

Helicobacter pylori 생장 억제 물질로서의 마늘의 효과 - *In Vitro, In Vivo* 연구

단국대학교 의과대학 내과학교실, 해부병리학교실*, 외과학교실[†], 소화기연구소[‡]

노임환 · 남승우 · 명나혜* · 김정택[†] · 신지현

In Vitro and *In Vivo* Activities of Garlic against *Helicobacter pylori*

Im Hwan Roe, M.D., Seung Woo Nam, M.D., Na Hye Myung, M.D.*,
Jung Taik Kim, M.D.[†], and Ji Hyun Shin[‡]

Departments of Internal Medicine, Pathology*, and Surgery[†], Institute for Gastroenterology[‡],
Dankook University College of Medicine, Cheonan, Korea

Background/Aims: This study assessed the effects of the raw and heated garlic on *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection. **Methods:** The concentration of garlic thiosulfinates was determined by spectrophotometric method from the raw and heated aqueous garlic extract. Bacterial suspensions of *H. pylori*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans* were inoculated into their culture media containing thiosulfinates at concentrations of 0, 20, 40, 80, and 160 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Viability was measured by the plate colony count technique. *In vivo* effects of raw and heated garlic on *H. pylori*-infected gerbil model were also determined. **Results:** Raw garlic showed a strong activity at low concentrations of thiosulfinates against *H. pylori* and other microorganisms, compared with weak activity of heated garlic. Chronic and active gastric inflammation were significantly improved by the treatment of 0.8 mg/mL raw garlic compared to *H. pylori*-infected control group. However, such effect was not observed at 1.6 mg/mL dose. Heated garlic had no beneficial effect. **Conclusions:** Raw garlic has an excellent inhibitory activity against *H. pylori* infection. (**Korean J Gastroenterol 2002;40:159-165**)

Key Words: Garlic; Thiosulfinate; Inhibitory effect; *H. pylori*-infected gerbil model

서 론

마늘(*Allium sativum* L.)은 오래 전부터 의학적 효능이 있어 민간요법으로 인식되어 왔던 식품으로 많은 연구를 통하여 항세균, 항진균, 항산화작용 및 항암작용이 있다는

것이 밝혀져 있다.¹ 마늘에 존재하는 주요한 항세균 성분은 알리신(allicin, allyl 2-propene thiosulfinate)이며² 이것은 마늘이 부러지면서 bundle sheath 세포에 존재하는 allinase라는 효소와 mesophyll 세포에 존재하는 알린(alliin)이라는 기질이 유출되면서 서로의 반응에 의하여

접수: 2002년 5월 6일, 승인: 2002년 7월 12일
연락처: 노임환, 330-714, 천안시 안서동 산 29
단국대학교 의과대학 내과학교실
Tel: (041) 550-3917, Fax: (041) 556-3256
E-mail: nayana@dankook.ac.kr

※ 이 연구는 2001학년도 단국대학교 대학연구비의 지원으로 연구되었음.

Correspondence to: Im Hwan Roe, M.D.
Department of Gastroenterology, Dankook University College of Medicine
San 29, Anseo-dong, Cheonan 330-714, Korea
Tel: +82-41-550-3917, Fax: +82-41-556-3256
E-mail: nayana@dankook.ac.kr

생성되는 물질이다.³ 알리신은 생마늘을 갈거나 조각으로 부수는 과정에서 풍부하게 생성되며 마늘을 가열처리하면 allinase가 불활성되어 알리신이 생성되지 않는다. 알리신은 thiosulfates로 마늘의 독특한 냄새를 낼 뿐 아니라 살균 작용을 가지기 때문에 자연무기로 불리우고 있다. 그 이유는 세균, 진균 혹은 바이러스 등이 체내에서 사멸하지 않고 활발한 감염 활동을 일으키는데 절대적으로 필요한 효소인 cysteine proteinase와 alcohol dehydrogenase를 차단하는 기능을 가지고 있으며 알리신이 이 효소들의 중요한 구성을 이루는 sulfhydryl기(SH group), 혹은 thiol과 반응하여 효소들의 작용이 상실되는 것으로 밝혀졌다. 마늘의 SH기와 반응하는 성질은 항세균 작용 이외에도 우수한 항산화 작용을 가지고 있다.⁴ 이러한 천연물질을 이용한 감염 치료는 항생제와는 달리 전혀 내성을 유발하지 않는다는 큰 장점이 있다. 마늘의 항균 물질들은 산성 환경에서도 안정하며 위산이 오히려 마늘의 항 미생물 활성을 증가시킨다는 연구 보고도 있다.⁴

