

## Determination of Optimal Dosage of Ethanol Extract of *Houttuynia cordata* Thunberg Against Benign Prostatic Hyperplasia

Jin Young Lee<sup>1</sup>, Hyung Hoi Kim<sup>2</sup> and Jae Seon Kang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacy, Kyungsoong University, Busan 48434, Korea

<sup>2</sup>Biomedical Research Institute, Busan National University Hospital, Busan 49241, Korea

Received May 10, 2021 / Revised July 13, 2021 / Accepted July 20, 2021

*Houttuynia cordata* Thunberg has been studied for a variety of pharmacological actions in traditional oriental medicine. In this study, we investigated the effects of *Houttuynia cordata* ethanol extract (HCE) on benign prostatic hyperplasia (BPH) models induced by castration and testosterone propionate (TP) injection. Thirty rats were divided into six groups. One group was used as a normal control, and the other groups were castrated and had intraperitoneal injections of TP for 14 days to induce BPH. A positive control group was given daily doses of finasteride (5 mg/kg) to the BPH model. Rats administered HCE (0.5, 1 or 2 mg/kg) instead of finasteride were compared with controls as experimental groups. There was no statistical significance in terms of prostate weight based on 100 g of body weight. The concentrations of 5- $\alpha$  reductase and dehydroxytestosterone (DHT) were determined via ELISA tests, and there was a significant decrease in all experimental groups. The 0.5 mg/kg HCE group had the lowest level of 5- $\alpha$  reductase, and the 2 mg/kg HCE group had the lowest level of DHT. In the histopathological observation of prostates, the control and the 2 mg/kg HCE groups had normal cell shapes and no swelling. However, in the negative control group and the 1 mg/kg HCE group, the cells were swollen, and the gap between the cells was narrowed. In particular, in the 0.5 mg/kg HCE group, some cells were bursting. Therefore, the administration of more than 2 mg/kg of HCE is suitable to protect against BPH.

**Key words** : Benign prostatic hyperplasia (BPH), finasteride, *houttuynia cordata* Thunberg, prostate, testosterone propionate (TP)

### 서 론

전립선은 수정관 개구부 부근에 열리는 선(gland)의 총칭으로 남성의 방광 아래에 위치하고, 요도를 둘러싸고 있으며 방사상으로 배열하는 수십 개의 복합관상 포상선 형태이다. 정상 성인의 경우 그 무게는 약 20 g으로 크기는 밤알정도이다 [14]. 정액을 만들어서 보존하고 요도구를 통해 정액을 배출하는 역할을 전립선이 수행한다. 양성전립선비대증(Benign prostatic hyperplasia, BPH)은 간략하게 전립선 비대증이라고도 한다[9]. 과거에는 전립선이 비대해져 요도 폐색에 의해 소변의 흐름이 감소된 상태를 전립선 비대증으로 정의하였으나, 오늘날에는 조직학적으로 전립선 간질이나 전립선의 상피조직 세포가 과도 증식된 것으로 정의한다[16]. 최근에는 하나의 개념으로 설명하기에는 부족하여 다음과 같이 포괄적으로 정

의하게 되었다. 중장년기 남성에서 나타나는 빈뇨(하루 8회 이상), 야간 빈뇨, 절박뇨 등의 방광 저장 이상 증상 및 지연뇨, 단절뇨, 방광 배출 장애 등 하부 요로증상으로 전립선 비대증을 정의하고 있다[17]. 전립선비대증의 유병율은 전립선의 크기, 하부요로증상의 정도, 방광 폐색 등의 여러 검사의 조합으로 진단이 되기 때문에 이들 간의 정확한 상관관계를 연구한 결과는 부족하다. 하지만 전립선 비대증은 40대 이후 남성의 80% 이상이 한번쯤은 겪는 질환으로 알려져 있고, 연령 증가에 따라 유병율이 증가하는 것으로 알려져 있다. 전립선 비대의 원인으로는 남성호르몬과 자연적인 노화현상이 가장 잘 알려져 있다[30]. Testosterone과 dihydrotestosterone (DHT) 두 가지 남성호르몬 중 DHT가 전립선의 비대에 더 중요한 것으로 알려져 있다. 그 외 외부 요인으로 비만, 생활습관, 흡연, 대사증후군, 유전적 요인 등이 고려되고 있으며 최근에는 염증반응이 전립선비대를 유발한다는 연구도 보고되었다[6]. 전립선비대증의 약물치료에는  $\alpha$ -receptor blocker와 5- $\alpha$  reductase inhibitor 또는 anti-cholinergic agent 등이 사용된다.  $\alpha$ -receptor blocker의 경우 전립선과 방광 등에 주로 분포하는  $\alpha$ -수용체에 작용하여  $\alpha$ -sympathic blocking으로 인하여 방광출구의 이완을 일으키고 배뇨를 쉽게 할 수 있도록 도와준다 [28]. 대표적인 약물로 Terazosin (Hytrin®), Doxazosin (Cardura®) 등의 non-uroselective  $\alpha$ -receptor blocker와 Tam-

#### \*Corresponding author

Tel : +82-51-663-4882, Fax : +82-51-663-4809

E-mail : [jskang28@hanmail.net](mailto:jskang28@hanmail.net)

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

sulosin (Flomax®) 등의 uroselective  $\alpha$ -receptor blocker가 있다. 이런 종류의 약물들은 복용 후에 전립선의 크기에는 별로 영향을 미치지 못하며, 특히 Tamsulosin의 경우 복용환자의 10% 이상에서 두통, 현기증, 사정장애, 비염 등이 있었고, 기타 이상반응으로 흉통, 기면, 설사, 위장장애, 근무력증, 요통 등 다양한 증상들이 드물게 나타났다[29]. 5- $\alpha$  reductase 저해제는 testosterone을 DHT로 전환시켜주는 효소인 5- $\alpha$  reductase를 억제하며, 이는 효력이 강력하여 전립선비대를 유발하는 DHT의 생성을 막는 역할을 한다[20]. Dutasteride (Avodart®)와 Finasteride (Proscar®)가 대표적인 5- $\alpha$  reductase inhibitor이며, 이 계열의 약물은 전립선 크기의 효율적인 감소와 요속의 증가로 복용 환자의 30~70%에서 전립선비대증 증상이 완화되었다고 한다[29]. 하지만 효과를 평가하기 위해서는 최소 6개월 이상의 기간이 요구되며, 무작위적 위약대조군연구에서 발기부전, 성욕감소, 사정장애, 여성형 유방 등 성기능관련 이상반응이 보고되었다[6].

