

제비콩(*Dolichos lablab* L.) 잎 추출물이 쥐의 혈청효소활성에 미치는 영향

김용욱* · 최우철* · 신미경** · 한성희** · 임세진*** · 김명애***

*동국대학교 · **원광대학교 · ***동덕여자대학교

Effect of Jebikong(*Dolichos lablab* L.) Leaves Extract on Enzyme Activities in Mice Blood

Kim, Y. W* · Choi, W. C* · Shin, M. K** · Han, S. H** · Lim, S. J*** · Kim, M. A***

* Dongguk Univ. Seoul, Korea · ** Wonkwang Univ. Iksan, Korea · *** Dongduk Women Univ. Seou, Korea

〈 목 차 〉

ABSTRACT

I. 서 언

II. 재 료 및 방 법

III. 결 과 및 고 찰

IV. 적 요

인용문헌

ABSTRACT

The effect of *Dolichos lablab* leave extract on enzyme activities in mice blood was investigated in this study to clarify the new useful application of the plant leaves. There were not significant differences in the enzyme activities in mice blood among treatment fed with the leave extract and non fed control. The feeding treatment with the extract showed a tendency to activity compared to the non fed control. The activities of glutamate oxaloacetate transaminase, glutamate pyruvate transaminase and lactate dehydrogenase in mice blood at the treatment fed with lead and the leave extract were significantly low compared to their activities at the non fed treatment with the extract, respectively. The choline esterase activity was high at the leave extract feeding. The cadmium dietary treatment showed the same result as the lead treatment.

In conclusion, the physiological function of the Jebikong leave was significantly increased when the mice was stressed by the heavy metal intake. Therefore, the plant leave extract would consider the reduction of heavy metal effect.

Key Word: *Dolichos lablab*, leave extract, enzyme activity

I. 서 언

새로운 약품이나 식품의 소재 개발은 높은 부가가치가 보장되며 특히 한국은 예부터 질병치료에 식물자원을 이용한 관습적인 민간요법을 사용해 왔으므로 안전성이 뛰어난 식물자원으로부터 새로운 제품을 개발한다는 것은 한국의 실정에 가장 적합하고 국제경쟁력에 대응할 수 있는 첩경이라 사료된다.

제비콩(*Dolichos lablab* L.)은 일명 까치콩이라 불리며 한국에서는 널리 재배되고 있지 않지만 일부 남부지방에서 재배되고있고, 최근 작물시험장에서는 국제연락시험의 일환으로 생태적 적응시험을 하고 있다. 제비콩은 예부터 약용으로 쓰여 왔으며 특히 열대지방에서는 부인병, 소화기병 등 기타 많은 질병에 제비콩잎 즙액을 복용하면 크게 효과가 있는 것으로 알려지고 있으며 제비콩 잎에는 높은 isoflavone 함량이 검출되고 있으나(Kim. *et al.* 2000) 이에 대한 약효 및 기능성효과에 대한 연구조사가 없는 실정이다. Isoflavone에 대한 항암효과가 최근 널리 알려지고 있는데 Petersen and Barnes(1991)에 의하면 isoflavone의 화학구조는 여성호르몬인 estradiol과 유사하여 성호르몬의 영향을 받는 유방암 등에 효과가 있고 genistein의 항암효과는 항산화적 특성에 기인하며(Pratt and Birac 1979, Record, *et al.* 1995). Cai and Wei(1996)는 일정농도의 genistein을 쥐에 섭취시키면 Glutathione transferase의 활성이 크게 증가한다고 보고하였다. 콩 종실에서 분획한 추출물은 용매에 따라 효과가 다르게 나타나는데 Bae and Moon(1997)에 의하면 ethyl 분획물 항산화성이 가장 높았고, Kim. *et al.*(1995)는 methanol과 dichloromethane에서 높은 항산화 효과를 나타내었으나 물, ethanol, ethylacetate 및 benzene 추출물은 항산화효과가 낮은 것으로 보고하였다.

