

마늘成分의 酸化防止作用에 對한 研究

제 2 보 過酸素 分解酵素의 活性에 미치는 影響

Studies on Antioxidative Action of Garlic Components Isolated from
Garlic (*Allium Stivum*, L)

Part II : Effects of garlic components on peroxidase and superoxide dismutase
activity

漢陽女專 食品營養科

副教授 田 熙 貞

漢陽大學 食品營養學科

教授 李 盛 雨

Dept. of Food & Nutrition, Hanyang W.J. College

Associate Prof.; Hui Jung Chun

Dept. of Food & Nutrition, Hanyang University

Prof.; Sung Woo Lee

<目 次>

I. 諸 論

II. 實驗材料 및 實驗方法

III. 結果 및 考察

IV. 要 約

參考文獻

<Abstract>

In order to study the antioxidative action of the effectient garlic components, peroxidase and superoxide dismutase activity were compared through the *in vitro* and *in vivo* experiments.

Results are obtained as follows:

1. Observing the effects on peroxidase activity of efficient components *in vitro*, garlic oil, alliin and ethanol fraction showed effective, which was similar to the trend of TBA value, peroxide value and induction time for the first period of lipoperoxide formation *in vitro*.

2. *In vivo* experiment with peroxidase activity, the ethanol fraction and garlic oil were effective when intraperitoneally administered as well as orally administered.

3. Considering the superoxide dismutase activity *in vitro*, the garlic oil, alliin and ethanol fraction were effective in efficient components. But non-kaolin fraction inhibited the activity on the contrary.

4. In terms of the effects on superoxide dismutase activity *in vivo*, alliin and garlic oil were effective in intraperitoneal administration and the ethanol fraction and alliin in oral administration.

I. 諸 論

生體가 化學에너지를 獲得하는 過程에서 生成되는 電子에 依하여 酸素分子가 還元되어 강력한 活性을 갖는 遊離基인 過酸素(O₂⁻)를 發生하며 이어서 다른 活性酸素인 一重項酸素(¹O₂), 過酸化水素(H₂O₂) 및 水酸基(·OH)등이 生成된다. 이와같이 生成된 酸素의 中間代謝物들은 大食細胞와 같은 食食細胞의 殺菌過程등에서는 중요한 生理的 役割을 하지만, 이와는 반대로 生體에 있어서는 脂質의 過酸化反應을 促進함은 물론 酵素 및 核酸의 變性등을 일으켜서 生體에 有害한 作用을 하기도 하며, 考化, 高血壓, 癌등을 發生시켜 各種 成人病의 原因物質로도 알려져 있다. 따라서 生體內에는 이들 有害한 酸素誘導體를 清掃하는 物質(scavenger)로서 peroxidase, superoxide dismutase, catalase 등이 존재하고 있으며¹⁻⁴⁾, 이들 酵素들의 活性에 의하여 過酸化脂質生成을 效果的으로 抑制할 수 있어 過酸化脂質의 障害로부터 生體를 防禦하여 老化現象을 抑制할 수 있다.

따라서 本研究은 前報⁵⁾에서 分離한 마늘의 有效成分이 過酸化水素 및 生成된 過酸化脂質의 scavenger인 peroxidase의 活性과 過酸素의 scavenger인 superoxide dismutase의 活性에 미치는 影響을 調査하기 위하여 *in vitro*와 *in vivo*實驗을 통하여 各成分別 酵素活性을 測定하였으며 그 效果를 서로 比較하였다.

II. 實驗材料 및 實驗方法

實驗材料

試料인 마늘과 實驗動物은 前報⁶⁾와 같다.

實驗方法

1. 마늘의 有效成分의 分離 및 調製

마늘의 有效成分인 alliin, scordinin, non-kaolin 劃分 및 garlic oil의 分離 및 調製方法은 前報⁶⁾에 準하였다.

2. 過酸化脂質 生成抑制酵素의 活性調査

1) Peroxidase의 活性測定

① *in vitro* 實驗

崔⁷⁾, Berymeyer⁸⁾등의 方法을 一部 修正한 方法을 사용하였다. 마늘의 有效成分濃도를 2.5×10⁻²%로 하여, 吸光度(O.D. 436nm)의 變化를 20초 간격으로 3分間 測定하고, 吸光度의 變化로부터 初速度(ΔA 436/min)를 求하여 다음 式에 따라 有效成分 mg當의 peroxidase activity를 計算하였다.

$$\text{또한 peroxidase의 \% activity는 對照群에 對 units/mg sample} = \frac{\Delta A 436/20 \times 3}{12^* \times \text{mg sample in Rx mix}}$$

*extinction coefficient

한 實驗群의 比로써 表示하였다.