또한, 마늘은 항암작용이 있으며 마늘을 즐겨먹는 민족에서 위암이나 대장암 등 암 발생이 적다는 것이 알려져 있다.⁵⁻⁷ 특히 위암의 경우 마늘이 *H. pylori* 감염을 억제하여 위암 발생을 줄일 수 있다고 추측하고 있다.⁵ 마늘은 *H. pylori* 감염 치료나 억제를 위한 새로운 물질로서 많은 가능성을 가지고 있다. *H. pylori*는 적은 농도의 thiosulfide에 의하여 생장이 억제된다는 것이 생체 외 연구에서 잘 알려져 있다.^{8,9} 마늘은 omeprazole과 같이 세균 효소의 SH기와 결합함으로써 항세균 활성을 보이는 유사한 작용을 가지고 있는데 omeprazole과 마늘이 함께 들어 있는 배지에서는 *H. pylori*의 성장억제효과가 상승되므로 omeprazole과 마늘의 병용투여는 *H. pylori* 감염치료에 대한 새로운 대안적 방법이 된다고 제시하였다.¹⁰

최근에는 *H. pylori*로 인한 위장 질환에 새롭고도 안전한 치료방법의 하나로 식품에서 *H. pylori*를 억제시킬 수 있는 물질을 탐색하는 연구가 관심을 끌고 있다. 유산균 발효유,¹¹ *H. pylori*를 과면역시켜 얻은 난황항체 IgY,¹² 포도주,¹³ 비타민 C¹⁴ 및 녹차의 catechin¹⁵ 등이 좋은 효과가 있을 것으로 예측하는 물질이며 이들을 단독 혹은 *H. pylori* 제균 약물요법에 추가하여 제균율도 높이고 항생제의 양도 줄이자는데 초점을 맞추고 있다.

한국인의 식생활에는 마늘이 조미료로서 생 마늘 혹은 익힌 마늘 상태로 많이 첨가된다. 그러므로 본 연구에서는 생마늘과 익힌 마늘이 생체 외, 내에서 *H. pylori*의 성장억제 효과가 있는지를 연구하였다.

대상 및 방법

1. 세균의 배양

*H. pylori*는 표준균주(ATCC 43504)를 사용하였으며 5% (vol/vol) bovine calf serum (PAA Laboratories Inc., Parker Ford, PA, USA)과 항생제(amphotericin B 2.5 µg/mL, vancomycin 10 µg/mL, trimethoprim 5 µg/mL, polymyxin B 2.5 IU/mL, Sigmachemical Co. St. Louis, MO, USA)가 첨가된 BB (brucellar broth, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에서 *H. pylori*가 1×10^8 CFU/mL (OD₆₀₀=1)이 될 때까지 37°C, 10% CO₂ 조건에서 150 rpm으로 진탕배양하였다.

비교실험 균주로서 *Escherichia coli* (*E. coli*, KCTC 1116), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, KCTC 1621), 그리고 *Candida albicans* (*C. albicans*, ATCC 10231)를 이용하였다. *E. coli*와 *S. aureus*는 LB (Luria-bertani) 배지를, *C. albicans*는 BHI (brain heart infusion)배지를 이용하여 37°C, 호기 조건에서 24시간 배양하고 OD₆₀₀=1이 되도록 LB와 BHI 배지로 희석하였다.

2. 마늘 추출액에서 thiosulfinate의 정량

생마늘과 microwave oven에서 5분 동안 가열처리한 마늘 45 g에 증류수 100 mL을 넣고 균질기를 이용하여 파쇄한 후, 10,000 g에서 30분 동안 원심분리하여 상등액을 얻고 0.2 µm 여과지를 이용하여 여과한 후 시료로 이용하였다. 생마늘과 익힌 마늘 시료 중의 총 thiosulfinate 농도는 spectrophotometric 방법에 의하여 한 분자의 알리신이 2분자의 cysteine과 신속하게 반응하여 2분자의 S-allylmercaptocysteine이 형성되는 원리를 이용하여, 잔존하는 cysteine을 정량함으로써 thiosulfinate 농도를 정량하였다.¹⁶ 마늘 추출액(100 µL)을 cysteine 용액 (100 µL, 20 mM)과 반응시킨 후 반응되지 않은 cysteine은 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid와의 반응에 의하여 형성된 2-nitro-5-thiobenzoate를 412 nm에서 측정하여 정량하였다.

3. 생체 외에서 thiosulfinate의 항세균 효과

생마늘에서 추출된 thiosulfinate의 농도가 각각 0, 20, 40, 80, 160 µg/mL이 되도록 한천을 함유하는 BB, LB, 그리고 BHI 배지를 제조하였다. 익힌 마늘 추출액은 생마늘 추출액과 같은 양을 이용하여 각각의 배지를 제조하였다. 1×10^8 CFU/mL로 배양된 각 미생물에 대하여 *H. pylori* 배양액은 100 µL를, *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans*는 10 µL를 취하여 각각의 한천함유 배지에 접종한 후 *H. pylori*는 37°C, 10% CO₂ 조건에서 3일 동안 배양하였고 *E. coli*, *S. aureus*,