

박하의 *in vivo* 생리활성

이승은[†] · 한희선 · 장인복 · 김금숙 · 성낙술

농촌진흥청 작물과학원

In vivo Physiological Activity of *Mentha viridis* L. and *Mentha piperita* L.

Seung Eun Lee[†], Hee Sun Han, In Bok Jang, Geum Soog Kim, and Nak Sul Seong

National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 441-857, Korea.

ABSTRACT : Alcohol metabolizing and antioxidant activity of *Mentha* species were investigated in rat liver. Fifty six Sprague Dawley rats were randomly divided into seven groups such as normal (ethanol excluded), negative control (40% ethanol (10 g/kg of body weight/day) fed), positive control (1 g Silymarin/kg of body weight/day with ethanol fed), two *Mentha viridis* extracts (0.2 g & 1 g *M. viridis* methanol ext./kg of body weight/day with ethanol fed) and two *M. piperita* extracts (0.2 g & 1 g *M. piperita* methanol ext./kg of body weight/day with ethanol fed) groups. After 2 weeks, rats were sacrificed under ether. The activities of alcohol dehydrogenase (ADH), aldehyde dehydrogenase (ALDH), catalase (CAT), manganese superoxide dismutase (Mn-SOD), glutathione peroxidase (GAH-px) and the content of thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) in the rat livers and the activity of glutamate pyruvate transferase (GPT) in serum were evaluated. From the analyses, 1 g *M. viridis* and 0.2 g *M. piperita* administrated groups showed higher ADH and ALDH activity than the other groups. Groups fed with 0.2 g and 1 g *M. viridis* ext. and 0.2 g *M. piperita* ext. showed higher CAT activity than the other groups. All the *Mentha* extract fed groups exhibited more effective in recovering Mn-SOD, GSH-px and GPT activities to a similar degree of normal group. TBARS contents of two *M. viridis* ext. fed group and 0.2 g *M. piperita* ext. fed group were higher than those of the other groups. *M. viridis* extract fed groups showed more effective in CAT and Mn-SOD activities than *M. piperita* extract groups at $p < 0.05$. Finally, it is concluded that both *Mentha* species have alcohol metabolizing and antioxidant activity and *M. viridis* is more effective than *M. piperita*.

Key words : *Mentha viridis*, *Mentha piperita*, ADH, ALDH, Mn-SOD, CAT, GSH-px, GPT

서 언

최근 생명산업시장과 기능성 식품시장의 규모는 건강 및 장수와 관련된 well-being 제품 수요와 함께 확대되고 있는 실정인 데 2003년도 특허청 통계자료는 국내 천연물 신약의 특허출원에서 사용된 원료의 70%가 식물에서 유래되어 있음을 제시하고 있어 식물자원이 잠재적인 기능성 식·의약품 소재임을 시사하고 있다. 항산화물질은 인류가 현재 관심을 집중하는 기능성 혹은 생리활성물질의 하나로서 식품의 변질을 방지하고 인체에서의 노화 방지, 성인병 예방이 가능한 물질(Farag *et al.*, 1989; Frei, 1994)이며 이는 항산화물질이 당뇨병(Sabu & Kattan, 2002; Anathan *et al.*, 2003)뿐 만 아니라, 심혈관질환의 발병을 저해한다는(Bagchi *et al.*, 2003; Eccleston *et al.*, 2002) 보고들이 뒷받침하고 있다. 이러한 분위기 속에서 각종 질병예방 및 치료용 후보 소재로서의 항산

화제 연구가 국내외적으로 활발하게 이루어지고 있으며 그 결과 얻어진 식물자원 및 추출물은 항산화 제품으로 시판되고 있기도 하다.

꿀풀과(Lamiaceae)의 다년생 식물인 박하는 항알레르기(Shin & Kim, 1998), 항 HSV-1활성(Schuhmacher *et al.*, 2003), 항균성(Tassou *et al.*, 2000) 및 항알러지 효과(Inoue *et al.*, 2002) 등 여러 가지 생리활성이 있는 것으로 알려져 있으며 그 중 항산화 관련 연구로 Akdogan *et al.* (2004)이 *M. piperita*와 *M. spicata* tea를 흰쥐에 투여했을 때 과산화물질을 증가시킨다고 보고하였고, Saleem *et al.* (2000)이 benzoyl peroxide로 유도된 흰쥐 피부에서 *M. spicata*가 산화적 스트레스와 독성을 억제함을, Mimica-Dukic *et al.* (2003)이 *M. piperita*의 정유성분인 menthone과 isomenthone의 DPPH 소거능을 보고한 바 있다. 한편, *M. piperita*에 대해서는 그 독성을 입증하거나 무독성을 입증하는 연구(Taylor

[†]Corresponding author: (Phone) +82-31-290-6836 (E-mail) lse1003@rda.go.kr
Received September 6, 2005 / Accepted December 30, 2005

& Francis, 2001; Akdogan *et al.*, 2003)가 있어 그 안전성이 의심되기도 하는, 이와 같이 지금까지 보고된 연구에서는 독성물질을 투여한 조건에서 박하 종별 동물체내에서의 효능을 비교한 연구는 이루어지지 않았다.

