

薄荷의 抗酸化效能에 대한 연구 (I)

鄭光熙[#], 成洛戌¹, 李暎鍾^{*}

暉園大學校 韓醫科大學 本草學教室, 1 : 농촌진흥청 작물과학원

A Study on the Anti-Oxidation Effects of Menthae Herba (I)

Kwang-Hee Jung[#], Nak-Sull Seong¹, Young-Jong Lee^{*}

Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Kyungwon University
Seongnam 461-701, Korea

1 : National Crop Experiment Station, RDA, Suwon 441-100, Korea

ABSTRACT

Objectives : In order to develop effective and safe anti-oxidation, the effects of Menthae Herba (*M. spicata* L. and *M. piperita* L.) were examined.

Methods : *M. spicata* L. and *M. piperita* L. of Menthae Herba were used to make water extracts and methanol extracts, and then its anti-oxidative effects were compared *in vitro*.

Results : 1. *M. spicata* L. was stronger than *M. piperita* L. in anti-oxidative effects of methanol extracts, and water extracts showed similar anti-oxidation effects.

2. Water extracts of *M. spicata* L. was stronger than *M. piperita* L. showed a stronger superoxide anit-oxidation than the same-density ascorbic acid, so that water extracts were proved to be stronger than methanol extracts.

3. Methanol extracts' DPPH anti-oxidation was similar in *M. spicata* L. and *M. piperita* L.. As for water extracts, *M. spicata* L. showed higher anti-oxidation and *M. piperita* L. had no anti-oxidation.

4. As for anti-oxidation of LDL and linoleic acid of methanol extracts, both *M. spicata* L. and *M. piperita* L. were stronger than α-tocopherol. As for the water extracts, these two showed similar level of anti-oxidative effect on linoleic acid, which is weaker than mehtanol extracts.

5. *M. spicata* L. includes more phenol than *M. piperita* L.

Conclusions : Menthae Herba (*M. piperita* L. *M. spicata* L.) had anti-oxidation effect, so that it can be medically developed for anti-oxidation.

Key words : Menthae Herba, , *M. piperita* L. *M. spicata* L., anti-oxidation

* 교신저자 : 이영종, 경원대학교 한의과대학 본초학교실

E-mail : garak@kyungwon.ac.kr Tel : 031-750-5415

제1저자 : 정광희, 경원대학교 한의과대학 본초학교실

· 접수 : 2005년 10월 24일 · 수정 : 2005년 12월 16일 · 채택 : 2005년 12월 20일

서 론

薄荷는 新修本草 药部¹⁾에 처음 수재된 이후 散風熱, 清頭目, 利咽喉, 透疹, 解鬱 등의 효능이 있어 風熱表證, 頭痛目赤, 咽喉腫痛, 麻疹不透, 隱疹癰瘡, 肝鬱脇痛 등의 증상을 치료하는데 상용되고 있다²⁾.

薄荷는 꿀풀과(Labiatae)에 속하는 박하 *Mentha arvensis* Linne var. *piperascens* Malinvaud 또는 그種間雜種의 지상부이다³⁾.

Mentha 屬에 속하는 식물들이 유럽, 아시아 및 북아메리카 등 각지에 분포하고 있는 것으로 보아 주요 재배종인 *M. arvensis* 계통은 아시아가 원산지이고, *M. piperita* 및 *M. spicata* L. (=*M. viridis* L.) 계통은 유럽 지방이 원산지일 것으로 추정하고 있으며 우리나라 전국 각지에는 *M. arvensis* var. *piperascens* Malinvaud가 자생하고 있다^{4,5)}.

박하잎에는 약 1.5%의 비율로 함유되어 있는 정유 성분이 유효성분으로 알려져 있고, 정유의 주요성분으로는 *l*-menthone과 *l*-menthol 등이 알려져 있으며⁶⁾, 박하의 정유성분을採油하기 위하여 독일에서 1770년, 일본에서 1817년에 각각 재배가 시작되었다고 하며, 우리나라에서는 1910년경에 재배가 시작되었으며, 1960년대부터 농촌진흥청 작물시험장(현 작물과학원)에서薄荷 시범연구를 실시하여 우리나라에 자생하던 동양종 대신에 서양종인 赤莖種 *M. piperita* L. 과 青莖種 *M. spicata* L. (=*M. viridis* L.) 등을 중심으로 재배체계를 확립하였다⁷⁾.

동양종薄荷의 정유에는 menthol이 70~90% 함유되어 있는데 비하여 서양종의 정유에는 menthol이 50~60%, methyl ester가 3~15% 함유되어 있어, 동양종이 약용으로 적당한데 비하여 서양종은 menthol 함량이 적지만 향미가 우수하여 과자와 치약 등에 많이 사용되고 있다⁸⁾. 박하의 menthol은 신선하고 상쾌한 향을 주는 물질로서⁹⁾ 塗布劑, 진통제, 홍분제, 건위제 등에 약용하거나 치약, 쟈, 사탕, 화장품, 담배 등의 제품에서 청량제나 향료로 쓴다. 또한 정유성분은 항균 및 항바이러스 효과가 있고¹⁰⁾, 박하의 추출물은 알러지에 대한 효과¹¹⁾, 자외선 차단효과¹²⁾, 긴장의 효소계에 대한 효과¹³⁾ 등이 보고되었으며, 모든 박하 추출물은 1% 이내로 사용한다면 매우 안전하다고 보고된 바 있다¹⁴⁾.

인체내에서 다양한 경로에 의해 유발되는 산화적 스트레스는 생체 안에 존재하는 항산화계에 의해 제거되지만 산화적 스트레스가 항산화계의 수준을 초과

하여 제거되지 못하면 생체막의 손상, 고분자 단백질 및 DNA의 변형과 기능상실 등으로 인한 다양한 퇴행성 질환이 유발될 수 있기 때문에¹⁵⁾, 항산화제에 대한 관심이 집중되고 있는데¹⁶⁾, 薄荷의 항산화 효능에 대한 연구는 아직 보고된 바가 없다.

