각 200mg/kg 및 400 mg/kg 용량으로 경구투여 하였다.

혈액 채취 및 전립선 중량 측정 - 마지막 투여 후 20~24시간 절식시킨 동물을 에테르 마취하여, 복대정맥에서 채혈하여 얻은 혈액을 혈청분리용 원심분리관(SST-tube, BD micro vacutainer, USA)에 넣어 실온에 30분간 방치하여 응고시킨 다음, 원심분리(3,000 rpm×15 min)해서 혈청을 채취하였다. 전립선은 채혈 후 수술로 절제하여 그 중량을 측정하였다.

ELISA에 의한 혈액 중 DHT 농도의 측정 - 혈액 중 DHT 치는 상기에서 채취한 혈액 중 일부를 취하여 ELISA(enzyme-linked immunoassay) kit(ALPCO Diagnostics, Salem, NH, USA)를 이용하여 사용자 지시에 따라 측정하였다. ELISA reader (Bio-Rad Laboratories, Inc.)의 흡광도는 450 nm에서 측정하였다.

통계분석

모든 실험결과들은 평균±표준편차로 나타내었고 통계처리는 SigmaStat을 이용하여 one-way ANOVA test를 실시하였으며, * $p < 0.05$ 를 기준으로 유의성 여부를 판정하였다.

실험결과 및 고찰

야콘, 사상자, 의이인의 용매에 따른 추출율

본 연구에서 testosterone 대사 억제효과를 측정하기 위해 사용한 약제의 추출율은 Table II에 정리하였다. 다른 약제에 비해 사상자의 추출율이 비교적 낮은 것으로 나타났으며, 의이인의 경우 물추출물의 경우 추출율이 높았으며, 에탄올 추출물의 경우 추출율이 낮아지는 경향을 나타내었다. 야콘은 추출용매에 따른 추출율 차이가 그다지 크지 않은 것으로 나타났다.

HPLC에 의한 testosterone의 정량

상기 방법에 따라 시험액 중의 testosterone을 정량한 결과 testosterone은 유지시간이 17.4±0.5분, 내부표준물질인 ibuprofen은 11.6±0.5분으로 잘 분리되는 양상을 나타내었다(Fig. 1).

Table II - Extraction % of Yacon Leaf, Torilis fructus and Coicis semen according to ethanol concentrations

	H ₂ O	30% EtOH	50% EtOH	70% EtOH
Yacon Leaf	15.6	19.6	18.2	23.0
Torilis fructus	8.9	6.6	7.7	6.1
Coicis semen	16.0	7.2	6.1	5.0

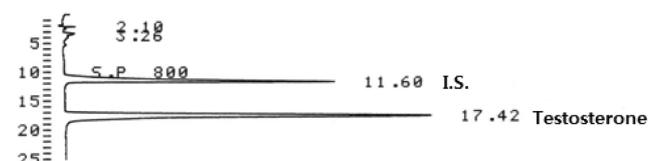


Fig. 1 - HPLC chromatograms of testosterone and ibuprofen as internal standard.

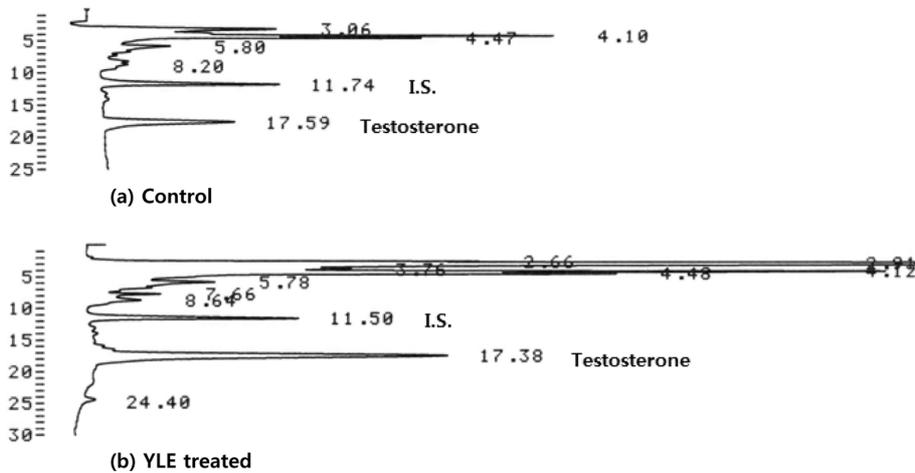


Fig. 2 – HPLC chromatograms of testosterone treated with Yacon leaf extracts.

