

다양한 마늘 추출물이 HepG2 세포에서 콜레스테롤 합성에 미치는 효과

정수한¹ · 이상훈² · 고광석²

¹고려대학교 생명과학대학 생명공학과
²이화여자대학교 건강과학대학 식품영양학과

Effects of Various Garlic (*Allium sativum*) Extracts on Cholesterol Synthesis in HepG2 Cells

Suhan Jung¹, Sang Hoon Lee², and Kwang Suk Ko²

¹Division of Biotechnology, College of Life Sciences and Biotechnology, Korea University

²Department of Nutritional Science and Food Management, College of Health Science, Ewha Womans University

ABSTRACT This study was performed to investigate the effects of various garlic extracts on cholesterol synthesis in HepG2 cells. Raw garlic, grilled garlic, and freeze dried garlic were subjected to cold water extraction, and extracts were incubated at room temperature for 1 min or 60 min. The extracts were treated to HepG2 cells for 4 h, and cholesterol synthesis and mRNA expression level of HMG-CoA reductase were investigated. The alliin contents were reduced when garlic was incubated at room temperature for 60 min. Raw garlic extracts showed lower intracellular cholesterol contents compared to that of the control group. However, raw garlic extracts incubated for 60 min showed no differences compared to the control group. Freeze-dried garlic extract showed minimum intracellular triglyceride and cholesterol contents. Relative mRNA expression level of HMG-CoA reductase, a rate-limiting enzyme of cholesterol synthesis, decreased in the garlic extracts. Compared with 60 min, garlic extracts incubated for 1 min showed a reduced level of HMG-CoA reductase mRNA expression. The freeze-dried garlic extract reduced mRNA expression level of HMG-CoA reductase in a dose-dependent manner in cells treated with 5% of 0.2, 0.5, 0.8, 1.0, and 1.5 mg/mL in medium, and the effect was maxed out at dose of 5% garlic extract at 1.0 mg/mL in medium.

Key words: *Allium sativum*, garlic extract, alliin, cholesterol synthesis, HMG-CoA reductase

서 론

마늘(*Allium sativum*)은 백합과에 속하는 채소로 원산지는 중앙아시아와 지중해 연안 지방이다(1). 마늘은 전통적으로 한국인에게 필수 식자재로 이용되어 왔으며, 특유의 맛과 향기 성분이 있고 많은 종류의 유기 및 무기 화합물 등 생리 활성 물질을 지니고 있어 예로부터 민간처방 약재로 많이 사용되어 왔다(2). 최근 이러한 마늘의 효능에 대한 다각적 검증이 이루어지고 있으며, 특히 심장병(3,4), 관절염(5), 폐 질환 및 설사 등에 효과가 좋은 것으로 알려져 향신료 및 약용으로서 그 수요가 점차 증가하는 추세에 있다.

마늘의 효능은 마늘 내 존재하는 alliin의 작용에 의해 나타난다고 알려져 있다. Alliin은 마늘 내 존재하고 있으며, 마늘 조직이 파괴되면서 마늘 내재 효소인 alliinase에 의해 allicin으로 전환되고 이는 다시 diallyl thiosulfinate와 di-

allyl disulfide 등 수용성 유황화합물로 분해된다(6). 마늘 내 alliin 및 그 외의 유효성분들은 생체 내에서 세포대사 억제, 항균, 항암, 저혈당, 동맥경화 예방 등 약리학 및 생물학적 활성을 나타낸다고 알려져 있다(7-11).

마늘을 이용한 비만관련 연구는 다양하게 진행되었다. 지금까지 알려진 비만관련 위험인자와 관련된 마늘의 생리적 작용으로 마늘 추출물의 투여가 고지방 식이의 섭취를 통한 비만을 유발시킨 쥐에서 콜레스테롤 합성 저하, 혈압 강하, 혈액 내 지질 저하 효과가 보고되어 있다(12). 또한 Bordia 등(13)의 연구에 따르면 동맥경화증을 유발한 토끼에서 마늘이 혈액 내 총 콜레스테롤, 중성지방 등의 함량을 감소시킨다고 보고되었다. 마늘 내 유효성분인 alliin은 그 자체로 지질저하 효과를 가지고 있으며, alliinase에 의한 분해산물인 allicin 및 allyl sulfur 화합물 또한 혈중 지질 및 혈당 저하 효과 등 다양한 생물학적 효능을 가진다고 알려져 있다. 특히 Byun 등(14)에 따르면 alliinase에 의한 alliin의 분해 산물인 allicin은 항균, 혈중 지질 및 혈당 저하 효과와 함께 HMG-CoA reductase 저해를 통한 콜레스테롤 생합성 억제 효과가 있다고 보고하였다.

