

## Purine 대사과정에 미치는 마늘 수침액의 영향

許 堉 · 李相日 · 朴鍾珉 · 金碩煥\*

영남대학교 약학대학 · \*동아대학교 식품영양학과

(Received February 2, 1986)

### Effect of Garlic on the Purine Metabolic Pathway

Keun Huh, Sang Il Lee, Jong Min Park and Suk Hwan Kim

College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyeongsan 632, Korea

\*Department of Food and Nutrition, Dong-A University, Pusan 600-02, Korea

**Abstract**—It was attempted to observe the effect of garlic on the hepatic purine metabolizing enzymes in this study. The activities of adenosine deaminase, guanase, and uricase in rats were not changed significantly following the feeding of 5% garlic juice. Whereas, garlic juice inhibited significantly the hepatic xanthine oxidase activity compared to control group with the lapse of treated-period. The urate level of serum in rats was significantly decreased by the treatment of garlic juice. The above inhibitory effect of garlic was greater in boiled garlic juice than fresh garlic juice-treated group. These results indicated that, according to the chemical properties of allicin which is unstable in heat, other components than allicin in garlic may regulate the hepatic purine metabolizing enzymes.

마늘(*Allium sativum* L.)은 우리나라 사람들이 매일 음식물로 섭취하는 향신료의 하나이다.

인류가 마늘을 사용한 역사적인 배경을 보면 Hippocrates전집에 항균작용과 화농성질환에 유효하다<sup>1)</sup>고 수록되어 있는 것으로 보아 상당히 오래전부터 마늘이 약용으로 사용되었음을 알 수 있다.

고노산혈증은 노산의 혈중농도가 증가된 상태를 말한다. 노산은 purine대사의 최종대사산물이므로 고노산혈증은 핵산대사질환<sup>2-3)</sup>이라고 할 수 있다. 본질환의 발병율은 국민간에 상당한 차이가 있으며 저개발국가에서 보다 큰 문명의 혜택을 많이 누리는 나라 사람들의 발병율이 높은 것으로 보아 생활환경과 밀접한 상관성을 지니고 있을 것으로 생각되어진다.

許 등<sup>4)</sup>은 흰 쥐에 에탄올을 투여하여 고노산혈증 모델을 만들고 마늘수침액의 영향을 검토하였을 때 마늘수침액은 노산의 혈중농도를 현저히 감소시킬뿐만 아니라 노산생성효소인 간 xanthine oxidase의 활성도 강력하게 저해함<sup>5-6)</sup>

을 관찰하였다.

그러므로 마늘수침액이 purine대사효소중, 선택적으로 xanthine oxidase활성만을 억제하는지 여부와 마늘성분중의 어떤 분획이 효소활성억제작용을 나타내는지를 구명코자 다음의 실험을 행하였다.

### 실험 방법

**실험동물 및 시약**—본 대학 동물사에서 일정한 조건으로 사육한 건강한 250g 내외의 SD계 웅성 rat와 25g 내외의 ICR계 mouse를 사용하였으며 실험동물은 실험전 16시간동안 절식시켜 사용하였다. xanthine sodium salt, uric acid sodium salt, bovine serum albumin (이상 Nakarai Chemicals), guanine (Kanto chemical), adenosine (동경 화성 공업) 등 이외 모든 시약은 1급 이상을 사용하였다.

**마늘 수침액의 제조**—시중에서 상등품 마늘을 구입하여 소량의 물을 넣은 다음 마쇄하고 약 1

시간동안 교반한 후 거즈로 여과하여 2% 생마늘 수침액이 되도록 한다음 물대신 섭취케 하였다. 삶은 마늘 수침액은 마늘을 마쇄한 후 100°C 수욕상에서 약 30분간 열처리한 후 1시간동안 교반하여 거즈로 여과하고 물대신 섭취케 하였다.

**효소의 조제**—실험동물울 에텔로 가볍게 마취시키고 복부정중선을 따라 절개한 후 복부대동맥에서 혈액을 채취하였다. 이 혈액을 2,500rpm으로 20분간 원심분리하여 얻은 혈청을 uric acid의 정량에 이용하였다.

