

박주가리의 강정활성과 재배방법 연구 및
이를 활용한 강정용 건강식품 개발

Studies on Tonic Activity and Cultivation
Method of Milkweed *Metaplexis japonica*
and the Development of Tonic Health
Food from Milkweed

연구기관

한국식품개발연구원

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “박주가리의 강정활성과 재배방법 연구 및 이를 활용한
강정용 건강식품 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2003년 8월 27일

주관연구기관명 : 한국식품개발연구원

총괄연구책임자 : 홍석산

세부과제책임자 : 김영진

세부과제책임자 : 김현구

연 구 원 : 류미라

연 구 원 : 김혜영

연 구 원 : 임성일

연 구 원 : 이영수

연 구 원 : 최일천

연 구 원 : 고국성

연 구 원 : 박영순

연 구 원 : 권석형

연 구 원 : 윤우희

요 약 문

I. 제 목

박주가리의 강정(強精)활성과 재배방법 연구 및 이를 활용한 강정용 건강식품 개발

II. 연구개발의 목적 및 중요성

예전에 나물로 이용되던 박주가리[*Metaplexis japonica* (Thunberg) Makino]의 씨인 나마자(蘿摩子)의 강정활성이 본 연구원에서 수행된 동물시험에서 입증되었으나, 나마자는 수확량이 매우 작다. 植物 생약재의 경우 부위별 생리활성이 비슷한 경우가 많으므로 박주가리의 莖葉과 뿌리의 강정활성도 조사할 필요가 있으며 (1), 예비실험 결과 경엽과 뿌리의 강정활성이 일부 확인되었다. 따라서 박주가리 경엽과 뿌리의 강정활성을 연구하여 이를 씨와 함께 활용하면 박주가리의 재배 생산성이 훨씬 높아질 수 있다. 또한 야생의 박주가는 병충해에 강하고 척박한 토양에서도 잘 자라므로 농가의 고소득 작목이 될 수 있다. 야생의 박주가는 수확이 매우 불편하고, 현재 식품 또는 생약재로 활용되거나 재배되고 있지 않으므로 이의 재배법 연구가 필요하다.

미국의 Pfizer사에서 개발된 Viagra는 두통, 근육통, 위장장애 등의 부작용을 초래하며 심장병 약과 함께 복용될 경우 사망의 원인이 되기도 하며 다른 발기부전 개선제 역시 발기부전의 원인이 되는 혈액순환, 내분비 기능 등에 관련된 신체의 장애를 개선시키지 않고 일시적인 발기를 유도에 초점을 두고 개발되어 사용함에 따라 내성이 생기거나 여러 가지 부작용이 나타날 수 있다. 따라서 심각한 부작용의 위험이 없이 남성 성기능 저하의 원인이 되는 신체의 장애를 근본적으로 개선시키는 국산 생약재 및 식품소재를 활용한 강정용 건강식품의 개발이 필요하다.

III. 연구개발 내용 및 범위

○박주가리 강정활성 조사

- 박주가리 씨, 莖葉 및 뿌리의 영양학적 성분과 단백질 분해효소 특성 조사
- 全草, 씨, 경엽 및 뿌리의 건조 분말과 열수 추출물의 강정활성 조사 (동물실험)
- 박주가리 추출물의 분획별 강정활성 조사 (동물실험)
- 재배된 박주가리와 야생 박주가리의 강정활성 비교 조사 (동물실험)
- 박주가리와 다른 생약재 혼합물의 강정활성 조사 (동물실험)
- 시제품을 성기능이 저하된 성인 남성에게 섭취시키고 강정활성 조사

○박주가리 재배법 연구

- 박주가리의 생육에 적합한 기후 조사
- 박주가리의 생육에 적합한 토질 조사
- 박주가리의 씨, 뿌리 등에 의한 번식법 연구
- 박주가리 수확법 연구

○박주가리를 활용한 강정식품 시제품 개발

- 극성 차이에 의한 용매분획법으로 강정활성 분획 제조
- 활성분획의 열 및 pH 안정성 조사
- 박주가리 활성분획의 추출 및 건조법 연구
- 박주가리를 가공하여 제조된 강정활성 소재와 다른 생약재를 배합하여 강정용 건강식품 시제품 제조

IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

박주가리 씨는 열량, 단백질, 지질, calcium, 인 및 niacin 함량이 높았고, 경엽은 섬유소, 회분, sodium, potassium, vitamin A, β -carotene, vitamin B₁, vitamin B₂, vitamin C 함량 및 단백질 분해효소 활성이 높았다. 또 뿌리에서는 당질과 철 함량이 높았다.

박주가리의 단백질 분해 효소는 분자량이 약 23,000이었다. 최적 pH는 6이었고 pH 5~8 범위에서 안정하였다. 최적 작용 온도는 60℃였고 50℃까지는 대체로 안정하였으나 70℃에서 1시간 열처리시 약 42% 감소하였다. p-chloro mercuric benzoic acid의 저해활성이 가장 커서 0.1 mM 농도에서 약 90%의 저해효과를 보였다. 따라서 박주가리 protease는 활성부위에 SH기가 존재하는 효소로 생각된다. Km 값은 5.68×10^{-4} M이었고, Vmax는 134 $\mu\text{g}/\text{min}$ 이었다.

박주가리(蘿摩)의 씨(蘿摩子), 뿌리(蘿摩根), 경엽(蘿摩莖葉) 모두 韓方에서 남성의 성기능 활성화에 도움을 준다고 알려진 다른 식품소재 및 생약재에 비하여 숫쥐의 교미행동을 크게 활성화시켰다.

박주가리 시료를 열수추출할 경우 씨와 경엽은 강정활성이 크게 감소하였고, 뿌리는 약간 강정활성이 감소하였으나 유의차는 없었다.

박주가리 건조 시료의 경우, 동결건조 시료의 강정활성이 가장 컸고 분무건조 시료, 열풍건조 시료의 순으로 강정활성이 작아졌다.

Atherogenic index는 방풍 투여군이 대조군에 비하여 의미있게 작은 값을 보여 주었다. 혈당농도는 황정 투여군에서 의미있게 감소하였다. Total thyroxine 농도는 오미자 투여군에서 의미있게 증가하였다. Prolactin 농도는 우슬 투여군에서 의미있게 감소하였다. Total testosterone 농도는 산수유, 박주가리 경엽, 토사자, 박주가리 씨, 박주가리 뿌리의 순으로 대조군에 비하여 의미있게 증가하였다.

재배된 박주가리와 야생 박주가는 거의 같은 강정활성을 보였다.

박주가리 전초에 복분자, 구기자, 산수유, 오미자, 백복령, 황기, 사상자, 토사자, 우슬, 박하, 감초, 두충, 홍삼, 해삼, 로얄 젤리, L-arginine, vitamin E, nicotinamide, 산화아연 및 vitamin B₁을 배합하여 밀환을 제조한 결과 박주가의 강정활성이 강화되었다.

Atherogenic index는 밀환 투여군이 대조군에 비하여 의미있게 작은 값을 보여 주었다. 혈당농도도 환 투여군에서 의미있게 감소하였다. Total thyroxine 농도는 환 투여군에서 의미있게 증가하였다. Prolactin 농도는 환 투여군에서 의미있게 감소하였다. Total testosterone 농도는 환, 박주가리 투여군의 순으로 대조군에 비하여 의미있게 증가하였다.

환을 성기능이 저하된 35세 이상의 남성에게 섭취시킨 결과 삽입 횟수와 삽입 후의 발기유지가 개선되었다. International Index에서 발기능의 평균 점수는 강

정식품 섭취전 12.6에서 섭취후 20.7로 64 % 증가하였다. Orgasmic function, 성욕, 성교 만족도 및 전체적 만족도의 평균점수도 강정식품의 섭취에 의하여 의미 있게 증가하였다. 강정식품의 섭취는 4등급 받기 횟수를 증가시켜서 성교에 필요한 받기 (3과 4 등급) 횟수를 96 % 증가시켰다. 성공적 성교 횟수를 20일 동안 평균 2.3회에서 4.7회로 증가시켜서 성공적 성교 비율을 29 %에서 62 %로 높였다.

강정식품의 섭취에 의하여 혈액의 total cholesterol과 LDL-cholesterol이 의미 있게 감소하였으며, 통계적 유의차는 없었지만 HDL-cholesterol 농도가 증가하고 혈당농도가 감소하였다. 혈액의 free thyroxine 농도가 의미 있게 증가하고, 유의차는 없었지만 prolactin 농도가 감소하고 free testosterone 농도가 증가하였다.

야생 박주가리의 생태를 조사한 결과 우리 나라 남한의 전 지역에 고루 분포하고 있어서 남한의 기후가 박주가리의 생육에 적합하며 특별히 까다로운 기후조건을 요구하지 않는다고 생각된다.

야생 박주가리의 생태를 조사한 결과 토심이 깊고 유기물 함량이 많으면서 배수가 잘 되는 砂壤土~식양토(clay loam)에서 씨, 경엽 및 뿌리의 생산량이 많았다.

박주가리의 생육에 적합한 토양의 pH는 6~8의 중성 pH였다.

박주加里 전초 생산을 위한 최적 시비량은 10 a당 퇴비 1,200 kg, 질소 9 kg, 인산 4 kg 및 칼리 5 kg으로 조사되었다.

증식법으로 덩이뿌리를 잘라서 정식하는 절편증식, 종자를 직파하는 직파재배, 그리고 종자를 모판에 파종하여 1년간 육묘한 후 이식하는 육묘이식이 모두 가능하였다.

파종 및 정식에 적합한 시기는 4월 상순이었다. 모가 어릴 때 2회 제초하였고 이후에는 박주가리가 자라 잡초 발생이 억제되었다. 두 번째 제초시 3~4 cm 정도 복토하여 고자리파리의 피해를 예방할 수 있었다. 초장이 15 cm 정도 자랐을 때 지주를 세워 덩굴을 올려줄 경우 경엽의 생산이 59% 증가하였다.

고자리파리, 굼벵이 및 거세미에 의한 피해가 있었으나, 유기인제 입제 농약을 웃거름과 함께 사용하여 효과적으로 줄일 수 있었다.

박주加里 전초 및 경엽의 수확 적기는 7~8월이었다. 나마자의 수확적기는 10월 하순 ~ 11월 초순이었다. 나마근은 정식 후 2~3년째 되는 10~11월이나 다음 해 3~4월에 수확하였다.

박주가리 전초를 수확하거나, 뿌리와 지상부를 따로 수확하여 함께 건조하여 사용하는 것이 경제적이었다.

나마자와 나마경엽의 경우, methanol 추출물과 불용성 분획 모두 강정활성이 추출전에 비하여 크게 감소하였다.

나마근 분획의 강정활성을 조사한 결과 비극성 물질이 나마근의 강정활성에 중요한 역할을 하였다.

나마근 hexane 추출물을 100℃에서 30 분간 열처리하여 강정활성을 조사한 결과 처리전과 같은 활성을 나타내어 활성물질의 열 안정성이 입증되었다.

밀환이 박주가리를 활용한 강정용 기능성 식품으로 가장 적합한 제형이었다. 여러 가공과정중 박주가리 및 그 외 원료의 남성 성기능 개선활성이 대체로 잘 유지되었다.

SUMMARY

1. The milkweed *Metaplexis japonica* group after more frequent mountings with intromission in a shorter time span finished the first ejaculation significantly earlier than the control group did.
2. Oral administration of milkweed facilitated mating behavior of male rats.
3. The milkweed decreased atherogenic index and the levels of glucose and prolactin of blood of male rats and they increased the levels of total thyroxine and total testosterone of blood of male rats.
4. In the assessment of efficacy by using the 15-question International Index of Erectile Function, a validated, multidimensional, self-administered questionnaire used for the clinical assessment of erectile dysfunction and treatment outcomes in clinical studies, tonic health food product made from milkweed and other herbs showed facilitation of mating behavior of male rats and improved sexual function in men with erectile dysfunction.
5. Tonic health food product made from milkweed and other herbs decreased atherogenic index and the levels of glucose and prolactin of blood of man with erectile dysfunction and the product increased the levels of total thyroxine and total testosterone of blood of man with erectile dysfunction.
6. Tonic health food product developed from this study seems to bring about the improvement of general health conditions for its users. Even though the general health promotion effects of this product is hard to quantify, most of users report less fatigue, improved sleeping, better skin conditions, improved memory, and so on.

CONTENTS

Chapter 1	Outline of Research and Development (R & D)	11
Chapter 2	Status of Art Report	13
Chapter 3	Contents and Results of R & D	17
1.	Theoretical and Experimental Approach Methods	17
2.	Scope of R & D	22
3.	Results	23
1)	Tonic Activity of Milkweed	23
2)	Cultivation Method of Milkweed	49
3)	Tonic Health Food Made from Milkweed	53
Chapter 4	Aim Achievement and Contribution to Related Area	59
Chapter 5	Application Plan of R & D Results	61
Chapter 5	References	62

목 차

제1장 연구개발과제의 개요 -----	11
제2장 국내외 기술개발 현황 -----	13
제3장 연구개발 수행 내용 및 결과 -----	17
제1절 이론적, 실험적 접근 방법 -----	17
제2절 연구내용 -----	22
제3절 연구결과 -----	23
1. 박주가리 강정활성 조사 -----	23
2. 박주가리 재배법 연구 -----	49
3. 박주가를 활용한 강정식품 시제품 개발 -----	53
제4장 목표 달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	59
제5장 연구개발 결과의 활용 계획 -----	61
제6장 참고문헌 -----	62

제1장 연구개발과제의 개요

본 연구개발은 박주가리의 강정활성과 재배방법 연구 및 이를 활용한 강정용 건강식품 개발을 그 목적으로 한다.

예전에 나물로 이용되던 박주가리[*Metaplexis japonica* (Thunberg) Makino]의 씨인 나마자(蘿摩子)의 강정활성이 본 연구원에서 수행된 동물시험에서 입증되었으나, 나마자는 수확량이 매우 작다. 植物 생약재의 경우 부위별 생리활성이 비슷한 경우가 많으므로 박주가리의 莖葉과 뿌리의 강정활성도 조사할 필요가 있으며 (1), 예비실험 결과 경엽과 뿌리의 강정활성이 일부 확인되었다. 따라서 박주가리 경엽과 뿌리의 강정활성을 연구하여 이를 씨와 함께 활용하면 박주가리의 재배 생산성이 훨씬 높아질 수 있다. 또한 야생의 박주가는 병충해에 강하고 척박한 토양에서도 잘 자라므로 농가의 고소득 작목이 될 수 있다. 야생의 박주가는 수확이 매우 불편하고, 현재 식품 또는 생약재로 활용되거나 재배되고 있지 않으므로 이의 재배법 연구가 필요하다.

미국의 Pfizer사에서 개발된 Viagra는 두통, 근육통, 위장장애 등의 부작용을 초래하며 심장병 약과 함께 복용될 경우 사망의 원인이 되기도 하며 다른 발기부전 개선제 역시 발기부전의 원인이 되는 혈액순환, 내분비 기능 등에 관련된 신체의 장애를 개선시키지 않고 일시적인 발기를 유도에 초점을 두고 개발되어 사용함에 따라 내성이 생기거나 여러 가지 부작용이 나타날 수 있다. 따라서 심각한 부작용의 위험이 없이 남성 성기능 저하의 원인이 되는 신체의 장애를 근본적으로 개선시키는 국산 생약재 및 식품소재를 활용한 강정용 건강식품의 개발이 필요하다.