본 연구에서는 농촌진흥청 작물과학원에서 재배되고 있는 서양종薄荷인 赤莖種과 青莖種에 대하여 항산화 효능을 비교하고자, 각각 물 추출물과 메탄을 추출물로 항산화효능을 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

실험에 사용된 박하는 농촌진흥청 작물과학원 보전포에서 재배하고 있는薄荷 赤莖種 *M. piperita* L. 과 青莖種 *M. spicata* L. (=*M. viridis* L.)의 전초를 2004년 5월 채취하여 세척, 동결건조한 후 분쇄 사용하였다.

2) 시약 및 기기

In vitro 활성분석 실험에 사용된 phenazine methosulfate (PMS), nitro blue tetrazolium (NBT), β -nicotinamide adenine dinucleotide (NADH), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), human low density lipoprotein (LDL), linoleic acid, ascorbic acid, α -tocopherol, thiobarbituric acid (TBA) tetramethoxypropane (TMP) 등의 시약은 Sigma Co. (USA) 제품을 사용하였으며 dimethylsulfoxide (DMSO)를 포함한 분석용 시약 및 용매는 특급을 사용하였다. 또한 시료의 감압 농축에는 N-1000 evaporator (Eyela, Japan)를, linoleic acid 산화저해 실험에는 shaking incubator (DS-310R, Dasol, Korea)를, 그 외 활성결과 분석을 위한 흡광도 측정에는 UV-visible spectrophotometer (Cary 300, Varian, Australia)를 사용하였다.

2. 방법

1) 시료의 제조

건조된薄荷 赤莖種 (MP)과 青莖種 (MS)의 물 추출물은 건조된 박하 중량의 10 배량의 중류수를 가해

상온에서 24 시간 진탕 추출하고, 추출한 것을 여과한 후, 다시 10 배량의 중류수를 가해 상온에서 24 시간 진탕 추출한 다음, 1차 추출액과 2차 추출액을 혼합하여 동결건조기에서 건조하였다. 메탄을 추출물은 ASE300 (Dionex coorperation, USA) 가속용매추출장치를 이용하여 추출온도 50°C, 추출시간은 5 분 씩 3회, 추출압력은 1,500 psi에서 1차 추출액을 얻고, 다시 건조시료 중량의 5 배량의 100% 메탄을 넣고, 환류냉각추출장치를 이용하여 50°C에서 2 시간 추출하고 여과하여 2차 추출액을 얻은 다음, 1차 추출액과 2차 추출액을 혼합하여 감압농축장치를 이용하여 용매를 제거 후 추출물을 얻었다. 적경종의 최종 물 추출물은 건조 약재 82 g에서 12 g을 메탄을 추출물은 건조 약재 85 g에서 12 g의 건조분말을 각각 얻었고, 청경종의 최종 물 추출물은 건조 약재 89 g에서 12 g을 메탄을 추출물은 건조 약재 60 g에서 8 g의 건조분말을 각각 얻었다.

2) 산화반응에 대한 실험

① Superoxide anion 라디칼 소거능 측정 : Superoxide anion 라디칼 소거능은 Nishikimi 등¹⁷⁾의 방법에 의해 다음과 같이 실험하였다. 200, 100, 50, 10, 5 µg/ml 농도의 각 시료 0.5 ml를 0.1 M Tris-HCl 완충용액 (pH 8.5) 0.1 ml, 100 µM PMS 0.2 ml, 500 µM NBT 0.2 ml 및 500 µM NADH 0.4 ml를 가해 560 nm에서 흡광도를 측정하였으며 결과는 소거능(%)으로 나타내었다.

$$\text{소거능 } (\%) = \frac{(c-cb)-(s-sb)}{(c-cb)} \times 100$$

c : 시료를 녹인 용매만을 첨가하였을 때 반응 후의 흡광도
cb : 시료를 녹인 용매와 반응액 조제 용매인 완충액(0.1M Tris buffer(pH 8.5)) 1500 µl를 가한 것의 흡광도

s : 시료의 반응 후 흡광도

sb : 시료와 완충액 1500 µl를 합한 것의 흡광도

② DPPH 소거능 측정 : DPPH 소거능은 Bloi¹⁸⁾의 방법에 준해 1.5×10^{-4} M DPPH 용액 2.97 ml를 일정 농도의 추출물 0.03 ml와 함께 혼합하고 3분 후 517 nm에서 흡광도를 측정한 후 대조군에 대한 소거능(%)을 산출하였다.

③ LDL 산화저해 측정 : LDL의 산화저해효능은 Miller 등¹⁹⁾의 방법을 변형하여 다음과 같이 실험하였다. 50~100 µg의 protein을 함유하도록 조제한 human LDL을 일정 농도의 추출물 0.02 ml, 10 mM phosphate buffered saline (PBS) 0.115 ml, 0.25 mM CuSO₄ 0.04 ml와 함께 37°C에서 3 시간 동안 반응시

켰다. 이 반응액에 20% trichloroacetic acid (TCA) 1 ml를 가해 반응을 중단시킨 후 0.05 N NaOH에 녹인 0.67% 2-thiobarbituric acid (TBA) 1 ml를 가하고 95°C에서 15 분간 가열, 냉각을 순차적으로 행하였다. 이 반응액을 × 600 g에서 15 분간 원심분리하고 분리된 상등액 중에 함유된 malondialdehyde (MDA)의 양을 540 nm에서 측정하여 대조군에 대한 저해율(%)을 계산하였다.

④ Linoleic acid 과산화저해 측정 : Linoleic acid 과산화의 억제효과는 Haraguchi 등²⁰⁾의 방법에 따라 에탄올에 녹인 2.51% linoleic acid 0.4 ml, 0.04 M phosphate buffer (pH 7.0) 0.8 ml, 중류수 0.77 ml 그리고 추출물 0.03 ml로 반응액을 조성, 40°C의 암소에서 반응시켰다. 24 시간 후 이 반응액 0.1 ml를 취해 75% ethanol 2.7 ml, 30% ammonium thiocyanate 0.1 ml, 3.5% HCl에 녹인 0.02 M ferrous chloride 0.1 ml와 혼합한 후 500 nm에서 흡광도를 측정하여 산화정도를 관찰하였고 결과는 대조군에 대한 저해율(%)로서 나타내었다.