한편, 혈액을 취한 후 즉시 0.9% NaCl용액으로 관류시킨 간장을 적출하여 병냉의 생리식염수에 담고 그 여지를 사용하여 혈액 및 기타 부차물질을 제거한 다음 간조직 1g당 0.25M sucrose 4배량을 가하고 병냉하에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 homogenate를 핵 및 미마쇄부분을 제거할 목적으로 600×g에서 10분간 원심분리하였으며, 상등액을 취하여 10,000×g에서 20분 원심분리하여 침전물과 상등액을 분리하였다. 이 침전물을 소량의 0.1M potassium phosphate buffer(이하 인산염 완충액, pH 7.5)에 현탁시켜 10,000×g에서 20분간 원심분리하여 침전물을 얻고 0.1M 인산염 완충액으로 재현탁시켜 uricase활성측정의 효소원으로 사용하였다. cytosol분획의 분리는 10,000×g에서 원심분리하여 얻은 상등액을 105,000×g에서 1hr동안 초원심분리하여 상등액을 얻고 xanthine oxidase, adenosine deaminase 및 guanase의 효소원으로 사용하였다.

**Adenosine deaminase 및 Guanase활성의 측정**—Adenosine deaminase 및 guanase의 활성측정은 Caraway<sup>7)</sup>의 방법을 약간 변경하여 0.1M 인산염 완충액(pH 7.5)반응액중에 기질로서 adenosine 및 guanine 330 $\mu$ M과 효소액 0.1ml를 넣어 총반응액이 3.0ml가 되도록 하였다.

이 반응액을 37°C에서 5분간 반응시킨 후 folin-wu시액으로 반응을 종료시키고 원심분리하여 얻은 상등액 일정량에 페놀시액 1ml와 alkaline-hypochlorite용액 1ml를 가하여 37°C에서 15분간 가온시킨 후 생성되는 청색을 파장 625nm에서 그 흡광도의 변화를 읽어 검량선에

준하여 산정하였다.

**Xanthine oxidase활성의 측정**—Xanthine oxidase의 활성측정은 Stripe<sup>8)</sup> 등의 방법에 준하여 0.1M 인산염 완충액(pH 7.5)액중에 기질인 xanthine sodium 60 $\mu$ M 및 효소액 0.2ml를 가하여 반응액이 4.0ml가 되도록 하였다. 이 반응액을 37°C에서 5분간 반응시킨 후 20% trichloroacetic acid 0.5ml를 가하여 반응을 종료시키고 원심분리하여 반응중에 생성된 노산을 파장 292nm에서 흡광도의 변화를 읽어 검량선에 준하여 산정하였다.

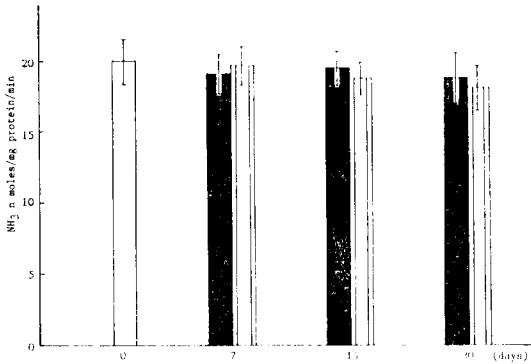
**Uricase활성의 측정**—Uricase의 활성측정은 Mabler<sup>9)</sup> 등의 방법에 준해 0.1M 인산염 완충액(pH 7.5)액중에 기질로서 uric acid sodium 440 $\mu$ M 및 효소액 1.0ml를 가하여 최종 반응액이 4ml가 되게 하였다. 이 반응액을 37°C에서 3분, 6분, 9분간 반응시킨 후 20% trichloroacetic acid 0.5ml를 가하여 반응을 종료시킨 다음 3,000rpm에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액중의 노산 농도변화를 파장 292nm에서 흡광도의 변화로 측정하였다.

**혈액중의 노산 정량**—혈액중 노산의 정량은 Henry<sup>10)</sup>의 방법에 준하여 측정하였다. 시험관에 혈청 일정량을 넣고 계단법의 목적으로 10% sodium tungstate용액 4.5ml를 가하여 진탕시키고 원심분리하여 얻은 상등액 일정량에 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>와 phosphotungstic acid용액을 가한 다음 실온에서 30분간 방치하였을때 나타나는 청색을 파장 700nm에서 흡광도의 변화를 읽어 검량선에 준하여 산정하였다.