하지만 한국인의 경우 마늘을 섭취하는 형태가 생것 이외

Received 10 August 2015; Accepted 29 August 2015

Corresponding author: Kwang Suk Ko, Department of Nutritional Science and Food Management, College of Health Science, Ewha Womans University, Seoul 03760, Korea
E-mail: kko@ewha.ac.kr, Phone: +82-2-3277-6859

에 조리된 형태로의 섭취가 대부분을 차지하기 때문에 마늘의 조리 형태에 따른 효능의 차이를 예상할 수 있다. 마늘 내 유효성분인 alliin 및 allicin은 열 및 산성조건에 불안정하여 쉽게 분해되어 생리적 활성을 잃는다고 알려져 있으며 따라서 마늘의 섭취 방법에 따라 그 효능의 차이가 나타난다고 알려져 있다(15-18). 그러나 마늘의 기능성에 대한 연구는 주로 생마늘 위주로 이루어졌으며, 가공마늘(19,20) 및 여러 가지 조리 조건(21-26)에 따른 활성을 비교한 연구는 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 다양한 마늘 조리법에 따라 마늘의 효능, 특히 콜레스테롤 함성에 관련하여 그 차이를 규명하기 위하여 HepG2 세포주를 이용하여 실험을 진행하였다.

재료 및 방법

세포주

인체 간암 세포주로 알려진 HepG2 세포(American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA)를 10% fetal bovine serum이 첨가된 Eagle's minimum essential medium(Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)에서 배양하였으며, 세포는 10~15 계대 사이의 세포주를 사용하였다.

마늘 추출물 제조

마늘은 통마늘을 일반 식품점인 오렌지마트(Seoul, Korea)에서 구매하여 사용하였으며, 추출물 제조 직전 통마늘의 껍질을 벗겨 사용하였다. 생마늘 시료의 경우 생마늘을 거칠게 분쇄한 것(RR; raw garlic, roughly ground)과 곱게 분쇄한 것(RF; raw garlic, finely ground)으로 나누었으며, 다시 각각의 시료는 25°C에서 1분 또는 60분간 숙성한 것으로 나누어 시료를 준비하였다. 구운마늘(G; grilled garlic)의 경우 가스레인지에서 팬을 이용하여 30분 동안 익혀 준비하였으며, 조리 후 곱게 분쇄하여 사용하였다. 동결건조 마늘(Fr; freeze dried garlic)의 경우 동결건조 후 마늘을 곱게 분쇄하여 준비하였다(Table 1). 또한 마늘 섭취 시 위장 내 산성 환경 적응을 위하여 RR1, RF1 및 Fr 마늘 시료를 pH 2.0 HCl 용액에서 1시간 동안 incubation 한 산성 처리 시료를 준비하였다. 마늘 추출물의 제조는 준비된 시료 10g에 냉수 100 mL를 첨가하여 shaking incubator에서 4°C 조건에서 12시간 동안 추출하였다. Alliin 함량을 측정하기 위한 시료의 경우 추출과정에서 alliinase에 의한 alliin의 전환을 방지하기 위하여 carboxymethylamine hemihydrochloride를 alliinase inhibitor로 냉수 100 mL에 100 mg을 첨가하였다. 추출된 추출물은 고형성분을 제거하기 위하여 Whatman No.2 여과지(GE healthcare Life Sciences, Fairfield, CT, USA)를 이용하여 액상 추출물을 얻었으며, 액상 추출물은 동결건조 후 분말상태로 -80°C에서 보관하였다.

Table 1. Garlic extract treatment

Group	Garlic	Incubation (min)	Acid incubation
Control	—	—	—
Fr	Freeze dried	—	—
RR1	Raw, roughly ground	1	—
RR60	Raw, roughly ground	60	—
RF1	Raw, finely ground	1	—
RF60	Raw, finely ground	60	—
G	Grilled	—	—
FrA	Freeze dried	—	○
RR1A	Raw, roughly ground	1	○
RF1A	Raw, finely ground	1	○

Control: PBS treatment, RR1: raw, roughly ground, 1 minute incubation, RR60: raw, roughly ground, 60 minutes incubation, RF1: raw, finely ground, 1 minute incubation, RF60: raw, finely ground, 60 minutes incubation, G: grilled, Fr: freeze dried, RR1A: raw, roughly ground, 1 minute incubation, acid incubation, RF1A: raw, finely ground, 1 minute incubation, acid incubation, FrA: freeze dried, acid incubation.

마늘 추출물 내 alliin 함량

동결건조 된 마늘 추출물 내 alliin 함량은 한국기초과학연구원(Seoul, Korea)에 의뢰하여 Triple QUadrupole LC-Mass spectrometry(Finnigan TSQ Quantum Ultra EMR, Thermo Fisher Scientific Inc.)를 이용하여 분석하였다. 분석조건으로 column은 Unison US-C18(2×150 mm), 이동상은 2 mM ammonium acetate : MeOH=1:1 solution, 유속은 0.2 mL/min, 주입량은 10 µL로 하였다.