야콘잎추출물을 첨가 했을 때 testosterone 대사억제효과

Fig. 2는 testosterone이 흰쥐의 간 균질액 배양액에서 대사되어 농도가 감소되는 양상을 나타내는 HPLC 크로마토그램으로, 야콘잎 추출물을 첨가 했을 때 대조군에 비해 testosterone의 잔존량이 증가된 것으로 나타났다.

Testosterone의 체내 대사과정은 대부분이 간에서 산화와 포합반응에 의해 불활성화 되어 신장으로 배설되는 것으로 밝혀져 있다. Testosterone은 근육에서 androgen 수용체와 결합하여 작용을 나타내는 것으로 알려져 있으며, 약 7% 가량은 cytochrome p-450 효소의 하나인 5 α -reductase에 의해 정소 및 피부에서 DHT로 변환되어 androgen 수용체와 결합하여 작용을 나타내고,²²⁾ 약 0.3%는 aromatase에 의해 estradiol로 변환되어 estrogen 수용체와 결합하여 작용을 발휘하는 것으로 알려져 있다.²³⁾ Wood 등²⁴⁾도 testosterone은 cytochrome p-450b에 의하여 androstenedione과 16- 및 16 β -hydroxytestosterone 등으로 대사된다고 밝혔다.

상기 결과에서 간 homogenate에 야콘 추출물을 첨가했을 때 testosterone의 잔존량이 증가한 것으로 나타난 이유는 야콘추출물이 흰쥐의 간 마이크로솜 효소 중 cytochrome p-450 등에 의한 testosterone의 대사를 억제했기 때문인 것으로 생각된다. 따라서 본 대사실험에서는 야콘 추출물이 5 α -reductase를 억제하여 DHT 농도를 감소시키는 지는 직접적으로 확인하지 못했으나 testosterone 대사를 억제하는 결과를 나타내어 본 연구자 등이 전에 보고한^{6,7)} 야콘추출물이 사람 및 흰쥐에서 혈중 testosterone 농도를 증가시키는 이유 중 일부 원인은 간에서 testosterone 대사 억제에 기인한 것으로 생각된다.

야콘잎 추출물 제조 시 에탄올 농도에 따른 testosterone 대사억제효과

Fig. 3은 배양액 중 흰쥐의 간 homogenate의 단백질농도를 0.125

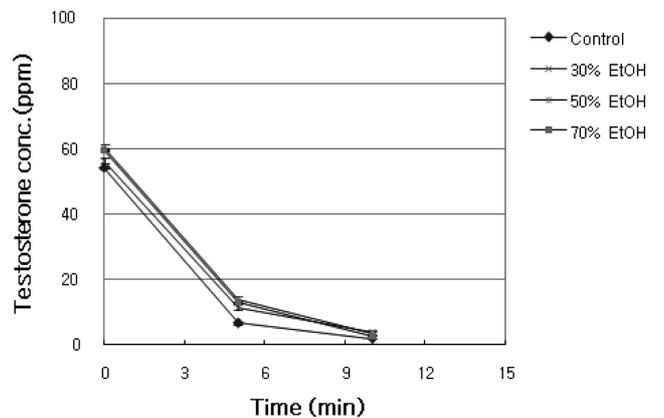


Fig. 3 – Inhibition effect of Yacon leaf extracts (13.34 μ g/ml) against testosterone metabolism in rat liver homogenate. The concentration of ethanol, extraction solvent, were 30%, 50 and 70%, respectively. Data represented as mean \pm SD (n=3).