⑤ 총페놀 함량 측정 : 항산화 활성을 영향을 미치는 페놀화합물의 양을 비교하기 위해 Kim 등²¹⁾의 방법에 준하여 일정 농도의 추출물 0.1 ml와 2% Na₂CO₃ 2 ml를 혼합하고 2분 후 50% Folin-Ciocalteau reagent 0.1 ml를 첨가하였다. 상온에서 30 분간 방치한 후 750 nm에서 측정된 흡광도를 tannic acid를 표준물질로 사용한 검량선식 ($r=0.9973$)에 대입하여 총페놀 함량을 산출하였다.

성 적

1. Superoxide anion 라디칼 소거 효과

박하 물 추출물과 메탄을 추출물의 superoxide 라디칼 소거능을 항산화제로 널리 활용되고 있는 ascorbic acid와 비교분석한 결과, 청경종 (MS) 메탄을 추출물, 적경종 (MP) 메탄을 추출물 및 ascorbic acid 200 ppm을 첨가하였을 때, superoxide 라디칼 소거능은 각각 62.94, 30.21 및 68.96%로서, 청경종 메탄을 추출물은 항산화제로 널리 활용되고 있는 ascorbic acid와 거의 대등한 소거능을 보였고, 적경종 메탄을 추출물은 ascorbic acid에 비하여 훨씬 낮은 소거능을 보였다. 각 시료 100 ppm을 첨가하였을 때에도 superoxide 라디칼 소거능은 ascorbic acid가 가장 강하였고 (59.78%), 청경종 메탄을 추출물은 조

금 약한 소거능 (47.87%)을, 그리고 적경종 메탄을 추출물은 더욱 더 약한 소거능을 보였다 (29.23%). 그러나, 각 시료가 50 ppm의 농도로 첨가되었을 경우에는 청경종 메탄을 추출물은 39.82%, 적경종 메탄을 추출물은 20.92%의 소거능을 보였으며, 이는 같은 농도의 ascorbic acid에 의한 소거능 6.25 % 보다 훨씬 더 강한 활성이었으며, 이러한 경향은 10 ppm, 5 ppm의 농도로 각 시료를 첨가한 경우에서도 유사하였다 (Fig. 1).

청경종 물 추출물과 적경종 물 추출물은 동일한 농도에서는 ascorbic acid보다 더 강한 superoxide 라디칼 소거능을 보였다. 청경종 물 추출물과 적경종 물 추출물 200 ppm을 첨가하였을 때, superoxide 라디칼 소거능은 각각 89.36 및 74.79%로서, 모두 200 ppm ascorbic acid의 소거능 68.96%보다 더 강하였다. 청경종과 적경종의 물추출물은 50 ppm의 농도에서도 59.84% 및 26.14%의 소거능을 보여 50 ppm ascorbic acid의 소거능 6.25% 보다 훨씬 더 강한 소거능을 보였다 (Fig. 2).

청경종 메탄을 추출물과 청경종 물추출물을 각각 200, 100, 50 ppm으로 첨가하였을 때, 청경종 메탄을 추출물은 소거능이 62.94%, 47.87%, 39.82% 인데 비하여, 물 추출물의 소거능은 89.36%, 76.21% 및 59.84%로서 물 추출물이 메탄을 추출물보다도 더 강한 superoxide 라디칼 소거능을 보였다 (Fig. 1, Fig. 2).

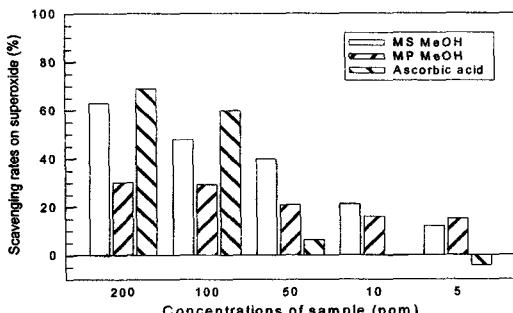


Fig. 1 Superoxide radical scavenging activities of the methanol-extract prepared from *M. spicata* and *M. piperata*. The activities were compared with those of ascorbic acid.

MS MeOH : methanol-extract prepared from *M. spicata*
MP MeOH : methanol-extract prepared from *M. piperata*
The values are presented as the mean (n=3)

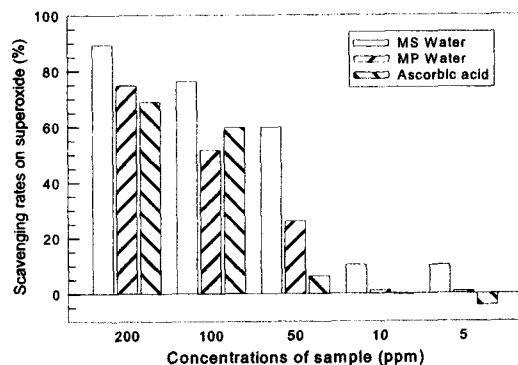


Fig. 2 Superoxide radical scavenging activities of the water-extract prepared from *M. spicata* and *M. piperata*. The activities were compared with those of ascorbic acid.
MS Water : water-extract prepared from *M. spicata*
MP Water : water-extract prepared from *M. piperata*
The values are presented as the mean (n=3)

2. DPPH 소거 효과

박하 물 추출물과 메탄을 추출물의 DPPH 소거능을 항산화제로 널리 활용되고 있는 α -tocopherol과 비교하여 분석한 결과, 청경종 (MS) 메탄을 추출물과 적경종 (MP) 메탄을 추출물 및 α -tocopherol 1,000 ppm을 첨가하였을 때, DPPH 소거능은 각각 70.34%, 69.26% 및 89.53%로서, 청경종 메탄을 추출물과 적경종 메탄을 추출물의 소거능은 유사하였으며, 항산화제로 작용하는 α -tocopherol에 비해서는 다소 약하였다. 각 메탄을 추출물 500 ppm, 250 ppm, 또는 100 ppm을 첨가하였을 때의 청경종 메탄을 추출물과 적경종 메탄을 추출물의 DPPH 소거능 역시 유사하였으며, 그 소거능은 같은 농도의 α -tocopherol과 대등한 수준이었다. 50 ppm의 농도로 첨가되었을 때, 청경종 메탄을 추출물의 DPPH 소거능은 89.38%로 동일농도의 α -tocopherol의 소거능 89.65%와 거의 동일하였으나, 적경종 메탄을 추출물의 소거능은 62.84%로 그 효능이 상대적으로 약하였다 (Fig. 3).