**단백질의 정량**—단백질의 정량은 Lowry<sup>11)</sup>방법에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 측정하였다.

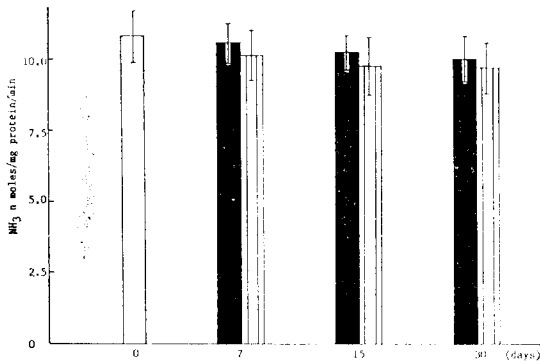
## 실험 결과

마늘 수침액이 adenosine deaminase 및 guanase 활성 변화에 미치는 영향—마늘 수침액을 7일, 15일, 30일간 섭취시킨 실험동물의 간장중 adenosine deaminase 및 guanase의 활성변화를 관찰한 성적이 Fig. 1과 2이다.



**Fig. 1**—Effect of garlic on the hepatic adenosine deaminase activity in rats.

Garlic was fed instead of water for 7, 15, and 30 days. The assay procedure was described in the text. All values are mean  $\pm$  S.E. of 5 experiments. Control,  $\square$ ; 2% fresh garlic,  $\blacksquare$ ; 2% boiled garlic,  $\square$ .



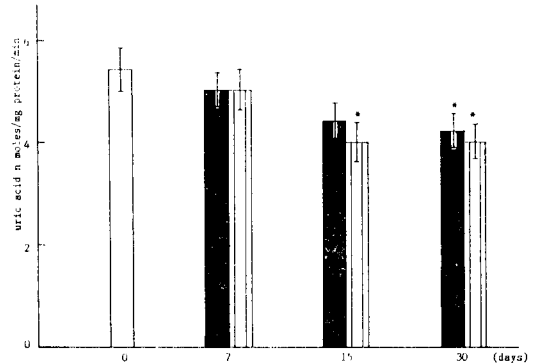
**Fig. 2**—Effect of garlic on the hepatic guanase activity in rats.

For experimental condition and symbols, see Fig. 1.

2% 생마늘 수침액을 섭취시킨 처리군에서나 2% 삶은마늘 수침액을 섭취시킨 실험군에서 모두 물만을 섭취케한 대조군에 비해 adenosine deaminase와 guanase활성이 섭취기간에 따라 다소 감소하는 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 관찰할 수 없었다.

마늘 수침액이 xanthine oxidase활성에 미치는 영향—마늘 수침액을 7일, 15일, 30일간 섭취시킨 실험동물의 간장중 xanthine oxidase활성을 관찰한 성적이 Fig. 3이다.

7일간 마늘 수침액을 섭취케한 실험군은 대조



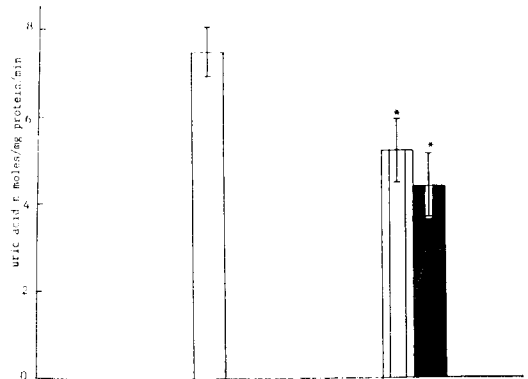
**Fig. 3**—Effect of garlic on the hepatic xanthine oxidase activity in rats.

For experimental condition and symbols, see Fig. 1. \*;  $p < 0.05$ .

군에 비하여 별다른 영향을 관찰할 수 없었으나 15일간 삶은 마늘을 섭취케한 실험군에서는 4.0 n moles/mg protein/min로서 대조군에 비해 26%의 감소를 보였으며 30일간 생마늘과 삶은마늘 수침액을 섭취시킨 실험군에서는 각각 4.2 n moles/mg protein/min, 4.0 n moles/mg protein/min로서 대조군에 비해 각각 22%와 26%의 감소를 관찰할 수 있었다.