mg/ml로 하고, 전체 배양액 3ml에 30%, 50% 또는 70% 에탄올로 추출한 20 mg/ml의 야콘잎 추출물 200 μ l를 첨가하여 10분간 배양했을 때 testosterone 대사 억제효과를 측정하였다. 배양액 내에서 testosterone은 급격하게 대사 되어 잔존량이 감소하는 것으로 나타났으나, 야콘추출물을 첨가한 경우 대사가 지연되는 것으로 나타났다. 한편, 추출용매로 사용한 에탄올의 첨가량에 따른 야콘추출물의 testosterone 대사억제 효과는 별 차이가 없는 것으로 나타났다. 따라서 야콘잎 추출물을 제조할 때 물로 추출하여도 무난할 것으로 판단되었으나, 이후 실험은 수용성과 지용성 성분이 모두 추출되는 조건인 50% 에탄올 추출물을 중점적으로 사용하여 시행하였다.

야콘잎추출물 첨가량에 따른 testosterone 대사억제효과

Fig. 4는 배양액 중 흰쥐의 간 homogenate의 단백질농도를 0.125

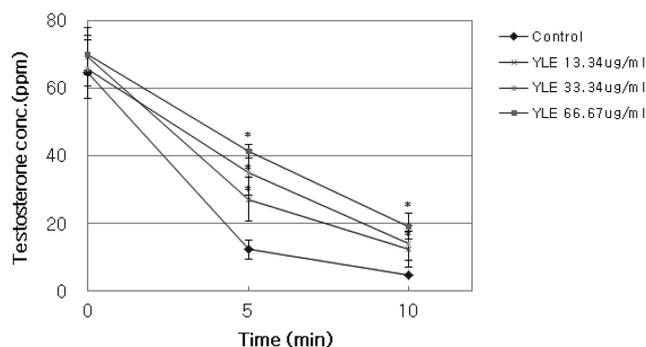


Fig. 4 – Inhibition effect of 50% ethanol extracts of Yacon leaf against testosterone metabolism in rat liver homogenate. The concentrations of Yacon leaf extracts were 13.34 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 33.34 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 66.67 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectively. Data represented as mean \pm SD (n=3). *, significant difference from the control value (ANOVA test, *, $p<0.05$).

mg/ml로 하고, 전체 배양액 3 ml에 야콘잎추출물(YLE)의 농도가 20 mg/ml, 50 mg/ml 또는 100 mg/ml인 용액 200 μl 를 첨가하여(배양액 중 추출물 농도는 각각 13.34 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 33.34 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 및 66.67 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 10분 간 배양했을 때의 testosterone 대사 억제효과를 측정하는 것으로 야콘잎추출물의 첨가량이 증가함에 따라 대조군에 비해 testosterone 잔존량이 증가된 결과를 나타내었다.

야콘잎 50% 에탄올추출물 및 chlorogenic acid의 testosterone 대사억제율

Table III은 야콘잎 추출물과 야콘잎에 들어있는 polyphenol성 물질 중의 하나인 chlorogenic acid의 testosterone 대사억제율을 계산한 결과를 나타낸 것으로 야콘잎 추출물 및 chlorogenic acid의 첨가량이 증가함에 따라 대사억제 효과가 증가하는 것으로 나타났다. 야콘잎 추출물의 첨가량이 33.34 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 및 66.67 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 였을 때 5 min에 억제율은 각각 41.53% 및 44.96%로 높은 억제율을 나타내었다. 특히 chlorogenic acid를 6.67 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 첨가했을 경우 5 min 및 10 min에 억제율이 각각 98.67% 및 89.86%

Table III – Inhibition effect of 50% ethanol extracts of Yacon leaf and its constituent, chlorogenic acid against testosterone metabolism in rat liver homogenate