마늘 추출물 처리

HepG2 세포주를 0.2×10^5 cells/well의 농도로 6 well plate에 접종하여 4시간 배양 후 기존 배양액을 제거한 다음 각각의 마늘 추출물을 5% 함유된 새로운 배양액으로 교체하여 주었다. 마늘 추출물은 동결건조 한 마늘 추출물을 phosphate buffered saline 용액에 1 mg/mL로 희석한 후 세포 배양액에 희석하여 준 다음 2 µm syringe filter를 이용하여 여과한 후 사용하였다. 배양은 37°C, 5% CO₂ 조건에서 4시간 동안 진행하여 처리하였다. 각 마늘 추출물 처리구는 Table 1에 따라 처리하였다.

세포 내 중성지방 및 콜레스테롤 함량

HepG2 세포주에 마늘 추출물을 4시간 처리한 후 배양액과 세포를 homogenize 한 다음 Folch법(27)에 따라 homogenate에 methanol과 chloroform 혼합액을 가하여 지방성분을 추출하였으며, 지방추출물은 isopropanol에 추출물을 희석하여 -80°C에 보관하였다. 총 중성지방 및 콜레스테롤 함량은 시중에 판매하는 중성지방 측정 키트(AM101-L, Asan Pharm. Co., Ltd., Hwaseong, Korea)와 총 콜레스테롤 측정 키트(MBL, Gunpo, Korea)를 이용하여 진행하였다. 배양액 및 세포 내 단백질 함량은 Brad-Ford protein assay(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 진행하

였으며(28) 단백질 standard로는 bovine serum albumin (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 사용하였다.

세포 내 mRNA 추출 및 qPCR

세포 내 mRNA 추출은 TRIZOL reagent(Life Technologies Inc., Waltham, MA, USA)를 사용하여 total RNA를 추출하였고, NonoDrop 2000 spectrophotometer(Thermo Fisher Scientific Inc.)를 이용하여 RNA 함량을 측정하였다. cDNA 합성은 RevertAid First Strand cDNA synthesis kit(Thermo Fisher Scientific Inc.)을 이용하여 실시하였다. 세포 내 mRNA 발현 수준은 quantitative real-time PCR(qPCR) 방법을 이용하여 진행하였으며, PCR은 Maxima SYBR green/ROX qPCR master mix(Thermo Fisher Scientific Inc.)를 이용하여 진행하였고 PCR을 위한 primer는 HMG-CoA reductase(NM_000859, Hmgcr): 5'-GACAGGGATAAACCGAGAAAAG-3', 5'-CGAGTAA-GGAGGAGTTACCA-3'를 사용하였다. PCR 결과로부터 각각의 유전자의 상대적인 정량 분석은 β -actin에 대한 PCR 생성물의 상대적인 비율로 계산하였다.

통계분석

실험 결과는 SAS software(ver. 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)의 one-way analysis of variance (ANOVA)를 이용하여 유의성 5% 이내에서 검증하였으며, 시료 간의 검정은 Duncan's multiple range test로 유의적 차이를 검정하였다.

결과 및 고찰

마늘 추출물 내 alliin 함량

각 마늘 추출물 내 alliin 함량을 살펴보면 구운마늘(G) 추출물에서 alliin 함량이 가장 높았다(Table 2). 이는 열처리에 의해 alliinase 효소의 활성이 저하되어 마늘 고유의 alliin 함량이 그대로 보존된 것으로 사료된다. 마늘을 25°C에서 60분간 숙성하였을 경우 1분간 숙성 후 추출하였을 때와 비교하여 추출물 내 alliin의 함량이 RR에서는 22%, RF에서는 28% 감소한 것을 확인할 수 있었다. 이는 25°C에서 60분간 숙성 과정에서 마늘 내 alliin이 alliinase에 의하여 allicin으로 전환되었기 때문이라 생각된다. 산 처리를 한 마늘의 추출물에서는 산 처리를 하지 않은 마늘과 비교하여 추출물 내 alliin의 함량에 큰 차이를 보이지 않았다.