어성초(漁腥草; *Houttuynia cordata* Thunberg)는 약모밀(*Houttuynia cordata* Thunberg)의 지상부로, 잎에서 물고기의 비린 냄새가 난다고 하여 붙여진 이름이다. 어성초의 성분으로는 플라노이드가 중요한 성분이며 quercetin, quercitrin, quercimeritrin, rutin 등이 주요물질로 함유되어 있다. 그 외 aristolactam A II와 B II, piperolactam A, splendidine, cepharadion B, norcepharadione B와 같은 알칼로이드를 함유하고 있으며, methylnonyl ketone, myrcene, decarnoyl acetaldehyde 등 방향성 오일 또한 함유하고 있는 것으로 알려져 있다[25]. 인구증가에 따라 전립선 비대증 환자의 수는 증가하며 초고령 사회에 더 많은 문제를 나타낼 것으로 보인다. 전립선비대증을 예방하는 차원에서 *Pygeum africanum*, *Serenoa repens*, *Urtica dioica* 등 다양한 천연물의 주성분을 이용하여 전립선비대증에 효과를 나타내는 근거 메커니즘으로 5 $\alpha$ 알과 환원효소 저해활성, 안드로젠 억제활성, 항염활성, 항산화 활성, 세포증식억제 등이 임상시험과 더불어 연구되고 있다[10]. 어성초의 주요작용으로는 항산화 능력과 항염 작용이 알려져 있다. 뿐만 아니라 이뇨작용과 항생 효과, 항바이러스 효과, 항알러지 효과 등이 보고되어 있다[25]. 그러나 여러 문헌을 보면 적절한 전립선 비대증에 관한 연구는 매우 드물며, 투여용량 결정에 대한 연구결과가 없으며, 대부분 유기용매를 이용하여 추출 후 실험을 하여 실용화에는 많은 문제가 있다. 따라서 에탄올 추출물을 이용하여 추출하고, 투여용량별로 실험을 하여 최적의 투여용량을 결정하여 적절한 복용량을 권장하기 위하여 본 연구를 수행하였다. 이러한 약리작용들을 토대로 어성초의 약리성분이 적절한 용량으로 투여될 때 효과를 가지는 동시에 부작용이나 이상반응이 적은 약물로 또는 건강식품으로 환자에게 도움이 될 수 있는 계기를 마련하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 어성초 에탄올 추출물(HCE)의 제조

어성초는 세명한방(주)(경남거창, 한국)으로부터 구입하여 사용하였다. 어성초 잎과 줄기를 수분함량 10% 이하로 건조하고 지름 1 mm 이하로 파쇄하여 보관하였고 추출시에 건조물 1 kg당 5 l의 주정 에탄올(95%)을 넣고 reflux condenser가 장착된 수기를 이용하여 열처리하여 7시간 이상 추출하였다. 열처리한 에탄올추출물을 Buchner funnel을 이용하여 여과(Whatman No. 2 cellulose filter paper)하고, 여과된 추출주정용액을 회전증발농축기(Rotary evaporator, Buchi, Germany)로 농축하였다. 이 농축물을 60°C 증류수로 2회 이상 세척하고 냉침하여 물에 녹는 물질을 여과하여 제거하였다. 침전물을 95°C에서 convection oven을 이용하여 열풍건조하였다. 이 물질을 어성초 에탄올 추출물(*Houttuynia cordata* Ethanol extract, HCE)로 명명하였다.

### HPLC를 이용한 quercetin 정량

Quercetin정량은 고성능 액체크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC)를 이용하여 분석하였다. 검량선은 1 ppm, 10 ppm, 50 ppm의 quercetin 표준품을 이용하여 작성하였고, 100 ppm의 HCE 샘플로 quercetin의 양을 확인하였다[6]. Quercetin 정량을 위한 분석장비는 Hitachi HPLC system (Hitachi Co, Tokyo, Japan)을 사용하였다. 분석을 위하여 column은 ZorbaxEclipse XDB-C18을 사용하였고, 컬럼의 온도는 35°C, 샘플 주입량은 20  $\mu$ l, 유속은 1.3 ml/min으로 설정하였다. 2% formic acid가 들어간 distilled water (A)와 acetonitrile (B)를 이동상으로 사용하였고, 총 15분 동안 용매를 흘려주었다[6].

### 고환적출과 testosterone 투여에 의한 전립선비대증 유발 동물모델 제작

실험동물은 효창 사이언스(대한민국, 대구)에서 6주령 수컷 Sparague-Dawley (SD) Rat을 구입하여 사용하였다. 몸무게 150~170 g인 SD Rat은 입고 후 23 $\pm$ 2°C의 온도 및 상대습도 55 $\pm$ 5%로 유지한 동물 사육실에서 1주일간 적응기간을 가졌다. 12시간의 명/암 주기로 사육하였고 이 기간 중 물과 사료는 제한 없이 공급하였다. 동물실험은 경성대학교 생명윤리위원회의 심의를 거쳐 시행되었다(경성대학교 생명윤리위원회 생명윤리 심의 승인번호: 연구-18-005A). 적응기간 이후, 정상대조군(normal control)을 제외하고 나머지는 양쪽고환을 적출(castration)하고 봉합하였다. 1일 1회 5 mg/kg의 테스토스테론 프로피오네이트(Testosterone Propionate, TP)를 복강투여하여 전립선비대를 유도하였다. 고환적출 시 마취약물은 5:1의 비율로 섞은 졸레틸(Zoletil®)과 럼퐁(Rompun®)을 100  $\mu$ l/ 100 g rat의 용량으로 복강투여 하였다.

### 실험동물 그룹화 및 약물투여

실험그룹은 다음과 같이 나누었다. 아무런 처리를 하지 않은 CON 군(정상대조군), 고환을 적출하고 TP를 투여한 NCON 군(음성대조군), 고환을 적출하고 TP를 투여 후 피나스테라이드(finasteride)를 5 mg/kg 경구 투여한 PCON 군(양성대조군)으로 설정하였다. HCE는 HPLC에 의한 함량분석 후 quercetin 함량기준으로 실험동물에 적용하였다. 실험군은 HCE 중 quercetin 함량 0.5 mg/kg이 포함되게 경구 투여한 군(0.5 HCE), 1 mg/kg 경구 투여한 군(1HCE), 2 mg/kg 경구 투여한 군(2HCE)으로 설정하였다. 대조군 세 군과 실험군 세 군의 총 여섯 군으로 설정하였고, 실험동물 수는 그룹당 각 5마리로 하였다. Finasteride와 HCE는 매일 오전에 경구투여하였고, TP는 1일 1회 5 mg/kg씩 오후에 복강 투여하여 시험물질과 투여간격을 2시간 이상 두었으며 투여일수는 15일로 하였다. 실험종료 16시간 전 사료 공급을 중단하고 실험종료 시 CO<sub>2</sub> 가스 흡입으로 안락사한 후 복대정맥에서 혈액시료를 채취하였다. 전혈은 complete blood cell (CBC) 측정을 위해 사용하였고, 혈청을 분리한 시료는 생체지표 측정 및 효소활성 측정에 사용하였다. 전립선, 간, 신장의 무게를 측정 후 전립선과 간은 조직분석을 위해 일부 사용하였다.

### 전립선 무게 및 체중 대비 전립선 비율 측정

마지막 날 체중을 측정하고 rat을 희생 후 전립선을 적출하고 지방 및 수분을 제거하고 무게를 측정하였다.

### 효소면역 측정

복대정맥에서 채혈 직후 혈청분리튜브(Vacurette® Tube, Greiner Bio-One GmbH, Austria) 를 이용하여 원심분리 후 -80°C에 보관한 혈청을 사용하였다. 항체항원반응을 이용한 ELISA방법을 이용하였으며, 시중에 판매하는 Kit를 구매하여 제조사가 제시한 protocol에 의하여 실험을 수행하였고, ELISA reader를 이용하여 결과를 도출하였다.