	Inhibition ratio of testosterone metabolism (%)	
	5 min	10 min
Yacon leaf extracts 13.34 $\mu\text{g}/\text{ml}$	19.34 \pm 0.42	4.97 \pm 6.17
Yacon leaf extracts 33.34 $\mu\text{g}/\text{ml}$	41.53 \pm 0.01	14.24 \pm 6.44
Yacon leaf extracts 66.67 $\mu\text{g}/\text{ml}$	44.96 \pm 4.74	15.19 \pm 3.82
chlorogenic acid 1.33 $\mu\text{g}/\text{ml}$	4.62 \pm 1.86	1.49 \pm 2.52
chlorogenic acid 2.67 $\mu\text{g}/\text{ml}$	58.90 \pm 7.93	34.46 \pm 4.96
chlorogenic acid 6.67 $\mu\text{g}/\text{ml}$	98.67 \pm 1.15	89.86 \pm 2.26

Data represented as mean \pm SD (n=3). *, significant difference from the control value (ANOVA test, *, $p<0.05$).

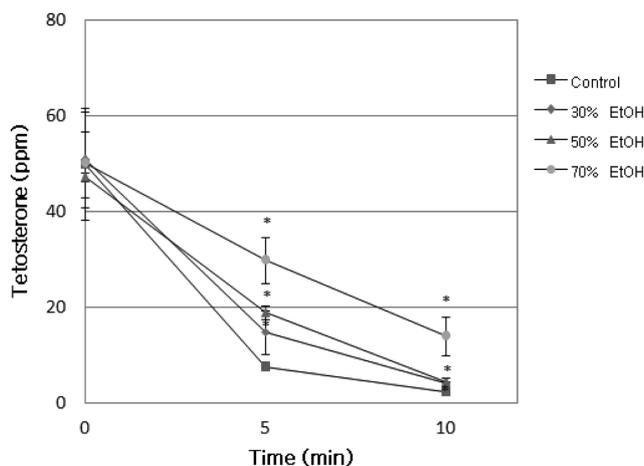


Fig. 5 – Inhibition effect of Torilis semen extracts (13.34 $\mu\text{g}/\text{ml}$) against testosterone metabolism in rat liver homogenate. The concentration of extraction solvent, ethanol were 30%, 50 and 70%, respectively. Data represented as mean \pm SD (n=3). *, significant difference from the control value (ANOVA test, *, $p<0.05$).

로 거의 완전히 억제되는 결과를 나타내어, 이것이 대사억제 효과를 나타내는 하나의 활성물질일 가능성을 나타내었다.

사상자 추출물 제조 시 에탄올 첨가량에 따른 testosterone의 분해억제효과

Fig. 5는 5 α -reductase inhibitor로 알려진 사상자 추출물을 배양액에 첨가한 경우 testosterone 분해양상을 나타낸 것으로 testosterone 잔존량이 증가하는 것으로 나타났다. 에탄올 함량이 증가함에 따라 testosterone 잔존량이 증가하는 경향을 나타내는 것으로 보아 사상자 추출물은 물보다는 에탄올로 추출하는 것이 바람직한 것으로 생각된다.

야콘, 사상자, 의이인 50% 에탄올추출물의 첨가량에 따른 testosterone 분해억제효과

Table IV는 50% 에탄올로 추출한 야콘추출물을 13.34 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 33.34 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 또는 66.67 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 배양액에 첨가하였을 때와 50%

Table IV – Inhibition effect of various natural products extracts against testosterone metabolism in rat liver homogenate

Extracts amount	Inhibition ratio of testosterone metabolism (%)		
	Yacon leaf	Torilis fructus	Coicis semen
6.67 $\mu\text{g}/\text{ml}$	-	20.92 \pm 6.26	28.57 \pm 10.42
13.34 $\mu\text{g}/\text{ml}$	19.34 \pm 0.42	47.59 \pm 4.92	34.15 \pm 0.86
33.34 $\mu\text{g}/\text{ml}$	41.53 \pm 0.01	64.57 \pm 8.24	52.30 \pm 11.91
66.67 $\mu\text{g}/\text{ml}$	44.96 \pm 4.74	-	-

The extraction solvent was 50% ethanol. Data represented as mean \pm SD (n=3). *, significant difference from the control value (ANOVA test, *, $p<0.05$).