② *in vivo* 實驗

前報⁵⁾의 *in vivo*實驗 즉 腹腔內投與 및 經口投與實驗에서 TBA value를 測定하기 위하여 각각 調製한 肝 homogenate(10%) 100μl씩을 使用하여 *in vitro*實驗에서의 같은 方法으로 peroxidase activity를 測定하였다.

2) Superoxide dismutase의 活性測定

① *in vitro* 實驗

마늘의 有效成分이 superoxide dismutase와 같은 作用을 하는 過酸素分解活性을 調査하기 위하여 Marklund 등의 方法⁹⁻¹⁰⁾을 修正하여 pyrogallol自動酸化法을 사용하였다.

마늘의 有效成分濃도를 2.5×10⁻²%로 하여 吸光度(O.D. 420nm)의 變化를 20초 간격으로 3分間 測定하고 初速度(ΔA 420/min)로써 各試料別 自動酸化速度를 計算하였다.

또한 對照群에 對한 實驗群의 抑制作用을 % inhibition으로 表示하였다.

② *in vivo* 實驗

Peroxidase 活性 測定에 使用한 肝 homogenate 50μl씩을 加하여 *in vitro*實驗과 같은 方法으로 superoxide dismutase activity를 測定하였다.

또한 對照群에 對해 腹腔內投與의 경우는 % inhibition으로, 經口投與의 경우는 % activity로써 表示하였다.

Table 1. Effect of garlic components on peroxidase activity *in vitro*

Garlic components	Peroxidase activity (unit/mg samples)	Inhibition /Control(%)
Control	6.70×10^{-4}	100
Alliin	6.16×10^{-4}	108.05
Ethanol fraction	6.21×10^{-4}	107.05
Garlic oil	5.80×10^{-4}	125.32
Scordinin	6.36×10^{-4}	105.07
Non-kaolin fraction	6.46×10^{-4}	103.73

Table 2. Effect of garlic components on peroxidase activity *in vivo* (i.p.)

Garlic components (100 μ l of 10% liver homogenate)	Peroxidase activity(units/mg wet liver)	Inhibition /Control (%)
Control	2.58×10^{-5}	100
Alliin	2.30×10^{-5}	110.8
Ethanol fraction	2.03×10^{-5}	121.3
Garlic oil	2.04×10^{-5}	120.9
Scordinin	2.18×10^{-5}	115.5
Non-kaolin fraction	2.23×10^{-5}	113.5

III. 結果 및 考察

1. Peroxidase activity 에 대한 影響

1) *in vitro* 實驗

마늘의 有效成分이 peroxidase activity 에 미치는 影響을 *in vitro* 實驗을 통하여 調査해 본 結果 Table 1과 같다.

Garlic oil 이 125.32%로 가장 높은 活性을 나타냈으며, 그 다음은 alliin 의 108.5%와 ethanol 劃分의 107.05%였다. Scordinin 이 non-kaolin 劃分은 비교적 낮은 活性을 나타냈으므로 peroxidase activity 에 影響을 미치는 成分은 garlic oil, alliin 및 ethanol 劃分임을 알 수 있었다. 이러한 사실은 前報⁶⁾의 *in vitro* 實驗에서의 TBA value, Peroxide value 및 過酸化脂質生成初期誘導期間의 傾向과 아주 잘 一致하는 結果이다.

또 이들 有效成分들의 對照群에 대한 % activity 는 103.73~125.32%의 값을 보여 주고 있다.

2) *in vivo* 實驗

a) 腹腔內 投與實驗

腹腔內 投與시 peroxidase activity 에 미치는 有效成分의 影響을 調査한 結果, Table 2에서와 같이 ethanol 劃分이 121.3%, garlic oil 120.9%로써 peroxidase activity 가 높아 그 效果가 인정되었다.

이들 有效成分들의 對照群에 대한 % activity 는 110.8~121.3%로 높은 값을 나타내므로 腹腔內 投與實驗에서의 peroxidase activity 에 미치는

Table 3. Effect of garlic components on peroxidase activity *in vivo* (p.o.)

Garlic components (100 μ l of 10% liver homogenate)	Peroxidase activity(unit/mg wet liver)	Activity/Control (%)
Control	5.436×10^{-5}	100
Alliin	5.785×10^{-5}	106.4
Ethanol fraction	6.662×10^{-5}	122.5
Garlic oil	6.996×10^{-5}	128.7
Scordinin	5.120×10^{-5}	94.8
Non-kaolin fraction	5.508×10^{-5}	101.3

影響은 상당히 큰 것을 알 수 있었다. 特別 garlic oil 과 ethanol 劃分의 peroxidase activity 가 높은 것은 *in vitro* 實驗의 peroxidase activity 와 거의 같은 傾向을 나타내고 있으며, 또한 前報⁶⁾의 TBA value 및 peroxide value 와도 거의 같은 傾向을 나타내고 있다.

b) 經口投與實驗

經口投與시 peroxidase activity 에 미치는 有效成分의 影響을 調査한 結果는 Table 3과 같다.