세포 내 중성지방 및 콜레스테롤 함량

각각의 마늘 추출물 처리에 따른 HepG2 세포 내 중성지방과 콜레스테롤 함량의 차이를 알아보기 위하여 각각의 마늘 추출물을 세포 배양액에 4시간 동안 처리하여 살펴본 결과는 Fig. 1에 나타난 바와 같다. 세포 내 중성지방 함량의 경우에는 대조구에 비하여 마늘 추출물을 처리한 세포에서 세포 내 중성지방 함량이 감소한 것을 확인할 수 있었으며, 특히 동결건조 마늘 추출물과 RR1 추출물의 경우 대조구에 비하여 유의적으로 세포 내 중성지방 함량이 감소하였다 ($P<0.05$)(Fig. 1). 그 외의 다른 처리구의 경우 세포 내 중성지방 함량이 감소한 것을 확인할 수 있었으나 통계적으로 유의미한 차이를 보이지는 않았다. 산 처리를 한 마늘의 추출물을 HepG2 세포에 처리하였을 경우 대조구와 비교해보면 세포 내 중성지방 함량에 차이를 보이지 않았다. 세포 내 콜레스테롤 함량의 경우 Fig. 2에 나타난 바와 같이 대조구에 비하여 동결건조 마늘 추출물 처리구에서 세포 내 콜레스테롤 함량이 17% 감소한 것으로 나타났다($P<0.05$). 또한 마늘을 25°C에서 1분간 숙성 후 추출하여 얻은 추출물을 세포에 처리하였을 경우 60분간 숙성하여 추출한 추출물을 처리하였을 때에 비하여 세포 내 콜레스테롤 함량이 RR과 RF 처리구에서 6%, 4% 감소한 것을 확인할 수 있었다. 산 처리를 한 마늘의 추출물을 HepG2 세포에 처리하였을 경우 처리하지 않은 세포와 비교해보면 세포 내 콜레스테롤 함량에 차이를 보이지 않았다. 이 결과로부터 마늘 추출물에 의해 HepG2 세포 내 중성지방 및 콜레스테롤 함량이 감소하는 것을 알 수 있었으며, 특히 이러한 효과는 동결건조 마늘 추출물에서 가장 뛰어난 것을 확인할 수 있었다. 그러나 마늘을 산 처리하였을 경우 추출 방법에 관계없이 추출물에 의한 HepG2 세포 내 중성지방 및 콜레스테롤 함량 감소에

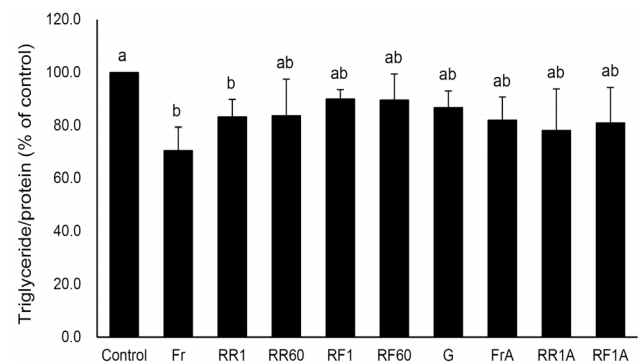


Fig. 1. Intracellular triglyceride contents. Sample codes refer to the footnote of Table 1. Means with different letters (a,b) on bars are significantly different ($P<0.05$). Each bar represents the mean±standard error.

Table 2. Alliin contents of various garlic extract (µg/g)

	Fr	RR1	RR60	RF1	RF60	G	FrA	RR1A	RF1A
Alliin content	21.38±0.90	22.61±2.51	17.51±0.40	22.53±0.44	16.00±1.73	26.60±2.08	19.00±0.42	23.22±1.23	17.90±0.21

Sample codes refer to the footnote of Table 1.

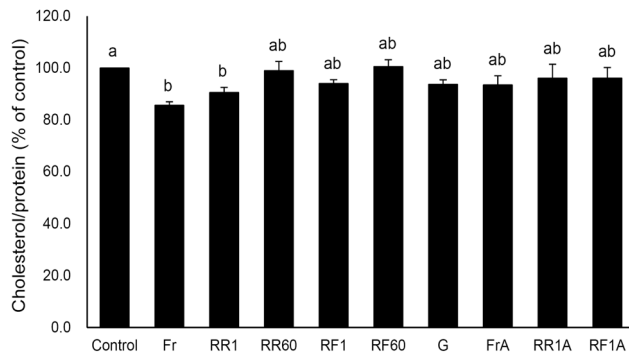


Fig. 2. Intracellular cholesterol contents. Sample codes refer to the footnote of Table 1. Means with different letters (a,b) on bars are significantly different ($P < 0.05$). Each bar represents the mean \pm standard error.

효과가 없는 것을 확인할 수 있었다.

Gebhardt(29)의 연구에 의하면 마늘 추출물의 투여가 쥐의 간세포에서 콜레스테롤 합성을 감소시켰음을 보고하였다. 본 실험에서도 다양한 처리를 한 마늘 추출물을 간세포에 처리한 결과 세포 내 중성지방과 콜레스테롤 함량이 감소한 것을 확인할 수 있었다. 또한 Jung 등(30)은 HepG2 세포에 마늘의 주요 성분이 세포 내 지방 축적을 감소시키는 것을 확인하였다. 마늘 내 주요 성분의 간세포 내 지방 축적 억제 효과에 대한 보고를 토대로 각각의 마늘 추출물의 효과는 마늘 추출물 내 alliin의 함량 차이에 기인하는 것으로 alliin이 세포 내에서 유효성분인 allicin으로 그만큼 많이 전환되기 때문이라 해석할 수 있었다.