에탄올로 추출한 사상자 또는 의이인 추출물을 각각 6.67 µg/ml, 13.34 µg/ml 또는 33.34 µg/ml를 첨가하여 5분 간 배양했을 때의 testosterone 대사 억제효과를 측정하였다. 그 결과 각 추출물의 첨가량이 증가함에 따라 대조군에 비해 testosterone 잔존량이 증가된 결과를 나타내었다. 이들 각각을 배양액에 33.34 µg/ml를 첨가했을 때 억제율 크기는 사상자>의이인>야콘순인 것으로 나타났다.

추출용매인 에탄올의 농도에 따른 사상자, 의이인 추출물의 testosterone 분해 억제효과

본 연구에서는 사상자, 의이인의 testosterone 대사 억제효과를 나타내는 활성성분이 지용성인지, 수용성인지를 탐색하기 위하여 추출용매인 에탄올 농도를 30%, 50% 또는 70%로 달리하여 사상자 또는 의이인 추출물을 제조하였다. Table V는 이들 각각의 추출물 33.34 µg/ml를 흰쥐의 간효소 균질액이 들어있는 배양액에 첨가하여 배양 5분 후에 측정된 testosterone 분해 억제효과를 나타낸 것이다.

사상자는 에탄올의 함량이 높을수록 억제율이 현저히 높아지는 경향을 나타내었으며, 의이인 추출물은 사상자에 비해 에탄올 농도의 영향을 적게 받는 것으로 나타났다. 따라서 사상자는 유효성분이 지용성인 특성을 가지고 있는 것으로 추정되어 에탄올 농도를 50% 이상으로 추출하여 사용하는 것이 바람직하며, 의이인은 50% 정도의 에탄올로 추출해도 무방할 것으로 생각된다.

야콘환의 전립선증상 점수 개선효과

본 연구자 등은 본 연구에 착수하기 1년여 전부터 야콘환 시판품에 대하여 전립선증상 개선효과를 추적 관찰하기 위해 국제전립선지수에 대한 설문조사를 하였다. 자발적으로 설문과 야콘환 복용에 응한 성인남자 200여명 중 처치가 필요하다고 판단되는 전립선지수 8 이상인 40~60대 남성 59명에게 야콘환을 제공하였다. 이후 야콘환 복용전과 복용 1개월 후 국제전립선지수 설문지의 비뇨기증상점수를 합산하여 비교해본 결과 40대, 50대, 60대 모두의 경우에 있어 유의한 차이(*, p<0.05)로 전립선비대증상이 개선된 것으로 나타났다(Data 나타내지 않음).

Table V – Inhibition effect of various natural products extracts against testosterone metabolism in rat liver homogenate on ethanol concentration

EtOH conc.	Inhibition ratio of testosterone metabolism (%)	
	Torilis fructus	Coicis semen
30%	15.05* ± 0.52	22.63* ± 6.88
50%	32.96* ± 5.55	34.15* ± 0.86
70%	53.25* ± 9.00	37.13* ± 3.25

Data represented as mean±SD (n=3). *, significant difference from the control value (ANOVA test, *, p<0.05)