청경종(MS)과 적경종(MP)의 물 추출물은 1,000 ppm의 고농도에서는 DPPH 소거능을 보이지 않고 오히려 DPPH 량을 증가시켰다. 그러나, 청경종 물 추출물은 500 ppm, 250 ppm, 100 ppm 등으로 적은 량이 첨가될수록 DPPH 소거능이 증가하여 100 ppm의 농도에서 가장 강한 소거능을 보였으며, 그 이하의 농도에서는 보다 약한 소거능을 보이거나 효능을 보이지 않았다. 이러한 경향성은 항산화 효능이 있는

일부 물질들에서 보여지는 현상으로, 청경종 물 추출물의 DPPH 소거능은 그 효율이 상당히 높다고 생각되었다. 적경종 물 추출물 또한 첨가되는 농도가 낮아질수록 DPPH 소거능을 다소 보였으나 그 강도는 미약하였다 (Fig. 4).

DPPH 소거능이라는 측면에서 청경종의 메탄을 추출물은 100 ppm의 농도로 투여될 때 90.36%의 효율을 보여, 동일 농도에서의 물 추출물의 소거능 77.49% 보다 그 효율이 높았다. 이에 비하여, 적경종의 메탄을 추출물은 높은 DPPH 소거능을 보였으나, 물 추출물은 DPPH 소거능이 거의 없었다 (Fig. 3, Fig. 4).

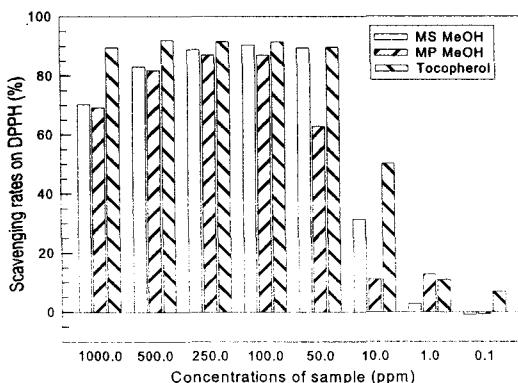


Fig. 3 DPPH radical scavenging activities of the methanol-extract prepared from *M. spicata* and *M. piperata*. The activities were compared with the activities of α -tocopherol.

MS MeOH : methanol-extract prepared from *M. spicata*
MP MeOH : methanol-extract prepared from *M. piperata*
The values are presented as the mean (n=3)

The activities were compared with those of ascorbic acid.
MS Water : water-extract prepared from *M. spicata*
MP Water : water-extract prepared from *M. piperata*
The values are presented as the mean (n=3)

3. LDL 산화저해 효과

박하 물 추출물과 메탄을 추출물의 LDL에 대한 항산화 효능을 살펴본 결과, 청경종 (MS) 메탄을 추출물과 적경종 (MP) 메탄을 추출물 및 α -tocopherol 100 ppm을 첨가하였을 때, LDL에 대한 항산화 효능은 각각 77.59%, 75.45% 및 66.54%로서, 청경종 메탄을 추출물과 적경종 메탄을 추출물은 항산화제로 널리 활용되고 있는 α -tocopherol보다 더 강한 소거능을 보였다. 이러한 반응양상은 각 시료 50 ppm, 10 ppm 또는 5 ppm을 첨가하였을 때에도 마찬가지였다. 각 시료를 1 ppm의 농도로 첨가하였을 때 LDL의 산화저해효과는 청경종 메탄을 추출물이 65.86%, 적경종 메탄을 추출물이 50.00% 그리고 α -tocopherol이 28.37%로서, 두 추출물과 α -tocopherol의 산화저해효과와의 효과는 더욱 더 현저한 차이를 보였다 (Fig. 5).

청경종 및 적경종의 물 추출물의 LDL 저해효과는 100~1,000 ppm의 농도에서 거의 대등하였다. 그 저해효과는 500~1,000 ppm의 농도로 첨가되었을 경우에는 동일 농도의 α -tocopherol보다는 다소 약하였으나, 100~250 ppm의 농도범위에서는 α -tocopherol과 대등하였다. 50 ppm의 농도에서는 청경종 물추출액의 LDL 저해효과가 89.38%로 62.84%인 적경종 물 추출액보다 상당히 강하였으며, α -tocopherol의 효과 89.65%와는 동일하였다 (Fig. 6).

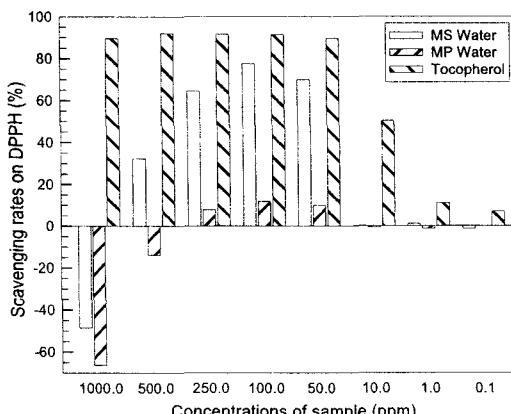


Fig. 4 DPPH radical scavenging activities of the water-extract prepared from *M. spicata* and *M. piperata*.