본 연구에서는 증가하는 기능성 소재의 수요증가에 부응하기 위해 식물자원을 대상으로 한 항산화제 탐색을 지속적으로 수행해 오던 중 우수한 효과를 나타낸 2종의 박하 *M. viridis* L. (혹은 *M. spicata* L.)과 *M. piperita* L.에 대해 알콜로 유도한 산화적 스트레스에서의 항산화작용 및 알콜분해능을 검토하여 보다 우수한 기능성 자원을 선별하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 추출물 조제

실험재료인 2종의 박하 (*M. viridis* L., *M. piperita* L.)는 2004년 9월 농촌진흥청 작물과학원 약용자원시험포장에서 지상부를 채취한 것으로 세척, 동결건조, 분쇄하여 추출물 조제에 사용하였다. 박하 분말을 accelerated solvent extraction (ASE apparatus)를 이용하여 50°C에서 5분간 메탄올로 2회 반복 추출하고 이를 여과한 후 감압농축하여 메탄올추출물을 조제한 후 동물활성 검정에 사용하였다.

2. 시약 및 기기

실험에 사용된 분석용 시약 및 표준물질은 Sigma Co. (USA) 제품을 사용하였고 DMSO (dimethylsulfoxide)를 포함한 용매는 특급을 사용하였으며 혈청 GPT 활성분석에는 아산 제약 (Korea)에서 생산한 GOT & GPT Kit를 사용하였다. 추출물 조제에는 ASE-300 (Dionex Co, USA)을, 효소액 조제에는 Wheaton overhead stirrer (Wheaton Ser No E02, Wheaton Science, USA)와 초원심분리기 (Beckman LE 80K, USA)를, 흡광도 측정에는 UV-visible spectrophotometer (Cary 300, Varian, Australia)를 사용하였다.

3. 실험 동물 및 식이조성

생후 4주된 체중 130~140 g의 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐는 샘타코 (한국)에서 구입하여 식이균별로 8마리씩 난괴법에 따라 배정하여 온도 22±2°C, 습도 55%, 명암 주기 12시간으로 유지한 환경에서 1주일간 예비 사육한 후 Table 1에

나타낸 것처럼 정상군, 음성대조군, 양성대조군 및 박하 추출물 4개 투여군 등 모두 7개 군으로 나누어 사육하였다. 2주일간의 사육 기간동안 매일 40% 에탄올 (10 g/kg body weight of rat/day)을 경구투여함으로써 산화적 스트레스를 유발하면서 멸균된 고품사료 (샘타코, 한국)와 물은 자유롭게 섭취토록 하였으며 각 동물들의 체중 변화를 매일 기록하였고 희생하기 17시간 전부터 단식시켰다.

4. 장기 적출, 상대간장중량 및 채혈

2주간의 투여실험 후 15시간동안 절식한 후 에테르 흰쥐를 마취하고 간장과 혈액을 채취하였다. 이때 간장은 0.9%의 식염수로 관류한 후 적출한 후 생리식염수로 세척하고 여과지로 닦은 다음 중량을 기록하여 상대간장중량의 산출에 사용하였고 -70°C의 냉동고에 보관하면서 활성 분석실험에 사용하였다.

5. 효소액 조제 및 혈청 분리

간장 조직 중량의 10배량의 0.1 M phosphate buffer를 가해 세절한 후 glass teflon homogenizer로 마쇄하여 얻어진 liver homogenate 중 일부는 과산화물질 (thiobarbituric acid reactive substance, TBARS)의 함량 분석에 사용하였다. 남은 일부의 liver homogenate는 600×g에서 15분간 원심분리하여 상등액을 얻고 다시 8,000×g에서 10분간 원심분리하여 얻어진 침전물로 catalase (CAT), aldehyde dehydrogenase (ADLH)의 활성을 분석하였다. 전 단계에서 남은 상등액은 105,000×g에서 1 시간동안 초원심분리하여 최종적으로 얻어진 상등액으로 manganese superoxide dismutase (Mn-SOD), glutathione peroxidase (GSH-px) 및 alcohol dehydrogenase (ADH)의 활성 분석을 수행하였다. 또한 복부대동맥에서 채취된 혈액은 4°C에서 30분간 정치한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하여 glutamate pyruvate transferase [GPT, 또는 alanine aminotransferase (ALT)]의 활성분석에 사용하였다.

6. 간장 중 ADH 활성 측정

Gergel & Cederbaum (1996)의 방법을 변형하여 0.2 M ethanol 0.1 ml, 0.5 M semicarbazide 0.02 ml, 0.1 M NAD 0.02 ml 및 0.1 M Tris buffer (pH 8.5) 2.0 ml를 30°C에서

Table. 1. Experiment plan

Experiment groups	Normal	Negative control	Positive control	<i>Mentha</i> ext.-treated groups
Oral supplement	Stock diet	Stock diet	Stock diet + Silymarin (1 g/kg body weight of rat/day)	Stock diet + <i>M. viridis</i> & <i>M. piperita</i> extracts (0.2 g & 1 g/kg body weight of rat/day)
40% ethanol treatment (10 g/kg of body weight of rat/day)	No treatment	Treatment	Treatment	Treatment

10분간 예비배양한 후, 효소액 0.1 ml을 가하고 340 nm에서 1분간 흡광도 변화를 기록하였으며 결과 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg protein}$)는 extinction coefficient (ϵ_{340} , $6,220\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 산출하였다.