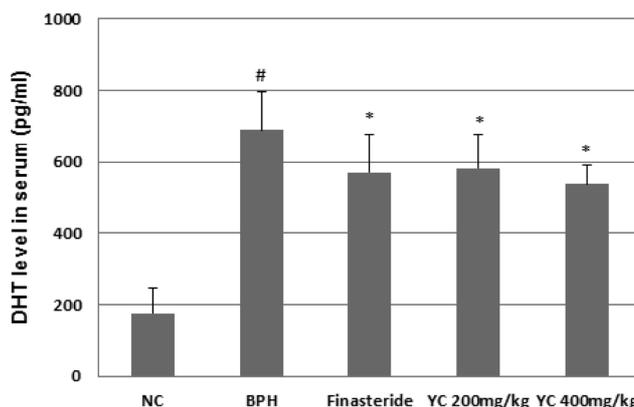


Fig. 6 – Effects of Yacon pill extracts on DHT levels in serum. NC: olive oil (s.c.)+purified water (p.o), BPH: testosterone (s.c.)+PBS (p.o.), Finasteride: testosterone (s.c.)+finasteride (10 mg/kg, p.o.), YC 200 mg/kg, YC 400 mg/kg: testosterone (s.c.)+YC 200 mg/kg or 400 mg/kg, respectively (p.o). Data represented as mean±SD (n=9). #, Significant difference at p<0.05 compared with the NC group. *, Significant difference at P<0.05 compared with the BPH group, respectively.

야콘환 추출물의 혈중 DHT 농도에 미치는 영향

BPH군의 혈액내 DHT 치는 정상대조군보다 현저하게 높은 것으로 나타나 전립선비대가 양호하게 이루어진 것으로 나타났다. 양성대조약으로 사용한 finasteride로 처치한 군의 DHT 치는 BPH군에 비해 유의성 있게 더 낮은 것으로 나타났다. 또한, 야콘환을 투여한 군의 혈액내 DHT 치는 200 mg/kg 및 400 mg/kg 투여군 모두에서 BPH군에 비해 유의성 있게 더 낮은 것으로 나타났다(Fig. 6).

흰쥐의 간 homogenate를 이용한 *in vitro* 대사실험에서 야콘, 사상자 또는 의이인 추출물은 testosterone 잔존량을 증가시키는 것으로 나타나 DHT 생성억제의 가능성을 확인하였다. 게다가 *in vivo* 동물실험을 통하여 야콘환추출물이 DHT 생성을 억제하는 것으로 나타난 이외같은 결과로부터 야콘환은 전립선비대를 일으키는 원인중의 하나인 5α-reductase를 억제하여 testosterone 이 DHT로 분해되는 것을 억제함으로써 전립선비대 증상을 개선하는 것으로 추정된다.

야콘환 추출물의 전립선 증량에 미치는 영향

Table VI은 30일 간 흰쥐에 testosterone 3 mg/kg을 피하주사하여 전립선비대를 유발한 후, 양성대조군으로 finasteride 10 mg/kg, 야콘환추출물 200 mg/kg 또는 400 mg/kg을 30일 간 투여한 후 체중 및 전립선무게를 측정하여 정상군 및 전립선비대 유발 양성대조군과의 전립선무게를 비교한 것이다.

전립선비대를 유발하기 위해 testosterone을 투여한 흰쥐는 투여 2주 후부터 정상대조군에 비해 몸무게가 감소하기 시작하였으며, 최종 몸무게는 약 20% 정도 감소하는 것으로 나타났다. 반

Table VI – Effects of Yacon pill extracts on body weights and prostate weights

	Body weights (g)		Prostate weight (g)		% Inhibition
	Initial	Final	Absolute	Relative	
N. Control	359.44±10.74	533.33±31.22	1.14±0.21	0.22±0.05	
BPH	362.22±6.67	444.44±8.82	2.52±0.24 [#]	0.57±0.05 [#]	
Finasteride	362.11±7.82	441.11±23.15	2.03±0.22 [*]	0.46±0.06 [*]	31.43
YC 200 mg/kg	360.00±7.07	446.67±27.39	2.05±0.27 [*]	0.47±0.08 [*]	28.57
YC 400 mg/kg	358.89±10.54	443.75±21.34	2.10±0.27 [*]	0.47±0.06 [*]	28.57

Data represented as mean±SD (n=9).

N. Control: olive oil (s.c)+purified water (p.o.), BPH: testosterone (s.c)+purified water (p.o.), Finasteride: testosterone (s.c)+finasteride (10 mg/kg, p.o.), YC 200 mg/kg and 400 mg/kg: testosterone (s.c)+Yacon Pill Ex. (200 and 400 mg/kg, respectively, p.o.). [#], Significant difference at p<0.05 compared with the N. Control group. ^{*}, Significant difference at P<0.05 compared with the BPH group, respectively.