세계의 여러 나라에서는 강정효과가 있다고 알려진 고유의 생약재 및 식품소재를 활용하여 강정용 건강식품을 개발하고 이를 관광객들에게 시판하거나 수출상품화하고 있다.

발기부전은 만족스런 성행위에 필요한 발기가 지속적으로 이루어지지 않는 증

상으로, 미국의 경우 3천만명의 남성이 발기부전 증상을 보이고 있는데 (2) 이 증상은 나이에 따라 40대 남성의 39 %, 70대 남성의 67 %의 빈도로 나타나고 있다 (3). 미국의 Pfizer사는 발기부전을 억제하는 Viagra를 개발하여 막대한 외화를 벌고 있으며, Viagra의 미국내 연매출액만도 50억불에 달할 것으로 추산된다.

여러 선진국에서는 국내 시판 및 해외 시장으로의 수출을 목표로 강정용 건강식품 및 의약품의 개발이 활발하게 진행되고 있다. 프랑스에서는 인삼, yam, 박하 등의 천연 생약재 및 식품소재를 원료로 하여 발기부전을 억제하는 강정용 건강식품인 Tigra를 개발하여 국내외에 시판하고 있다.

국내의 강정용 건강식품 및 의약품 시장 규모는 약 1천억원대에 이르고 있으며 대부분의 원료가 수입되고 있다. 현재 국내에서 개발되어 시판되는 강정용 의약품 및 건강식품은 그 효과가 동물 및 임상실험을 통하여 입증되지 않은 것이 대부분이다.

본 연구에서 개발되는 제품의 원료로 쓰이는 박주가리의 생산을 통하여 농촌소득을 증가시킬 수 있으며 국산 농산물의 우수성을 홍보할 수 있다.

환경오염, 사회적 스트레스, 성인병 등의 증가로 인하여 남성의 성기능(性機能)이 저하되어 발기부전(勃起不全), 조루(早漏) 등의 증상이 여러 선진국에서 증가하고 있다. 현대 사회에서 남성의 건강한 性的 능력은 원만한 부부생활을 하기 위한 필수조건이다.

미국의 경우 막대한 연구비를 암, 관절염, 고혈압, 당뇨병, 발기부전 등과 같은 만성 성인병의 연구에 투자하고 있고 많은 의료비가 지출되고 있지만 이들 질환의 치료와 예방이 잘 되지 못하고 있다. 따라서 미국을 비롯한 여러 선진국들은 지금까지 개발된 의약품들에 비하여 비교적 부작용이 적은 생약재 및 식품소재(nutraceuticals)를 이용한 성인병 치료에 대한 관심이 높아지고 있어 생약재 및 식품소재를 원료로 하여 부작용이 없는 강정용 건강식품이 개발되면 이의 수출전망은 매우 밝다.

제2장 국내외 기술개발 현황

성적 자극을 받으면 남성 성기의 해면체에서 nitric oxide (NO)가 생성된다. NO는 guanylate cyclase를 활성화시키고 cyclic guanosine monophosphate (cGMP)의 농도를 높여서 해면체의 평활근을 이완시켜 혈액을 유입시킨다. 미국의 Pfizer사에서 개발되었으며 Sildenafil citrate (Viagra)로 알려진 1-[[[3-(6,7-dihydro-1-methyl-7-oxo-3-propyl-1H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-5-yl)-4-ethoxyphenyl]sulfonyl]-4-methylpiperazine citrate는 해면체에서 cGMP를 분해시키는 phosphodiesterase type 5 (PDE5)를 억제하여 NO의 효과를 증가시킨다. 1998년 FDA의 승인과 함께 시판된 sildenafil(Viagra)를 복용하고 약 1시간이 지나면 60-80%의 환자가 성적 자극과 함께 발기를 일으킨다. Sildenafil은 정신적 또는 관상동맥 질환, 말초혈관 질환, 당뇨병, 우울증, 관상동맥 우회 이식, 급격한 전립선 절제수술, 요도 경유 전립선 절제, 척추 손상 등의 모든 물리적 요인에 의한 발기부전에 효과적이다. 또한 Sildenafil은 항우울제, 항정신병약, 항고혈압제 및 이뇨제의 복용에 의한 발기부전에도 효과적이다. 부작용으로 두통, 근육통, 홍조, 소화불량, 鼻充血, 색맹, 광 민감성, 시력 저하 등을 수반하며 심장병 약과 함께 복용될 경우 사망의 원인이 되기도 한다. 가격도 좀 비싸서 1정당 \$ 8-12이다.

우리 나라의 태평양 제약에서 시판하고 있으며 육종용, 계피, 세신 등의 생약재를 원료로 하여 제조된 SS크림 등 다른 발기부전 개선제 역시 발기부전의 원인이 되는 혈액순환, 내분비 기능 등에 관련된 신체의 장애를 개선시키지 않고 일시적인 발기를 유도에 초점을 두고 개발되어 사용함에 따라 내성이 생기거나 여러 가지 부작용이 나타날 수 있다.

프랑스에서는 천연 생약재 및 식품소재를 원료로 하여 발기부전을 억제하는 강정용 건강식품인 Tigra를 개발하여 시판중이며 개당 가격이 약 2,200원으로 개당 가격이 약 8,700~12,500원인 Viagra에 비해 싸다. 티그라의 원료는 인삼, 멕시코

강장제인 damiana, 노화방지제 DHEA의 원료인 야생감자 yam, 정향유, 항우울 효과가 있는 박하 등 천연물이며 Viagra에서 나타나는 부작용이 없다고 한다.

본 연구원에서 한방(韓方) 및 민간요법에서 강정효과가 있다고 알려진 60여 종의 식품소재 및 상품의 생약재 시료가 경구투여된 male Wistar rat의 강정활성을 조사하기 위하여 암컷이 넣어진 후부터 최초 사정후 삽입(intromission)까지의 관찰 결과 mounting latency (암컷이 넣어진 후부터 처음 mounting with or without intromission까지의 경과 시간)는 세신, нама자(박주가리 씨) 및 오미자군의 순으로 대조군에 비하여 의미있게 감소하였다 (8, 9). Intromission latency (암컷이 넣어진 후부터 처음 삽입까지의 시간)는 нама자, 육종용, 토사자, 산수유, 인삼, 지골피, 오미자, 백자인, 해삼, 복분자 및 두충군의 순으로 감소하였다. Inter-intromission period (연속된 두 삽입 간의 평균 시간)는 нама자, 토사자, 육종용, 산수유, 인삼, 지골피, 백자인, 해삼, 복분자, 오미자, 우슬, 건지황군의 순으로 감소하였다. Ejaculatory latency (처음 삽입과 처음 사정 사이의 시간)는 인삼, 세신, нама자, 방풍, 지골피, 두충, 산수유, 오미자, 육종용, 토사자, 해삼, 백자인, 복분자, 황정군의 순으로 감소폭이 컸다. Postejaculatory interval (처음 사정과 직후 삽입 사이의 시간)은 нама자군이 대조군에 비하여 의미있게 감소하였다. Incidence of mounting without intromission은 нама자, 인삼, 음양곽, 원지, 육종용군의 순으로 작은 값을 보였다. 이상의 결과는 생약재 투여군이 대조군에 비하여 짧은 시간에 여러 번의 mounting with intromission과 첫 번째 사정을 하였음을 나타내고 있다.

45분간 mountings with or without intromission과 incidence of ejaculations를 조사한 결과 Incidence without intromission은 음양곽, нама자, 원지, 인삼, 방풍군의 순으로 대조군에 비하여 의미있게 감소하였다. Incidence with intromission은 нама자, 지골피, 해삼, 토사자, 인삼, 복분자, 산수유, 오미자, 방풍, 백자인, 음양곽, 두충군의 순으로 큰 값을 보였다. Incidence of ejaculation은 нама자, 육종용, 지골피, 해삼, 인삼, 토사자, 산수유, 복분자, 방풍군의 순으로 대조군에 비하여 큰 값을 보였다. 생약재 투여에 의하여 45분간의 mounting without intromission 횟수가 감소하고 mounting with intromission과 사정 횟수가 증가하였다. 이상의 결과들은 여러 생약재의 투여에 의하여 숫쥐의 교미 행동이 활성화됨을 나타내고

있다.

특히 본 연구를 통하여 박주가리 씨인 나마자가 우수한 강정용 건강식품 소재임이 밝혀졌다.

Bromelain은 pineapple의 단백질 분해 효소인데 fibrin의 축적을 예방한다. Fibrin의 축적은 Peyronie's disease에서 성기의 섬유성 결합조직의 비대요인으로 알려져 있다. 또한 bromelain은 최근 동맥경화를 예방, 억제하는 건강식품의 제조에 많이 활용되고 있다. 박주가리에는 protease 활성이 있음이 예비실험 결과 확인되어 이의 특성을 조사하고 bromelain과 비교하여 이를 강정식품으로 활용하는 방법이 앞으로 연구되어야 할 것이다 (10).

음위(陰痿)의 가장 일반적 원인은 순환기 질환이다. 음경 동맥의 경화는 발기부전을 보이는 50대 이후의 남성 중 약 절반에게서 가장 중요한 원인이다 (2). 동맥경화는 동맥의 혈관 벽에 cholesterol, 지방질 및 세포 조각이 쌓여서 굳어지는 현상이다. 발기부전이 순환기 이상에 의한 것이라면 심혈관 위험 요인인 cholesterol을 줄여야 한다. 여러 가지 내분비계와 hormone의 이상이 발기부전을 유발한다. 가장 일반적인 이상이 당뇨병인데 당뇨병은 동맥경화와 음위를 일으키는 신경손상의 위험인자이다. 음위와 관련된 비교적 흔한 내분비계 이상에는 갑상선 기능저하, prolactin 증가 및 testosterone 감소 (생식기능 저하)가 있다 (5).

시료의 경구투여가 흰쥐의 atherogenic index와 혈액의 포도당, total thyroxine, prolactin 및 total testosterone 농도에 미치는 영향을 조사한 결과 혈액의 총 cholesterol 및 HDL-cholesterol 농도로부터 계산된 atherogenic index $[(\text{total cholesterol} - \text{HDL-cholesterol})/\text{HDL-cholesterol}]$ 는 방풍 투여군이 대조군에 비하여 의미있게 작은 값을 보여 주었다. 혈당농도는 황정 투여군에서 의미있게 감소하였다. Total thyroxine 농도는 오미자 투여군에서 의미있게 증가하였다. Prolactin 농도는 우슬 투여군에서 의미있게 감소하였다. Total testosterone 농도는 산수유, 육종용, 토사자, 나마자의 순으로 대조군에 비하여 의미있게 증가하였

다. 특히 모든 투여군에서 모든 측정치가 생리학적으로 안전한 범위에 있어서 조사된 시료가 장기간 섭취하여도 안전한 건강식품 소재로 쓰일 수 있음이 입증되었다.

제3장 연구개발수행 내용 및 결과

제1절 이론적, 실험적 접근방법

- 대부분의 생약재는 수많은 화합물들이 복합적으로 작용하여 생리활성을 나타낸다. 많은 연구에도 불구하고 韓方의 대표적 생약재인 인삼과 녹용도 활성성분이 명확히 밝혀지지 않고 있다. 생약재로부터 활성성분을 분리정제하여 사용하면 생체 이용률의 감소 등에 의해 생리활성이 감소하거나 조금 많은 양을 섭취할 경우 부작용이 나타나는 것으로 알려져 있다. 따라서 생약재를 활용한 건강식품 제조의 경우 생약재로부터 분리정제된 활성성분을 사용하는 것보다 조추출물을 사용하는 것이 효과나 안전성 면에서 유리할 수 있다.

박주가리는 sarcostin, metaplexigenin, deacylcynanchogenin, gagaminine 등을 함유하고 있는데, 특히 steroidal alkaloid인 gagaminine은 aldehyde oxidase 활성과 지질의 과산화를 억제하는 항노화 물질이다 (4). 본 연구에서는 박주가리 조추출물의 강정활성을 연구하여 이를 활용한 강정용 건강식품을 개발하고자 하였다.

- 박주가리의 부위별 일반 영양소, 비타민, 광물질 및 amino 산 함량을 조사하였다.

- 음경동맥의 경화는 발기부전을 보이는 50대 이후의 남성 중 약 절반에게서 가장 중요한 원인이 되고 있다 (2). Pineapple 유래 단백질 분해효소인 Bromelain은 fibrin의 축적을 예방한다 (5). 따라서 bromelain은 최근 동맥경화를 예방, 억제하는 건강식품의 제조에 많이 활용되고 있다. 박주가리에는 protease 활성이 있음이 예비실험 결과 확인되었다. 박주가리의 protease 활성을 조사하기 위하여 부위별 조단백질 추출물을 제조하고 hemoglobin을 기질로 하여 proteinase 활성을 측정하였다. 또한 박주가리 protease의 특성을 조사하여 bromelain과 비교하였다.

- Male Wistar rat (5-6 주령, 체중 180-240 g)와 receptive female rat를 사용하여 시료의 강정활성을 조사하였다 (6, 11).

시료는 3주간 1일 2회 경구투여되었다.

암컷의 인위적 발정을 유도하기 위하여 estradiol 결정 (Sigma)을 목과 가슴의 피하에 주입하였다.

교미 행동을 관찰하기 위하여 앞 벽과 천장이 투명한 반원통형 cage를 사용하며 붉은 색 전구를 cage 위에 매달아 cage 내부를 비추었다.

교미 행동은 마지막 시료 투여 1일후 밤에 조사된다. Male rat를 관찰 cage에 넣어 7-8 분간 적응시킨 뒤 receptive female을 넣고 45 분간 교미를 관찰하였다. 먼저 (a) 삽입이 없는 mounting (incidence of mounting without intromission, incidence of pelvic thrust without vaginal penetration) 빈도, (b) 삽입이 동반된 mounting 빈도 (incidence of mounting with intromission), (c) mounting 잠복기 (mounting latency: 암컷이 넣어진 후 첫 번 mounting with or without intromission 까지의 경과 시간), (d) 삽입 잠복기 (intromission latency: 암컷이 넣어진 후 첫 번 삽입까지의 시간), (e) 삽입간(挿入間) 시간 (inter-intromission period: 연속된 두 삽입간의 평균 시간), (f) 사정 잠복기 (ejaculatory latency: 첫 번 삽입과 첫 번 사정 사이의 시간), (g) 사정 후 시간 (postejaculatory interval: 첫 번 사정과 직후 삽입 사이의 시간)이 조사되었다. (g) 사정 후 시간 조사 후에는 (a) 삽입이 없는 mounting 빈도, (b) 삽입이 동반된 mounting 빈도, (c) 사정빈도(incidence of ejaculation)가 조사되었다.

마지막 시료투여후 하룻밤 절식시키고 혈액을 채취하여 총 cholesterol, HDL-cholesterol 및 포도당 농도를 분석하였다 (12, 13). Atherogenic index는 (total cholesterol - HDL-cholesterol)/HDL cholesterol 식으로 계산되었다 (14). Total thyroxine, total testosterone 및 prolactin은 radioimmunoassay 법으로 측정되었다 (15, 16).

측정치는 Duncan's multiple range test로 분석되어 M±SEM으로 표시되었거나 Student's t-test로 분석되어 M±SE으로 표시되었다 (17).