마늘수침액이 mouse 간의 xanthine oxidase활성에 미치는 영향—마늘 수침액을 30일간 섭취시킨 mouse의 간 xanthine oxidase활성을 측정 한 성적이 Fig. 4이다.

마우스 간 xanthine oxidase의 활성은 대조군



**Fig. 4**—Effect of garlic on the hepatic xanthine oxidase activity in mice.

For experimental condition and symbols, see Fig. 1. \*;  $p < 0.05$ .

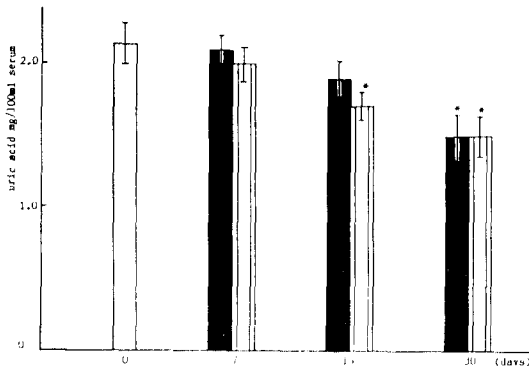


Fig. 5—Effect of garlic on the serum uric acid level in rats.

For experimental condition and symbols, see Fig. 1. \*;  $p < 0.05$ .

이 7.5nmoles/mg protein/min인데 비하여 2% 생마늘과 삶은마늘 수침액을 섭취케한 실험군에서는 5.2nmoles, 4.3nmoles로서 대조군에 비하여 각각 31%와 43%의 현저한 감소를 볼 수 있었다.

마늘 수침액이 혈청 uric acid농도에 미치는 영향—마늘 수침액을 7일, 15일, 30일간 섭취시킨 실험동물의 혈청중 uric acid의 농도변화를 관찰한 성적이 Fig. 5이다.

7일간 마늘 수침액을 섭취케한 실험군은 뇨산의 농도가 대조군의 2.14mg/100ml 혈청에 비

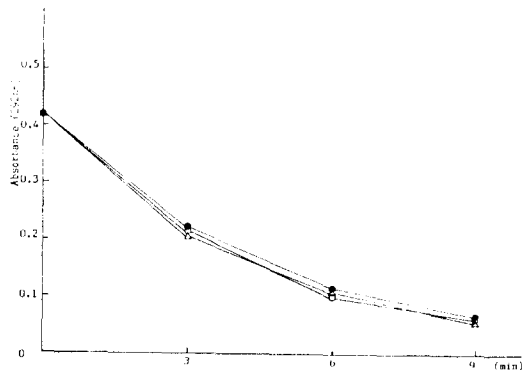


Fig. 6—Effect of garlic on the hepatic uricase activity in rats.

Garlic was fed instead of water for 30 days. The values are mean of 5 experiments. The assay procedure was described in the text. Control, ○—○; 2% fresh garlic, ●—●; 2% boiled garlic, △—△.

해 별다른 차이점을 관찰할 수 없었으나 15일간 삶은마늘을 섭취한 군에서는 1.7mg/100ml 혈청으로서 대조군에 비해 21%의 감소를 보였으며 30일간 생마늘과 삶은마늘 수침액을 섭취시킨 처리군에서는 각각 1.5, 1.5(mg/100ml serum)으로서 약 30%의 유의성있는 농도 감소를 볼 수 있었다.

#### Uricase활성에 미치는 마늘 수침액의 영향

마늘 수침액을 실험동물에 섭취시키고 간 mitochondrial uricase활성의 변화를 관찰한 성적이 Fig. 6이다.

30일간 생마늘과 삶은마늘 수침액을 섭취케한 실험군에서나 대조군에서 3분, 6분, 9분에서 기질의 소실속도를 관찰하였을때 별다른 차이점을 볼 수 없었다.

#### 고 찰

Purine입기는 핵산대사과정에서 생성되는 중간대사산물로 주로 간에서 몇 단계의 산화반응을 거쳐 최종대사산물인 뇨산으로 되어 배설되어진다. 마늘수침액과 purine대사와의 관계를 검토할 목적으로 rat에 마늘 2% 마쇄액을 7, 15, 30일간 섭취시키면서 purine대사효소활성변화를 비교 관찰하였다.