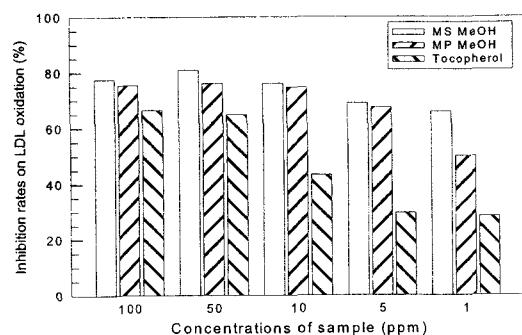


Fig. 5 Inhibition effects of the methanol-extract prepared from *M. spicata* and *M. piperata* on LDL oxidation. The effects were compared with those of α -tocopherol.
MS MeOH : methanol-extract prepared from *M. spicata*
MP MeOH : methanol-extract prepared from *M. piperata*

The values are presented as the mean(n=3)

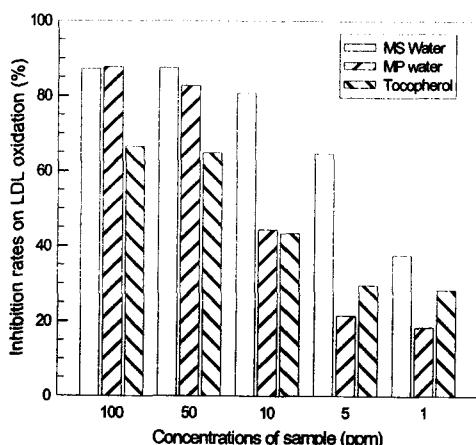


Fig. 6 Inhibition effects of the water-extract prepared from *M. spicata* and *M. piperata* on LDL oxidation. The effects were compared with those of α -tocopherol.

MS Water : water-extract prepared from *M. spicata*
MP Water : water-extract prepared from *M. piperata*
The values are presented as the mean (n=3)

4. Linoleic acid 과산화저해 효과

박하 물 추출물과 메탄을 추출물의 linoleic acid에 대한 항산화 효능을 α -tocopherol과 비교한 결과, 청경종 (MS) 메탄을 추출물과 적경종 (MP) 메탄을 추출물 및 α -tocopherol 100 ppm을 첨가하였을 때, linoleic acid 산화를 억제하는 효능은 각각 80.96%, 82.32% 및 62.32%로서, 청경종 메탄을 추출물과 적경종 메탄을 추출물은 항산화제로 널리 활용되고 있는 α -tocopherol보다 더 강한 소거능을 보였다. 이러한 반응양상은 각 시료 50 ppm, 10 ppm 또는 5 ppm을 첨가하였을 때에도 마찬가지였다. 각 시료를 1 ppm의 농도로 첨가하였을 때 linoleic acid 산화에 대한 억제효과는 청경종 메탄을 추출물이 72.94%, 적경종 메탄을 추출물이 67.81% 그리고 α -tocopherol이 72.85%로서, 두 추출물과 α -tocopherol의 산화저해효과는 유사하였다 (Fig. 7).

청경종 (MS) 및 적경종 (MP)의 물 추출물 100 ppm을 첨가하였을 때 linoleic acid에 대한 산화저해효과는 83.70% 및 81.36%로 거의 대등하였으며, 같은 농도로 첨가된 α -tocopherol의 저해능 62.32%보다 더 강한 활성이었고, 이러한 양성은 각 시료를 50 ppm의 농도로 첨가하였을 경우에도 비슷한 경향성을 보였다. 청경종 (MS) 및 적경종 (MP)의 물출물 및 α

-tocopherol을 10 ppm 이하로 첨가하였을 경우에는 청경종 및 적경종 물추출물의 linoleic acid에 대한 산화저해효과는 동일 농도의 α -tocopherol에 의한 효과보다는 약하였다. 그러나, 청경종 및 적경종 물 추출물에 의한 산화저해효과는 5 ppm의 낮은 농도에서도 56.98% 및 59.76%로 강한 활성을 보였다 (Fig. 8).

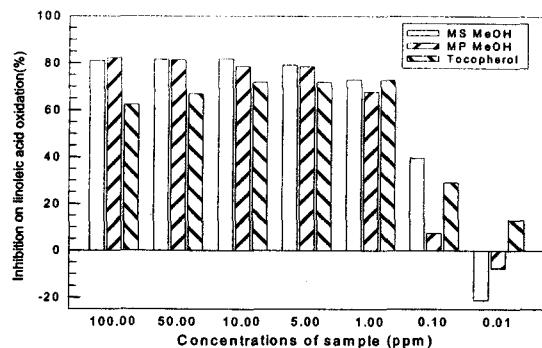


Fig. 7. Inhibition effects of the methanol-extract prepared from *M. spicata* and *M. piperata* on linoleic acid oxidation. The effects were compared with those of α -tocopherol.
MS MeOH : methanol-extract prepared from *M. spicata*
MP MeOH : methanol-extract prepared from *M. piperata*
The values are presented as the mean (n=3)

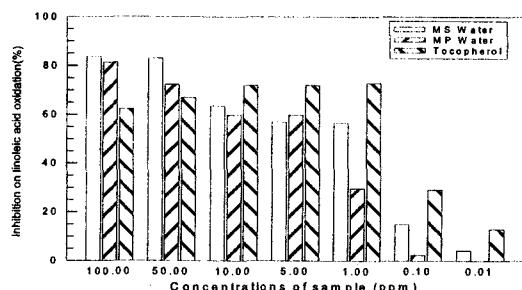


Fig. 8 Inhibition effects of the water-extract prepared from *M. spicata* and *M. piperata* on linoleic acid oxidation. The effects were compared with those of α -tocopherol.
MS Water : water-extract prepared from *M. spicata*
MP Water : water-extract prepared from *M. piperata*
The values are presented as the mean (n=3)

5. 총페놀 함량

페놀 (phenol) 성분은 산화되기 쉬운 여러 가지 물질에 대한 산화억제에 상당한 영향을 미치기 때문에, 박하 물 추출물과 메탄을 추출물에 함유되어 있는 페놀성 물질의 함량을 조사한 결과, 청경종 (MS) 메탄을 추출물의 페놀성 성분함량은 $17.95 \pm 0.04\%$ (g/100g

extract), 적경종 (MP) 메탄을 추출물은 $10.18 \pm 0.33\%$, 청경종 물 추출물은 $15.44 \pm 0.32\%$, 그리고 적경종 물 추출물은 $9.19 \pm 0.33\%$ 였다. 메탄을 추출물 및 물 추출물 모두 청경종 추출물이 적경종 추출물보다 약 1.5 배의 폐놀성 물질을 함유하고 있었다 (Table II).