- 이상의 박주가리 생리활성 연구결과를 종합하여 박주가리 강정활성의 생화학적 기전을 연구하였다.

- 박주가리의 재배법을 개발하기 위하여 그의 생태를 조사하고 이를 박주가리의

재배에 적합한 기후와 토질 결정 및 번식법 연구를 위한 기초자료로 활용하였다. 또한 재배된 박주가리와 야생 박주가리의 강정활성을 비교 조사하였다.

- 박주가를 활용한 강정용 건강식품을 제조하기 위하여 박주가의 강정활성이 가장 잘 유지된 활성분획을 만들고, 선행연구에서 조사된 바와 같이 제품의 강정활성을 높일 수 있는 인삼, 황정, 오미자, 우슬, 산수유 등의 추출물을 배합하였다.

- 본 연구를 통하여 개발된 강정용 건강식품의 효과가 성기능이 저하된 35세 이상의 남성 50명 [본 과제의 참여기업인 (주)렉스진바이오텍의 모기업인 약국 franchise (주)온누리건강을 통하여 선발] 을 대상으로 조사되었다. 개발 강정식품과 僞藥(placebo)을 30일간 7 g씩 하루 3회 섭취시키면서 섭취 20일 후부터 20일간의 강정활성을 섭취 전 20일간과 비교하였다.

발기부전과 그 치료결과의 임상평가에 사용되는 15-question International Index of Erectile Function (a validated, multidimensional, self-administered questionnaire, 표 1) 중 질문 3 (삽입 빈도)과 질문 4 (삽입후의 발기유지)를 이용하여 강정활성을 평가하였다 (7). 두 질문에 대하여 1(거의 안 되거나 결코 안 됨)부터 5(거의 되거나 항상 됨)까지 점수를 매겨 답하게 하였다. 점수 0은 성교가 시도되지 않았음을 의미하였다. 실험군과 비슷한 연령분포를 지닌 40인 정상군의 두 질문에 대한 평균 점수는 4.4이었다. 또한 International Index에 있는 남성 성기능의 5 분야에서 강정활성이 조사되었다. 즉, 발기능 (erectile function: 질문 1~5, 15; 가능 총점 1~30), 절정능 (orgasmic function: 질문 9, 10; 가능 총점 0~10), 성욕 (질문 11, 12; 가능 총점 2~10), 성교 만족도 (질문 6~8; 가능 총점 0~15), 전체적 만족도 (질문 13, 14; 가능 총점 2~10)의 5 분야에서 강정활성이 조사되었다. 각 분야의 점수는 각 질문에 대한 점수를 더하여 얻어졌다. 또한 강정식품의 섭취자에게 event log를 기록하게 하여 강정활성을 조사하였는데, 여기에서는 성적자극 유무(有無), 발기 강도 (4등급), 예 또는 아니오로 응답되는 성교의 성공도와 전체적 효능 질문 (“강정식품 섭취가 발기를 개선시켰는가?”)이 조사되었다. International Index의 결론은 응답의 크기, 전체적 효능 질문 및 효과를 정성적으로 분석한 event log로 정량화되었다. 부작용은 연구자에 의하여 기록되었다.

강정식품의 섭취가 끝난 후 하룻밤 절식시키고 채혈하여 총 cholesterol, HDL-cholesterol, 중성 지질 및 포도당 농도를 분석하였다 (18). LDL-cholesterol 은 $[\text{total cholesterol} - (\text{HDL-cholesterol} + \text{중성 지질}/5)]$ 식으로 계산하였다 (19). Free thyroxine, free testosterone 및 prolactin은 radioimmunoassay 법으로 측정하였다.

측정치는 Student's t-test로 분석되며 $M \pm SE$ 으로 표시되었다.

Table 1. Individual items of International Index of Erectile Function Questionnaire and response options

Question	Response Options
Q1: How often were you able to get an erection during sexual activity?	0 = No sexual activity 1 = Almost never/never
Q2: When you had erections with sexual stimulation, how often were your erections hard enough for penetration?	2 = A few times (much less than half the time) 3 = Sometimes (about half the time) 4 = Most times (much more than half the time) 5 = Almost always/always
Q3: When you attempted sexual intercourse, how often were you able to penetrate (enter) your partner?	0 = Did not attempt intercourse 1 = Almost never/never 2 = A few times (much less than half the time)
Q4: During sexual intercourse, <u>how often</u> were you able to maintain your erection after you had penetrated (entered) your partner?	3 = Sometimes (about half the time) 4 = Most times (much more than half the time) 5 = Almost always/always
Q5: During sexual intercourse, <u>how difficult</u> was it to maintain your erection to completion of intercourse?	0 = Did not attempt intercourse 1 = Extremely difficult 2 = Very difficult 3 = Difficult 4 = Slightly difficult 5 = Not difficult
Q6: How many times have you attempted sexual intercourse?	0 = No attempt 1 = One attempt 2 = Two to three attempts 3 = Four to five attempts 4 = Six to seven attempts 5 = Eight+ attempts

- Q7: When you attempted sexual intercourse, how often was it satisfactory for you?
- 0 = Did not attempt intercourse
 1 = Almost never/never
 2 = A few times (much less than half the time)
 3 = Sometimes (about half the time)
 4 = Most times (much more than half the time)
 5 = Almost always/always
- Q8: How much have you enjoyed sexual intercourse?
- 0 = No intercourse
 1 = No enjoyment
 2 = Not very enjoyable
 3 = Fairly enjoyable
 4 = Highly enjoyable
 5 = Very highly enjoyable
- Q9: When you had sexual stimulation or intercourse, how often did you ejaculate?
- Q10: When you had sexual stimulation or intercourse, how often did you have the feeling of orgasm or climax?
- 0 = Did not attempt intercourse
 1 = Almost never/never
 2 = A few times (much less than half the time)
 3 = Sometimes (about half the time)
 4 = Most times (much more than half the time)
 5 = Almost always/always
- Q11: How often have you felt sexual desire?
- 1 = Almost never/never
 2 = A few times (much less than half the time)
 3 = Sometimes (about half the time)
 4 = Most times (much more than half the time)
 5 = Almost always/always
- Q12: How would you rate your level of sexual desire?
- 1 = Very low/none at all
 2 = Low
 3 = Moderate
 4 = High
 5 = Very high
- Q13: How satisfied have you been with your overall sex life?
- Q14: How satisfied have you been with your sexual relationship with your partner?
- 1 = Very dissatisfied
 2 = Moderately dissatisfied
 3 = About equally satisfied and dissatisfied
 4 = Moderately satisfied
 5 = Very satisfied

Q15: How do you rate your confidence that
you could get and keep an erection?

1 = Very low
2 = Low
3 = Moderate
4 = High
5 = Very high

제2절 연구내용

○박주가리 강정활성 조사

- 박주가리 씨, 莖葉 및 뿌리의 영양학적 성분과 단백질 분해효소 특성 조사
- 全草, 씨, 경엽 및 뿌리의 건조 분말과 열수 추출물의 강정활성 조사 (동물실험)
- 박주가리 추출물의 분획별 강정활성 조사 (동물실험)
- 재배된 박주가리와 야생 박주가리의 강정활성 비교 조사 (동물실험)
- 박주가리와 다른 생약재 혼합물의 강정활성 조사 (동물실험)
- 시제품을 성기능이 저하된 성인 남성에게 섭취시키고 강정활성 조사

○박주가리 재배법 연구

- 박주가리의 생육에 적합한 기후 조사
- 박주가리의 생육에 적합한 토질 조사
- 박주가리의 씨, 뿌리 등에 의한 번식법 연구
- 박주가리 수확법 연구

○박주가리를 활용한 강정식품 시제품 개발

- 극성 차이에 의한 용매분획법으로 강정활성 분획 제조
- 활성분획의 열 및 pH 안정성 조사
- 박주가리 활성분획의 추출 및 건조법 연구
- 박주가리를 가공하여 제조된 강정활성 소재와 다른 생약재를 배합하여 강정용 건강식품 시제품 제조

제3절 연구결과

1. 박주가리 강정활성 조사

박주가리의 일반 성분을 분석하기 위하여 수분은 105°C 상압가열건조법, 조지방 함량은 soxhlet 추출법, 조단백질 함량은 semimikrokjeldahl법 (Kjeltec 1030 Autoanalyzer, Tecator, Sweden)으로 측정된 질소량에 질소계수 6.25를 곱하여 산출하였으며, 조섬유 함량은 H₂SO₄-NaOH 분해법 (Fibertec System M 1020 Hot Extract, Tecator, Sweden)으로, 조회분은 직접 회화법으로 측정하였다. 또한 총량에서 조회분, 조단백질, 조지방 및 조섬유의 양을 뺀 값을 당질 양으로 나타내었다 (21).

무기질을 분석하기 위하여 각 원소의 표준용액 농도를 0.1 ppm, 1.0 ppm, 10.0 ppm의 3 수준으로 조제하여 표준 검량곡선을 작성하였으며 매 10개의 시료 측정 후 검량곡선을 재작성하여 실험하였다 (22). 이 때 ICP-AES (Inductively coupled plasma, JY38 PLUS, ISA Instrument S.A., France)의 작동조건은 power: 1 KW for aqueous, nebulizer pressure: 3.5 bars for meinhard type C, aerosol flow rate: 0.3 l/min, sheath gas flow: 0.3 l/min, cooling gas: 12 l/min이었으며, 각 무기질의 검출 파장은 Ca: 393.366, Na: 588.995, K: 766.490, Fe: 238.204, P: 213.618 nm이었다.

비타민 B₁의 분석을 위하여 시료 약 3 g을 25 ml 정용 플라스크에 넣고 여기에 이동상 용액 (1 mM hexanesulfonic acid sodium salt in 100 mM KH₂PO₄ (pH 3.0) : MeOH = 98 : 2) 20 ml을 넣어 수욕조에서 초음파로 약 10분간 처리한 다음 정용하였다. 이를 10,000 x g로 10분간 원심분리하여 그 상등액을 0.45 µm membrane filter로 여과시킨 후 분석시료로 사용하였다. 분석에 사용한 칼럼은 µ-bondapak C₁₈, 온도는 35°C, 이동상은 1 mM hexanesulfonic acid sodium salt in

100mM KH_2PO_4 (pH 3.0) : MeOH = 98 : 2, 유속은 1.0 ml/min이었으며, 검출기는 UV 250 nm를 사용하였고 시료 주입량은 10 μl 였다 (23).

비타민 B₂의 분석은 시료 2 g에 증류수 80 ml을 넣어 80°C의 수욕상에서 30분간 추출한 후 100 ml로 정용하여 0.45 μm membrane filter로 여과시킨 뒤 HPLC로 분석하였다. 칼럼은 YMC-Pack polyamine II (4.6 mm i.d. x 250 mm), 칼럼 온도는 40°C, 용매는 MeOH : 10 mM NaH_2PO_4 (pH 5.5) = 35 : 65, 유속은 0.8 ml/min이었고, 형광검출기 (Ex.: 445 nm, Em.: 530 nm)를 사용하였으며 시료 주입량은 10 μl 였다 (24).

비타민 C의 분석은 추출용액 100 ml에 비타민 C의 함량이 1.5 - 2.5 mg이 되도록 시료를 취하여 5 %의 metaphosphoric acid로 저온에서 신속히 추출해서 분석시료를 제조하였다. 1, 2, 3 mg %의 ascorbic acid 용액을 제조하여 표준 검량곡선을 작성하였다. HPLC 칼럼은 YMC-Pack polyamine II (4.6 mm i.d. x 250 mm) 이었으며, 온도는 40°C, 용매는 acetonitrile/50 mM $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 용매의 이동 속도는 1.0 ml/min, 시료주입량은 20 μl 였으며 검출기는 UV 254 nm를 사용하였다 (25).

동결건조된 박주가리 씨, 莖葉 및 뿌리의 영양학적 성분과 단백질 분해효소 활성을 표 2에 나타내었다. 씨는 열량, 단백질, 지질, calcium, 인 및 niacin 함량이 높았고, 경엽은 섬유소, 회분, sodium, potassium, vitamin A, β -carotene, vitamin B₁, vitamin B₂, vitamin C 함량 및 단백질 분해효소 활성이 높았다. 또 뿌리에서는 당질과 철 함량이 높았다.

박주가리 경엽을 waring blender로 갈아 5배의 0.2 M phosphate buffer (pH 6.0)를 가하고 12 hr 동안 흔들여 단백질 분해효소를 용출시킨 후 8,000 x g에서 30 분간 원심분리하여 supernatant를 취하였다. 70% 포화 ammonium sulfate를 가하여 효소 단백질을 응집, 침전시키고 8,000 x g에서 30 분간 원심분리하여 조효소로 사용하였다.

조효소를 0.2 M phosphate buffer (pH 6.0)로 투석한 후 저온실에서

Table 2. Contents of nutrients and protease (per 100g edible portion) in milkweed *Metaplexis japonica*

	Seed	Aerial stem and leaves	Root
Calories	495	245	298
Moisture(%)	4.8	7.5	9.9
Protein(g)	18.2	17.3	14.5
Fat(g)	45.7	4.1	0.6
Nonfibrous carbohydrates (g)	12.9	49.2	65.8
Fiber(g)	10.9	11.6	5.5
Ash(mg)	4.8	12.7	4.1
Calcium(mg)	1,079	926	231
Phosphorus(mg)	559	427	379
Iron(mg)	10.7	17.1	35.1
Sodium(mg)	3	452	55.2
Potassium(mg)	423	1,821	996
Vitamin A(R.E.)	4	7,650	0
β -carotene(μ g)	17	44,200	0
Vitamin B ₁ (mg)	0.68	1.22	0.19
Vitamin B ₂ (mg)	0.18	1.65	0.64
Niacin(mg)	5.3	0	1.3
Vitamin C (mg)	0	228	8
Proteolytic activity (CDU ¹)	0	730,000	2,950

¹Casein digesting unit.

DEAE-cellulose column (3 x 50 cm)을 사용하여 0~1 M NaCl linear gradient 와 0.65 ml/min의 유속으로 7 ml/tube을 용출하였고, 활성분획을 다시 Sephadex G-150 column (2 x 60 cm)에서 0.5 ml/min의 유속으로 5 ml/tube을 용출하였다.

효소활성 측정은 Anson-Hakihara 변법을 이용하여 측정하였으며, 효소활성 단위는 효소액 1 ml이 1분간 생성하는 tyrosine의 μ g으로 정했다 (20)

단백질은 Lowry 등의 방법에 따라 bovine serum albumin을 표준 단백질로 하여 정량했다 (26).

Davis 법에 의해 7.5 % polyacrylamide gel로 3 mA로 4 시간동안 실온에서 전기영동했다 (27). 전기영동 후 gel은 1% amido black 10-B로 염색하여 7% acetic acid로 탈색했다.

정제 protease의 분자량은 Weber와 Osborn의 방법에 따라 sodium dodesyl sulfate (SDS) - polyacrylamide gel electrophoresis로 측정했다 (28). 1% SDS와 1% 2-mercaptoethanol을 함유한 0.01 M phosphate buffer로 용해하여 37°C에서 3 시간 전기영동하였다. 전기영동 후 Rm 값에 따라 표준곡선을 이용하여 분자량을 측정했으며, 표준품으로 bovine serum albumin (66,000), egg albumin (45,000), pepsin (37,000), trypsinogen (24,000), β -lactoglobulin (18,400) 및 lysozyme (14,300)을 사용했다.