5- $\alpha$  reductase의 측정은 steroid 5- $\alpha$  reductase II (SDRD5a2)를 정량하기 위한 enzyme-linked immunosorbent assay kit (제조사: Mybiosource, San Diego, USA, cat. no. MBS2021309)를 이용하여 측정하였다. 정량 방법은 100  $\mu$ l standard와 시료를 각각 well에 넣고 37°C에서 1시간 동안 반응한 후, 100  $\mu$ l의 detection reagent A를 넣은 후 37°C에서 1시간 동안 더 반응시켰다. well 세척 후 detection reagent B를 100  $\mu$ l 넣고 37°C에서 30분 동안 반응하였다. 반응 후 세척하고 substrate solution 90  $\mu$ l를 넣은 다음 37°C에서 15분간 반응하였다. 반응을 종결시키기 위해 stop solution을 50  $\mu$ l 넣은 뒤 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질의 흡광도를 이용하여 calibration curve를 그린 다음 결과 값을 계산하였다.

DHT의 정량을 하기 위해 enzyme-linked immunosorbent assay kit (제조사: Mybiosource, San Diego, USA, cat. no.

MBS701006)를 이용하여 측정하였다. 정량 방법은 각 well에 50  $\mu$ l standard와 시료를 각각 넣고, HRP-conjugate 50  $\mu$ l와 antibody 50  $\mu$ l를 추가로 혼합하여 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 이후 세척한 뒤 50  $\mu$ l의 substrate A 와 substrate B를 각각 넣고 37°C에서 15분간 반응시켰다. 이 때 substrate A 와 substrate B 용액은 빛에 민감하므로 차광하여 과정을 진행하였다. 반응을 종결시키기 위해 stop solution을 50  $\mu$ l 넣은 뒤 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질의 흡광도를 이용하여 calibration curve를 그린 다음 결과 값을 계산하였다.

### 조직검사

채혈 후 관류에 의하여 조직에 남아있는 혈액을 제거하고 간과 전립선 조직을 적출하였다. 적출한 조직 중 일부분을 취하여 10% formaldehyde (pH 7.4 인산완충용액으로 용해) 용액에 48시간 고정시킨 후, 70%, 80%, 90%, 100% ethanol에서 순차적으로 각각 탈수시켰다. 탈수된 조직을 xylene 용액에서 투명화 과정을 거친 다음 paraffin으로 포매하고 microtome을 이용하여 5  $\mu$ m의 조직절편으로 제작하였다. Hematoxylin-eosin 염색 후 봉입하여 광학현미경으로 조직을 관찰하였다.

### 혈액 내 지질 수준변화 측정

혈중 지질 수준 측정을 위해 -80°C에 보관된 혈청을 사용하였다. TG는 Cayman Chemical사(Ann Arbor, MI)에서 제공한 분석 법에 따라 측정하였다. TC, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤은 Abcam사(Cambridge, MA, UK)에서 제공한 분석법에 따라 측정하였다.

### 주요 대사기능 및 이상 평가

혈중 aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), blood urea nitrogen (BUN), creatinine은 아산제약(주) kit (Seoul, Korea)를 사용하여 제조사의 메뉴얼에 따라 측정하였다.

### 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 평균값과 표준편차로 나타내었고, 통계 프로그램은 Statistical Package for the Social Science (SPSS) software package (Version 22.0; IBM, USA) 이용하였다. 각 군 간의 유의성 검증은 분산분석(ANOVA)을 실시하였고,  $p < 0.05$  수준에서 t-test를 이용하여 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 어성초 추출물의 quercetin 함량

본 연구를 위해 어성초 에탄올 추출물인 HCE의 quercetin 함량을 측정하였다. HPLC를 이용하여 quercetin 표준품으로 검량선을 작성한 뒤 HCE 샘플을 확인한 결과 HCE 1 g 속에는

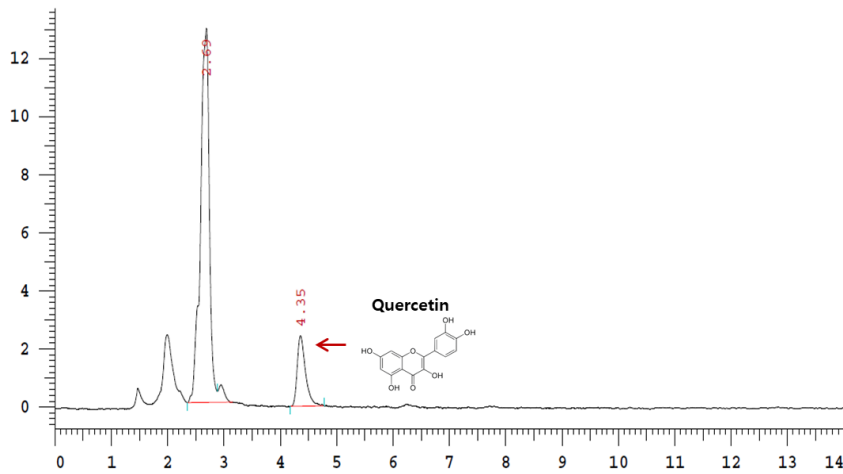


Fig. 1. Quercetin content of HCE. A calibration curve was drawn with a standard of quercetin to measure the quercetin content of the HCE.

quercetin 50 mg을 함유하고 있었다. Fig. 1은 어성초 추출물의 quercetin 함량을 나타낸 크로마토그램이다.

**기초생체변화측정**

Fig. 2는 동물실험 기간 중 실험동물의 음용수 및 사료복용량의 변화, 몸무게의 변화를 나타낸 그래프이다. Fig. 2A는 실험 시작 2일째부터 16일째까지 관찰한 결과로 음용수 복용량

의 변화를 나타낸 그래프이며, 음용수 복용량의 차이로 사료 복용량과 몸무게 변화와 상관관계를 예측하기는 어렵다. 사료 섭취량은 15일째에는 CON 군이 가장 많은 사료섭취량을 보였으나 이 또한 군간 상관관계를 판단하기는 어렵고 사료섭취량과 음용수량이 약물이나 HCE의 섭취 행태에 특이 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다. 노화와 호르몬 변화로 인해 나타나는 전립선 비대증은 비만에 의한 체지방 증가 및 남성호