7. 간장 중 ALDH 활성 측정

Kathryn 등의 방법 (1996)에 따라 liver mitochondria 분획에 일정량의 50 mM phosphate buffer (pH 7.0)를 가하여 혼합한 후 0.1 ml을 취해 buffer 0.9 ml로 희석한 후 반응액 1 mM NAD, 0.2 mM 4-methyl pyrazole, 1 mM magnesium chloride가 함유된 50 mM sodium pyrophosphate (pH 8.8) 1 ml, 0.2% rotenone 0.5 ml 및 400 μg protein에 해당하는 효소액을 가해 혼합하였다. 이 반응액을 30°C의 water bath에서 20분간 incubation한 후 340 nm에서 1분간 흡광도를 측정하고 5 mM acetaldehyde를 0.1 ml 가하여 반응을 시작한 후 340 nm에서 1분간 흡광도를 측정하였다. 결과는 340 nm에서의 흡광계수 ($6,200\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$)에 근거하여 minute당 생성된 NADH의 nanomole로 표기 (nM NADH/min/mg protein)하였다.

8. 간장 중 Mn-SOD 활성 측정

Mn-SOD 활성 (unit/mg protein)은 Oh *et al.* (1992)과 Flohe의 방법 (1984)에 준해 다음과 같이 수행하였다. 먼저 원심분리한 조직 상등액 500 μl 를 75 mM sodium xanthine 50 μl 와 10 mM hydroxylamine hydrochloride 50 μl 그리고 증류수 200 μl 를 혼합한 후 37°C에서 10분간 예비 배양하였다. 여기에 xanthine oxidase (0.1 U/ml) 200 μl 를 가하고 다시 37°C에서 20분간 배양한 다음 1% sulfanilamide 1 ml, 0.02% *N*-(1-naphthyl)ethylenediamine 1 ml를 가한 후 실온에서 20분간 방치한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였고 이를 SOD를 표준물질로 사용한 검량선에 대입하여 활성 (unit/mg protein)을 나타내었다.

9. 간장 중 GSH-px 활성 측정

Glutathione peroxidase의 활성 ($U_k/\text{mg protein}$)은 Flohe의 방법 (1989)에 따라 다음과 같이 측정하였다. $1\times 10^{-3}\text{M}$ Sodium azide와 1 mM EDTA를 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.0) 500 μl , 효소액 100 μl , glutathione reductase (2.768 U/ml) 100 μl , $1\times 10^{-2}\text{M}$ glutathione 100 μl 를 혼합하여 37°C에서 10분 동안 예비배양한 후 이 반응액에 0.1% NaHCO_3 에 녹인 $1.5\times 10^{-3}\text{M}$ NADPH 100 μl 를 가해 1분간 그리고 $1.5\times 10^{-3}\text{M}$ H_2O_2 100 μl 를 가한 후 다시 1분간 340 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과는 흡광도와 NADPH의 molecular extinction coefficient ($E=6.22\times 10^6\text{cm}^2$)로부터 효소액과 blank의 1분간의 NADPH 농도 변화 ($\Delta[\text{NADPH}/\text{min}]$)를 산출하고 이 효소액의 수치에서 blank의

수치와 glutathione peroxidase와 관련없는 인자에 의해 나타나는 $\Delta[\text{NADPH}/\text{min}]$ 를 빼준 값을 다음의 식에 대입하여 glutathione peroxidase의 활성 ($U_k/\text{mg protein}$)을 산출하였다.

$$U_k = 0.868(\Delta[\text{NADPH}]/[\text{GSH}_0])\times t \times (V_i/V_s)$$

V_i/V_s : 희석배수,

V_i : incubation volume,

V_s : initial sample volume,

GSH_0 : glutathione의 초기 농도

10. 간장 중 CAT 활성 측정

Catalase 활성 (k/mg protein)은 Abei (1984)의 방법에 따라 0.1 ml의 원심분리한 상등액, 기질인 10.5 mM H_2O_2 그리고 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0)를 합하여 3 ml이 되게 한 후 25°C에서 30초 동안 반응시켰으며, 이 반응액을 240 nm에서 H_2O_2 의 흡광도 변화로 효소 활성을 측정하였다. 효소 활성 (k/mg protein)은 1분간 1 μM H_2O_2 를 분해시키는 데 요구되는 효소량으로 나타내었다.

11. 혈청 중 GPT 활성 분석 및 효소액 중 단백질 함량 측정

분리된 혈청에서의 GPT 활성은 Kit를 사용하여 분석하였고 각 효소활성 분석에 사용한 효소액 중의 단백질 함량은 Bradford (1976)의 방법에 준해 10~100 μg 의 단백질을 함유하는 원심분리 후의 효소액과 0.01% (w/v) Brilliant Blue G 250 시약 3 ml를 혼합하여 595 nm에서 흡광도를 측정한 후 bovine serum albumin을 표준물질로 사용한 검량선식에 대입하여 결정하였다.