박주가리 경엽에서 얻은 조효소를 24 시간 투석하여 농축한 결과 수율은 58.7 %였고 정제도는 3.3 배였다 (표 3). 농축된 효소 단백질을 DEAE-cellulose column을 이용한 ion-exchange chromatography한 결과 그림 1과 같이 약 0.97 M NaCl에서 활성 단백질이 용출되었고 (67-71번 tube) 이 때의 수율은 41.7 %였고 정제도는 13.1 배였다. 활성 분획을 Sephadex G-150 column으로 gel filtration한 결과 그림 2와 같이 1 개의 단백질 peak가 나타났으며 20-40 번 분획에서 효소 활성이 나타났고, 활성 분획은 모아서 농축한 뒤 동결건조하였다. 이 때 수율은 36.3 %였고 정제도는 20.1 배였다.

효소의 정제 여부를 판단하기 위해 Davis 법에 따라 7.5% polyacrylamide gel로 전기영동을 한 결과 단일 band를 나타내었다.

Table 3. Purification of protease from milkweed

Purification steps	Total protein (mg)	Total activity (units)	Yield (%)	Specific activity (units/mg)	Purification (fold)
Crude extract	512	8,217	100	16.0	1
Ammonium sulfate precipitation	92.3	4,826	58.7	52.3	3.3
DEAE-cellulose	16.4	3,428	41.7	209.0	13.1
Sephadex G-150	9.3	2,986	36.3	321.1	20.1

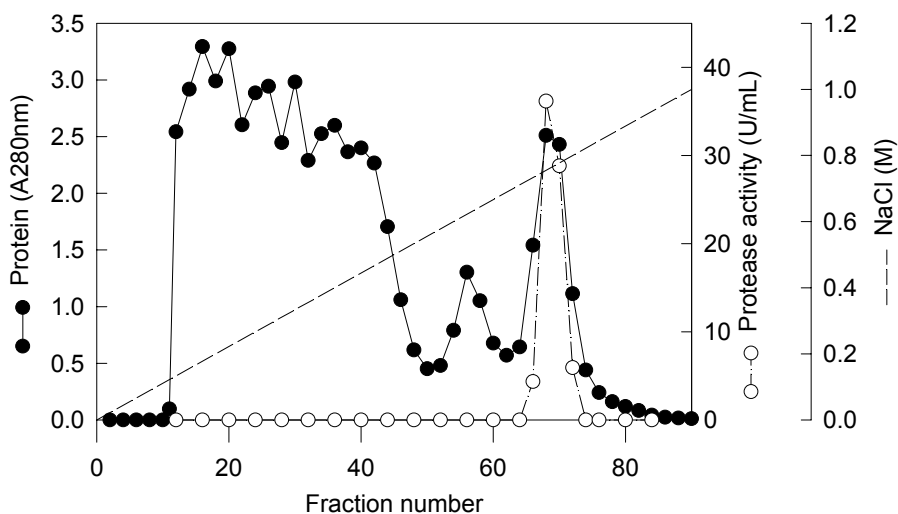


Fig. 1. Purification profile of protease from milkweed on DEAE-cellulose column. The enzyme was eluted with a linear gradient of NaCl (0 – 0.5 M) concentration. Protein content in the fractions was analyzed at 280 nm in spectrophotometer.

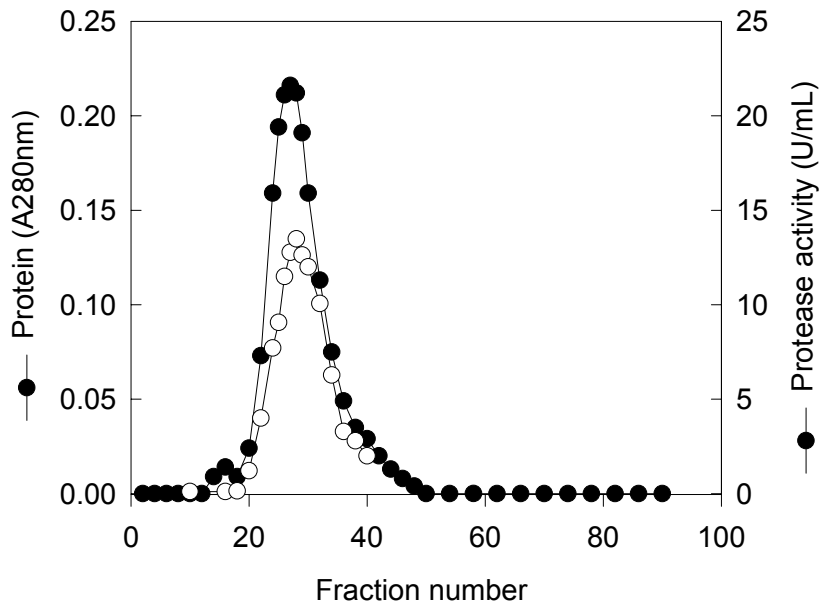


Fig. 2. Purification profile of protease from milkweed on Sephadex G-150 column.

정제된 효소는 Weber와 Osborn의 방법에 따라 전기영동을 실시한 결과 그림 3에서와 같이 분자량이 약 23,000 정도로 측정되었다. Murachi 등이 보고한 bromelain의 분자량 33,000보다 적었다 (29).

pH의 영향을 조사하기 위하여 pH 2.0-12.0 범위의 universal buffer에서 효소와 기질을 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 효소활성을 측정하였다. pH 안정

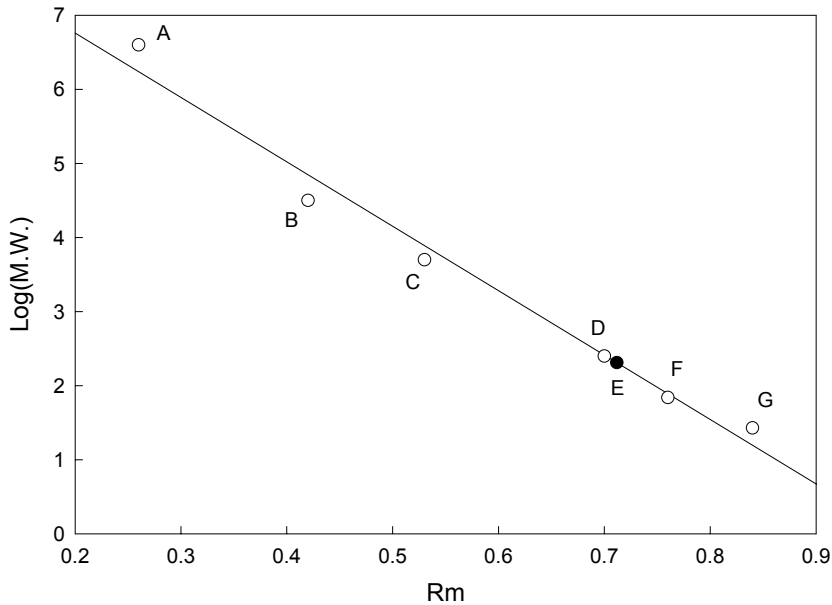


Fig. 3. The calibration curve for the determination of molecular weight of milkweed by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis.

Molecular mass markers: A, bovine serum albumin (66,000 Da); B, egg albumin (45,000 Da); C, pepsin (37,000 Da); D, trypsinogen (24,000 Da); E, protease from milkweed; F, β -lactoglobulin (18,400 Da); G, lysozyme (14,300 Da).

성을 조사하기 위하여 pH 2.0-12.0 범위에서 효소액을 30°C로 1시간 처리한 후 pH 5.0으로 환원시킨 다음, 37°C에서 30분간 효소액과 기질을 반응시켜 잔존 효소 활성을 측정하였다.

온도의 영향을 조사하기 위하여 pH 5.0의 0.1M sodium citrate buffer와 효소

및 기질을 혼합한 후, 20, 30, 40, 50, 60, 70°C의 온도에서 반응시켜 효소활성을 측정하였다. 온도 안정성을 조사하기 위하여 각 온도에서 효소를 1 시간 처리한 후, 기질과 혼합하여, 37°C에서 30분간 반응시켜 잔존 효소활성을 측정하였다.

저해제의 영향을 조사하기 위하여 0.5 ml의 각종 저해제 10 mM 용액과 0.5 mL의 효소액을 섞어 30°C에서 1 시간 반응시킨 다음 잔존 효소활성을 측정하였다.

박주가리 protease의 활성 및 안정성에 대한 pH의 영향을 조사한 결과, 최적 pH는 6이었고 pH 5~8 범위에서 안정하였다 (그림 4).

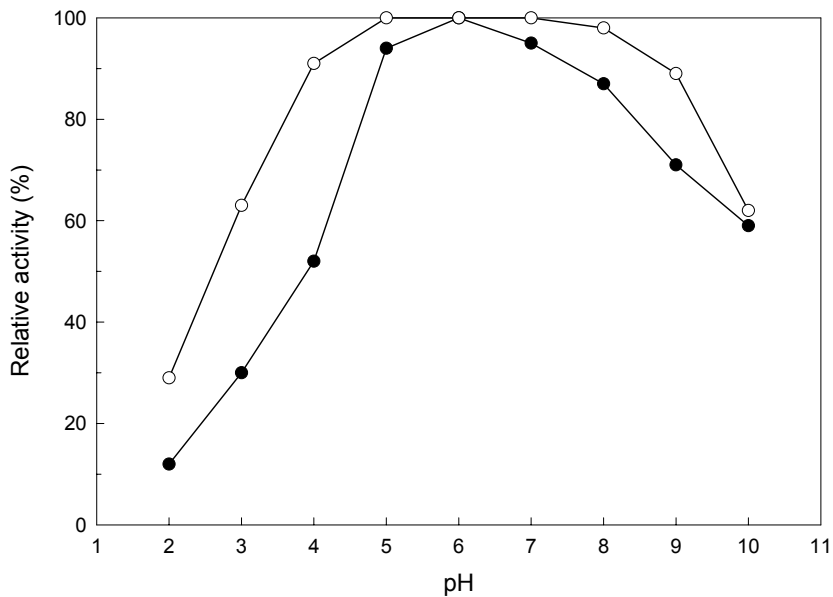


Fig. 4. Effect of pH on activity (●) and stability (○) of protease from milkweed.

박주가리 protease의 활성 및 안정성에 대한 온도의 영향을 조사한 결과, 최적 작용 온도는 60°C였고 50°C까지는 대체로 안정하였으나 70°C에서 1시간 열처리시 약 42°C 감소하였다 (그림 5).

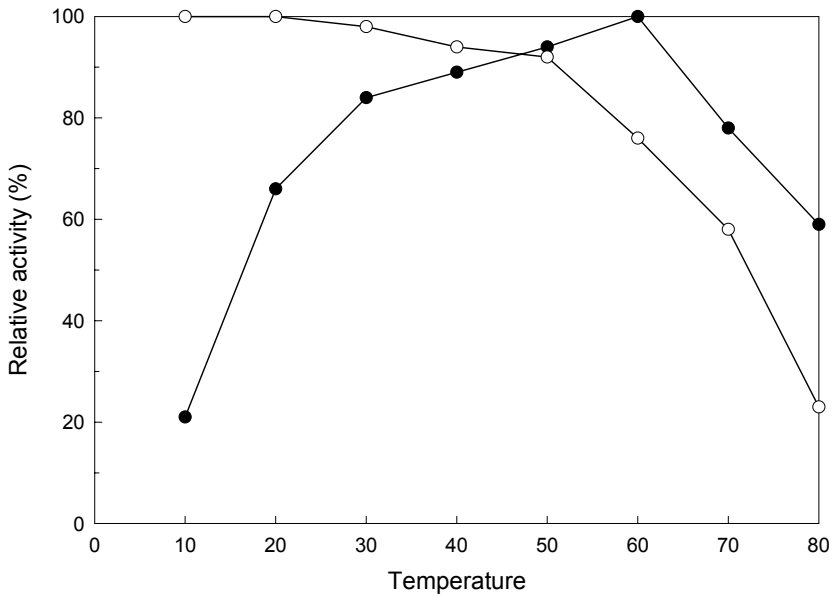


Fig. 5. Effect of temperature (°C) on activity (●) and stability (○) of protease from milkweed.

저해제가 효소활성에 미치는 영향을 표 4와 5에 나타내었다. p-chloro mercuric benzoic acid의 저해활성이 가장 커서 0.1 mM 농도에서 약 90%의 저해효과를 보였다. 따라서 박주가리 protease는 활성부위에 SH기가 존재하는 효소로 생각된다.

본 효소의 기질에 대한 친화력을 조사하기 위하여 Lineweaver-Burk plot로 Km 값을 측정된 결과 Fig. 6에 나타난 바와 같이 5.68×10^{-4} M이었고, Vmax는 134 $\mu\text{g}/\text{min}$ 이었다.

Table 4. Effect of various inhibitors on protease from milkweed

Inhibitor	Relative activity (%)
Control	100
p-Chloro mercuric benzoic acid	2.3
2,4-Dinitrophenol	92.5
Aminocaproic acid	99.3
Ethylenediamine tetraacetic acid	103.4

Table 5. Effect of PCMB (p-Chloro mercuric benzoic acid) concentration on protease from milkweed

Concentration (mM)	Relative activity (%)
Control	100
0.01	75.7
0.1	9.1
1	7.2
10	1.9

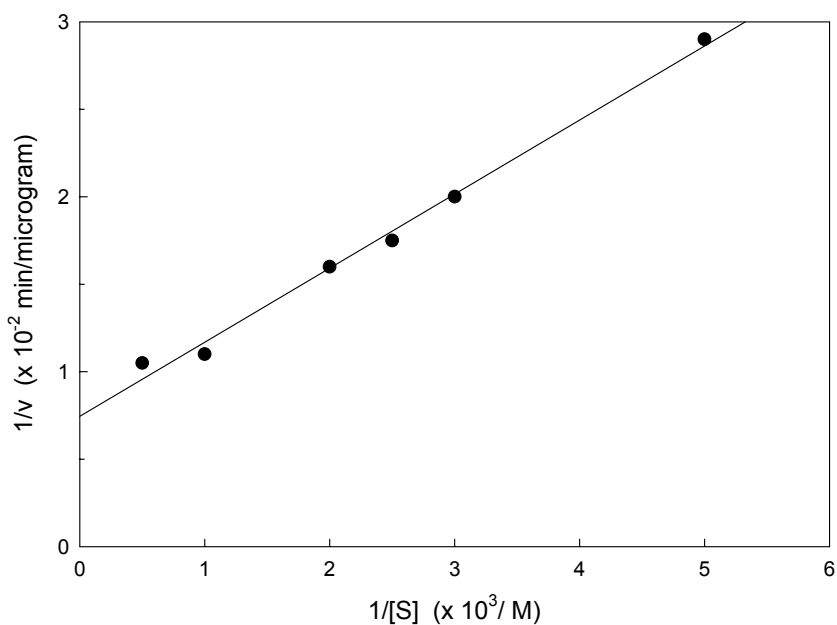


Fig. 6. The Lineweaver-Burk plot for the hydrolysis of Hammarsten milk casein by the purified protease from milkweed.