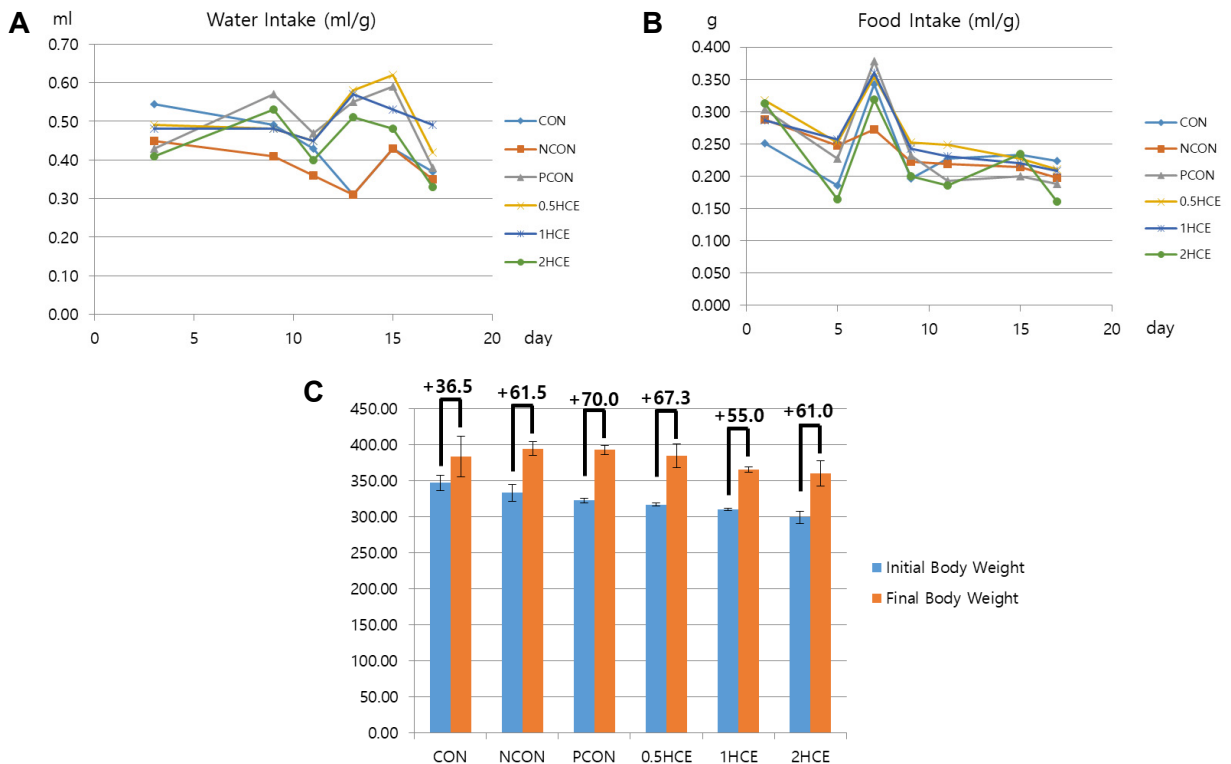


Fig. 2. Changes of water intake (A), food intake (B) and body weight after HCE intake for 2 weeks. CON: Normal group, NCON: TP injection after castration, PCON: finasteride (5 mg/kg) administration and TP injection after castration, 0.5HCE: HCE (0.5 mg/kg) administration and TP injection after castration, 1HCE: HCE (1 mg/kg) administration and TP injection after castration, 2HCE: HCE (2 mg/kg) administration and TP injection after castration. All the values were expressed as means  $\pm$  SD.

Table 1. Prostate weight and prostate weight ratio after HCE intake for 2 weeks

Group	Prostate weight (g)	Prostate weight ratio (g/100g of body weight)
CON	2.41±0.30	0.61±0.02
NCON	4.36±0.17	1.12±0.05
PCON	3.72±0.53	0.95±0.14
0.5HCE	3.68±0.21	0.94±0.02
1HCE	4.16±0.45	1.14±0.11
2HCE	4.07±0.26	1.05±0.01

르몬 과다분비로 발병이 증가된다[12, 22]. 본 연구에서 체중변화를 관찰한 결과를 Fig. 2C에 나타내었다. 실험기간 중 대조군과 실험군 간의 유의적인 체중차이는 발견되지 않았으나 2주간의 체중증가는 실험군에서 약 55~67.3 g의 증가를 보였다. 앞서 언급하였듯이 노화나 호르몬 변화에 의한 체지방 증가는 전립선 비대증에 영향을 미칠 수 있다는 보고가 있으나, 본 연구의 다른 결과를 살펴볼 때 그 상관성은 크지 않은 것으로 사료된다.

**전립선 무게 및 체중 대비 전립선 비율**

실험 종료 후 전립선 무게를 측정하였고 체중 대비 전립선 무게 비율을 Table 1에 나타내었다. 그 결과 실험군 간의 유의성 있는 차이는 없었다. 몸무게 100 g을 기준으로 환산한 전립선비율 살펴보면 PCON 군과 0.5HCE 군에서 다소 감소하는 경향을 보였다. 이는 타 실험군에 비하여 몸무게 증가가 상대적으로 높았기 때문이다. HCE 투여 군에서는 감소경향이 있었지만 NCON 군과의 통계학적 유의성은 없다. 다만, 2HCE 군이 1HCE 군에 비하여 전립선 무게의 감소가 조금 더 컸다. 상대적인 비교에서 0.5HCE 군이 더 좋은 것으로 보이나 이는 운동량이 적어 몸무게가 증가하여 상대적인 전립선의 무게가 적은 것으로 보인다[5]. 본 연구진의 예비 연구에서 HCE를

2 mg/kg 투여하는 것이 여러 가지 면에서 가장 효과가 우수한 것과 비교하면 이번 연구를 통하여 2 mg/kg이 가장 효과를 발휘할 수 있는 투여량으로 생각된다.

**혈중 5-α reductase 농도변화 측정**

전립선 비대증의 정확한 원인은 알려져 있지 않으나 testosterone을 DHT로 생합성 하는데 관여하는 5-α reductase 활성 정도는 전립선 비대증을 판단하는 주요 인자로 알려져 있다[4, 20, 26]. 5-α reductase활성에 의해 생성된 DHT는 androgen receptor에 보다 큰 친화력을 가지기 때문에 전립선 세포의 증식을 촉진시킨다[1, 2]. 특히 5-α reductase type I 보다는 전립선 간질과 상피의 핵막에 위치한 type II가 DHT 생성에 우선적으로 관여한다[11, 27]. 따라서 본 연구에서는 HCE가 DHT를 생성시키는 5-α reductase type II의 활성에 얼마나 영향을 미치는지 알아보았다. Fig. 3은 5-α reductase의 농도 및 PCON 군을 5-α reductase 저해율 100%로 전환하였을 때 다른 군의 억제율을 비교한 결과이다. 고환적출과 TP 투여에 의한 전립선비대증 유발군인 NCON 군의 경우에 5-α reductase 농도가 1.31 ng/ml로 가장 높았고, NCON 군에 비하여 2HCE 군, 1HCE 군, 0.5HCE 군 모두에서 유의한 감소경향을 보였다. 0.5HCE 군과 1HCE 군이 1.16 ng/ml로 가장 낮은 농도를 보였다. 이는 finasteride를 투여했을 때보다 5-α reductase 억제효과가 약 40% 이상 높았다. 2HCE 군은 1.21 ng/ml로 finasteride 처리군인 PCON 군과 비슷한 수준으로 나타났다. 본 연구 결과에 의하면 HCE는 전립선비대증 동물모델에서 혈청 내 5-α reductase type II 수준을 유의적으로 저해하였으며 finasteride 투여 군과 비교하여 그 이상의 저해효과를 나타내었다.