2%마늘 수침액을 rat에 섭취시킨 다음 purine대사의 중간대사산물인 뇨산의 혈중농도의 변동을 관찰하였을때 7일간 섭취시킨 실험군에서는 대조군과 비슷하였으나 15일 이상 삶은마늘 수침액과 생마늘 수침액을 섭취시킨 실험군에서는 대조군에 비해 유의성 있는 혈중 뇨산농도의 감소를 관찰할 수 있었다.

이와 같은 현상은 마늘의 활성물질로 알려진 alliin<sup>12-13)</sup>이 열에 불안정한 성분<sup>14)</sup>임을 고려할 때 뇨산의 혈중농도감소작용에는 alliin이 아닌 다른 성분이 관여하고 있음을 시사하고 있다.

사람에서 뇨산은 주로 간장에서 purine이 여러단계의 대사과정을 거쳐 마지막으로 생성되는 산화물이다.<sup>15-16)</sup> 그러므로 마늘성분이 purine body의 대사과정에 관여하는 중요한 효소들의 활성화에 어떤 영향을 주는가를 알아보기 위하

여 간장중의 adenosine deaminase와 guanase 및 xanthine oxidase의 활성변동을 관찰하였을 때 adenosine deaminase와 guanase활성에는 변화를 주지 않았으나 간 xanthine oxidase활성에는 대조군에 비해 현저한 활성도의 감소를 관찰할 수 있었다.

한편, mouse를 실험동물로 하여 30일간 마늘 수침액을 섭취시켜 xanthine oxidase활성변동을 관찰하였을 때 rat보다 현저한 효소억제작용을 관찰할 수 있었으며 이런 현상은 실험동물의 종에 따른 차이로 생각된다.

이와 같은 효소활성억제작용은 마늘 수침액을 7일간 섭취시킨 실험군에서는 나타나지 않았으나 15일간 이상 삶은마늘 수침액과 생마늘 수침액을 섭취시켰을 때에만 나타나는 실험성적을 볼 때 마늘 수침액 섭취시 간 xanthine oxidase활성이 억제되는 것은 마늘 수침액 성분이 본 효소에 대한 직접적인 작용이라기 보다는 효소의 생합성과정에 마늘 수침액 성분이 관여할 것으로 생각되어진다. 이와 같은 마늘 수용성 성분의 간 xanthine oxidase활성억제작용과 혈중노산 농도의 감소효과를 비교할 때 정도의 차이는 있으나 유사한 양상을 보여주었으므로 마늘수침액을 섭취시켰을 때 나타나는 혈중 노산치의 감소는 간 xanthine oxidase활성의 억제작용과 관계가 있을 것으로 생각되어 진다. 마늘의 활성물질인 allicin은 활성基로서  $\text{—S—S—}$ 를



갖고 있으며 이 활성기에 의해 효소들의 활성이 저해될 것이라고 알려지고 있다.<sup>17)</sup>  $\text{—S—S—}$



基는 열처리할 때 분해되어  $\text{—S—S—}$ (disulfide radical)로 변화<sup>18)</sup>되면서 활성을 잃게 된다고 한다. 이런 점을 고려하면 마늘수침액을 열처리하고 섭취시킨 실험군에서 관찰된 간 xanthine oxidase활성억제작용에는 allicin의 활성基인  $\text{—S—S—}$



가 아닌 다른 활성 내지는 다른 성분이 관여하고 있을 것으로 예상된다. 실험동물에서는 사람의 경우와 달라 노산을 다시 산화하는 uricase

에 의하여 allantoin으로 대사되어진다.<sup>19)</sup> 그러므로 마늘 수침액을 섭취시킨 rat에서 간장의 uricase활성이 어떻게 변하는가를 비교 관찰했을 때 마늘수침액이 uricase활성에는 영향을 주지 않았으므로 마늘성분에 의한 노산의 혈중농도변화는 uricase와는 관련지어 생각할 수 없다.

이상과 같은 실험성적을 종합하여 볼 때 마늘 중에는 핵산대사의 마지막 단계에 관여하는 간 xanthine oxidase의 활성을 억제하는 성분이 있으며 이로 인해 혈중노산치를 감소시키는 효과를 나타낼 것으로 생각된다.