이상의 결과는 박주가리 경엽에 함유된 단백질 분해효소가 bromelain과 유사한 특성을 지니고 있음을 보여주고 있다. Bromelain은 pineapple의 단백질 분해 효소인데 fibrin의 축적을 예방한다 (5). Fibrin의 축적은 Peyronie's disease에서 성기의 섬유성 결합조직의 비대요인으로 알려져 있다. 또한 bromelain은 최근 동맥경화를 예방, 억제하는 건강식품의 제조에 많이 활용되고 있다. 따라서 박주가리 경엽의 protease가 강정활성에 기여할 것으로 생각되며 (10), 아울러 건강식품을 제조하기 위하여 수입되는 bromelain을 대체할 수 있다고 판단된다.

표 6, 7 및 8은 estradiol로 발정이 유도된 암쥐에 대하여 박주가리(蘿摩) 시료

분말과 韓方에서 남성의 성기능 활성화에 도움을 준다고 알려진 다른 식품소재 및 생약재가 3주간 경구투여된 숫쥐의 교미행동(강정활성)을 조사한 것이다. 시료의 1일 투여량은 매주 쥐의 체중을 측정하여 사람의 1일 섭취 허용량과 사람과 쥐의 평균 대사체중(체중^{3/4}) 비율로부터 환산하였는데 사람의 평균 체중은 65 kg, 사람의 시료 1일 섭취 허용량은 본초학 문헌에서 조사되었다 (10, 32, 33). 약 2.5 ml의 시료가 3주 동안 1일 2회 경구투여되었다. 박주가리(蘿摩)의 씨(蘿摩子), 뿌리(蘿摩根), 경엽(蘿摩莖葉) 모두 韓方에서 남성의 성기능 활성화에 도움을 준다고 알려진 다른 식품소재 및 생약재에 비하여 숫쥐의 교미행동을 크게 활성화시킨 것으로 보아 우수한 강정활성을 지니고 있다고 생각된다.

박주가리 건조 시료의 경우, 동결건조 시료의 강정활성이 가장 컸고 분무건조 시료, 열풍건조 시료의 순으로 강정활성이 작아졌다. 특히 나마자의 경우 건조방법별 강정활성의 차이가 가장 컸다. 이 결과는 박주가리 시료의 강정활성을 나타내는 물질들 중에 산화에 의하여 그 활성이 소실되는 성분이 있을 가능성을 보여주고 있다.

박주가리 시료를 열수추출할 경우 씨와 경엽은 강정활성이 크게 감소하였고, 뿌리는 약간 강정활성이 감소하였으나 유의차는 없었다 (표 9). 따라서 박주가리 씨와 경엽은 추출하지 말고 건조, 분쇄하여 사용하는 것이 좋고, 뿌리는 건조, 분쇄하거나 추출하여 사용할 수 있다고 생각된다. 특히 박주가리 경엽의 경우, 열수추출시 단백질 분해 효소 활성의 소실이 강정활성 감소의 한 요인으로 생각된다.

음위의 가장 일반적 원인은 순환기 질환이다. 음경 동맥의 경화는 발기부전을 보이는 50대 이후의 남성 중 약 절반에게서 가장 중요한 원인이다 (2). 동맥경화는 동맥의 혈관 벽에 cholesterol, 지방질 및 세포 조각이 쌓여서 굳어지는 현상이다. 동맥경화에 의한 발기부전은 심장병 또는 뇌졸중의 전조(前兆)이다. 동맥경화는 심장이나 남성 성기의 동맥을 포함한 전신에서 발생한다. 발기부전이 순환기 이상에 의한 것이라면 심혈관 위험 요인인 cholesterol, triglyceride, 혈압, 비만, 운동 부족 및 흡연을 줄여야 한다. 여러 가지 내분비계와 hormone의 이상이 발기부전을 유발한다. 가장 일반적인 이상이 당뇨병인데 당뇨병은 동맥경화와 음위를 일으

Table 6. Effects of *Metaplexis japonica* and herbs on male mating behavior observed in the period between introduction of a female and the first postejaculatory intromission¹

Herbal name	ML(sec) ²	IL(sec) ³	IIP(sec) ⁴	EL(sec) ⁵
Control	13.4±1.2 ^c	25.8±1.5 ^e	27.7±1.7 ^e	470.0±61.3 ^d
牛膝	13.6±1.3 ^c	19.0±1.4 ^{cd}	20.2±1.6 ^{cd}	455.2±20.5 ^d
細辛	8.1±1.0 ^a	24.9±1.6 ^e	25.1±2.1 ^e	162.9±51.7 ^{ab}
柏子仁	13.3±0.8 ^c	18.3±1.1 ^{cd}	18.1±1.5 ^c	332.8±45.0 ^c
蘿藦莖葉	12.1±1.1^c	13.9±1.2^b	14.5±1.4^b	300.5±60.1^{bc}
山茱萸	12.9±0.9 ^c	14.2±1.6 ^{bc}	14.6±1.2 ^b	287.9±39.9 ^{bc}
兔絲子	10.6±0.8 ^{bc}	14.1±1.3 ^{bc}	14.4±1.1 ^b	301.7±30.3 ^{bc}
黃精	13.2±0.7 ^c	24.5±1.7 ^e	24.0±2.0 ^{de}	389.4±27.4 ^c
杜冲	13.5±1.3 ^c	20.1±1.0 ^d	21.9±1.9 ^{de}	267.9±31.7 ^{bc}
人蔘	11.5±0.7 ^{bc}	14.6±1.2 ^{bc}	15.0±0.9 ^b	155.3±24.4 ^a
防風	12.5±0.8 ^c	22.8±1.8 ^{de}	23.1±1.3 ^{de}	238.9±42.7 ^b
地骨皮	12.8±1.1 ^c	14.8±1.0 ^{bc}	16.8±1.4 ^{bc}	267.4±42.1 ^{bc}
蘿藦根	8.5±1.0^{ab}	10.2±0.7^a	10.4±0.8^a	168.9±33.2^{ab}
遠志	14.0±1.2 ^c	23.5±1.5 ^e	24.4±1.6 ^e	421.5±72.0 ^{cd}
白茯苓	13.0±0.9 ^c	23.3±1.6 ^e	24.1±2.1 ^{de}	407.1±58.5 ^{cd}
乾地黃	12.8±1.1 ^c	21.1±1.9 ^{de}	21.7±1.6 ^d	386.4±58.7 ^{cd}
五味子	10.1±0.7 ^b	17.0±1.7 ^c	19.9±1.7 ^{cd}	289.2±42.3 ^{bc}
海蔘	12.4±1.2 ^c	18.7±1.5 ^{cd}	18.2±1.6 ^c	311.2±49.4 ^{bc}
覆盆子	12.7±0.5 ^c	18.8±1.4 ^{cd}	18.9±1.4 ^{cd}	341.0±43.8 ^c
蘿藦子	8.3±1.0^a	10.6±1.3^a	10.5±0.7^a	152.5±26.6^a
淫羊藿	13.6±0.9 ^c	25.1±2.0 ^e	25.6±1.2 ^e	461.1±73.3 ^d

¹Values are means±SEM, n=7. Within a column, values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

²Mounting latency. ³Intromission latency. ⁴Inter-intromission period. ⁵Ejaculatory latency.

Table 7. Effects of *Metaplexis japonica* and herbs on male mating behavior observed in the period between introduction of a female and the first postejaculatory intromission¹

Herbal name	PI(sec) ²	IM - I ³	IM + I ⁴
Control	371.5±51.1 ^b	4.9±1.3 ^e	16.0±1.4
牛膝	318.6±47.9 ^{ab}	3.2±1.4 ^{cde}	16.1±1.5
細辛	367.5±60.5 ^b	4.1±1.6 ^{de}	15.8±1.6
柏子仁	302.1±46.6 ^{ab}	2.8±0.9 ^{cde}	16.3±1.4
蘿摩莖葉	297.0±41.4^{ab}	2.5±0.8^{cd}	15.9±1.6
山茱萸	301.4±49.3 ^{ab}	3.0±1.1 ^{cde}	16.2±1.8
兔絲子	287.1±43.8 ^{ab}	2.9±1.4 ^{cde}	15.5±1.2
黃精	342.6±55.0 ^{ab}	4.3±1.6 ^{de}	14.4±1.1
杜沖	320.0±50.4 ^{ab}	4.0±1.3 ^{de}	16.3±0.9
人蔘	286.0±56.6 ^{ab}	0.5±0.4 ^{ab}	14.5±1.0
防風	328.9±53.7 ^{ab}	4.2±0.8 ^e	14.9±1.1
地骨皮	314.7±44.6 ^{ab}	3.8±2.0 ^{cde}	16.0±1.2
蘿摩根	252.9±40.2^a	0.2±0.1^a	15.6±1.5
遠志	332.1±59.4 ^{ab}	2.0±0.3 ^c	14.8±1.7
白茯苓	345.2±52.9 ^{ab}	4.3±1.3 ^{de}	16.1±1.4
乾地黃	299.8±55.0 ^{ab}	3.5±1.4 ^{cde}	16.2±1.3
五味子	273.3±53.5 ^{ab}	3.4±0.6 ^{de}	15.8±1.2
海蔘	299.2±53.5 ^{ab}	3.3±1.0 ^{cde}	15.7±1.4
覆盆子	311.5±67.3 ^{ab}	3.0±0.5 ^{de}	16.5±1.6
蘿摩子	264.6±46.4^{ab}	1.1±0.3^b	14.3±1.7
淫羊藿	360.1±63.1 ^b	0.8±0.4 ^b	15.8±1.0

¹Values are means±SEM, n=7. Within a column, values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

²Postejaculatory interval. ³Incidence of mounting without intromission. ⁴Incidence of mounting with intromission.

Table 8. Effects of *Metaplexis japonica* and herbs on male mating behavior observed for 45 minutes after introduction of a female¹

Herbal name	IM - I ²	IM + I ³	IM±I ⁴	IE ⁵
Control	11.7±2.0 ^c	30.1±2.1 ^a	41.8±2.5 ^{bc}	3.2±0.5 ^a
牛膝	5.8±2.8 ^{abc}	35.0±2.0 ^{ab}	40.8±2.6 ^b	4.0±0.4 ^{abc}
細辛	10.3±2.1 ^c	32.3±2.3 ^{ab}	42.6±2.9 ^{bc}	3.9±0.6 ^{abc}
柏子仁	8.1±1.3 ^{bc}	36.9±1.9 ^b	35.0±3.0 ^a	4.2±0.5 ^{abc}
蘿藦莖葉	7.9±1.9^{bc}	40.3±2.0^{bc}	48.2±2.7^{cd}	5.2±0.4^c
山茱萸	7.0±2.1 ^{abc}	39.8±2.5 ^{bc}	46.8±3.1 ^c	4.3±0.3 ^{bc}
兔絲子	6.8±2.3 ^{abc}	41.4±2.4 ^c	48.2±2.9 ^{cd}	4.4±0.2 ^{bc}
黃精	8.2±2.9 ^{bc}	32.7±2.2 ^{ab}	40.9±2.5 ^b	3.4±0.2 ^a
杜冲	8.0±2.2 ^{bc}	36.0±2.3 ^b	44.0±2.8 ^{bc}	3.6±0.3 ^{ab}
人蔘	4.5±0.8 ^a	41.3±2.1 ^c	45.8±2.4 ^{bc}	4.7±0.4 ^{bc}
防風	6.7±1.3 ^b	37.3±2.4 ^{bc}	44.0±3.1 ^{bc}	4.1±0.2 ^b
地骨皮	6.1±3.4 ^{abc}	43.4±2.0 ^{cd}	49.5±4.0 ^{cd}	5.0±0.5 ^c
蘿藦根	4.0±1.0^a	47.4±2.8^d	51.4±3.5^{cd}	5.3±0.6^c
遠志	4.5±0.7 ^a	30.0±3.0 ^a	34.5±3.6 ^a	3.6±0.4 ^{ab}
白茯苓	8.5±2.1 ^{bc}	31.3±2.5 ^{ab}	39.8±3.3 ^{ab}	3.5±0.3 ^a
乾地黃	8.4±2.3 ^{bc}	32.8±2.7 ^{ab}	41.2±4.0 ^{abc}	3.7±0.3 ^{ab}
五味子	7.7±1.5 ^{bc}	39.4±2.6 ^{bc}	47.2±2.9 ^c	3.9±0.4 ^{ab}
海蔘	7.5±2.2 ^{bc}	42.0±2.1 ^c	49.5±2.3 ^{cd}	4.9±0.5 ^c
覆盆子	7.3±0.9 ^{bc}	41.3±2.9 ^c	48.6±4.1 ^{cd}	4.2±0.3 ^{bc}
蘿藦子	5.1±1.0^{ab}	49.0±3.0^d	54.1±3.9^d	5.4±0.3^c
淫羊藿	3.9±1.1 ^a	36.4±2.2 ^{bc}	40.3±2.9 ^{ab}	3.4±0.4 ^a

¹Values are means±SEM, n=7. Within a column, values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

²Incidence of mounting without intromission.

³Incidence of mounting with intromission.

⁴Incidence of mounting with & without intromission. ⁵Incidence of ejaculation.

Table 9. Effects of Freeze-dried powders and hot water extracts of *Metaplexis japonica* on male mating behavior observed in the period between introduction of a female and the first postejaculatory intromission¹

	ML(sec) ²	IL(sec) ³	IIP(sec) ⁴	EL(sec) ⁵
Aerial part				
FDP ⁶	12.1±1.1	13.9±1.2	14.5±1.4	300.5±60.1
HWE ⁷	12.9±0.9	20.2±1.6*	21.6±1.2*	425.9±39.9*
Root				
FDP	8.5±1.0	10.2±0.7	10.4±0.8	168.9±33.2
HWE	9.0±1.2	11.5±1.5	12.4±1.6	181.5±72.0
Seed				
FDP	8.3±1.0	10.6±1.3	10.5±0.7	152.5±26.6
HWE	11.6±0.9*	17.1±2.0*	19.6±1.2*	398.1±73.3*

¹Values are means±SE, n=7.

²Mounting latency. ³Intromission latency. ⁴Inter-intromission period. ⁵Ejaculatory latency.

⁶Freeze-dried powder. ⁷Hot water extract.

**P*<0.05 for the comparison between freeze-dried powder and hot water extract of the same sample.

키는 신경손상의 위험인자이다. 음위와 관련된 비교적 흔한 내분비계 이상에는 갑상선 기능저하, prolactin 증가 및 testosterone 감소 (생식기능 저하)가 있다.

표 10은 시료가 경구투여된 숫쥐의 atherogenic index와 혈액의 포도당, total thyroxine, prolactin 및 total testosterone 농도를 조사한 것이다. 혈액의 총 cholesterol 및 HDL-cholesterol 농도로부터 계산된 atherogenic index는 방풍 투여군이 대조군에 비하여 의미있게 작은 값을 보여 주었다. 혈당농도는 황정 투여

군에서 의미있게 감소하였다. 실제로 황정은 보약이나 당뇨병(소갈)에 쓰는 것으로 알려져 있다. Total thyroxine 농도는 오미자 투여군에서 의미있게 증가하였다. Prolactin 농도는 우슬 투여군에서 의미있게 감소하였다. Total testosterone 농도는 산수유, 박주가리 경엽, 토사자, 박주가리 씨, 박주가리 뿌리의 순으로 대조군에 비하여 의미있게 증가하였다. 특히 모든 투여군에서 모든 측정치가 생리학적으로 안전한 범위에 있어서 조사된 시료가 장기간 섭취하여도 안전한 강정식품 소재로 쓰일 수 있음이 입증되었다. 이상의 결과는 박주가리와 위의 실험에서 서로 다른 강정활성을 보인 여러 식품소재 및 생약재를 잘 배합하면 우수한 강정용 기능성 식품이 개발될 수 있는 가능성을 보여 주고 있다.