Table II. Total Phenolic Compound Contents of the Methanol and Water-Extract Prepared from *M. spicata* and *M. piperata*

Samples	Total Phenolic Compound Contents (% : Mean \pm SE)
<i>M. spicata</i> MeOH-extract	17.95 ± 0.04
<i>M. piperata</i> MeOH-extract	10.18 ± 0.33
<i>M. spicata</i> water-extract	15.44 ± 0.32
<i>M. piperata</i> water-extract	9.19 ± 0.33

% : wt% (g/100 g extract)

6. In vitro 산화반응에 대한 종합적 영향

薄荷 青莖種과 赤莖種의 메탄을 추출물 및 물 추출물이 *in vitro*에서의 산화반응에 대한 영향을 종합한 결과, 메탄을 추출물에 의한 superoxide anion 라디칼 소거능은 청경종이 적경종보다 더 강하였고, 물 추출물은 청경종과 적경종의 소거능이 비슷하였다. 그러나, 청경종 메탄을 추출물은 항산화제로 널리 활용되고 있는 동일농도의 ascorbic와 거의 대등한 소거능을 보였으나, 청경종 물 추출물 및 적경종 물 추출물은 같은 농도의 ascorbic acid보다 더 강한 superoxide 라디칼 소거능을 보여 물 추출물이 메탄을 추출물보다 강한 효능을 나타냈다.

메탄을 추출물에 의한 DPPH 소거능은 청경종과 적경종이 비슷하였고, 물 추출물의 경우는 청경종이 높은 DPPH 소거능을 보였으나 적경종은 소거능이 없었다.

메탄을 추출물에 의한 LDL 및 linoleic acid에 대한 소거능은 청경종과 적경종 모두 항산화제로 널리 활용되고 있는 α -tocopherol보다 더 강한 소거능을 보였고, 물 추출물의 경우 linoleic acid에 대한 산화저해효과는 청경종과 적경종이 거의 대등하였다.

산화억제과정에 큰 영향을 보이는 폐놀 (phenol) 성분은 적경종보다 청경종에 더 많이 함유되어 있었다 (Table III).

Table III. The Effects of the Extract Prepared from *M. spicata* and *M. piperata* on Several Oxidation Reactions (*in vitro*)

Activities	Contents	Effects or Amounts		
		Ext(with)	<i>M. spicata</i>	<i>M. piperata</i>
Scavenging effects on superoxide radicals	MeOH	++	+	Fig. 1
	Water	++	++	Fig. 2
Scavenging effects on DPPH	MeOH	+	+	Fig. 3
	Water	+	-	Fig. 4
Inhibitions on LDL oxidation	MeOH	++	++	Fig. 5
	Water	++	+	Fig. 6
Inhibitions on linoleic acid-oxidation	MeOH	++	++	Fig. 7
	Water	++	++	Fig. 8
Contents of total phenolic compounds	MeOH	High	Low	Table 2
	Water	High	Low	Table 2

MeOH : methanol-extract prepared from *M. spicata* and *M. piperata*

Water : water-extract prepared from *M. spicata* and *M. piperata*

+ : positive activity

- : negative activity

고 칠

薄荷는 新修本草 菜部¹⁾에 “薄荷，味辛苦 溫，無毒。主賊風傷寒發汗，惡氣，心腹脹滿，霍亂，宿食不消，下氣。煮汁服，亦堪生食。人家種之，飲汁發汗，大解勞乏。”라고 처음 수재된 이후 圖經本草²⁾에 “近世醫家治傷風頭腦風，通關格，及小兒風涎爲要切之藥”이라 하였고, 李時珍²³⁾은 “利咽喉，口齒諸病，治癰瘡瘍瘍，搗汁含漱，去舌胎語澁，接葉塞鼻，止衄血”이라고 하였으며, 현재 임상에서는 散風熱，清頭目，利咽喉，透疹，解鬱 등의 효능이 있어 風熱表證，頭痛目赤，咽喉腫痛，麻疹不透，隱疹癰瘡，肝鬱脇痛 등 증을 치료하는데 상용되고 있다²⁾.

薄荷의 기원식물로 대한약전³⁾과 日本藥局方²⁴⁾에는 꿀풀과 (Labiatae)에 속하는 박하 *Mentha arvensis* Linne var. *piperascens* Malinvaud 또는 그 種間雜種의 지상부분으로 되어 있고, 北韓藥典²⁵⁾에는 박하 *Mentha arvensis* Linne var. *piperascens* Malinvaud의 전초로 되어 있으나, 中國藥典²⁶⁾에는 같은 科의 薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq.의 지상부분으로 되어 있으며, 臺灣藥典²⁷⁾에는 野薄荷 *Mentha arvensis* Linne var. *piperascens* Malinvaud, 蘇薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq. (= *Mentha arvensis* Auct. non Linne) 및 동속식물의 잎과 帶花枝梢라고 되어 있다.

Mentha 屬에 속하는 식물들이 유럽, 아시아 및 북아메리카 등 각지에 분포하고 있는 것으로 보아 주요

재배종인 *Mentha arvensis* L. 계통은 아시아가 원산지이고, *Mentha piperata* L. 및 *M. spicata* L. (= *Mentha viridis* L.) 계통은 유럽 지방이 원산지일 것으로 추정하고 있다⁵⁾. *Mentha arvensis* L. 계통인 *Mentha arvensis* var. *piperascens* Malinvaud는 우리나라와 일본, 시베리아지역에 분포하고 있으며^{4,28)} Japanese Mint라고 한다. *M. piperita* L.은 *M. aquatica* L.와 *M. spicata* L.의 자연접종으로 생긴 재배종으로 peppermint라고 하며, *M. spicata* L. (= *M. viridis* L.)은 유럽원산 다년초인 *M. longifolia* L.와 *M. rotundifolia* L.의 잡종 또는 *M. longifolia* L. 종의 동질4배체 기원으로 추정되며 spearmint 또 는 Green Mint라고 한다²⁹⁾.