12. 간장 중 과산화물질 (TBARS) 함량 측정

간장의 TBARS 함량은 Botsoglou *et al.* (1994)의 방법에 준해 수행하였는데 먼저 liver homogenate 2 ml, 10% aqueous TCA 2 ml, 0.8% BHT (butylated hydroxy toluene)를 함유한 hexane 2 ml를 혼합한 후, 600 \times g에서 10분간 원심분리하였으며 이때 얻어진 상등액 2 ml를 취해 5% TCA 2 ml를 가한 후 원심분리하였다. 획득된 상등액 0.5 ml를 취해 5% TCA 0.5 ml, 0.8% TBA 1 ml와 함께 끓는 물에서 15분간 반응시키고 급냉한 후 반응액의 흡광도를 521.5 nm에서 측정하였고 TEP (1,1,3,3-tetraethoxypropane)로부터 조제된 표준물질인 MDA에 대해 동일한 과정을 거쳐 얻어진 검량선식에 근거하여 과산화물질의 함량을 산출하였다.

13. 통계분석

박하 추출물의 흰쥐에서의 활성분석으로부터 얻어진 결과에 대한 유의성은 SAS (statistical analysis systems) program을 이용하여 $p < 0.05$ 의 수준에서 one way ANOVA test 및 Duncan's multiple range test로 검정하였다.

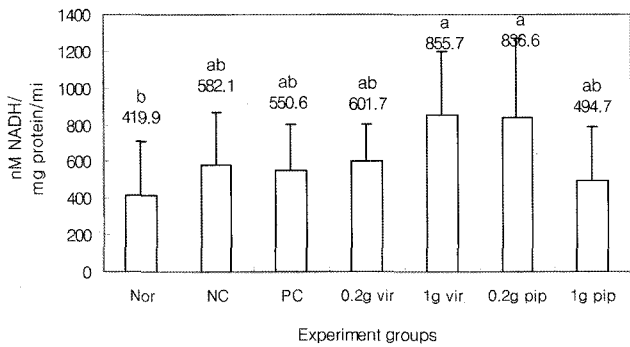


Fig. 1. ADH activity in rat liver administrated with methanol extract (0.2 g & 1 g/kg of body weight/day) from *M. viridis* and *M. piperita* and 40% alcohol for 2 weeks (Nor, normal; NC, negative control; PC, positive control; Values with alphabetical numbers above the bar were significantly different at $p < 0.05$).

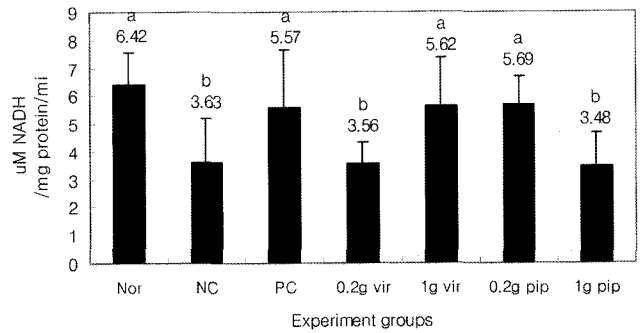


Fig. 2. ALDH activity in rat liver administrated with methanol extract (0.2 g & 1 g/kg of body weight/day) from *M. viridis* and *M. piperita* and 40% alcohol for 2 weeks (Nor, normal; NC, negative control; PC, positive control; Values with alphabetical numbers above the bar were significantly different at $p < 0.05$).

결과 및 고찰

1. 간장 중 ADH 활성

Fig. 1에 나타난 바와 같이 생체 내에서 알콜을 아세트알데히드로 분해하는 효소인 ADH의 활성은 *M. viridis* ext. 1 g/kg body weight of rat/day 투여군 (이하 *M. viridis* ext. 1 g 투여군)과 *M. piperita* ext. 0.2 g/kg body weight of rat/day 투여군 (이하 *M. piperita* ext. 0.2 g 투여군)에서 유의적으로 높은 활성이 관찰되었다. 이러한 결과는 음성대조군에 비해 *M. viridis* ext. 1 g 투여군은 147%, *M. piperita* ext. 0.2 g 투여군은 144%가 증가하였고, 이는 양성대조물질인 Silymarin 투여군의 95%보다 높은 수치로서 양성물질인 Silymarin보다도 매우 효과적으로 알콜의 빠른 분해에 기여하는 것을 시사하는 것이며, 두 종의 박하는 모두 ADH의 활성을 증가시키는 효과가 있는 것으로 확인되었다.

2. 간장 중 ALDH 활성

간장에 존재하는 ALDH는 알콜 분해로 생성된 중간생성물인 아세트알데히드를 무독화하는 반응을 촉매하는 효소로서 만성알콜의 투여에 의해 활성이 감소되는 특성을 가진다 (Quertemont *et al.*, 2005). 그러므로, 만성적인 알콜 투여에서는 ALDH의 활성 감소가 예상되는 데 본 실험결과, Fig. 2에 나타난 바와 같이 알콜을 무투여한 정상군에 비해 알콜을 투여하면서 추출물을 무투여한 음성대조군은 그 활성이 56%인 것을 볼 수 있다. 이와는 반대로 *M. viridis* ext. 1 g 투여군과 *M. piperita* ext. 0.2 g 투여군은 음성대조군에 비해 각각 154%, 158%의 활성을 나타냈으며 이는 Silymarin 투여군 (153%)보다 높은 수치이므로 박하는 ALDH의 활성도 효과적으로 증가시킴을 확인할 수 있었다. 한편, 2종의 박하 중에서 *M. viridis* ext.는 투여량에 비례하여 그 활성이 증가하였으나