표 11은 재배된 박주가리와 야생 박주가리 전초의 강정활성을 비교한 것이다. 재배된 박주가리와 야생 박주가는 거의 같은 강정활성을 보였다.

박주가리 전초에 복분자, 구기자, 산수유, 오미자, 백복령, 황기, 사상자, 토사자, 우슬, 박하, 감초, 두충, 홍삼, 해삼, 로얄 젤리, L-arginine, vitamin E, nicotinamide, 산화아연 및 vitamin B₁을 배합하여 분말, 과립, 정(錠), capsule 및 밀환(蜜丸) 형태로 제조해 본 결과 환제(丸劑)가 사람이 섭취하기에 가장 적당하였다. 표 12와 13은 박주가리 전초에 복분자, 구기자, 산수유, 오미자, 백복령, 황기, 사상자, 토사자, 우슬, 박하, 감초, 두충, 홍삼, 해삼, 로얄 젤리, L-arginine, vitamin E, nicotinamide, 산화아연 및 vitamin B₁을 배합하고 꿀로 제환한 시료를 male Wistar rat에 경구투여하여 강정활성을 조사한 것이다. 암컷이 넣어진 후부터 최초 사정후 삽입까지의 관찰 결과 대조군에서 암컷이 넣어진 때부터 첫 번째 postejaculatory intromission까지의 시간은 다른 연구 결과와 비슷하였다 (9). 이상의 결과는 시료 투여군이 대조군에 비하여 짧은 시간에 여러 번의 mounting with intromission과 첫 번째 사정을 하였음을 나타내고 있다. 이러한 현상은 환 시료에서 더욱 크게 나타나서 여러 천연물, 비타민 및 무기질의 배합에 의해 숫쥐의 교미 행동이 활성화됨을 나타내고 있다.

Table 10. Effects of *Metaplexis japonica* and herbs on atherogenic index (AI) and the level of glucose, total thyroxine, prolactin, and total testosterone in blood of male rats¹

Herbal name	AI ²	Glucose (mg/dl)	Total thyroxine (µg/dl)	Prolactin (ng/ml)	Total testosterone (ng/ml)
Control	2.4±0.2 ^b	146±3 ^{bc}	3.6±0.1 ^{ab}	16±1 ^b	4.23±0.22 ^a
牛膝	2.4±0.1 ^b	145±2 ^{bc}	4.0±0.2 ^{bc}	12±2 ^a	4.49±0.34 ^{ab}
細辛	2.3±0.1 ^b	147±2 ^c	3.7±0.2 ^{abc}	15±1 ^{ab}	4.30±0.29 ^{ab}
柏子仁	2.2±0.3 ^{ab}	143±1 ^b	3.6±0.1 ^{ab}	17±1 ^b	4.33±0.3 ^{ab}
蘿藦莖葉	2.4±0.1^b	148±2^c	3.7±0.1^b	13±2^{ab}	4.90±0.25^b
山茱萸	2.5±0.1 ^b	145±5 ^{abc}	3.8±0.1 ^{bc}	14±1 ^{ab}	4.92±0.40 ^b
兔絲子	2.3±0.3 ^{ab}	141±4 ^{abc}	3.5±0.2 ^{ab}	14±2 ^{ab}	4.88±0.24 ^b
黃精	2.4±0.2 ^b	139±2 ^a	3.6±0.2 ^{ab}	18±2 ^b	4.41±0.31 ^{ab}
杜冲	2.1±0.2 ^{ab}	140±3 ^{ab}	3.6±0.1 ^{ab}	15±1 ^{ab}	4.50±0.35 ^{ab}
人參	2.5±0.1 ^b	147±2 ^c	3.7±0.1 ^b	16±1 ^b	4.59±0.36 ^{ab}
防風	2.0±0.1 ^a	144±4 ^{abc}	3.6±0.1 ^{ab}	17±2 ^b	4.24±0.28 ^a
地骨皮	2.1±0.2 ^{ab}	143±2 ^{abc}	3.5±0.2 ^{ab}	18±2 ^b	4.57±0.29 ^{ab}
蘿藦根	2.2±0.1^{ab}	144±2^{bc}	3.8±0.2^{bc}	15±1^{ab}	4.84±0.26^b
遠志	2.3±0.2 ^{ab}	143±3 ^{abc}	3.4±0.1 ^a	17±2 ^b	4.20±0.31 ^a
白茯苓	2.4±0.1 ^b	144±5 ^{abc}	3.5±0.1 ^{ab}	17±1 ^b	4.21±0.34 ^a
乾地黃	2.5±0.3 ^b	148±2 ^c	3.6±0.2 ^{ab}	18±1 ^b	4.19±0.36 ^a
五味子	2.6±0.2 ^b	141±6 ^{abc}	4.1±0.2 ^c	14±2 ^{ab}	4.26±0.33 ^{ab}
海參	2.5±0.2 ^b	147±2 ^c	3.6±0.1 ^{ab}	15±1 ^{ab}	4.25±0.21 ^a
覆盆子	2.3±0.1 ^b	145±2 ^{bc}	3.9±0.1 ^{bc}	13±2 ^{ab}	4.62±0.34 ^{ab}
蘿藦子	2.5±0.2^b	148±3^c	3.8±0.2^{bc}	15±1^{ab}	4.86±0.32^b
淫羊藿	2.2±0.1 ^{ab}	145±2 ^{bc}	3.5±0.2 ^{ab}	18±2 ^b	4.18±0.18 ^a

¹Values are means±SEM, n=7. Within a column, values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

²(Total cholesterol - HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol.

Table 11. Effects of whole plants of cultivated and wild milkweed *Metaplexis japonica* on male mating behavior observed in the period between introduction of a female and the first postejaculatory intromission¹

	ML(sec) ²	IL(sec) ³	IIP(sec) ⁴	EL(sec) ⁵
Control	13.4±1.2 ^b	25.8±1.5 ^b	27.7±1.7 ^b	470.0±61.3 ^b
Cultivated milkweed	8.5±1.0 ^a	10.2±0.7 ^a	10.4±0.8 ^a	168.9±33.2 ^a
Wild milkweed	8.3±1.0 ^a	10.6±1.3 ^a	10.5±0.7 ^a	152.5±26.6 ^a

¹Values are means±SEM, n=7. Within a column, values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

²Mounting latency. ³Intromission latency. ⁴Inter-intromission period. ⁵Ejaculatory latency.

Table 12. Effects of milkweed and a pill made from milkweed and other herbs on male mating behavior observed in the period between introduction of a female and the first postejaculatory intromission¹

	ML(sec) ²	IL(sec) ³	IIP(sec) ⁴	EL(sec) ⁵
Control	13.4±1.2 ^b	25.8±1.5 ^c	27.7±1.7 ^c	470.0±61.3 ^c
Milkweed	9.5±0.9 ^a	14.2±0.7 ^b	13.4±0.8 ^b	268.9±33.2 ^b
Pill	8.4±1.0 ^a	10.5±1.3 ^a	10.3±0.7 ^a	153.5±26.6 ^a

¹Values are means±SEM, n=7. Within a column, values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

²Mounting latency. ³Intromission latency. ⁴Inter-intromission period. ⁵Ejaculatory latency.

Table 13. Effects of milkweed and a pill made from milkweed and other herbs on male mating behavior observed in the period between introduction of a female and the first postejaculatory intromission¹

	PI(sec) ²	IM - I ³	IM + I ⁴
Control	371.5±51.1 ^b	4.9±1.3 ^c	16.0±1.4
Milkweed	292.9±40.2 ^a	1.1±0.1 ^b	15.6±1.5
Pill	250.6±46.4 ^a	0.2±0.3 ^a	16.2±1.7

¹Values are means±SEM, n=7. Within a column, values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

²Postejaculatory interval. ³Incidence of mounting without intromission. ⁴Incidence of mounting with intromission.

표 14는 45분간 mountings with or without intromission과 incidence of ejaculations를 조사한 결과이다. 45분간 숫쥐의 교미 행동을 조사한 문헌은 매우 드물다. 본 연구의 대조군에서 45분간 3.2 번의 사정이 관찰되었고, 다른 연구의 경우 7-8 월령의 늙은 숫쥐가 30분간 2.9회 사정하였고 (30) 평균 체중 220 g의 숫쥐는 60분간 4.9회 사정하였다고 보고되었다 (6).

시료 투여에 의하여 45분간의 mounting without intromission 횟수가 감소하고 mounting with intromission과 사정 횟수가 증가하였다. 이 결과는 시료의 투여에 의하여 숫쥐의 교미 행동이 활성화됨을 나타내고 있다.

특히 환 시료 군에서 숫쥐의 교미 행동이 크게 활성화되어 박주가리와 여러 천연물, 비타민 및 무기질의 배합이 성기능 개선에 도움을 줄 수 있음이 입증되었다.

표 15는 시료의 경구투여가 흰쥐의 atherogenic index와 혈액의 포도당, total thyroxine, prolactin 및 total testosterone 농도에 미치는 영향을 나타낸 것이다. 혈액의 총 cholesterol 및 HDL-cholesterol 농도로부터 계산된 atherogenic index는 환 투여군이 대조군에 비하여 의미있게 작은 값을 보여 주었다. 혈당농도도 환 투여군에서 의미있게 감소하였다. Total thyroxine 농도는 환 투여군에서 의미있

Table 14. Effects of milkweed and a pill made from milkweed and other herbs on male mating behavior observed for 45 minutes after introduction of a female¹

	IM - I ²	IM + I ³	IM±I ⁴	IE ⁵
Control	11.7±2.0 ^c	29.1±2.1 ^a	40.8±2.1 ^a	3.2±0.5 ^a
Milkweed	6.3±1.0 ^b	41.4±2.8 ^b	47.7±1.9 ^b	4.3±0.6 ^a
Pill	4.1±1.0 ^a	49.0±3.0 ^c	53.1±2.1 ^c	5.4±0.3 ^b

¹Values are means±SEM, n=7. Within a column, values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

²Incidence of mounting without intromission.

³Incidence of mounting with intromission.

⁴Incidence of mounting with & without intromission. ⁵Incidence of ejaculation.

Table 15. Effects of milkweed and a pill made from milkweed and other herbs on atherogenic index (AI) and the level of glucose, total thyroxine, prolactin, and total testosterone in blood of male rats¹

	AI ²	Glucose (mg/dl)	Total thyroxine (µg/dl)	Prolactin (ng/ml)	Total testosterone (ng/ml)
Control	2.4±0.2 ^b	146±3 ^b	3.6±0.1 ^a	16±2 ^b	4.23±0.12 ^a
Milkweed	2.3±0.1 ^b	144±2 ^{ab}	3.8±0.2 ^{ab}	14±2 ^{ab}	4.54±0.16 ^b
Pill	2.0±0.1 ^a	139±3 ^a	4.1±0.2 ^b	12±1 ^a	4.96±0.14 ^c

¹Values are means±SEM, n=7. Within a column, values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

²(Total cholesterol - HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol.

게 증가하였다. Prolactin 농도는 환 투여군에서 의미있게 감소하였다. Total testosterone 농도는 환, 박주가리 투여군의 순으로 대조군에 비하여 의미있게 증가하였다. 특히 모든 투여군에서 모든 측정치가 생리학적으로 안전한 범위에 있어서 조사된 시료가 장기간 섭취하여도 안전한 강정식품 소재로 쓰일 수 있음이 입증되었다. 또한 박주가리보다는 환 투여군에서 모든 측정치가 남성 성기능 개선에 바람직한 경향을 보여 여러 천연물, vitamin 및 무기질의 적절한 배합이 남성의

성기능을 효율적으로 개선시킬 수 있음이 입증되었다.

이상의 실험 결과들은 위에서 조사된 박주가리와 여러 천연물 및 vitamin과 무기질의 배합에 의해 남성 성기능 개선 활성이 우수한 건강식품 원료를 얻을 수 있으며, 이 원료의 가공 과정 중 남성 성기능 개선 활성이 유지됨을 나타내고 있다.

위에서 조사된 환 형태의 강정식품을 제조하여 성기능이 저하된 35세 이상의 남성 30명을 대상으로 개발 강정식품을 30일간 7 g씩 하루 3회 섭취시키면서 섭취 20일 후부터 20일간의 강정활성을 발기부전과 그 치료결과의 임상평가에 사용되는 15-question International Index of Erectile Function (a validated, multidimensional, self-administered questionnaire, 표 2)를 이용하여 섭취 전과 비교하였다.

International Index의 질문 3과 4에 대한 평균 점수는 강정식품 섭취후가 섭취 전에 비하여 의미있게 증가하였다 ($P < 0.01$) (표 16). 즉 강정식품의 섭취에 의하여 질문 3에 대한 점수는 67 % 증가했으며, 질문 4에 대한 점수는 100 % 증가하였다. 이는 강정식품의 섭취에 의하여 삽입 횟수와 삽입 후의 발기유지가 개선됨을 의미하는 것이다.

International Index에서 발기능의 평균 점수는 강정식품 섭취전 12.6에서 섭취 후 20.7로 64 % 증가하였다 ($P < 0.01$) (표 17). Orgasmic function, 성욕, 성교 만족도 및 전체적 만족도의 평균점수도 강정식품의 섭취에 의하여 의미있게 증가하였다.

강정식품의 섭취는 4등급 발기 횟수를 증가시켜서 성교에 필요한 발기 (3과 4등급) 횟수를 96 % 증가시켰다 (표 18). 또한 강정식품의 섭취는 성공적 성교 횟수를 20일 동안 평균 2.3회에서 4.7회로 증가시켜서 성공적 성교 비율을 29 %에서 62 %로 높였다.

Table 16. Mean scores of responses to question 3 and question 4 of the International Index of Erectile Function for the men eating tonic health food product made from milkweed and other herbs¹

	Initial ² score ⁴	Final ³ score ⁴	Percent change from base line ⁵
Question 3	2.4±0.2	4.0±0.2*	67
Question 4	1.9±0.1	3.8±0.2*	100

¹Question 3 of the International Index of Erectile function is, "When you attempted sexual intercourse, how often were you able to penetrate your partner?" Question 4 is, "During sexual intercourse, how often were you able to maintain your erection after you had penetrated your partner?"

²Before eating tonic health food. ³After eating tonic health food.

⁴Scores are based on a scale of 1 (almost never or never) to 5 (almost always or always), with 0 representing "did not attempt intercourse." Values are means±SE.

⁵Percent differences are between the final (end-of-treatment) mean scores and the initial (before treatment) mean scores.

* $P < 0.01$ for the comparison with initial score.

Table 17. Mean (\pm SE) scores for domains of the International Index of Erectile Function for the men eating tonic health food product made from milkweed and other herbs

	Initial score ¹	Final score ²
Erectile function ³	12.6 \pm 0.4	20.8 \pm 2.3*
Orgasmic function ⁴	5.8 \pm 0.4	7.4 \pm 0.3*
Sexual desire ⁵	6.9 \pm 0.3	7.9 \pm 0.2*
Intercourse satisfaction ⁶	5.6 \pm 0.4	10.1 \pm 0.6*
Overall satisfaction ⁷	4.1 \pm 0.3	7.2 \pm 0.2*

¹Score before eating tonic health food.