우리나라에서 서양종 薄荷가 본격적으로 재배되기 시작한 것은 1960년대부터 농촌진흥청 작물시험장(현 작물과학원)에서 薄荷 시범연구를 실시하여 우리나라에 자생하던 동양종 대신에 서양종인 赤莖種 *M. piperita* L.과 青莖種 *M. spicata* L. (= *M. viridis* L.) 등을 중심으로 재배체계를 확립하였다⁷⁾.

인체내에서 다양한 경로에 의해 유발되는 산화적 스트레스는 생체 안에 존재하는 항산화계에 의해 제거되지만 산화적 스트레스가 항산화계의 수준을 초과하여 제거되지 못하면 생체막의 손상, 고분자 단백질 및 DNA의 변형과 기능상실 등으로 인한 다양한 퇴행성 질환이 유발될 수 있기 때문에¹⁵⁾, 항산화제에 대한 관심이 집중되고 있는데¹⁶⁾, 薄荷의 항산화 효능에 대한 연구는 아직 보고된 바가 없으므로 본 연구는 농촌진흥청 작물과학원에서 재배되고 있는 서양종 薄荷인 赤莖種과 青莖種에 대하여 항산화 효능을 비교하고자, 각각 물 추출물과 메탄을 추출물로 항산화효능을 측정하였다.

산소를 이용하여 생명을 유지하고 있는 생물에서는 산소가 전자전달계의 말단에서 전자의 주고받음에 관여함으로써 산소는 1전자 환원된 O₂⁻ (superoxide)를 생성하며 계속 환원되어 H₂O를 생성하게 된다. 이 과정 중에 생성된 활성산소는 DNA의 ribose-인산 결합의 개열과 염기의 산화적 저해를 일으키고, 기능성 단백질의 산화를 일으켜 불활성화시키며 세포막에서 불포화 지방의 과산화와 막의 파괴를 일으키는 생체의 산화적 장애를 초래하게 되므로 생체 내에서는 SOD가 O₂⁻ 소거에 관여한다. 한편, 이의 일종으로 SOD와 작용 기작은 다르지만 인체 내에서의 활성산소를 소거하는 역할이 유사하여 통상적으로 SOD 유사활성물질이라 부르며, 최근 SOD 유사활성을 지닌 천연물 소재를 개발하는데 많은 연구가 이루어지고

있다. 이에 본 연구에서는 薄荷 青莖種 *M. spicata*과 赤莖種 *M. piperita*의 메탄을 추출물 및 물 추출물의 *in vitro*에서 superoxide (O₂⁻)의 산화 억제 작용을 알아보기 위하여 superoxide와 반응하여 자동산화 반응을 측정한 결과 superoxide 소거능은 청경종이 적경종보다 더 강하였고, 물 추출물은 청경종과 적경종의 소거능이 비슷하였다. 그러나, 청경종 메탄을 추출물은 항산화제로 널리 활용되고 있는 동일농도의 ascorbic와 거의 대등한 소거능을 보였으나, 청경종 물 추출물 및 적경종 물 추출물은 같은 농도의 ascorbic acid보다 더 강한 superoxide 라디칼 소거능을 보여 물 추출물이 메탄을 추출물보다 강한 효능을 나타냈다.

청경종 메탄을 추출물과 적경종 메탄을 추출물의 DPPH 소거능은 유사하였고, 청경종 물 추출물은 높은 DPPH 소거능을 보였으나, 적경종 물 추출물은 소거능이 없었다. 한편, LDL 및 linoleic acid에 대한 청경종 메탄을 추출물과 적경종 메탄을 추출물은 항산화제로 널리 활용되고 있는 α-tocopherol보다 더 강한 소거능을 보였고, 청경종 및 적경종의 물 추출물 역시 linoleic acid에 대한 산화저해효과는 거의 대등하였다. 이와 같이 청경종과 적경종의 항산화효과는 물 추출물과 메탄을 추출물 모두 유의하였으나, 물 추출물의 경우 DPPH 소거능이 청경종은 있었으나 적경종은 없었다. 이와 더불어 산화억제과정에 큰 영향을 보이는 페놀(phenol)성 성분은 적경종보다 청경종에 더 많이 함유되어 있는 점을 고려할 때, 항산화라는 측면에서는 청경종이 적경종보다 보다 더 유용하게 이용될 수도 있다고 생각된다.

항산화제는 물질의 변질방지, 인체의 노화방지 및 성인병예방 등의 기능을 할 수 있는 물질이며¹⁶⁾, 현재 사용되는 항산화제로는 BHA (butylated hydroxy anisole), BHT (butylated hydroxy toluene), PG (propyl gallate) 등과 같은 합성 항산화제와 토코페롤과 같은 천연 항산화제가 개발되어 이용되고 있다. 그러나, BHA, BHT는 우수한 효과를 지니지만 독성이 문제가 되고 있으며, 토코페롤은 가격이 높은 단점을 가지고 있기 때문에³⁰⁾, 이들을 대체할 수 있는 효과적이고도 안전한 항산화제의 개발이 요구되고 있다. 본 실험 결과 薄荷의 청경종과 적경종은 동일 용량의 토코페롤에 못지 않은 항산화억제효과를 보였으며, 이는 청경종과 적경종 등 박하가 유용한 항산화제로 활용될 수 있음을 시사하였다.

이상의 결과로 보아, 박하의 항산화 효능은 *in vitro*에서 적경종과 청경종 모두 항산화제로 널리 활

용되고 있는 ascorbic acid나 α -tocopherol에 못지 않은 효능이 인정되어 항산화제로 개발할 수 있다고 사료되며, 다만 청경종의 경우 항산화 작용에 부정적인 요소도 있으므로 이에 대한 연구가 더 이루어져야 할 것으로 사료된다.