Table 3에서 보면 garlic oil 이 128.7%로 가장 높은 peroxidase activity 를 나타냈고, 그 다음에 ethanol 劃分(122.5%), alliin(106.4%)의 順으로 나타났다. 이러한 傾向은 前報⁶⁾의 *in vivo* 經口投與實驗에서 血液의 TBA value 와는 一致하였으나 肝臟에서의 TBA value 와는 약간의 差異가 있었으며 過酸化脂質 生成抑制作用이 肝臟보다 血液에서 더 현저하다는 사실을 감안한다면 대단히 흥미

있는 일이다. 또한 *in vitro* 實驗의 peroxidase activity 와도 거의 一致되는 것으로 미루어 garlic oil 및 ethanol 劃分이 peroxidase activity 에 미치는 영향이 크다는 사실을 알 수 있다.

過酸化脂質生成의 初期段階에서 生成을 抑制하는 superoxide dismutase 의 作用도 重要하겠지만, 이미 形成된 過酸化脂質을 分解하는 peroxidase 의 作用이 더욱 重要하다고 보겠다.

2. Superoxide dismutase activity 에 미치는 影響

1) *in vitro* 實驗

마늘의 有效成分이 pyrogallol 自動酸化를 抑制하는 作用에 미치는 影響을 調査해 본 結果 Table 4와 같았다.

抑制作用을 對照群과 比較하였을때 가장 效果的인 成分은 21.15%의 garlic oil 과 20.38%인 alliin 으로 *in vitro* 實驗에서 의 peroxidase activity 와 거의 같은 경향이었다. 그 다음이 15.00%인 ethanol 劃分, 9.85%인 scordinin 順이었으나 non-kaolin 劃分은 오히려 pyrogallol 自動酸化를 促進하고 있었다.

Garlic oil 과 alliin 의 superoxide dismutase activity 가 높은 것은 superoxide dismutase activity 를 促進하는 成分들이 garlic oil 이나 alliin 등으로 移行했음을 意味한다. 또한 non-kaolin 劃分이 오히려 (-)superoxide dismutase activity

Table 4. Effect of garlic components on pyrogallol autoxidation for superoxide dismutase activity *in vitro*

Garlic components (2.5×10 ⁻² %)	Rate of autoxidation (ΔA 420/420min)	Inhibition/Control (%)
Control	2.60×10 ⁻²	—
Alliin	2.07×10 ⁻²	20.38
Ethanol fraction	2.21×10 ⁻²	15.00
Garlic oil	2.05×10 ⁻²	21.15
Scordiinn	2.34×10 ⁻²	9.85
Non-kaolin fraction	2.76×10 ⁻²	-6.15

Table 5. Effect of garlic components on superoxide dismutase *in vivo* (i.p.)

Garlic components (2.5×10 ⁻² %)	SOD activity (50 μl of 10% liver homogenate)	Inhibition/Control (%)
Control	3.53×10 ⁻²	—
Alliin	3.17×10 ⁻²	9.94
Ethanol fraction	3.22×10 ⁻²	8.52
Garlic oil	3.31×10 ⁻²	5.96
Scordinin	3.33×10 ⁻²	5.39
Non-kaolin fraction	3.46×10 ⁻²	1.70

를 나타내는 것은 마늘의 ethanol 劃分에서 scordinin 을 제외한 kaolin 非吸收劃分에 superoxide dismutase activity 를 潤滑하는 物質이 존재하고 있음을 暗示한다 하겠다.

2) *in vivo* 實驗

a) 腹腔內 投與實驗

腹腔內投與(33.4mg/kg body weight)하여 얻은 肝 homogenate(10%)를 사용하여 superoxide dismutase activity 를 測定한 結果는 Table 5와 같다.

對照群에 대한 superoxide dismutase activity 를 보면 alliin 이 9.94%로 가장 높고, ethanol 劃分(8.52%), garlic oil(5.96%)順이었으며, *in vitro* 와 마찬가지로 non-kaolin 劃分(1.70%)이 가장 낮은 superoxide dismutase activity 를 나타내고 있다.

이러한 경향은 *in vitro* 實驗의 superoxide dismutase activity 와 거의 類似한 結果였다. 따라서 non-kaolin 劃分을 除外한 有效成分들은 상당히 높은 superoxide dismutase activity 를 갖고 있어서 過酸化脂質生成 初期段階에서 superoxide radical(O₂⁻)을 分解시킴으로써 生體의 酸化를 豫防할 수 있다 하겠다.

b) 經口投與實驗

3週間 經口投與하여 切取한 肝臟중에 존재하는 superoxide dismutase activity 에 미치는 有效成分의 影響을 比較한 結果는 Table 6과 같다.