²Score after eating tonic health food.

³Scores for the erectile-function domain (6 questions; possible total score, 1 to 30).

⁴Scores for the orgasmic-function domain (2 questions; possible total score, 0 to 10).

⁵Scores for the sexual-desire domain (2 questions; possible total score, 2 to 10).

⁶Scores for the intercourse-satisfaction domain (3 questions; possible total score, 0 to 15).

⁷Scores for the overall-satisfaction domain (2 questions; possible total score, 2 to 10).

* $P < 0.01$ for the comparison with initial score.

Table 18. Results (\pm SE) from logs of sexual function kept by the men during 20 days before and after eating tonic health food product made from milkweed and other herbs

	Before eating	After eating
Mean number of erections		
Grade 3 ¹	1.8 \pm 0.2	1.7 \pm 0.3
Grade 4 ¹	0.8 \pm 0.2	3.2 \pm 0.4*
Total	2.6 \pm 0.2	5.1 \pm 0.3*
Mean No. of successful attempts	2.4 \pm 0.4	4.7 \pm 0.3*
Percentages of attempts that		
were successful	29 \pm 3	62 \pm 5*

¹Grade 1 indicates that the penis is larger but not hard; grade 2, that it is hard but not hard enough for penetration; grade 3, that it is hard enough for penetration but not completely hard; and grade 4, that it is completely hard and fully rigid.

* $P < 0.01$ for the comparison with the values before eating.

강정식품의 섭취에 의하여 혈액의 total cholesterol과 LDL-cholesterol이 의미있게 감소하였으며, 통계적 유의차는 없었지만 HDL-cholesterol 농도가 증가하고 혈당농도가 감소하였다 (표 19). 이 결과는 음위의 일반적 원인인 동맥경화와 당뇨병을 본 강정식품이 예방, 억제할 수 있는 가능성을 보여주는 것이다. 또한 혈액의 free thyroxine 농도가 의미있게 증가하고, 유의차는 없었지만 prolactin 농도가 감소하고 free testosterone 농도가 증가하여 음위와 관련된 비교적 흔한 내분비계

Table 19. Effects of tonic health food product made from milkweed and other herbs on the level of lipids, glucose, free thyroxine, prolactin, and free testosterone in blood serum of men¹

	Before eating	After eating
Total cholesterol	179±13	166±11*
HDL-cholesterol	39±4	43±5
LDL-cholesterol	121±15	99±6*
Triglycerides	129±16	112±17
Glucose (mg/dl)	92±7	88±5
Free thyroxine (µg/dl)	1.2±0.1	1.6±0.2*
Prolactin (ng/ml)	13±2	11±2
Free testosterone (ng/ml)	14±3	19±3

¹Values are means±SE.

**P* <0.05 for the comparison with the values before eating.

이상인 갑상선 기능, 생식기능 저하 등을 예방, 억제할 수 있는 가능성을 제시하였다. 그리고 강정식품 섭취 후의 측정치가 정상범위에 있어서 본 식품의 안전성이 입증되었다.

이상의 결과들은 본 연구를 통하여 개발된 강정식품이 성기능이 저하된 남성의 성기능을 개선시킬 수 있음을 보여주고 있다. 강정식품의 섭취는 삼입빈도, 삼입 후의 발기유지 및 발기력을 증가시켰다.

강정식품을 섭취한 사람들은 성기능 개선 효과 이외에도 음식물의 소화가 잘 되거나, 밤에 잠이 잘 오고, 일에서 오는 피로감이 감소하는 등의 전반적인 신체

의 건강상태가 많이 좋아져서, 본 연구를 통하여 개발된 강정식품이 일반 성기능 개선용 의약품이 갖지 못한 장점을 지니고 있음을 확인하였다. 최근에 연구개발되어 시판되고 있는 sildenafil(Viagra™)의 경우 두통, 근육통, 위장장애, 조홍(潮紅), 소화불량, 비염(鼻炎), 시각장애 등을 유발하며 심장약과 함께 복용될 경우 사망의 원인이 되기도 한다고 알려져 있다. 발기부전에는 부작용이 없고 이용하기 편리한 억제법이 절실히 요구되고 있다 (31). 본 연구에서 개발된 강정식품은 이러한 조건을 충족시키고 있다. 강정식품은 안전하게 이용될 수 있고, 해면체(海綿體) 주사, 요도에의 의약품 주입, 보철물 삽입 등의 치료법에 비하여 부작용이 적다.

2. 박주가리 재배법 연구



Figure 7. Milkweed *Metaplexis japonica*

박주가리는 양지의 산악이나 바닷가 언덕의 경사지에 자생하는 식물로 덩굴은 담록색을 띠었고 시계방향으로 감고 올라가며 길이는 2 m 이상 뻗었다. 줄기와 잎을 자르면 백색의 乳液이 나온다.

잎은 마주나고 심장형이며, 표면은 농록색 뒷면은 담록색이었다. 정상엽의 크기는 길이 6~10 cm, 너비 4~8 cm이었다. 상위엽은 정상엽에 비하여 작아서 정상엽의 1/8 정도였다. 잎 가장자리는 굴곡이 없이 밋밋하며 잎자루는 긴 원통모양이었다.

꽃은 7~8월에 잎겨드랑이에서 꽃대가 발생하여 우산모양을 이루었다. 작은 꽃대 위에 씨방이 있고 씨방 위에 꽃을 싸고 있는 5 개의 잎이 있으며, 그 위에는 5 개의 꽃받침이 연한 녹색의 꽃잎을 받치고 있었다. 꽃은 양성화로 5 개의 수술과 1 개의 암술이 있으며, 암술머리에 2 개의 열이 있었다.

열매는 꼬투리로 길이 9~12 cm, 지름 1~1.5 cm의披針形이고 꼬투리당 100립 이상의 종자가 들어 있었다. 종자는 농갈색으로 날개가 달려 있으며, 납작한 난형으로 종자 1,000립중은 6.5 g 정도이었다.

뿌리는 主根이 비대생장을 하는데, 주근은 초년도에 신장과 비대생장을 하였고, 이후에는 비대생장만 했다

야생 박주가리의 생태를 조사한 결과 우리 나라 남한의 전 지역에 고루 분포하고 있어서 남한의 기후가 박주가리의 생육에 적합하며 특별히 까다로운 기후조건을 요구하지 않는다고 생각된다.

야생 박주가리의 생태를 조사한 결과 토심이 깊고 유기물 함량이 많으면서 배수가 잘 되는 砂壤土~식양토(clay loam)에서 씨, 경엽 및 뿌리의 생산량이 많았다.

물빠짐이 나쁘면 덩이뿌리가 부패하기 쉬웠고, 토심이 얇으면 덩이뿌리의 뻗음이 좋지 않았다. 양토(참흙)가 많은 밭은 덩이뿌리의 비대가 나쁘고, 채취가 어려웠다. 사질토에서는 잔뿌리가 많이 뻗었고 덩이뿌리의 비대가 잘 안 되었고, 자갈이 흩어지는 덩이뿌리의 발달이 좋지 않았고 모양도 나빴다.

박주가리의 생육에 적합한 토양의 pH는 6~8의 중성 pH였다.

박주가리 전초 생산을 위한 최적 시비량은 10 a당 퇴비 1,200 kg, 질소 9 kg, 인산 4 kg 및 칼리 5 kg으로 조사되었다 (표 20). 퇴비, 인산 및 칼리는 전량, 질소는 6.3 kg (70 %)를 밭갈이 전에 고루 뿌려 전층시비가 되게 하였다. 나머지 질소 비료는 7월 초순에 웃거름으로 주었다.

Table 20. Effect of fertilizing amount on the growth of milkweed¹

	Fertilizing amount		
	A ²	B ³	C ⁴
Production of dried whole plant (g/m ²)	691±36 ^a	967±34 ^b	1012±41 ^b

¹Values are means±SEM, n=6. Within row, values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

²Compost 900kg, N 6kg, P 2kg and K 3kg per 10 a.

³Compost 1,200kg, N 9kg, P 4kg and K 5kg per 10 a.

⁴Compost 1,500kg, N 12kg, P 6kg and K 7kg per 10 a.

증식법으로 덩이뿌리를 잘라서 정식하는 절편증식, 종자를 직파하는 직파재배, 그리고 종자를 모판에 파종하여 1년간 육묘한 후 이식하는 육묘이식이 모두 가능하였다.

절편증식 - 덩이뿌리를 4~6 cm 길이로 잘라 다이젠 M45나 벤레이트 T를 상처 부위에 묻혀 균의 침입을 방지하고 너비 50 cm 이랑에 9 cm 간격으로 1 절편씩 심은 후 3 cm 복토하면 潛芽에서 싹이 나오는데 성공률이 96 %였다.

직파재배 - 너비 50 cm의 이랑을 만들고 9 cm 간격으로 4~6 립씩 파종하였다. 파종전 베노람 수화제 300 배액에 9 시간 침지하고 건져서 음건하는 종자소독을 하였다. 싹이 20 cm 자랐을 때 건실하게 자란 1 본만 남기고 솎아주었는데

성공률은 95 %였다.

육묘이식 - 모판을 만들기 위하여 10 a당 퇴비 1,200kg, 질소 9kg, 인산 4kg 및 칼리 5kg을 뿌렸다. 너비 120 cm의 모판을 만들고 10 cm 간격으로 줄뿌림을 한 후 부엽토와 흙을 1 : 1로 섞어 복토하고 물을 충분히 주어 밭아시켰다. 10 a당 소요되는 모판 면적은 33 m²이고 1년간 육묘 후 뿌리를 케어 절편증식과 같은 방법으로 정식하였다. 이 경우 성공률은 98 %였다.

과종 및 정식에 적합한 시기는 4월 상순이었다. 모가 어릴 때 2회 제초하였고 이후에는 박주가리가 자라 잡초 발생이 억제되었다. 두 번째 제초시 3~4 cm 정도 복토하여 고자리파리의 피해를 예방할 수 있었다. 초장이 15 cm 정도 자랐을 때 지주를 세워 덩굴을 올려줄 경우 경엽의 생산이 59% 증가하였다.

고자리파리, 굽벵이 및 거세미에 의한 피해가 있었으나, 유기인제 입제 농약을 웃거름과 함께 사용하여 효과적으로 줄일 수 있었다.

박주가리 전초 및 경엽의 수확 적기는 7~8월이었다. 남아자의 수확적기는 10월 하순 ~ 11월 초순이었다. 나머지는 정식 후 2~3년째 되는 10~11월이나 다음 해 3~4월에 수확하였다. 수확한 덩이뿌리는 물로 깨끗이 씻고 건조시켜 사용하였다.

표 21은 박주가리 부위별 시료의 1 m²당 생산량 및 강정활성을 나타낸 것이다. 씨의 강정활성이 가장 컸으나 생산량이 극히 적었다. 지상부보다는 뿌리와 전초의 강정활성이 컸다. 따라서 박주가리 전초를 수확하거나, 뿌리와 지상부를 따로 수확하여 함께 건조하여 사용하는 것이 경제적이라 판단된다.

Table 21. Yields of milkweed parts and their effects on male mating behavior observed in the period between introduction of a female and the first postejaculatory intromission¹

	Yield(g/m ²)	ML(sec) ²	IL(sec) ³	IIP(sec) ⁴	EL(sec) ⁵
Control		13.4±1.2 ^b	25.8±1.5 ^c	27.7±1.7 ^c	470.0±61.3 ^c
Whole plant	968±31 ^d	9.6±0.9 ^a	11.1±2.0 ^a	11.6±1.2 ^a	201.1±53.3 ^{ab}
Aerial part	859±21 ^c	12.1±1.1 ^b	13.9±1.2 ^b	14.5±1.4 ^b	300.5±60.1 ^b
Root	109±7 ^b	8.5±1.0 ^a	10.2±0.7 ^a	10.4±0.8 ^a	168.9±33.2 ^a
Seed	11±1 ^a	8.3±1.0 ^a	10.6±1.3 ^a	10.5±0.7 ^a	152.5±26.6 ^a

¹Values are means±SEM, n=7. Within a column, values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

²Mounting latency. ³Intromission latency. ⁴Inter-intromission period. ⁵Ejaculatory latency.

3. 박주가리를 활용한 강정식품 시제품 개발

박주가리 시료 분획의 강정활성을 조사하기 위하여 시료를 짚기어 생즙기로 갈아서 동결건조시켰다. 동결건조된 시료에 methanol을 4배 (v/w) 첨가하여 흔들면서 7시간씩 3번 추출하여 9,700×g에서 20분간 원심분리하였다. 침전물은 동결건조한 뒤 분말화하여 불용성 분획 시료로 사용하고, supernatant는 동결건조하여 hexane, butanol, 증류수 순으로 분획하고 감압농축 또는 동결건조하여 용매를 제거한 후 hexane, butanol 및 수용성 분획을 얻었다.

나마자와 나마경엽의 경우, methanol 추출물과 불용성 분획 모두 강정활성이 추출전에 비하여 크게 감소하여 박주가리 씨와 경엽은 추출하지 말고 건조, 분쇄하여 사용하는 것이 좋다고 판단된다. 특히 박주가리 경엽의 경우, methanol 추출시 단백질 분해 효소 활성의 소실이 강정활성 감소의 한 요인으로 생각된다.

나마근 분획의 강정활성을 조사한 결과를 표 22에 나타내었다. 불용성 분획을 급여한 군의 강정활성은 대조군의 강정활성과 유의차가 없었지만, 나마근의 methanol 추출물을 급여한 군은 강정활성 측정치가 일부 항목에서 약간 감소하였으나 대부분의 측정치는 거의 비슷하여 유의차가 없었다. Hexane 분획 급여군의 측정치가 butanol 및 물 분획 급여군의 측정치에 비하여 작으므로 가용성 분획 중 비극성 물질이 나마근의 강정활성에 중요한 역할을 한다고 판단된다. 이상의 결과는 나마근을 methanol 또는 비극성 용매로 추출하면 강정활성이 높은 기능성 식품 원료를 얻을 수 있음을 나타내고 있다.

나마근 hexane 추출물을 100℃에서 30 분간 열처리하여 강정활성을 조사한 결과 처리전과 같은 활성을 나타내어 활성물질의 열 안정성이 입증되었다 (표 23).

Table 22. Effects of fractionated samples of *Metaplexis japonica* root on male mating behavior observed in the period between introduction of a female and the first postejaculatory intromission¹

	ML(sec) ²	IL(sec) ³	IIP(sec) ⁴	EL(sec) ⁵
Control	13.4±1.3 ^b	25.8±1.5 ^d	27.7±1.7 ^d	470.0±61.3 ^c
Raw root	8.5±1.0 ^a	10.2±0.7 ^a	10.4±0.8 ^a	168.9±33.2 ^a
Insoluble fraction	12.6±1.1 ^b	26.0±1.6 ^d	25.9±1.6 ^d	455.1±60.1 ^c
Methanol extract	9.0±1.0 ^{ab}	12.6±0.9 ^b	11.7±0.9 ^a	174.5±36.6 ^{ab}
Hexane fraction	9.8±1.2 ^{ab}	13.5±1.0 ^b	14.4±1.0 ^b	191.5±32.0 ^{ab}
Butanol fraction	11.0±1.1 ^b	19.3±1.2 ^c	19.1±1.1 ^c	257.1±46.5 ^b
Aqueous fraction	12.8±1.2 ^b	23.1±1.5 ^d	25.7±1.6 ^d	436.4±58.7 ^c

¹Values are means±SEM, n=7. Within a column, values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

²Mounting latency. ³Intromission latency. ⁴Inter-intromission period. ⁵Ejaculatory latency.