**혈중 DHT 농도 변화 측정**

DHT는 testosterone보다 androgen receptor와 친화력이 높

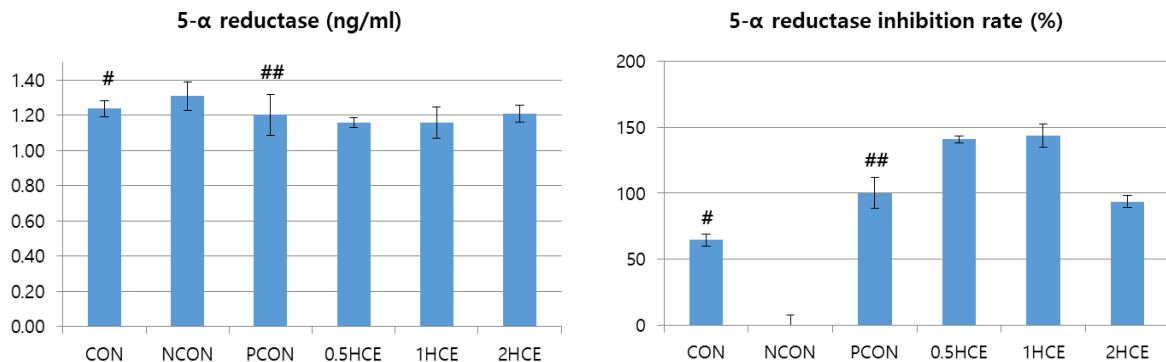


Fig. 3. 5-α reductase activity and inhibition rate in serum. CON: Normal group, NCON: TP injection after castration, PCON: finasteride (5 mg/kg) administration and TP injection after castration, 0.5HCE: HCE (0.5 mg/kg) administration and TP injection after castration, 1HCE: HCE (1 mg/kg) administration and TP injection after castration, 2HCE: HCE (2 mg/kg) administration and TP injection after castration. All the values were expressed as means ± SD. Significant difference from negative control value with # (p<0.5) and ## (p<0.05).

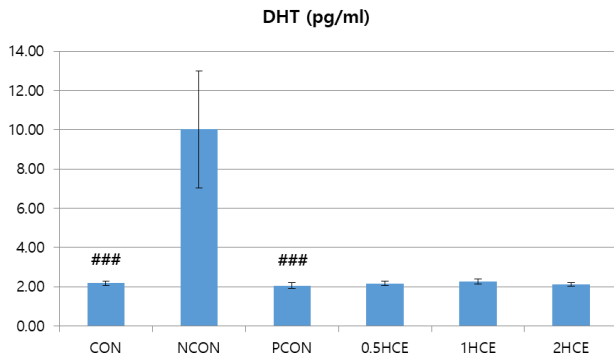


Fig. 4. Dihydroxytestosterone (DHT) levels in serum. CON: Normal group, NCON: TP injection after castration, PCON: finasteride (5 mg/kg) administration and TP injection after castration, 0.5HCE: HCE (0.5 mg/kg) administration and TP injection after castration, 1HCE: HCE (1 mg/kg) administration and TP injection after castration, 2HCE: HCE (2 mg/kg) administration and TP injection after castration. All the values were expressed as means  $\pm$  SD. Significant difference from negative control value with ### ( $p < 0.005$ ).

으며, 노화가 진행될수록 testosterone 농도는 감소하지만 DHT 는 높은 수준으로 유지된다[24]. DHT의 농도 증가는 전

립선 비대증 뿐만 아니라 전립선암과도 관계가 있는 것으로 알려져 있다[23]. 따라서 본 연구에서는 HCE에 의한 5- $\alpha$  reductase type II 수준의 저해효과로 인해 혈중 DHT 농도의 변화는 어떠한지 측정하여 Fig. 4에 나타내었다. Finasteride 투여 군 및 실험물질을 투여한 실험 군의 경우에 NCON 군에 비하여 모두 현저히 감소하였으며, 실험 군 중에서는 2HCE 군(2.12 pg/ml)이 0.5HCE 군(2.17 pg/ml)과 1HCE 군(2.27 pg/ml)에 비해 가장 낮은 수치로 나타났다. 석창포 줄기 추출물[18], 복분자 미숙과 추출물[15] 등은 대조군에 비해 혈청 DHT농도를 유의적으로 감소시켰고, 코코아는 혈청 DHT 농도를 완화시켰을 뿐만 아니라 전립선 비대를 완화하였다고 보고하였다[3]. 이들은 다양한 polyphenol 성분을 함유하고 있다는 공통점이 있으며, 이러한 polyphenol 성분은 DHT 생성에 관여하는 5- $\alpha$  reductase 활성을 억제한다고 보고된 바 있다[7]. 이는 곧 DHT 농도 감소로 이어질 것이며, 여성초 추출물에는 quercetin과 같은 polyphenol 성분이 다량 함유되어 있어서 이와 비슷한 효과를 가진 것으로 판단된다.

주요 대사기능 변화

간과 신장은 천연물 추출물의 섭취에 따라 영향을 많이 받는 체내 장기로 간과 신장의 기능과 깊은 연관성을 가진다[8].

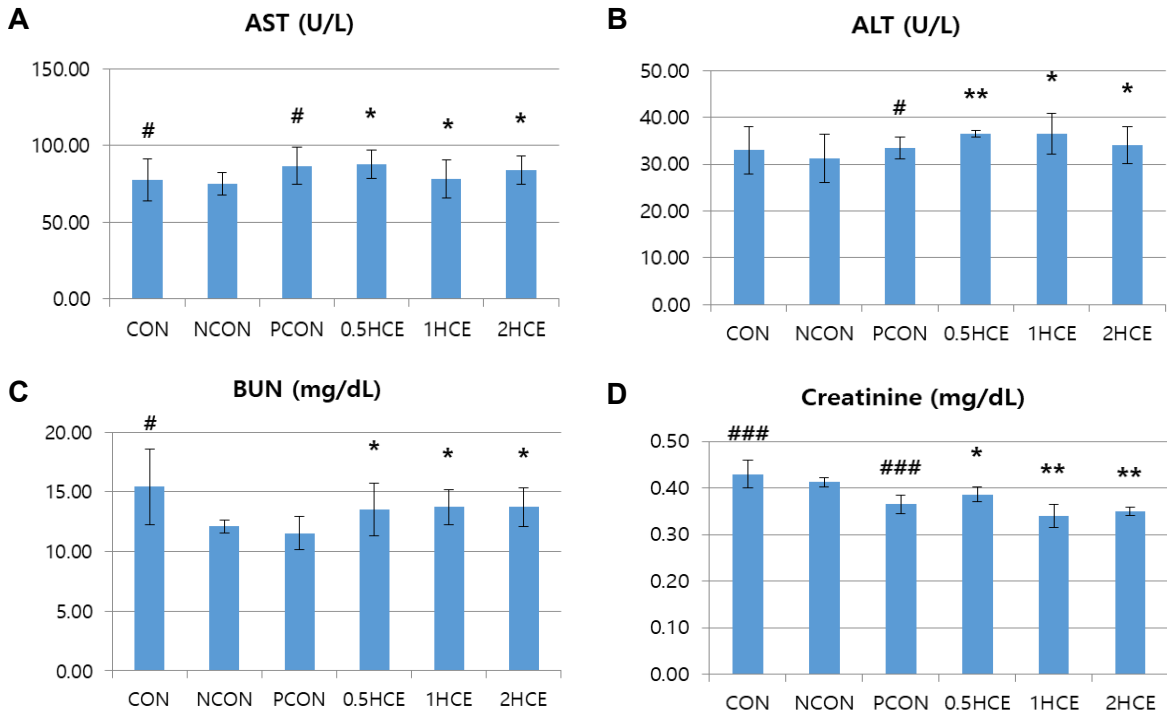


Fig. 5. Effects of HCE on the serum biochemical parameters for the liver and kidney functions of BPH rats. (A) AST, (B) ALT, (C) BUN and (D) Creatinine. CON: Normal group, NCON: TP injection after castration, PCON: finasteride (5 mg/kg) administration and TP injection after castration, 0.5HCE: HCE (0.5 mg/kg) administration and TP injection after castration, 1HCE: HCE (1 mg/kg) administration and TP injection after castration, 2HCE: HCE (2 mg/kg) administration and TP injection after castration. All the values were expressed as means  $\pm$  SD. Significant difference from negative control value with # ( $p < 0.5$ ) and ### ( $p < 0.005$ ). Significant difference from positive control value with \* ( $p < 0.5$ ) and \*\* ( $p < 0.05$ ).