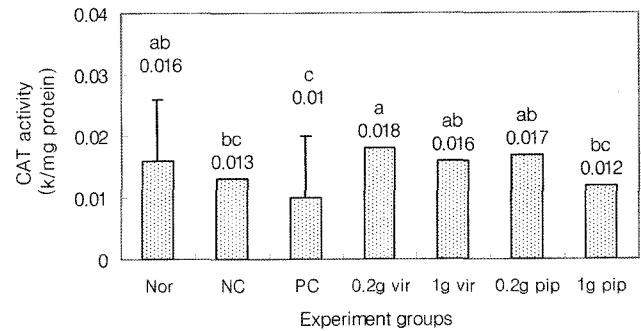


Fig. 3. CAT activity in rat liver administrated with methanol extract (0.2 g & 1 g/kg of body weight/day) from *M. viridis* and *M. piperita* and 40% alcohol for 2 weeks (Nor, normal; NC, negative control; PC, positive control; Values with alphabetical numbers above the bar were significantly different at $p < 0.05$).

M. piperita ext.는 투여량에 비례적으로 활성이 감소하였으므로 ADH 활성과 마찬가지로 ALDH 활성에 대해서도 보다 다양한 투여량에 대한 추가적인 검정이 필요할 것으로 사료되었다.

3. 간장 중 CAT 활성

알콜을 아세트알데히드로 분해하는 효소의 일종 (Quertemont *et al.*, 2005)이면서 항산화효소인 CAT의 활성을 분석한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 결과를 살펴보면 *M. viridis* ext. 투여군이 *M. piperita* ext. 투여군보다 그 활성이 유의적으로 높았으며 *M. viridis* ext. 투여군은 정상군이나 음성대조군 및 Silymarin 투여군보다도 활성이 높았다. 한편, 음성대조군은 정상군에 비해 CAT의 활성이 낮게 나타났으며 이 값은 Silymarin 투여군보다도 높은 것이었는데 이러한 실험결과는 알콜을 투여한 흰쥐의 간장에서 CAT는 항산화효소로서의 기능과 알콜분해효소로서의 복합적인 기능에 기인한 것으로 사

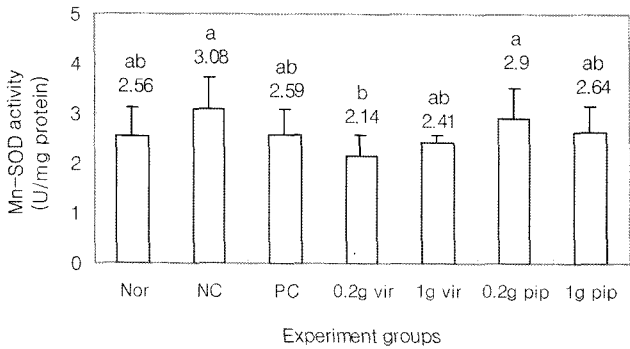


Fig. 4. Mn-SOD activity in rat liver administrated with methanol extract (0.2 g & 1 g/kg of body weight/day) from *M. viridis* and *M. piperita* and 40% alcohol for 2 weeks (Nor, normal; NC, negative control; PC, positive control; Values with alphabetical numbers above the bar were significantly different at $p < 0.05$).

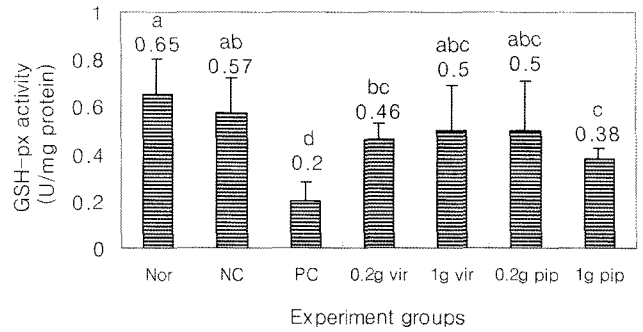


Fig. 5. GSH-px activity in rat liver administrated with methanol extract (0.2 g & 1 g/kg of body weight/day) from *M. viridis* and *M. piperita* and 40% alcohol for 2 weeks (Nor, normal; NC, negative control; PC, positive control; Values with alphabetical numbers above the bar were significantly different at $p < 0.05$).

료된다. 2종 박하 중 *M. viridis* ext. 투여군은 알콜분해에 있어서 *M. piperita* ext. 투여군보다 우수한 것으로 생각된다.

4. 간장 중 Mn-SOD 활성

알콜의 투여로 다량 생성되는 라디칼들은 생체 내에서 항산화 효소인 Mn-SOD의 활성을 증가시키는 데 라디칼을 적절히 제거할 수 있는 항산화물질이 존재하면 그 활성은 정상 수준으로 회복 (Koch *et al.*, 2004)되므로 알콜 투여로 유발된 산화적 스트레스에 대해 2종의 박하 추출물이 어떠한 영향을 미치는지를 관찰하였다. Fig. 4에 나타난 것처럼 음성대조군의 Mn-SOD 활성은 정상군에 비해 117% 증가하였으며 *M. viridis* ext. 0.2 g 및 1 g 투여군은 음성대조군의 활성에 대해 각각 69% 및 78%를, *M. piperita* ext. 0.2 g 및 1 g 투여군은 각각 94% 및 86%를 나타내어 알콜투여에 의한 Mn-SOD의 활성이 정상수준으로 회복됨을 알 수 있었다. 한편 *M. viridis* ext. 투여군은 Silymarin 투여군 (84%)보다도 효과적으로 Mn-SOD의 활성을 회복시키는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과를 살펴볼 때, 2종의 박하 중에서 *M. viridis* ext. 투여군이 *M. piperita* ext. 투여군보다도 알콜투여에 의한 산화적 스트레스를 효과적으로 방어할 수 있는 것으로 사료된다.