Table 23. Effect of heating of hexane fraction of *Metaplexis japonica* root on male mating behavior observed in the period between introduction of a female and the first postejaculatory intromission¹

	ML(sec) ²	IL(sec) ³	IIP(sec) ⁴	EL(sec) ⁵
Control	13.6±1.2 ^b	25.8±1.5 ^b	27.7±1.7 ^b	470.6±60.3 ^b
Hexane fraction	9.8±1.2 ^a	13.4±1.1 ^a	14.4±1.0 ^a	191.5±32.0 ^a
Heated hexane ⁶ fraction	10.0±1.1 ^a	13.7±1.2 ^a	15.1±1.1 ^a	207.1±46.5 ^a

¹Values are means±SEM, n=7. Within a column, values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

²Mounting latency. ³Intromission latency. ⁴Inter-intromission period. ⁵Ejaculatory latency.

⁶Heat-treated hexane fraction for 30 min at 100°C.

표 24는 박주가리 뿌리 hexane 분획의 건조방법별 강정활성을 조사한 것이다. 일반적으로 건조에 의하여 강정활성이 감소하였다. 동결건조 시료의 강정활성이 가장 컸고 분무건조 시료, 열풍건조 시료의 순으로 강정활성이 작아졌다. 이 결과는 박주가리 시료의 강정활성을 나타내는 물질들 중에 산화에 의하여 그 활성이 소실되는 성분이 있을 가능성을 보여주고 있다.

박주가리 전초에 기타 식품원료를 배합하여 아래와 같이 몇 가지 강정용 기능성 식품을 제조하였다.

제품 1: 박주가리 전초에 복분자, 구기자, 산수유, 오미자, 백복령, 황기, 사상자, 토사자, 우슬, 박하, 감초, 두충, 홍삼, 해삼, 로얄 젤리, L-arginine, vitamin E, nicotinamide, 산화아연 및 vitamin B₁을 배합한 혼합물을 통상의 방법에 따라 이 물질을 제거한 후 세절하여 40~80°C에서 열풍건조시키고 입도 60 mesh로 분말화 하였다.

Table 24. Effect of drying method of hexane fraction of *Metaplexis japonica* root on male mating behavior observed in the period between introduction of a female and the first postejaculatory intromission¹

	ML(sec) ²	IL(sec) ³	IIP(sec) ⁴	EL(sec) ⁵
Control	13.6±1.2 ^b	25.8±1.5 ^d	27.7±1.7 ^d	470.6±60.3 ^c
Hexane fraction	9.8±1.2 ^a	13.4±1.1 ^a	14.4±1.0 ^a	191.5±32.0 ^a
FDHF ⁶	10.2±1.0 ^a	13.8±1.2 ^a	15.1±1.3 ^a	209.9±46.8 ^{ab}
SDHF ⁷	11.5±1.1 ^{ab}	17.7±0.9 ^b	18.3±1.1 ^b	277.4±37.5 ^b
HADHF ⁸	12.0±1.3 ^{ab}	22.3±1.6 ^c	21.1±1.6 ^c	397.1±52.2 ^c

¹Values are means±SEM, n=7. Within a column, values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

²Mounting latency. ³Intromission latency. ⁴Inter-intromission period. ⁵Ejaculatory latency.

⁶Freeze-dried hexane fraction. ⁷Spray-dried hexane fraction. ⁸Hot air dried hexane fraction.

제품 2: 제품 1에 정제수 40 중량%를 가하여 고속회전 혼합기로 과립을 형성케 하고 50~60℃의 열풍건조기에서 건조시킨 후 15 mesh의 oscillator를 통과시켜 균일한 입도의 과립을 얻었다.

제품 3: 제품 2를 통상의 방법에 따라 타정(打錠)하여 정제(각 200mg)을 수득하였다.

제품 4: 제품 1을 통상의 방법에 따라 경질 gelatin capsule(각 400mg)에 충전하였다.

제품 5: 분쇄전의 제품 1에 20배의 물을 가하고 70℃에서 1시간 추출하였다. 원심분리 후 고형분에 다시 20배의 물을 가하여 동일한 조건에서 추출한 후 원심분리하였다. 고체 잔류물을 버리고 두 추출액을 합쳐 50℃에서 감압(30 - 50 mmHg)농축하여 추출전 조성물 중량의 2배가 되게 하고 3 micron filter로 여과하

여 75 - 80°C에서 30분간 멸균시킨 후 200 mesh의 여과장치를 통과시켜 여액을 미리 살균된 용기에 충전밀봉하여 음료로 하였다.

제품 6: 제품 5를 감압가열농축 및 가열농축시켜 고(膏)를 제조하였다.

제품 7: 제품 1에 20%의 잡화꽃을 넣어 통상의 방법에 따라 중량 140mg의 환을 제조하였다.

표 25는 위에서 제조된 7 종의 각각 다른 제형 제품의 강정활성을 조사한 것이다.

Table 25. Effects of several forms of tonic health food products made from milkweed and other herbs on male mating behavior observed in the period between introduction of a female and the first postejaculatory intromission¹

Product	ML(sec) ²	IL(sec) ³	IIP(sec) ⁴	EL(sec) ⁵
Control	13.4±1.2 ^b	25.8±1.5 ^c	27.7±1.7 ^c	470.0±61.3 ^b
Product 1	8.6±1.0 ^a	12.9±1.1 ^{ab}	12.6±0.7 ^b	170.1±30.1 ^a
Product 2	8.9±1.3 ^a	13.3±1.4 ^{ab}	13.0±1.6 ^b	180.2±20.5 ^a
Product 3	9.1±1.1 ^a	13.9±1.2 ^b	13.6±1.4 ^b	188.5±60.1 ^a
Product 4	8.8±0.9 ^a	13.0±1.6 ^{ab}	12.9±1.2 ^b	175.9±39.9 ^a
Product 5	9.0±0.8 ^a	13.3±1.3 ^b	13.1±1.1 ^b	179.7±30.3 ^a
Product 6	9.2±1.3 ^a	13.4±1.0 ^b	14.9±1.9 ^b	197.9±31.7 ^a
Product 7	8.3±0.9 ^a	10.7±1.2 ^a	10.3±0.8 ^a	153.1±26.3 ^a

¹Values are means±SEM, n=7. Within a column, values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

²Mounting latency. ³Intromission latency. ⁴Inter-intromission period. ⁵Ejaculatory latency.

제품 투여군이 대조군에 비하여 짧은 시간에 여러 번의 mounting with intromission과 첫 번째 사정을 하였다. 이러한 현상은 환 시료에서 더욱 크게 나타나서, 밀환이 강정용 기능성 식품으로 가장 적합한 제형임이 입증되었다. 통계적 유의차는 없었지만 정제와 고는 다른 제형에 비하여 강정활성이 감소되어 가공과정중 활성성분이 감소된다고 생각된다. 하지만 여러 가공과정중 남성 성기능 개선활성이 대체로 잘 유지되고 있었다.

제4장 목표 달성도 및 관련 분야에의 기여도

1차년도

○박주가리 씨, 莖葉 및 뿌리의 영양학적 성분과 단백질 분해효소 특성 조사 (100% 달성, 박주가리를 건강식품 원료로 활용하기 위한 기초자료 획득)

○全草, 씨, 경엽 및 뿌리의 건조 분말과 열수 추출물의 강정활성 조사 (동물실험) [100% 달성, 박주가리를 강정용 건강식품 원료로 활용하기 위한 기초자료 획득]

○박주가리의 재배에 적합한 기후와 토질 조사 (100% 달성, 박주가리 재배를 위한 기초자료 획득)

○극성 차이에 의한 용매분획법으로 강정활성 분획 제조 (100% 달성, 박주가리의 강정활성 물질에 관한 기초자료 획득)

○활성분획의 열 및 pH 안정성 조사 (100% 달성, 박주가리 가공시 강정활성 물질의 안정성에 관한 기초자료 획득)

2차년도

○박주가리의 씨, 뿌리 등에 의한 번식법, 수확법 및 재배조건 연구 (100% 달성, 박주가리 재배 및 수확을 위한 기초자료 획득)

○재배된 박주가리와 야생 박주가리의 강정활성 비교 조사 (동물실험) [100% 달성, 박주가리를 강정용 건강식품 원료로 활용하기 위한 기초자료 획득]

○박주가리를 가공하여 제조된 강정활성 소재와 다른 생약재를 배합하여 강정용

건강식품 시제품 제조 (100% 달성, 박주가리를 활용한 강정용 건강식품 생산을 위한 기초자료 획득)

○시제품을 성기능이 저하된 성인 남성에게 섭취시키고 강정활성 조사 (100% 달성, 박주가리를 활용한 강정용 건강식품의 산업화를 위한 기초자료 획득)

제5장 연구개발 결과의 활용 계획

- 본 과제 참여기업인 (주)렉스진바이오텍에 기술이전하여 산업화
- 본 과제에 참여하는 전북 순창농업협동조합에서 박주가리의 계약재배 및 1차 가공을 담당
- 본 연구의 결과가 제품화되면 국내에서는 (주)렉스진바이오텍의 모기업인 (주)온누리 건강에 소속된 1,000여개의 약국에서 시판에 들어갈 것이다.
- (주)렉스진바이오텍의 미국 현지 법인이며 California주 소재 건강식품 판매회사인 O. N. PhytoResearch사에서 대미 수출을 담당할 것임
- 국내외에서 개최되는 건강식품 박람회에 적극적으로 출품하여 개발된 제품의 우수성을 국내외에 홍보하고, Internet를 제품의 국내외 홍보 및 판매에 활용할 것임
- 연구 결과를 국내외에 특허출원하여 제품의 독창성과 우수성을 입증하는 자료로 활용함

제6장 참고문헌

- (1) 李時珍. 1987. 圖解 本草綱目. 고문사, 서울.
- (2) NIH Consensus Conference Panel on Impotence. 1993. Impotence. JAMA 270: 83-90.
- (3) Feldman, H. A., Goldstein, I., Hatzichristou, D. G., Krain, R. J., and McKinlay, J. B. 1994. Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusettes Male Aging Study. J. Urol. 151: 54-61.
- (4) Lee, D. U., Shin, U. S., and Huh, K. 1998. Structure-activity relationships of gagaminine and its derivatives on the inhibition of hepatic aldehyde oxidase activity and lipid peroxidation. Arch. Pharm. Res. 21(3): 273-277.
- (5) Murray, M. T. and Pizzorno, J. E. 1998. Encyclopedia of Natural Medicine, 2nd ed. Prima, Rocklin, CA.
- (6) Larsson, K. and Essberg, L. 1962. Effect of age on the sexual behavior of male rat. Gerontologia 6: 133-143.
- (7) Rosen, R. C., Riley, A., Wagner, G., Osterloh, I. H., Kirkpatrick, J., and Mishra, A. 1997. The International Index of Erectile Function (IIEF): a multidimensional scale for assessment of erectile dysfunction. Urology 49: 822-830.
- (8) 홍석산, 김철진, 임성일, 권석형. 2000. 국산 식품소재 및 생약재를 활용한 강정용(强精用) 건강식품 개발. 한국식품개발연구원 보고서 J1022-0003.

- (9) Dewsbury, D. A. 1967. A quantitative description of the behavior of rats during copulation. *Behavior* 29: 154-178.
- (10) 新文豐出版公司. 中華民國 70年. 新編 中藥大辭典, 臺北.
- (11) Beach, F. A. and Wilson, J. R. 1963. Mating behavior in male rats after removal of the seminal vesicles. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* 49: 624-626.
- (12) Allain, C. C., Poon, L. S., Chan, C. S. G., et al. 1974. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.* 20: 470-475.
- (13) Ellefson, R. D., Elveback, L. R., Hodgson, P. A., and Weidman, W. H. 1978. Cholesterol and triglycerides in serum lipoproteins of young persons in Rochester, MN. *Mayo Clin. Proc.* 53: 307-320.
- (14) Kim, K-S, Ezaki, O., Ikemoto, S., and Itakura, H. 1995. Effects of *Platycodon grandiflorum* feeding on serum and liver lipid concentrations in rats with diet-induced hyperlipidemia. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 41: 485-491.
- (15) Heser, D. and Kao, P. C. 1982. Development of a new, 24-hour prolactin assay. *Clin. Chem.* 28: 1613.
- (16) Bamman, B. L., Coulam, C., and Jiang, S.-S. 1980. Total and free testosterone during pregnancy. *Amer. J. Ob. & Gyn.* 137: 293-298.
- (17) SAS Institute, Inc.: SAS User's Guide: Statistics, 5th ed. Cary, NC, 1985.
- (18) Ellefson, R. D., Balaskas, P., and Hinrichs, D. R. 1982. Automated quantitation of serum triglycerides with specimen-specific correction for free glycerol. *Clin. Chem.* 28: 1671-1672.

- (19) Mezey, E. 1980. Alcoholic liver disease; roles of alcohol and malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* 33: 2709-2718.
- (20) 秋原西郎: 酵素研究法 Vol II, 朝昌書店, 東京, 1956.
- (21) Association of Official Analytical Chemists. 1980. *Official Methods of Analysis*, 14th ed. Washington D. C.
- (22) A. O. A. C. 1993. *Methods of Analysis for Nutrition Labelling*, Sullivan, D.M. and Carpenter, D.E. (Ed.). A.O.A.C. International, Virginia.
- (23) 1994. *JASCO Report* 36: 47.
- (24) 한국식품공업협회. 1995. *식품공전*. 서울.
- (25) 김 순동, 윤 수홍, 강 명수, 박 남숙. 1986. 각두기의 숙성에 미치는 감압 및 polyethylene film 포장처리 효과. *한국영양식량학회지* 15: 39.
- (26) Lowry, O. H., Rosebrough, N, J., Farr, A. L., and Randal, R. J. 1956. *J. Biol. Chem.* 193: 265.
- (27) Davis, B. J. 1964. *Ann. New York Acad. Sci.* 121: 404.
- (28) Weber, K. and Osborn, M. 1969. *J. Biol. Chem.* 244: 4406.
- (29) Murachi, T., Yasui, M., and Yasuda, Y. 1964. *Biochemistry* 3: 48.
- (30) Heimer, L. and Larsson, K. 1966/1967. Impairment of mating behavior in male rats following lesions in the preoptic anterior hypothalamic continuum.

Brain Res. 3: 248-263.

(31) Montague, D. K., Brada, J. H., Belker, A. M., et al. 1996. Clinical Guidelines Panel on erectile dysfunction: summary report on the treatment of organic erectile dysfunction. J. Urol. 156: 2007-2011.

(32) Fairweather, S. J. and Wright, A. J. A. 1991. Small intestinal transit time and iron absorption. Nutr. Res. 11: 1465-1468.

(33) 新文豐出版公司. 中華民國 70年. 新編 中藥大辭典, 臺北.

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개해서는 아니됩니다.