따라서, 간 기능의 일반적인 지표로서 잘 알려진 AST, ALT와 신장기능의 지표로 알려진 BUN과 creatinine의 혈중 수준 변화를 측정하여 Fig. 5에 나타내었다. AST, ALT는 모두 정상 범위에 속하여 대사기능에 장애를 초래하지는 않았다. BUN과 creatinine의 혈청 농도 또한 실험 군 모두 정상범위로 안전함을 확인하였다.

**혈중 지질수준 변화**

고환적출 후 TP를 투여하여 전립선 비대증을 유발한 NCON 군과 실험 군들의 기초영양대사 물질의 변화를 측정하였고 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 총콜레스테롤의 경우 1HCE 군(47.00 mg/dl)이 가장 낮았으며, NCON 군(55.00 mg/dl)에 비해 약 15% 감소하였다. 2HCE 군(48.67 mg/dl)도 NCON 군에 비해 약 12% 감소하였다. 반면, HDL 콜레스테롤 및 LDL 콜레스테롤은 NCON 군에 비해 유의적인 차이는 없었다. 중성지질의 경우 모든 HCE 투여 군에서 유의적인 감소효과를 보였다. 그 중에서도 1HCE 군(36.00 mg/dl)은 NCON 군(72.67 mg/dl)에 비해 100% 이상 감소하였다. 이는 HCE 투여에 의해 중성지질을 혈중으로 방출하는 양이 줄어들었거나 체내 중성지질 이용률이 증가한 것으로 생각된다. 전립선 비대증 모델에서 HCE를 투여한 결과 중성지질의 감소 폭이 컸으며,

콜레스테롤의 감소는 상대적으로 크지 않았다. 이는 HCE 투여가 부정적인 영향을 초래할 가능성은 매우 적음을 시사한다.

**조직의 병리학적 변화**

전립선 비대 유발 모델에서 간과 전립선의 조직학적 변화를 관찰하기 위하여 실험 종료 후 조직을 얻어 염색을 한 뒤 관찰하였다. 간 검사의 결과는 Fig. 7A에 나타내었다. 모든 군에서 특별한 이상 징후가 발견되지 않아 투여기간 중 HCE에 의한 독성은 없는 것으로 판단되었다. 전립선 조직의 검사결과를 Fig. 7B에 나타내었다. NCON 군과 1HCE 군은 세포의 swelling이 일어나서 세포 간극이 좁아져 있다. 특히 PCON 군과 0.5HCE 군에서는 상피세포 일부가 터져버린 모양을 보여주고 있다. NCON 군과 비교시 PCON 군과 0.5HCE 군은 세포의 swelling은 줄어들어 세포 간극은 넓어졌으나 전립선비대에 의해 일어난 관상피 세포의 증식이 감소되지는 않았다. 2HCE 군의 경우 세포 과증식에 의해 두꺼워진 상피세포가 정상적인 수준으로 회복되었고, 간질 조직의 섬유화 또한 감소되었다. 따라서 전립선비대에 의한 방어효과는 HCE 2 mg/kg 이상의 투여용량이 좋을 것으로 판단된다. 감귤의 naringin 성분은 전립선 상피세포의 비대를 개선시킨다는 보고가 있으며[19],

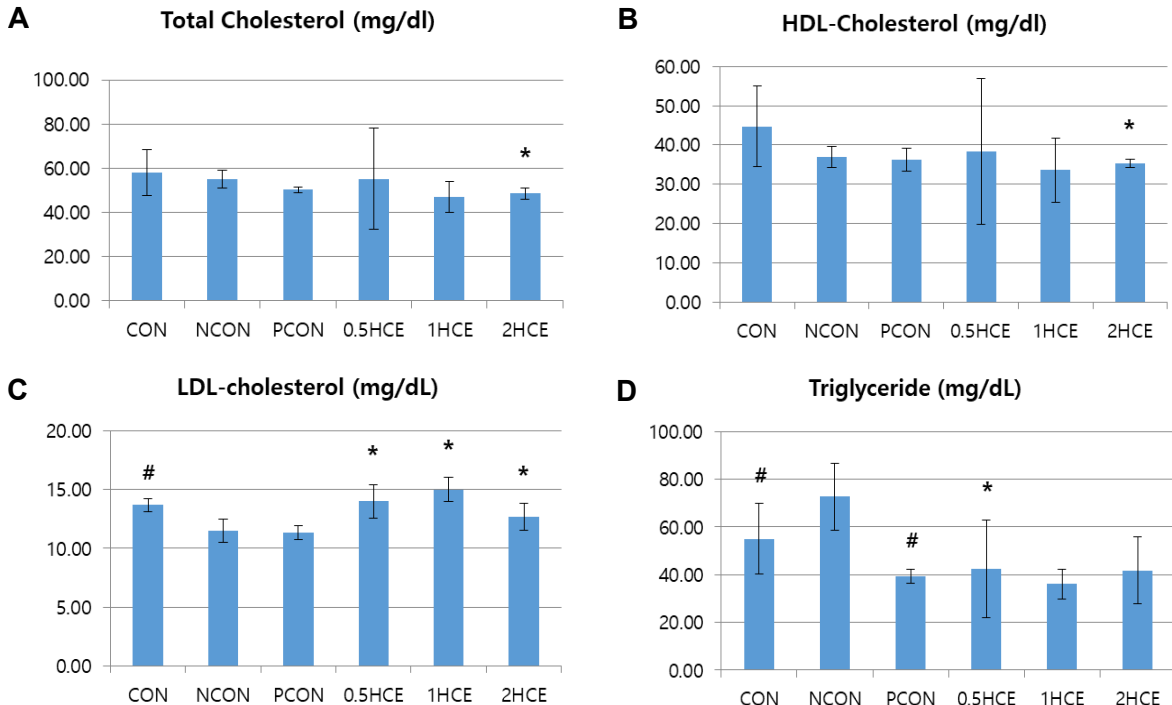


Fig. 6. Levels of (A) Total cholesterol, (B) HDL-cholesterol, (C) LDL-cholesterol, and (E) Triglyceride after HCE intake for 2 weeks. CON: Normal group, NCON: TP injection after castration, PCON: finasteride (5 mg/kg) administration and TP injection after castration, 0.5HCE: HCE (0.5 mg/kg) administration and TP injection after castration, 1HCE: HCE (1 mg/kg) administration and TP injection after castration, 2HCE: HCE (2 mg/kg) administration and TP injection after castration. All the values were expressed as means ± SD. Significant difference from negative control value with # ( $p < 0.5$ ). Significant difference from positive control value with \* ( $p < 0.5$ ).