HMG-CoA reductase 발현

세포 내 지방 함량의 차이를 통해 확인한 마늘 추출물의 콜레스테롤 축적 개선 효과를 세포 내 콜레스테롤 합성 관련 인자의 mRNA 발현 변화를 real-time PCR로 확인함으로써 마늘 추출물의 세포 내 콜레스테롤 합성 억제 기작을 규명하고자 하였다. HMG-CoA reductase는 콜레스테롤 합성의 제한 효소로 그 발현량의 증가는 세포 내 콜레스테롤 증가의 주요 요인 중 하나로 알려져 있어 콜레스테롤 합성 정도를 간접적으로 표현하는 지표로 널리 사용된다.

Fig. 3은 HepG2 세포에 각각의 마늘 추출물을 처리하였을 때 HMG-CoA의 mRNA 발현량을 살펴본 결과로 대조구에 비하여 마늘 추출물을 처리하였을 때 그 발현량이 감소한 것을 확인할 수 있었다. 처리구별 결과를 살펴보면 동결건조 마늘 추출물을 처리하였을 때 대조구에 비하여 HMG-CoA reductase의 발현 수준이 1/3로 감소하였으며($P < 0.05$), 생마늘을 25°C에서 1분간 숙성 후 추출한 추출물이 60분간 숙성 후 추출한 추출물에 비하여 세포 내 HMG-CoA reductase의 발현이 더 감소하는 것으로 나타났다. 마늘 시료를 pH 2.0, HCl 용액에 산성 처리 후 세포에 처리하였을 때는 산성 처리를 하지 않고 세포에 처리하였을 때와 비교하여 HMG-CoA reductase 발현 억제 효과가 감소하는 모습

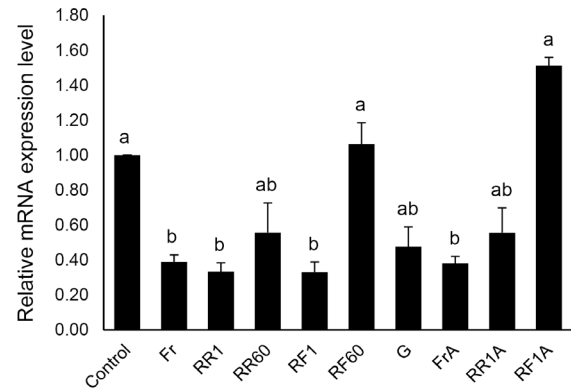


Fig. 3. Relative mRNA expression level of HMG-CoA reductase. Sample codes refer to the footnote of Table 1. Means with different letters (a,b) on bars are significantly different ($P < 0.05$). Each bar represents the mean \pm standard error.

을 보였다. 이러한 효과는 산성 처리에 의해 alliinase가 불활성화되어 alliin이 활성 형태인 allicin으로 전환되지 못하였기 때문이라 사료된다.

본 실험의 결과는 마늘의 섭취에 따른 HMG-CoA reductase 발현의 감소를 평가한 Gebhardt 등(31)과 Qureshi 등(32)의 보고와 일치한다. 이 연구 결과들과 본 연구 결과는 세포 내 콜레스테롤 함량의 감소가 HMG-CoA reductase 발현의 감소에 기인한 것임을 확인할 수 있었다. 각각의 마늘 추출물은 세포 내 HMG-CoA reductase의 발현을 억제하고, HMG-CoA reductase 발현의 억제를 통해 세포 내 콜레스테롤 축적 저해에 기여한 것임을 알 수 있었다. 마늘 추출물의 이러한 효과는 마늘 추출물 내 alliin의 생리적 활성에 의해 나타나는 것으로 알려져 있다. 각각의 마늘 추출물 내 alliin의 농도를 살펴보면 구운마늘 추출물에서 그 함량이 가장 높게 나타났지만, 마늘 추출물을 세포에 처리하였을 때 세포 내 콜레스테롤 억제 효과는 동결건조 마늘 추출물에서 가장 우수하게 나타났다. Lawson 등(33)에 의하면 마늘 내 유효 성분은 열 및 산성 조건에 취약하여 열을 가하였을 때 구조적 안정성이 감소한다고 보고하였다. 이를 통하여 본 연구에서 구운마늘 추출물이 높은 alliin 함량에 비하여 세포 내 콜레스테롤 함량 및 HMG-CoA reductase 발현의 감소 효과가 상대적으로 낮은 것을 설명할 수 있으며, 산성 처리를 한 마늘의 추출물에서 세포 내 중성지방, 콜레스테롤 함량의 감소 및 HMG-CoA reductase 발현 감소 효과가 줄어든 것 또한 산성 처리에 의해 alliin의 생리적 기능 감소가 나타났기 때문이라 설명할 수 있다.