면에 전립선 무게는 양성대조군의 경우 정상군에 비해 2배 이상 증가하는 것으로 나타났다. 한편 양성대조약인 finasteride 투여군의 경우 전립선 무게가 양성대조군에 비해 31.43% 유의성 있게 감소한 것으로 나타났으며, 야콘환 투여의 경우 200 mg/kg 및 400 mg/kg 투여의 경우 모두 28.57% 유의성 있게 감소한 것으로 나타났다.

결 론

이상의 실험 결과 야콘추출물은 흰쥐의 간 homogenate를 넣은 배양액에서 testosterone 분해를 억제한 결과를 나타내었으며, 5 α -reductase inhibitor로 알려진 사상자 및 의이인 등도 testosterone 분해를 억제하는 것으로 나타났다. 또한 인위적으로 전립선비대를 유발한 흰쥐에 야콘, 사상자, 석창포로 구성된 야콘환추출물을 투여 했을 때 혈중 DHT가 감소된 결과(Fig. 6) 및 전립선 무게가 감소된 결과(Table VI)를 나타내었다.

따라서 야콘환은 혈중 testosterone 농도를 높이면서 DHT 생성을 억제함으로써, 화학약제인 finasteride를 전립선비대 환자에게 투여했을 때 나타나는 성욕과 성기능이 억제되는 부작용과 테스토스테론 생산이 저하되어 발기부전이 나타나는 단점을 보완할 수 있는 전립선비대 개선제로의 개발 가능성을 나타내었다.

감사의 글

본 과제는 2011년 충북대학교 기성회 교내연구비와 2012년 중소기업청 창업성장기술개발사업 및 산업통상자원부의 출연금으로 수행한 산학융합지구조성사업의 연구비 지원에 의해 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1) Aybar, M. J., Snchez Riera, A. N., Grau, A. and Snchez, S. S. : Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. *J.*

Ethnopharm. **74**, 125 (2001).

- 2) Habib, N. C., Honor, S. M., Genta, S. B. and Snchez, S. S. : Hypolipidemic effect of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) roots on diabetic rats: *Biochemical approach. Chem. Biol. Interact.* **194**, 31 (2011).
- 3) Yan, X., Suzuki, M., Ohnishi-Kameyama, M., Sada, Y., Nakanishi, T. and Nagata, T. : Extraction and identification of antioxidants in roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *J. Agric. Food Chem.* **47**, 4711 (1999).
- 4) Simonovska, B., Vovk, I., Andrenek, S., Valentov, K. and Ulrichov, J. : Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. *J. Chromatography A* **1016**, 89 (2003).
- 5) Goto, K., Fukai, K., Hikida, J., Nanjo, F. and Hara, Y. : Isolation and structural analysis of oligosaccharides from yacon (*Polymnia sonchifolia*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **59**, 2346 (1995).
- 6) Park, J. S., Hwang, S. Y., Hwang, B. Y. and Han, K. : The spermatogenic effect of 50% ethanol extracts of Yacon and Its ameliorative effect against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin induced testicular toxicity in the rat. *Nat. Prod. Sci.* **14**, 73 (2008).
- 7) Park, J. S., Hwang, S. Y. and Han, K. : The spermatogenic effect of 50% ethanol extracts of Yacon in healthy male volunteers. *YakhakHoeji* **53**, 250 (2009).
- 8) Hiipakka, R. A., Zhang, H. Z., Dai, W., Dai, Q. and Liao, S. : Structure-activity relationships for inhibition of human 5 α -reductases by polyphenols. *Biochem. Pharmacol.* **63**, 1165 (2002).
- 9) Sun, J., Xiang, H., Yang, L. L. and Chen, J. B. : A review on steroidal 5 α -reductase inhibitors for treatment of benign prostatic hyperplasia. *Curr. Med. Chem.* **18**, 3576 (2011).
- 10) Pumthong, G., Asawanonda, P., Varothai, S., Jariyasethavong, V., Triwongwanat, D., Suthipinittharm, P., Ingkaninan, K., Leelapornpisit, P. and Waranuch, N. : Curcuma aeruginosa, a novel botanically derived 5 α -reductase inhibitor in the treatment of male-pattern baldness: a multicenter, randomized,