결 론

薄荷의 青莖種 *M. spicata* L.과 赤莖種 *M. piperita* L.을 메탄올과 물로 추출한 후, 항산화 효능을 *in vitro* 및 *in vivo*에서 실험하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 메탄올추출물의 superoxide 소거능은 청경종이 적경종보다 더 강하였고, 물 추출물은 청경종과 적경종의 소거능이 비슷하였다.
2. 청경종과 적경종 물 추출물은 같은 농도의 ascorbic acid보다 더 강한 superoxide 소거능을 보여 물 추출물이 메탄올 추출물보다 더 강하였다.
3. 메탄올 추출물의 DPPH 소거능은 청경종과 적경종이 비슷하였고, 물 추출물의 경우는 청경종이 높은 소거능을 보였으나 적경종은 소거능이 없었다.
4. 메탄올 추출물의 LDL 및 linoleic acid에 대한 소거능은 청경종과 적경종 모두 α -tocopherol보다 더 강하였고, 물 추출물의 경우 linoleic acid에 대한 소거능은 청경종과 적경종이 거의 비슷한 수준이며 메탄올 추출물보다는 약하였다.
5. 폐놀(phenol)성 성분은 청경종이 적경종보다 많이 함유되어 있다.

이와 같은 결과는 薄荷 青莖種과 赤莖種은 모두 항산화 효능이 인정되어 항산화 치료제로 개발할 수 있다고 사료된다.

참고문헌

1. 蘇敬 等撰 尚志鈞 輯校. 新修本草(輯復本). 合肥 : 安徽科學技術出版社. 1981 : 471.
2. 國家中醫藥管理局《中華本草》編委會. 中華本草. 上海 : 上海科學技術出版社. 1999 : 7권 79-86.
3. 지형준 外 編. 대한약전 및 대한약전외 한약규격주 해 제2개정. 서울 : 한국메디칼인텍스사. 1998 : 239.
4. 이창복. 대한식물도감. 서울 : 향문사. 1982 : 659.
5. Furia TE, Bellanca N. Fernaroli's handbook of flavor ingredients. CRC press. 1975 : 434.
6. Ruiz del Castillo ML, Santa-Maria G, Herraiz M, Blanch GP. A comparative study of the ability of different techniques to extract menthol from *Mentha piperita*. J Chromatogr Sci. 2003 : 41(7) : 385-9.
7. 동아출판사 사전부. 동아원색세계백과대사전. 서울 : 동아출판사. 1988 : (13)296-297.
8. Masada Y. Peppermint oil. In Analysis of essential oils by gas chromatography and mass spectrometry. Tokyo : Microkawa publishing Co Tokyo. 1975 : 13.
9. 신경은, 박홍구. 박하의 재배조건 및 수확시기에 따른 정유성분의 변화. 한국식품과학회지 1994 : 26(5) : 512-519.
10. Schuhmacher A, Reichling J, Schnitzler P. Virucidal effect of peppermint oil on the enveloped viruses herpes simplex virus type 1 and type 2 *in vitro*. Phytomedicine. 2003 : 10 : 504-10.
11. Inoue T, Sugimoto Y, Masuda H, Kamei C. Antiallergic effect of flavonoid glycosides obtained from *Mentha piperita* L. Biol Pharm Bull. 2002 : 25(2) : 256-9.
12. Samarth RM, Kumar A. *Mentha piperita* (Linn.) leaf extract provides protection against radiation induced chromosomal damage in bone marrow of mice. Indian J Exp Biol. 2003 : 41(3) : 229-37.
13. Maliakal PP, Wanwimolruk S. Effect of herbal teas on hepatic drug metabolizing enzymes in rats. J Pharm Pharmacol. 2001 : 53(10) : 1323-9.
14. Nair B. Final report on the safety assessment of *Mentha Piperita* (Peppermint) Oil, *Mentha Piperita* (Peppermint) Leaf Extract, *Mentha Piperita* (Peppermint) Leaf and *Mentha Piperita* (Peppermint) Leaf Water. Int J Toxicol. 2001 : 20(Suppl 3) : 61-73.
15. Evans CR, Halliwell B and Lunt GG. Free radicals and oxidative stress : environment, drugs and food additives. Portland Press. 1995 : 1-31.
16. Farag RS, Badei AZMA, Hewedi FM, El-Baroty GSA. Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. JAOCS. 1989 : 66 : 792-799.
17. Nishikimi M, Rao NA, Yagi K. The occurrence

- of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. *Biochem Biophys Res Commun.* 1972; 46: 849-854.
18. Bloi MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature.* 1958; 181: 1199-1200.
19. Miller CP, Jirkovsky I, Hayhurst DA, Adelman SJ. *In vitro* antioxidant effects of estrogens with a hindered 3-OH function on the copper-induced oxidation of low density lipoprotein. *Steroids.* 1996; 61: 305-308.
20. Haraguchi H, Hashimoto K, Yagi A. Antioxidative substances in leaves of *Polygonum hydropiper*. *J Agric Food Chem.* 1992; 40: 1349-1351.
21. Kim NM, Sung HS, Kim WJ. Effect of solvents and some extraction conditions on antioxidant activity in cinnamon extracts. *Korean J Food Sci Technol.* 1993; 25: 204-209.
22. 蘇頌 撰, 胡乃長 王致譜 輯注. 圖經本草 輯復本. 福建: 龍源出版公社. 1988: 519.
23. 陳貴廷 主編, 本草綱目通釋. 北京: 學苑出版社. 1992: 719.
24. 日本藥局方解說書 編纂委. 日本藥局方. 東京: 廣川書店. 1996: D730-732.
25. 조선민주주의 인민공화국 보건부 약전위원회. 조선민주주의 인민공화국 약전 제5판. 평양: 의학과학출판사. 1996: 182.
26. 中華人民共和國衛生部藥典委員會編. 中華人民共和國藥典. 北京: 化學工業出版社. 2000: 310.
27. 行政院衛生署 編. 中華民國中藥典範. 臺北: 達昌印刷有限公司. 1985: 32-35.
28. 三橋博 監修. 原色牧野和漢藥草大圖鑑. 東京: 北隆館. 1988: 451.
29. 堀田滿, 緒方健, 新田あや, 星川清親, 柳宗民, 山崎耕宇. 世界有用植物事典. 東京: (株)平凡社. 1989: 674-675.
30. Choe SY, Yang KH. Toxicological studies of antioxidants, butylated hydroxy toluene (BHT), and butylated hydroxy anisole (BHA). *Korean J Food Sci Technol.* 1982; 14: 283-288.