동결건조 마늘 추출물의 농도별 HMG-CoA reductase의 발현 차이

마늘 추출물의 처리에 따른 HMG-CoA reductase의 발현량 감소에 가장 효과적으로 나타난 동결건조 마늘 추출물에 대하여 농도에 따른 HMG-CoA reductase의 발현 감소를 살펴보기 위하여 동결건조 마늘 추출물을 농도에 따라

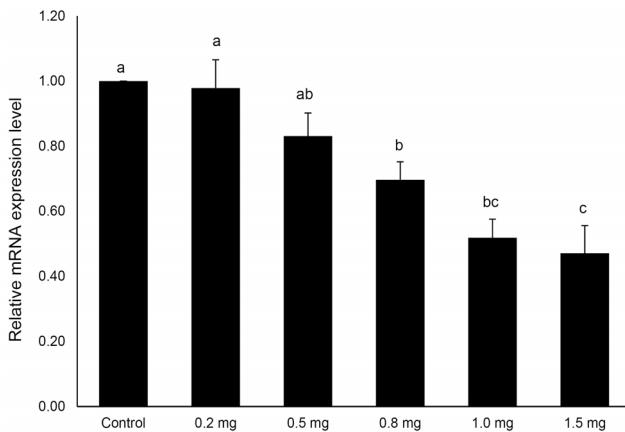


Fig. 4. Dose-dependent relative mRNA expression level of HMG-CoA reductase of freeze dried garlic extract. Means with different letters (a-c) on bars are significantly different ($P < 0.05$). Each bar represents the mean \pm standard error.

세포에 처리하였다. 실험 결과 동결건조 마늘 추출물의 농도에 따라 dose-dependent 한 양상으로 HMG-CoA reductase의 발현 감소가 나타났으며, 0.8 mg/mL의 농도로 처리하였을 때 대조구에 비하여 유의미한 차이가 나타나기 시작하였다($P < 0.05$)(Fig. 4). 또한 동결건조 마늘 추출물을 1 mg/mL로 처리하였을 때 1.5 mg/mL로 처리한 경우와 같은 HMG-CoA reductase의 발현 감소가 나타나는 것으로 보아 1 mg/mL로 처리하였을 때 효과가 가장 효율적이라 생각된다. 앞선 결과를 통하여 가장 효과적이라 생각되는 동결건조 마늘 추출물의 HMG-CoA reductase 발현량 감소 효과를 농도별로 살펴보았을 때, 추출물 동결건조 분말 1 mg/mL 추출물 용액을 배양액에 5% 투여하였을 때까지는 그 효과가 농도에 비례하여 나타났으며, 더 높은 농도의 추출물 용액을 투여하였을 경우에는 그 효과가 더 증가하지 않았다. 이 결과를 보았을 때 동결건조 마늘 추출물은 생마늘을 상온 숙성하지 않은 추출물과 그 효과에서 크게 차이는 없었으나, 생마늘을 25°C에서 60분 숙성시킨 추출물과 비교하였을 경우 HMG-CoA reductase 발현량 감소에 약 3~4배의 효과가 있는 것으로 나타났으며 구운마늘 추출물에 비하여는 약 100배의 효과가 있는 것으로 나타났다.

기존의 마늘을 이용한 기능성에 관한 연구로는 생마늘(34-36) 및 마늘즙(37,38) 등 주로 생마늘을 이용한 연구가 주로 이루어져 왔다. 하지만 생마늘은 식품으로서의 활용도 및 보관성 등의 취약점으로 다방면으로 활용하기에는 제약이 있다. 또한 이번 연구 결과에서 생마늘의 경우 즉시 섭취하지 않았을 때 세포 내 콜레스테롤 억제 효과가 감소함에 반해 동결건조 마늘의 경우 동결건조로 인하여 그 보관성이 증가하여 시간이 지나도 그 효과가 감소하지 않는다는 것을 알 수 있었으며, 이러한 효과는 단순히 마늘 추출물 내 alliin의 함량뿐 아니라 생리적 활성 정도가 효능에 영향을 미친다는 사실을 알 수 있었다. 또한 Mills와 Bone(39)에 의하면 생마늘의 경우 위장장애 징후, 과민 반응 및 알레르기 반응

을 보일 수 있기 때문에 직접적인 생마늘의 섭취보다는 동결건조 형태의 섭취형태가 보다 안전하고 범용적인 활용이 가능하다고 보인다. 다만 위장 통과 시 산성 조건에서 마늘의 효능이 감소하는 것을 방지하기 위하여 식품가공 기술의 응용을 통하여 내산성을 가지는 마늘 섭취 방법에 대한 방안을 고안할 필요성이 있다고 사료된다.