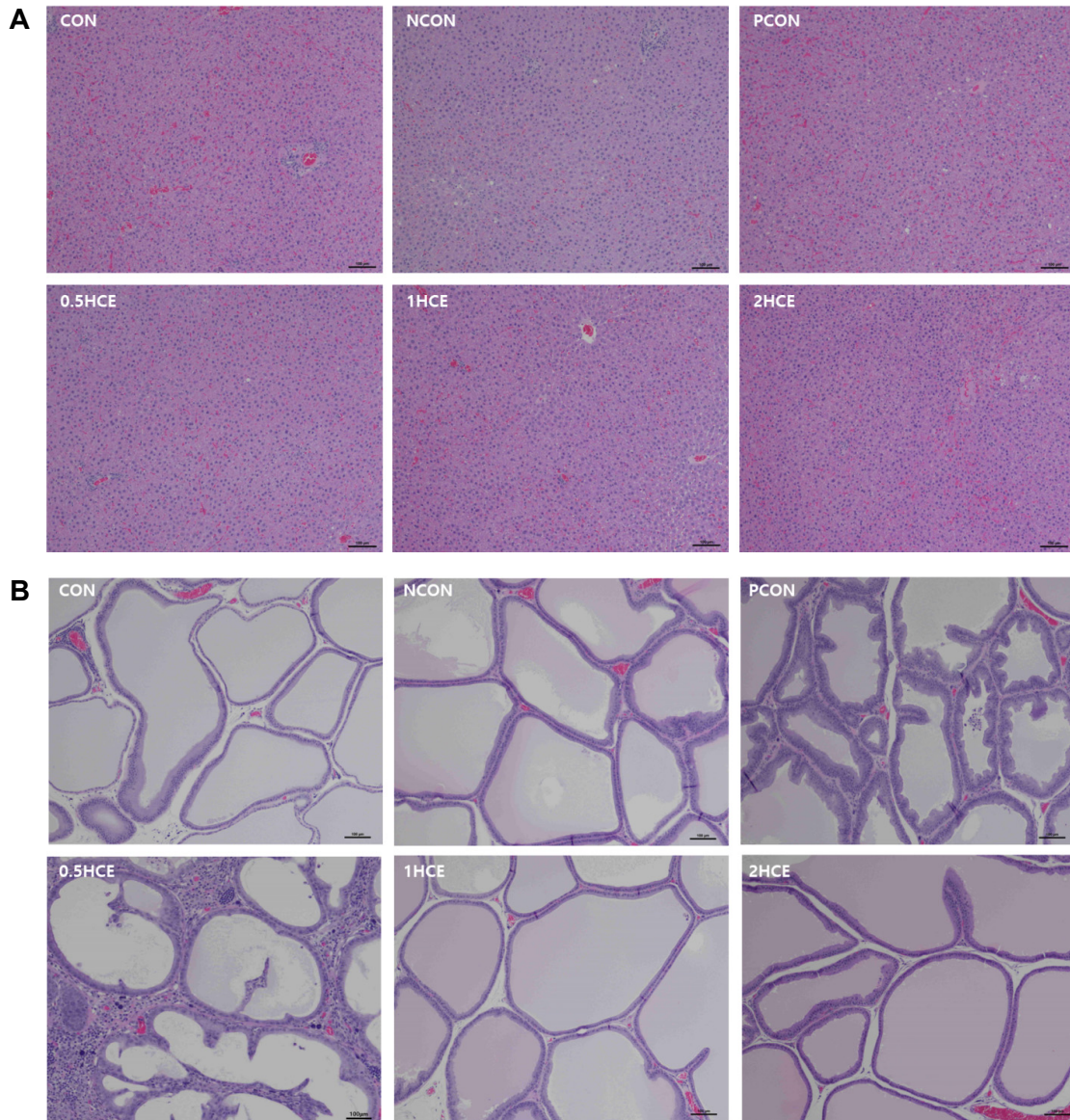


Fig. 7. Histopathological analysis (H&E stains) of liver (X 100) (A) and prostate (X 100) (B) tissue from the rats. CON: Normal group, NCON: TP injection after castration, PCON: finasteride (5 mg/kg) administration and TP injection after castration, 0.5HCE: HCE (0.5 mg/kg) administration and TP injection after castration, 1HCE: HCE (1 mg/kg) administration and TP injection after castration, 2HCE: HCE (2 mg/kg) administration and TP injection after castration.

녹차의 catechin 성분[21]과 산수유 추출물[13] 또한 testosterone에 의한 전립선 상피세포의 과증식을 억제한다고 보고하였다. Catechin, naringin, 산수유 추출물 등에 공통적으로 폴리페놀 성분이 다량 함유되어 있으며, 본 연구에 사용된 어성초 추출물 또한 폴리페놀 성분인 quercetin을 비롯한 생리활성 성분들을 함유하고 있으며 이는 전립선 비대에 의해 변화된 세포들을 정상화하는데 관여했으리라 생각된다.

### 감사의 글

본 연구는 보건복지부의 재원으로 한국보건산업진흥원의

보건의료기술 연구개발사업 지원에 의하여 이루어진 것임(과제고유번호: HI18C2383)