5. 간장 중 GSH-px 활성

박하 추출물이 알콜을 투여한 흰쥐의 간장에서 항산화 효소 glutathione peroxidase (GSH-px)의 활성에 미치는 영향을 살펴본다 (Fig. 5). 실험결과 알콜을 투여한 모든 실험군들이 정상군에 비해 GSH-px의 활성이 감소되었는데, 음성대조군에 비해서는 *M. viridis* ext. 0.2 g 및 1 g 투여군이 각각 81% 및 88%를, *M. piperita* ext. 0.2 g 및 1 g 투여군이 88% 및 67%를 나타내어 Silymarin 투여군의 35%보다는 높은 수치이기는 하지만 Mn-SOD와 마찬가지로 알콜에 의해 유도

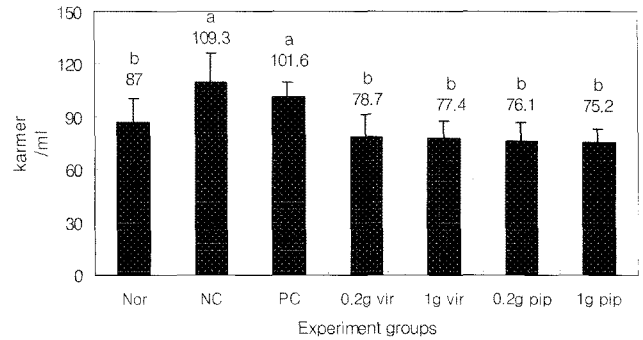


Fig. 6. GPT activity of rat administrated with methanol extract (0.2 g & 1 g/kg of body weight/day) from *M. viridis* and *M. piperita* and 40% alcohol for 2 weeks (Nor, normal; NC, negative control; PC, positive control; Values with alphabetical numbers above the bar were significantly different at $p < 0.05$).

된 GSH-px의 활성증가 (Harkany *et al.*, 1997)를 2종의 박하 모두 효과적으로 회복시켜주는 것으로 판단되었다.

6. 혈청 중 GPT (ALP) 활성

알콜투여 흰쥐의 혈청 glutamate pyruvate transferase (GPT)에 대한 박하 추출물의 영향을 살펴본 결과 (Fig. 6), 추출물을 투여하지 않고 알콜만을 투여한 음성대조군의 경우 정상군에 비해 GPT의 활성이 유의적으로 증가한 것을 알 수 있었으며, 음성대조군에 비해 박하 추출물과 알콜 그리고 Silymarin과 알콜을 투여한 실험군에서는 그 활성이 감소하는 경향을 나타내었다. 특히 *M. viridis*와 *M. piperita* 투여군은 음성대조군이 나타낸 활성에 비해 69%~72%의 활성을 나타냄으로서 Silymarin 투여군 (93%)에 보다 효과적으로 회복되었음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 2종의 박하 추출물이 모두 알콜에 의해 유도된 간독성에 대해 Silymarin보다 효과적인 방

Table 2. TBARS content and relative liver weight in rat liver administrated with methanol extract (0.2 g & 1 g/kg of body weight/day) from *M. viridis* and *M. piperita* and 40% alcohol for 2 weeks (Values with alphabetical numbers in the same column were significantly different at $p < 0.05$)

Experiment groups	TBARS ($\mu\text{g/g}$ of tissue)	Relative liver weight (% , w/w)
Normal	50.48 \pm 1.82 ^b	3.37 \pm 0.09 ^a
Negative control	52.61 \pm 5.36 ^b	3.43 \pm 0.20 ^a
Positive control	58.90 \pm 2.69 ^a	3.28 \pm 0.08 ^a
0.2 g <i>M. vir</i> /kg of body weight	60.58 \pm 2.05 ^a	3.45 \pm 0.08 ^a
1 g <i>M. vir</i> /kg of body weight	62.60 \pm 2.08 ^a	3.30 \pm 0.10 ^a
0.2 g <i>M. pip</i> /kg body weight	61.48 \pm 1.64 ^a	3.39 \pm 0.19 ^a
1 g <i>M. pip</i> /kg body weight	52.89 \pm 3.16 ^b	3.33 \pm 0.13 ^a

어를 하는 것을 시사하는 결과이다. 한편, 2종의 박하 추출물 투여군들 사이에는 혈청 GPT 활성에 대한 유의적인 차이가 나타나지 않음을 확인할 수 있었다.

7. 간장 중 과산화물질 (TBARS)의 함량 및 상대간장중량

2종 박하의 알콜을 투여한 흰쥐 간장에서의 과산화물질 및 상대간장중량에 대한 영향을 분석하였으며 그 결과를 Table 1에 나타내었다.