요 약

본 연구에서는 마늘의 다양한 조리법에 따른 냉수추출 마늘 추출물이 HepG2 세포 내 콜레스테롤 합성에 미치는 효과에 대하여 알아보고자 세포 내 중성지방 및 콜레스테롤 함량을 확인하고 real-time PCR을 이용하여 작용 기전을 알아보았다. 마늘을 25°C에서 60분간 숙성하였을 경우 1분간 숙성하였을 때와 비교하여 추출물 내 alliin 함량이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 마늘 추출물을 HepG2 세포에 처리하였을 때 세포 내 중성지방 및 콜레스테롤의 함량이 감소하는 모습을 보여주었으며, 특히 동결건조 마늘 추출물이 그 효과가 가장 우수하였다. 콜레스테롤 합성의 제한효소인 HMG-CoA reductase의 발현량 역시 마늘 추출물을 처리함에 따라 감소하는 모습을 보였으며, 동결건조 마늘 추출물을 처리하였을 때 가장 많이 감소하는 모습을 보였다. 다만 산성 처리를 한 마늘의 추출물을 세포에 처리하였을 때에는 그 효과가 감소하는 것으로 나타났다. 동결건조 마늘 추출물의 농도 비례 효과를 살펴본 결과 동결건조 마늘 추출물의 경우 생마늘을 상온에 60분 숙성시킨 마늘 추출물과 구운마늘 추출물에 비하여 세포 내 중성지방과 콜레스테롤 합성 감소에 효과가 뛰어난 것으로 나타났으며, 이러한 결과는 HMG-CoA reductase mRNA의 상대적 발현 수준 차이 이상의 지질 감소 효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 동결건조 마늘의 경우 생마늘을 섭취하였을 때와 유사한 또는 더 우수한 효능을 보이면서도 오히려 보관성이 우수하고 생마늘 섭취 시 나타날 수 있는 과민 반응 및 알레르기 반응의 위험이 적기 때문에 다양하게 응용될 수 있는 가능성이 있을 것으로 사료되며, 이를 뒷받침할 방안들의 연구가 진행되어야 할 것으로 판단된다.

REFERENCES

1. Lee TB. 1979. *Illustrated flora of Korea*. Hangmunsa, Seoul, Korea. p 203.
2. Amagase H, Petesch BL, Matsuura H, Kasuga S, Itakura Y. 2001. Intake of garlic and its bioactive components. *J Nutr* 131: 955S-962S.
3. Pedraza-Chaverri J, Medina-Campos ON, Granados-Silvestre MA, Maldonado PD, Olivares-Corichi IM, Hernandez-Pando R. 2000. Garlic ameliorates hyperlipidemia in chronic aminonucleoside nephrosis. *Mol Cell Biochem* 211: 69-77.
4. Rahman K, Lowe GM. 2006. Garlic and cardiovascular disease: a critical review. *J Nutr* 136: 736S-740S.
5. Heojun. 1991. *Donggeuibogam*. Namsandang, Seoul, Korea.