이와 같은 약리작용은 열처리한 마늘수침액 성분에서도 나타났으므로 allicin이 아닌 다른 성분이 간 xanthine oxidase활성억제작용에 관여했을 것으로 생각되며 이에 대한 구체적인 규명을 위해 실험을 계획중에 있다.

## 결 론

5% 생마늘과 5% 삶은마늘 수침액을 섭취시킨 실험동물에서 purine대사효소활성변화를 관찰하였을 때 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. adenosine deaminase 및 guanase의 활성변화는 마늘수침액 투여로 관찰되지 않았다.

2. 마늘수침액을 투여하였을 때 uricase활성에는 별다른 변화를 관찰할 수 없었다.

3. xanthine oxidase활성이 마늘 수침액 투여기간에 따라 현저하게 억제되었다.

4. 마늘 수침액을 투여하였을 때 혈청중 uric acid의 농도는 투여기간에 따라 감소되었다.

마늘의 노산혈중농도감소 및 간 xanthine oxidase활성억제작용은 마늘을 열처리하였을 때 나타나는 점으로 보아 열에 안정한 마늘 성분에 의한 것으로 생각되어 진다.

## 감사의 말씀

본 연구는 1983년도 한국과학재단 연구비의 일부로 수행되었음.

## 문헌

- 1) Stoll, A., and Seebach, E.: Chemical investigations on allicin, the specific principle of garlic. *Helv. Chim. Acta* **34**, 337 (1951).
- 2) Lieber, C.S., and Davidson, C.S.: Some metabolic effects of ethyl alcohol. *Am. J. Med.* **33**, 319 (1962).
- 3) Yonetani, Y., Ishii, M., Yamada, K. and Ogawa, Y.: Origin of plasma uric acid induced by *l*-epinephrine. *Chem. Pharm. Bull.* **25**, 457 (1977).
- 4) 허근, 최종원, 조수열, 김석환. 마늘성분이 xanthine oxidase 활성에 미치는 영향. 영남대학교 자원문제연구논문집.
- 5) Huh, K., Lee S.I., and Park, J.M.: Effect of garlic on the hepatic xanthine oxidase activity in rats. *Korean Biochem. J.* **18**, 209 (1985).
- 6) 허근, 최종원, 이상일, 박종민, 마늘성분이 흰쥐 소장의 purine대사효소 활성에 미치는 영향. 영남대학교 자원문제연구논문집 **5**, 58 (1986).
- 7) Caraway, W.T. Colorimetric determination of serum guanase activity. *Clin. Chem.* **12**, 187 (1966).
- 8) Stripe, F., and Corte, E.D.: The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* **244**, 3855 (1969).
- 9) Mabler, H.R., Boyer, P.D. and Lardy, H.A.: The enzymes, Academic press, N.Y. **8**, 225 (1963).
- 10) Henry, R.J. Sobel, C., and Kim, J.: Modified carbonate-phosphotungstate method for the de-termination of uric acid and comparison with the spectrophotometric uricase method. *Am. Clin. Pathol.* **28**, 152 (1957).
- 11) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
- 12) Cavallito, and Bailey, J.H.: Allicin, the antibacterial action. *J. Am. Chem. Soc.* **66**, 1950 (1944).
- 13) Cavallito, C.J., Bailey, J.H., and Buck, J.S.: Antibacterial principle of *Allium sativum*. III. *J. Am. Chem. Soc.* **67**, 1032 (1945).
- 14) Mandel, M., and Crews, L.: Purification of the alliin lyase of garlic, *Allium sativum* L. *Biochem. J.* **108**, 725 (1968).
- 15) Volp, R.F., and Lage, G.L.: Studies on the intestinal absorption of bovine xanthine oxidase. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **154**, 488 (1977).
- 16) Bergmann, F., Levin, G., and Kwietny, H.: 8-azapurines as substrates of mammalian xanthine oxidase. *Arch. Biochem. Biophys.* **80**, 318 (1959).
- 17) Wills, E.D.: Enzyme inhibition by allicin, the active principle of garlic. *Biochem. J.* **63**, 514 (1956).
- 18) Brondnitz, M.H., Pascale, J.V., and Derslice, L.V.: Flavor components of garlic extract. *J. Agr. Food Chem.* **19**, 273 (1971).
- 19) Martin, D.W., Mayes, P.A., and Rodwell, V.W.: Harper's review of biochem. 19th edition. 351 (1983).