- double-blind, placebo-controlled study. *J. Dermatolog. Treat.* **23**, 385 (2012).
- 11) Bach, D., Schmitt, M. and Ebeling, L. : Phytopharmaceutical and synthetic agents in the treatment of benign prostatic hyperplasia (BPH). *Phytomedicine.* **3**, 309 (1997).
 - 12) Park, W. S., Son, E. D., Nam, G. W., Kim, S. H., Noh, M. S., Lee, B. G., Jang, I. S., Kim, S. E., Lee, J. J. and Lee, C. H. : Torilin from *Torilis japonica*, as a new inhibitor of testosterone 5 alpha-reductase. *Planta Med.* **69**, 459 (2003).
 - 13) Choi, S. M., Kim, C. D., Lee, M. H., Choi, Y. H., Rang, M. J., Ahn, H. J. and Yun, Y. P. : Screening of 5 α -reductase inhibition and comedolytic effects from natural products. *Yakkak Hoeji* **43**, 342 (1999).
 - 14) Lu, X., Liu, W. and Luo, C. : Apoptotic effect of coix polysaccharides on A549 lung cancer cells *in vitro*. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi.* **15**, 624 (2012).
 - 15) Chen, H. J., Hsu, H. Y. and Chiang, W. : Allergic immunoregulatory effects of adlay bran on an OVA-immunized mice allergic model. *Food Chem Toxicol.* **50**, 3808 (2012).
 - 16) Chung, C. P., Hsia, S. M., Lee, M. Y., Chen, H. J., Cheng, F., Chan, L. C., Kuo, Y. H., Lin, Y. L. and Chiang, W. : Gastroprotective activities of adlay (*Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf) on the growth of the stomach cancer AGS cell line and indomethacin-induced gastric ulcers. *J. Agric. Food Chem.* **59**, 6025 (2011).
 - 17) Chen, Q. X., Miao, J. K., Li, C., Li, X. W., Wu, X. M. and Zhang, X. P. : Anticonvulsant activity of acute and chronic treatment with a-asarone from *Acorus gramineus* in seizure models. *Biol. Pharm. Bull.* **36**, 23 (2013).
 - 18) Liu, J., Kurashiki, K., Shimizu, K. and Kondo, R. : Structure-activity relationship for inhibition of 5 α -reductase by triterpenoids isolated from *Ganoderma lucidum*. *Bioorg. Med. Chem.* **14**, 8654 (2006).
 - 19) Lowry, O. H., Rosbrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the Folin Phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
 - 20) Matsuda, H., Sato, N., Yamazaki, M., Naruto, S. and Kubo, M. : Testosterone 5 α -reductase inhibitory active constituents from *Anemarrhenae Rhizoma*. *Biol. Pharm. Bull.* **24**, 586 (2001).
 - 21) Kumar, T., Chaiyasut, C., Rungseewijitprapa W. and Suttajit, M. : Screening of steroid 5 α -reductase inhibitory activity and total phenolic content of Thai plants. *J. Med. Plants Res.* **5**, 1265 (2011).
 - 22) Ranall, V. A. : Role of 5alpha-reductase in health and disease. *Baillieres Clin. Endocrinol. Metab.* **8**, 405 (1994).
 - 23) Meinhardt, U. and Mullis, P. E. : The essential role of the aromatase/p450arom. *Semin. Reprod. Med.* **20**, 277 (2002).
 - 24) Wood, A. W., Swinney, D. C., Thomas, P. E., Ryan, D. E., Hall, P. F., Levin, W. and Garland, W. A. : Mechanism of androstenedione formation from testosterone and epitestosterone catalyzed by purified cytochrome P-450b. *J. Biol. Chem.* 17322 (1988).