먼저 과산화물질의 함량에 대한 분석결과를 살펴보면 정상군에 비해 음성대조군에서 약간의 함량 증가가 관찰되었으나 유의적인 수준은 아니었으며 대부분의 박하 추출물 투여군과 Silymarin 투여군에서 과산화지질이 비슷한 수준으로 증가하였고 *M. piperita* ext. 1g 투여군만이 정상군 및 음성대조군과 유의적으로 동일한 수준을 유지하였다. 이러한 결과는 *M. piperita*와 *M. spicata*가 알콜을 투여하지 않은 rat liver에서도 TBARS 수준을 증가시켰다고 하는 Akdogan *et al.*의 보고 (2004)와 일치하는 것으로 박하는 알콜에 의한 과산화물질 생성을 감소시키는 데에는 효과적이지 않은 것으로 사료되었다. 한편, 2종의 박하 중에는 *M. piperita*가 *M. viridis* 보다 근소하게나마 과산화물질 생성 저해 작용을 나타낸 것으로 사료되었다.

만성적인 알콜 섭취가 유발하는 지방생성 증가 및 이를 통한 간장의 중량 증가 (Lee *et al.*, 1993)에 대해 박하 추출물이 미치는 영향을 분석한 결과, 각 실험군별로 상대간장중량에서의 차이는 다소 있었으나 통계적인 유의성은 없는 것으로 확인되어 Silymarin 뿐만 아니라 박하는 중에 관계없이 알콜 섭취로 인해 증가하는 지방생성을 막는 데에는 효과적이지 않은 것으로 사료되었다.

이러한 결과를 종합할 때, 박하는 ADH, ALDH 및 CAT의 활성을 증가시킴으로서 알콜분해를 촉진하는 효과가 매우 우수하며, 과산화물질의 생성을 저해하는 데에는 기여하는 바가

적이나 알콜에 의해 유도된 Mn-SOD 및 GSH-px 등 항산화 효소의 활성 증가를 정상수준으로 회복시킴으로서 항산화 작용을 발휘할 것으로 사료되며 GPT의 활성회복에 의한 간손상 저해 작용도 보유한 것으로 사료된다.

적 요

*M. viridis*와 *M. piperita*의 흰쥐에서의 생리활성을 확인하기 위해 수행한 실험 결과는 다음과 같다.

1. ADH 활성은 *M. viridis* ext. 1g/kg body weight of rat/day 투여군 (이하 *M. viridis* ext. 1g 투여군)과 *M. piperita* ext. 0.2g/kg body weight of rat/day 투여군 (이하 *M. piperita* ext. 0.2g 투여군)이 음성대조군에 비해 각각 147% 및 144% 증가하여 양성대조물질인 Silymarin 투여군 (95%)보다 매우 효과적으로 알콜의 빠른 분해에 기여하는 것으로 확인되었다.

2. ALDH 활성은 *M. viridis* ext. 1g 투여군과 *M. piperita* ext. 0.2g 투여군이 음성대조군에 비해 각각 154%, 158%의 활성증가를 나타냈으며 이는 Silymarin 투여군 (153%)보다 높은 활성으로 2 종의 박하가 모두 효과적으로 알콜을 분해할 것으로 생각되었다.

3. CAT 활성은 *M. viridis* ext. 투여군이 *M. piperita* ext. 투여군보다 유의적으로 높았으며 특히, *M. viridis* ext. 투여군은 정상군이나 음성대조군 및 Silymarin 투여군보다도 활성이 높아 *M. viridis* ext. 투여군이 CAT에 의한 알콜분해에 있어서 *M. piperita* ext. 투여군보다 우수한 것으로 확인되었다.

4. Mn-SOD 활성은 *M. viridis* ext. 0.2g 및 1g 투여군은 음성대조군에 비해 각각 69% 및 78%를, *M. piperita* ext. 0.2g 및 1g 투여군은 각각 94% 및 86%를 나타내어 *M. viridis* ext. 투여군이 *M. piperita* ext. 투여군보다도 알콜투여에 의한 산화적 스트레스를 효과적으로 방어하는 것을 알 수 있었으며 특히, *M. viridis* ext. 투여군은 Silymarin 투여군 (84%)보다도 Mn-SOD의 활성 회복에 효과적이었다.

5. GSH-px의 활성은 음성대조군에 비해 *M. viridis* ext. 0.2g 및 1g 투여군이 각각 81% 및 88%를, *M. piperita* ext. 0.2g 및 1g 투여군이 88% 및 67%를 나타내 알콜에 의해 유도된 GSH-px의 활성증가를 2종의 박하 모두 효과적으로 회복시켜주었다.

6. 혈청 GPT의 활성은 음성대조군에서 정상군에 비해 유의적으로 증가 (126%)하였으나 *M. viridis*와 *M. piperita* 투여군은 음성대조군이 나타낸 활성에 대해 69%~72%의 활성을 나타내 우수한 GPT 활성 회복력을 가졌으며 이는 Silymarin (93%) 보다도 우수하였다. 2종의 박하 추출물 투여군들 사이에는 혈청 GPT 활성에 대한 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

7. 과산화물질 (TBARS)의 함량은 정상군에 비해 음성대조

군에서 약간의 함량 증가가 관찰되었으나 유의적인 수준은 아니었으며 대부분의 박하 추출물 투여군과 Silymarin 투여군에서 과산화지질이 비슷한 수준으로 증가하여 박하는 알콜에 의한 과산화지질생성에 대한 저해효과가 낮은 것으로 확인되었다.

8. 상대간장중량은 각 실험군별로 상대간장중량에서의 차이는 다소 있었으나 유의성은 없었다.