- p 1172.
6. Lawson LD, Wood SG, Hughes BG. 1991. HPLC analysis of allicin and other thiosulfonates in garlic clove homogenates. *Planta Med* 57: 263-270.
 7. Jeang DY, Jeang SU. 2005. *Garlic science*. World Science, Seoul, Korea. p 93-103.
 8. Bordia A, Bansal HC, Arora SK, Singh SV. 1975. Effect of the essential oils of garlic and onion on alimentary hyperlipemia. *Atherosclerosis* 21: 15-19.
 9. Imai J, Ide N, Nagae S, Moriguchi T, Matsuura H, Itakura Y. 1994. Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic extract and its constituents. *Planta Med* 60: 417-420.
 10. Lawson LD, Ransom DK, Hughes BG. 1992. Inhibition of whole blood platelet-aggregation by compounds in garlic clove extracts and commercial garlic products. *Thromb Res* 65: 141-156.
 11. Rees LP, Minney SF, Plummer NT, Slater JH, Skyrme DA. 1993. A quantitative assessment of the antimicrobial activity of garlic (*Allium sativum*). *World J Microbiol Biotechnol* 9: 303-307.
 12. Ried K, Toben C, Fakler P. 2013. Effect of garlic on serum lipids: an updated meta-analysis. *Nutr Rev* 71: 282-299.
 13. Bordia A, Verma SK, Vyas AK, Khabya BL, Rathore AS, Bhu N, Bedi HK. 1977. Effect of essential oil of onion and garlic on experimental atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 26: 379-386.
 14. Byun BH, Kim SH, Jeong HG, Kim BY, Nm CH, Roh PU. 1995. Effect of garlic on enzyme activities of rats fed lard and alcohol. *J Fd Hyg Safety* 10: 163-168.
 15. Chen HC, Chang MD, Chang TJ. 1985. Antibacterial properties of some spice plants before and after heat treatment. *Chin J Microbiol Immunol* 18: 190-195.
 16. Bordia T, Mohammed N, Thomson M, Ali M. 1996. An evaluation of garlic and onion as antithrombotic agents. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 54: 183-186.
 17. Amagase H, Milner JA. 1993. Impact of various sources of garlic and their constituents on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene binding to mammary cell DNA. *Carcinogenesis* 14: 1627-1631.
 18. Amagase H, Schaffer EM, Milner JA. 1996. Dietary components modify the ability of garlic to suppress 7,12-dimethylbenz(a) anthracene-induced mammary DNA adducts. *J Nutr* 126: 817-824.
 19. Kim MR, Mo EK. 1995. Volatile sulfur compounds in pickled garlic. *Korean J Soc Food Sci* 11: 133-139.
 20. Koo BS, Ahn MS, Lee KY. 1994. Changes of volatile flavor components in garlic-seasoning oil. *Korean J Food Sci Technol* 26: 520-525.
 21. Chun HJ, Paik JE. 1997. Effect of heat treatment of garlic added diet on the blood of spontaneously hypertension rat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 103-108.
 22. Park JH, Park YK, Park E. 2009. Antioxidative and antigenotoxic effects of garlic (*Allium sativum* L.) prepared by different processing methods. *Plant Foods Hum Nutr* 64: 244-249.
 23. Lee SJ, Shin JH, Kang MJ, Seo JK, Sung NJ. 2009. Antioxidant activity of garlic with different processing on soybean oil. *J Fd Hyg Safety* 24: 204-210.
 24. Kim MR, Mo EK, Lee KJ. 1993. Inhibition of lipoxygenase activity by the extract of various processed garlic. *Korean J Soc Food Sci* 9: 215-221.
 25. Kim YD, Kim KM, Hur CK, Kim ES, Cho IK, Kim KJ. 2004. Antimicrobial activity of garlic extracts according to different cooking methods. *Korean J Food Preserv* 11: 400-404.
 26. Bae HJ, Chun HJ. 2002. Changes in volatile sulfur compounds of garlic under various cooking conditions. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 18: 365-371.
 27. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509.
 28. 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.
 29. Gebhardt R. 1993. Multiple inhibitory effects of garlic extracts on cholesterol biosynthesis in hepatocytes. *Lipids* 28: 613-619.
 30. Jung EB, Choi JH, Yu HJ, Kim KH, Lee SK, Hwang YI, Lee SH. 2013. Organosulfur compounds in fermented garlic extracts and the effects on alcohol induced cytotoxicity in CYP2E1-transfected HepG2 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 342-347.
 31. Gebhardt R, Beck H, Wagner KG. 1994. Inhibition of cholesterol biosynthesis by allicin and ajoene in rat hepatocytes and HepG2 cells. *Biochim Biophys Acta* 1213: 57-62.
 32. Qureshi AA, Abuirmeileh N, Din ZZ, Elson CE, Burger WC. 1983. Inhibition of cholesterol and fatty acid biosynthesis in liver enzymes and chicken hepatocytes by polar fractions of garlic. *Lipids* 18: 343-348.
 33. Lawson LD, Wang ZJ, Hughes BG. 1991. Identification and HPLC quantitation of the sulfides and dialk(en)yl thiosulfonates in commercial garlic products. *Planta Med* 57: 363-370.
 34. Zlatkis A, Zak B. 1969. Study of a new cholesterol reagent. *Anal Biochem* 29: 143-148.
 35. Biggs HG, Erikson JM, Moorehead WR. 1975. A manual colorimetric assay of triglyceride in serum. *Clin Chem* 21: 437-441.
 36. Joo EJ. 1978. A study on the changes of components in some organs and growth rate of albino rats by feeding of experimental diet supplemented with garlic. *MS Thesis*. Sookmyung Women's University, Seoul, Korea. p 13-16.
 37. Ahmed RS, Sharma SB. 1997. Biochemical studies on combined effects of garlic (*Allium sativum* Linn) and ginger (*Zingiber officinale* Rosc) in albino rats. *Indian J Exp Biol* 35: 841-843.
 38. Kim RJ, Lee SJ, Kim MJ, Hwang CR, Kang JR, Jung WJ, Sung NJ. 2010. Effects of fresh, red and black garlic powder on lipid metabolism of obese rats induced by high fat diet. *J Agric Life Sci* 44: 159-170.
 39. Mills S, Bone K. 2005. *The essential guide to herbal safety*. Elsevier Health Sciences, St. Louis, MO, USA. p 412-414.