Table 6에서 보면 ethanol 劃分이 對照群 對比 151.2%의 superoxide dismutase activity 를 나

Table 6. Effect of garlic components on superoxide dismutase activity *in vivo* (p.o.)

Garlic components (100 μ l of 10% liver homogenate)	Superoxide dismutase activity (unit/mg wet liver)	Activity /Control (%)
Control	17.85×10^{-2}	100
Alliin	21.56×10^{-2}	120.7
Ethanol fraction	26.99×10^{-2}	151.2
Garlic oil	20.26×10^{-2}	113.5
Scorndini	20.42×10^{-2}	114.3
Non-kaolin fraction	22.54×10^{-2}	126.2

타네크 있어 가장 높은 값을 나타내고 있으며 non-kaolin 劃分(126.2%), alliin(120.7%)의 順으로 나타났다.

in vitro 實驗 및 *in vivo* 의 腹腔內 投與實驗에서 效果가 현저하던 garlic oil 이 ethanol 劃分이나 alliin 보다 낮은 活性을 나타낸 것은 特記할만 하던 ethanol 劃分이 *in vivo* 의 腹腔內 投與에서와 마찬가지로 가장 높은 superoxide dismutase activity 를 나타내고 있음은 흥미있는 사실이다.

IV. 要 約

마늘의 有效成分들이 生體內에 존재하는 peroxidase(過酸化脂質 分解酵素)와 superoxide dismutase(過酸素의 除去劑(scavenger))의 活性에 미치는 影響을 *in vitro* 와 *in vivo* 實驗으로 調査함으로써, 마늘의 有效成分의 酸化防止作用을 比較하였으며 그 結果는 다음과 같다.

1. *in vitro* 實驗에서 peroxidase activity 는 garlic oil 이 125.32%로 가장 높았고 alliin, ethanol 劃分 順이었다. 이와같은 結果는 *in vitro* 에서의 TBA value, peroxide value 및 過酸化脂質 生成初期誘導期間의 傾向과 一致하였다.

2. *in vivo* 에서의 peroxidase activity 를 比較해 보던 腹腔內投與(i.p.) 및 經口投與(p.o.) 모두에서 ethanol 劃分과 garlic oil 등이 큰 活性을 나타내어 酸化防止效果가 인정되었다.

3. Superoxide dismutase activity 에 미치는

效果는 *in vitro* 에서 garlic oil, alliin, ethanol 劃分 順이었으며, non-kaolin 劃分은 오히려 活性을 沮害하였다.

4. *in vivo* 에서 superoxide dismutase activity 를 보던 腹腔內投與의 경우 alliin, ethanol 劃分 및 garlic oil 등에서 活性이 크게 나타났고, 經口投與에서는 ethanol 劃分, alliin 등에서 活成이 컸다.

參 考 文 獻

1. Matkovics, B., Novak, R., Hanh, H.D., Szabo, L., Varga, S.I. and Zales Zalesna, G.: A comparative study of some more important experimental animal peroxide metabolism enzymes, *Comp Biochem. Physiol.*, 56, 31, 1977.
2. 眞杉文記, 中村哲也: 酵素의 活性化と 過酸化脂質, 生成と代謝의 制御, *醫學의 あゆみ*, 429 1976.
3. Hochstein, P. and Utley, H.: Hydrogen peroxide detoxide detoxication by glutathione peroxidase and catalase in rat liver homogenates, *Mol. Pharmacol.*, 4, 574, 1968.
4. Little, Co., Olinescu, R., Røid, K.G. and O'Brien, P.J.: Properties and regulation of glutathione peroxidase, *J. Biol. Chem.*, 245(14), 3642, 1970.
5. Pinto, R.E. and Bartley, W.: The effect of age and sex on glutathion reductase and glutathione peroxidase activities and on aerobic glutathione oxidation in rat liver homogenates, *J. Biochem.*, 112, 109, 1969.
6. 田熙貞, 李盛雨: 마늘成分의 酸化防止作用에 關한 研究(第1報). 대한가정학회지 24권 1호
7. 崔鎮浩: 高麗人參의 老化抑制作用에 關한 研究 慶熙大學校 大學院 博士學位請求論文 1982.
8. Berymeyer: Method of Enzymatic analysis, *Academic Press*, (New York) 2, 685, 1974.

9. Marklund, S. and Marklund, G.: Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase, *Eur. J. Biochem.*, 47, 469, 1974.
10. Misra, H.P. and Fridovich, I.: The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase, *J. Biol. Chem.*, 247(10), 3170, 1972.