LITERATURE CITED

- Abei H** (1984) Catalase *in vitro*. In "Methods in Enzymology", Vol. 5, Packer, L. (ed.), Academic Press, p. 121-126.
- Akdogan M, Kle I, Oncu M, Karaoz E, Delibas N** (2003) Investigation of biochemical and histopathological effects of *Mentha piperita* L. and *Mentha spicata* L. on kidney tissue in rats. Human & Experimental toxicology 22:213-219.
- Akdogan M, Ozguner M, Aydin G, Gokalp O** (2004) Investigation of biochemical and histopathological effects of *Mentha piperita* Labiata and *Mentha spicata* Labiatae on liver tissues in rats. Hum Exp. Toxicoll 23:21-28.
- Anathan R, Basker C, Narmatha Bai V, Pani L, Ramkumas K** (2003) Antidiabetic effect of *Gymnema montanum* leaves : effect on lipid peroxidation induced oxidative stress in experimental diabetes. Pharmacol. Res. 48:551-561.
- Bagchi D, Sen CK, Ray SD, Das DK, Bagchi M, Preuss HG, Vinson JA** (2003) Molecular mechanism of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. Mutation Res./ Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 523-524:87-97.
- Botsoglou NA, Fletouris DJ, Parageorgiou GE, Vassilopoulos VN, Mantis AJ, Trakatellis AG** (1994) Rapid, sensitive and specific thiobarbituric acid methods for measuring lipid peroxidation in animal tissues, food and foodstuffs. J. Agric. Food Chem. 42, 1931-1937.
- Bradford MM** (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Anal. Biochem. 72, 248-254.
- Eccleston C, Baoru Y, Tahvonen R, Kallio H, Rimbach GH, Minihane AM** (2002) Effects of an antioxidant-rich juice (sea buckthorn) on risk factors for coronary heart disease in humans. J. Nutritional Biochem. 13:346-354.
- Flohe' L, Ötting F** (1984) Superoxide dismutase assays. In Methods in Enzymology, Vol. 105, Packer, L. (ed.), Academic Press, pp. 93-105.
- Flohe' L** (1989) Determination of glutathione peroxidase. In Handbook of Free Radicals and Antioxidants in Biomedicine, Vol. , Miguel, J., Quintanilha, A. T., Weber, H. (eds.), CRC Press, p. 283-284.
- Gergel D, Cederbaum AI** (1996) Inhibition of the catalytic activity of alcohol dehydrogenase by nitric oxide is associated with S nitrosylation and the release of zinc. Biochemistry 35:16186-16194.
- Harkany T, Sasvari M, Nyakas C** (1997) Chronic ethanol ingestion-induced changes in open-field behavior and oxidative stress in the rat. Pharmacol. Biochem. Behavior 58:195-201.
- Inoue T, Sugimoto Y, Masuda H, Kamei C** (2002) Antiallergic effect of flavonoid glycosides obtained from *Mentha piperita* L. Biol. Pharm. Bull. 25:256-259
- Kathryn G, Zalman A, Brian RS** (1996) The regulation of alcohol consumption in rats : the role of alcohol-metabolizing enzymes-catalase and aldehyde dehydrogenase. Alcohol 13 : 347-353
- Koch OR, Pani G, Borrello S, Colavitti R, Cravero A, Farre' S, Galeotti T** (2004) Oxidative stress and antioxidant defenses in ethanol-induced cell injury. Molecular Aspects of Medicine 25:191-198.
- Lee CH, Jung YJ, Park DK, Kim CW, Han YB, Lee WC, Kim JB** (1993) Effects of ascorbate and a-tocopherol administration on liver function in chronically ethanol-treated rats. J. Korean Soc. Food Nutr. 22:132-137.
- Mimica-Dukic N, Bozin B, Sokovic M, Mihajlovic B, Matavulj M** (2003) Antimicrobial and antioxidant activities of three Mentha species essential oils. Planta Med. 69:413-419
- Oh MH, Chung HY, Yong HS, Kim KW, Chung HY, Oura H, Yokozawa T** (1992) Effects of ginsenoside Rb₂ on the antioxidants in SAM-R/1 mice. Korean Biochem. J. 25, 492-497.
- Quertemont E, Tambour S, Tirelli E** (2005) The role of acetaldehyde in the neurobehavioral effects of ethanol: a comprehensive review of animal studies. Progress in Neurobiol. 75:247-274.
- Sabu M, Kattan R** (2002) Antidiabetic activity of medicinal plants and its relationship with their antioxidant property. J. Ethnopharmacol. 81:155-160.
- Saleem M, Alam A, Sultana S** (2000) Attenuation of benzoyl peroxide-mediated cutaneous oxidative stress and hyperproliferative response by the prophylactic treatment of mice with spearmint (*Mentha spicata*). Food and Chemical Toxicology 38:939-948
- Shin TY, Kim DK** (1998) Antiallergic activity of Menthae herba. Korean J. Pharmacognosy 29:248-253
- Schuhmacher A, Reichling J, Schnitzler P** (2003) Virucidal effect of peppermint oil on the enveloped viruses herpes simplex virus type 1 and type 2 *in vitro*. Phytomedicine 10:504-510
- Tassou C, Koutsoumanis K, Nychas GJE** (2000) Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. Food research International 33:273-280
- Taylor F** (2001) 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. International Journal of Toxicology 3:61-73