### The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

### References

1. Andriole, G., Bruchovsky, N., Chung, L. W., Matsumoto, A. M., Rittmaster, R., Roehrborn, C., Russell, D. and Tindall,



- D. 2004. Dihydrotestosterone and the prostate: the scientific rationale for 5 $\alpha$ -reductase inhibitors in the treatment of benign prostatic hyperplasia. *J. Urol.* **172**, 1399-1403.
2. Azzouni, F. and Mohler, J. 2012. Role of 5 $\alpha$ -reductase inhibitors in benign prostatic diseases. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* **15**, 222-230.
  3. Bisson, J. F., Hidalgo, S., Rozan, P. and Messaoudi, M. 2007. Therapeutic effect of ACTICOA powder, a cocoa polyphenolic extract, on experimentally induced prostate hyperplasia in Wistar-Unilever rats. *J. Med. Food* **10**, 628-635.
  4. Carson, C. and Rittmaster, R. 2003. The role of dihydrotestosterone in benign prostatic hyperplasia. *Urology* **61**, 2-7.
  5. Choi, B. R., Kim, H. K., Soni, K. K., Karna, K. K., Lee, S. W., So, I. and Park, J. K. 2018. Additive effect of oral IDD175 to tamsulosin and finasteride in a benign prostate hyperplasia rat model. *Drug Des. Devel. Ther.* **12**, 1855-1863.
  6. Choi, H. M., Jung, Y. U., Park, J. B., Kim, H. L., Youn, D. H., Kang, J. W., Jeong, M. Y., Lee, J. H., Yang, W. M., Lee, S. G., Ahn, K. S. and Um, J. Y. 2016. Cinnamomi cortex (cinnamomum verum) suppresses testosterone-induced benign prostatic hyperplasia by regulating 5 $\alpha$ -reductase. *Sci. Rep.* **6**, 31906.
  7. Choi, Y. S., Lee, H. H., Lee, B. H. and Lee, S. Y. 1998. Effects of extracts of *Houttuynia cordata* Thunb on the level of lipids and lipid peroxidation in the liver and serum of cholesterol-fed rats. *Kor. J. Plant. Res.* **11**, 173-178.
  8. El-Demerdash, F. M., Yousef, M. I. and El-Naga, N. I. 2005. Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan-induced diabetic rats. *Food Chem. Toxicol.* **43**, 57-63.
  9. Foot, K. T. 2019. What is a disease? What is the disease clinical benign prostatic hyperplasia (BPH)? *World J. Urol.* **37**, 1293-1296.
  10. Huang, Y., Chen, H., Zhou, X., Wu, X., Hu, E. and Jiang, Z. 2017. Inhibition effects of chlorogenic acid on benign prostatic hyperplasia in mice. *Euro. J. Pharmacol.* **809**, 191-195.
  11. Keam, S. J. and Scott, L. J. 2008. Dutasteride: a review of its use in the management of prostate disorders. *Drugs* **68**, 463-485.
  12. Kim, H. M., Han, S. B., Oh, G. T., Kim, Y. H., Hong, D. H., Hong, N. D. and Yoo, I. D. 1996. Stimulation of humoral and cell mediated immunity by polysaccharide from mushroom *Phellinus linteus*. *Int. J. Immunopharmacol.* **18**, 295-303.
  13. Kwon, D. H., Hwangbo, H., Choi, E. O., Kim, M. Y., Ji, S. Y., Kim, K. I., Park, N. J., Kim, S. O., Hong, S. H., Park, C., Hwang, H. J., Jeong, J. S. and Choi, Y. H. 2018. Effects of *Corni Fructus* on testosterone-induced benign prostatic hyperplasia in sprague dawley rats. *J. Life Sci.* **28**, 1507-1515.
  14. Langan, R. C. 2019. Benign prostatic hyperplasia. *Prime. Care* **26**, 223-232.
  15. Lee, S. J., Choi, H. R., Lee, J. H., Kwon, J. W., Lee, H. K., Jeong, J. T. and Lee, T. B. 2014. Effects of unripe black raspberry extracts on prostate cancer cell line and rat model of benign prostatic hyperplasia. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **43**, 507-515.
  16. Madersbacher, S., Sampson, N. and Culig, Z. 2019. Pathophysiology of benign prostatic hyperplasia and benign prostatic enlargement: A Mini-Review. *Gerontology* **65**, 458-464.
  17. Mobley, D., Feibus, A. and Baum, N. 2015. Benign prostatic hyperplasia and urinary symptoms: Evaluation and treatment. *Prostgrad. Med.* **127**, 301-307.
  18. Moon, J. M., Sung, H. M., Jung, H. J., Seo, J. W. and Wee, J. H. 2017. *In vivo* evaluation of hot water extract of *Acorus gramineus* root against benign prostatic hyperplasia. *BMC Complement. Altern. Med.* **17**, DOI:10.1186/s12906-017-1887-9.
  19. Naresh, K. N., Aparna, B. and Veeresh, B. 2013. Protective effect of naringin on testosterone induced benign prostatic hyperplasia in rats. *Intern. J. Pharm. Res. Scholars* **2**, 239-244.
  20. Nicholson, T. M. and Ricke, W. A. 2011. Androgens and estrogens in benign prostatic hyperplasia: past, present and future. *Differentiation* **82**, 184-199.
  21. Park, D. J., Kang, S. H. and Cho, Y. H. 2006. The antihyperplastic effect of oral catechin ingestion in a rat model of benign prostatic hyperplasia. *Kor. J. Urol.* **47**, 1289-1293.
  22. Park, H. S., Chang, N. S., Kim, E. J., Yun, H. N., Lee, H. J., Lee, B. E., Kim, H. H., Kwon, S. W. and Jeong, Y. J. 2004. Association between nutrient intakes and benign prostate hyperplasia. *Kor. J. Nutr.* **37**, 801-808.
  23. Richard, A., H., Zhong, H. Z., Dai, W., Dai, Q. and Liao, S. 2002. Structure-activity relationships for inhibition of human 5 $\alpha$ -reductases by polyphenols. *Biochem. Pharmacol.* **63**, 1165-1176.
  24. Roehrborn, C. G. 2008. *Pathology* of benign prostatic hyperplasia. *Int. J. Impot. Res.* **20**, 11-18.
  25. Shingnaisui, K., Dey, T., Manna, P. and Kalita, J. 2018. Therapeutic potentials of *Houttuynia cordata* Thunb. against inflammation and oxidative stress: A review. *J. Ethnopharmacol.* **220**, 35-43.
  26. Steers, W. D. 2001. 5 $\alpha$ -reductase activity in the prostate. *Urology* **58**, 17-24.
  27. Traish, A. M. 2012. 5 $\alpha$ -reductases in human physiology: an unfolding story. *Endocr. Pract.* **18**, 965-975.
  28. Van, A. B., Barkin, J. and Elterman, D. S. 2015. Medical therapy for benign prostatic hyperplasia: a review. *Can. J. Urol.* **1**, 7-17.
  29. Ventura, S., Olier, V. L., White, C. W., Xie, J. H., Haynes, J. M. and Exintaris, B. 2011. Novel drug targets for the pharmacotherapy of benign prostatic hyperplasia (BPH). *Br. J. Pharmacol.* **163**, 891-907.
  30. Woodard, T. J., Manigault, K. R., McBurrows, N. N., Wray, T. L. and Woodard, L. M. 2016. Management of benign prostatic hyperplasia in older adults. *Consult. Pharm.* **31**, 412-424.

### 초록 : 전립선 비대증에 대한 *Houttuynia cordata* Thunberg 에탄올 추출물의 최적용량 결정

이진영<sup>1</sup> · 김형희<sup>2</sup> · 강재선<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>경성대학교 약학과, <sup>2</sup>부산대학교 의과대학 의생명연구원)

*Houttuynia cordata* Thunberg는 전통의학에서 다양한 약리학적 작용에 대해 연구되어 왔다. 본 연구에서, 거세 및 테스토스테론 프로피오네이트(TP) 주입에 의해 유도된 양성 전립선 비대증(BPH) 모델에 대한 *Houttuynia cordata* 에탄올 추출물(HCE)의 영향을 조사했다. 총 30마리의 쥐를 6개의 그룹으로 나누었다. 한 그룹은 정상 대조군으로 사용되었고 다른 그룹은 거세 후 14일 동안 복강내 TP를 주입하여 BPH를 유도하였다. 양성 대조군은 BPH 모델에 매일 피나스테라이드(5 mg/kg)를 투여했다. 피나스테라이드 대신 HCE (0.5, 1, 2mg/kg)를 투여한 군은 실험 군으로서 대조군과 비교하였다. 체중 100 g 기준으로 전립선 무게에 대한 통계적 유의성은 없었다. ELISA 검사로 5- $\alpha$  환원효소 및 디하이드록시 테스토스테론(DHT) 농도를 측정하였으며, 모든 실험군에서 유의미한 감소가 있었다. 5- $\alpha$  환원효소의 경우 HCE (0.5 mg/kg) 군이 가장 낮았고, DHT는 HCE (2 mg/kg) 군에서 가장 낮은 수치를 보였다. 전립선에 대한 조직병리학적 관찰에서 대조군과 HCE (2 mg/kg) 투여 군은 정상 세포 형태를 보였고 세포팽창이 없었다. 그러나 음성 대조군과 HCE (1 mg/kg) 군에서는 세포가 부풀어 오르고 세포 사이의 간격이 좁아졌다. 특히 HCE (0.5 mg/kg) 군에서는 일부 세포가 터지는 현상이 나타났다. 따라서 2 mg/kg 이상의 HCE를 투여하는 것이 BPH의 보호 효과에 적합할 것이다.