콩을 섭취한 흰쥐의 간에서 항산화제효소인 Superoxide Dismutase(SOD) 활성이 높았고(Kwon. *et al.* 1998), Cai and Wei(1996)는 쥐에 genistein을 섭취케한 후 항산화계 효소활성을 측정할 결과 SOD와 glutathione transferase가 높았다고 보고하였다. 또한 콩의 식이섬유가 쥐의 혈장 콜레스테롤을 크게 저하시킨다고 보고하였다(Hundemer. *et al.* 1991, Lee and Koh. 1994).

따라서 본 실험은 제비콩의 생리활성효과를 구명하기 위하여 쥐를 이용한 동물실험으로 Glutamate Pyruvate Transaminase(GPT), Glutamate Oxaloacetate Transaminase(GOT),

Lactate Dehydrogenase(LDH)와 Cholinesterase(ChE) 효소활성을 측정하고자 수행되었다.

II. 재료 및 방법

1. 물질추출

제비콩잎은 전북 익산시 농가에서 재배되고 있는 식물체에서 개화직전에 채취한 것을 재료로 하여 제비콩잎 2kg을 건조기에 건조시킨 다음 80% methanol로 3회 환류추출한 후 methanol을 감압하에서 제거하여 methanol 엑스를 얻었다.

2. 효소활성 측정

1) 실험조건

평균 체중이 100 ± 10 g인 sprague-dawley 종 수컷흰쥐를 고형사료(제일제당)로 일주일간 환경에 적응시킨 후 제비콩 추출물은 증류수에 희석하여 섭취케 하였고 식이사료를 24시간동안 자유롭게 섭취하도록 하였으며 사료섭취량과 사료음용섭취량은 매일 2시에 측정하여 전날 공급량에서 남아있는 양을 제하고 일일 섭취량으로 계산하였다. 사육실 온도는 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도는 55~60% 조건으로 유지시켰고 기본식이 사료조성은 Table 1과 같이 하였다.

Table 1. Composition of experimental diet for feeding mice.

Ingredient	Content(%)
Crude protein	22.4
Crude cellulose	5.0
Crude lipid	3.5
Crude ash	0.7
Calcium	0.5
Vitamin	3.5
Phosphorus	0.5
Mineral	1.0

Source : Samyang Diet Co.

2) 실험동물군

제비콩잎 추출물의 적정투여 농도를 구명코자 증류수와 기본식이를 섭취케 한 실험군을 대조군으로 하고 투여추출물농도를 1, 3, 5%의 수준으로 하여 효소활성을 비교검토하였으며, 중금속 투여시 제비콩추출물의 생리활성효과를 검토코자 납과 카드뮴 투여농도를 체중 kg당 100, 200ppm과 50, 100ppm으로 하여 Table 2에서와 같이 8개 실험군으로 하였다. 각 실험군당 흰

쥐의 수를 7마리로 하였다.

Table 2. Experimental dietary group of heavy metal treatment.

Group	Diet				
1	Pb 100ppm	+	Basic diet	+	
2	Pb 200ppm	+	Basic diet	+	
3	Pb 100ppm	+	Basic diet	+	3% of extract
4	Pb 200ppm	+	Basic diet	+	3% of extract
5	Cd 50ppm	+	Basic diet	+	
6	Cd 100ppm	+	Basic diet	+	
7	Cd 50ppm	+	Basic diet	+	3% of extract
8	Cd 100ppm	+	Basic diet	+	3% of extract

3) 혈청중의 효소활성 검정

효소활성 검정 시료의 채취는 4주간 사육한 흰쥐를 12시간 질식시킨 다음 ethyl ether로 가볍게 마취시켜 개부한 즉시 심장정맥에서 10ml 주사기로 3~4ml의 혈액을 채혈하고 혈청을 15°C에서 20분간 방치한 후 3,000rpm에서 원심분리시켜 시료로 사용하였다. Glutamate Oxaloacetate Transaminase(GOT)와 Glutamate Pyruvate Transaminase(GPT)의 활성도 측정은 Reitman and Frankel법(1957)에 준하였고, 혈청 transaminase 측정용 Kit시약(아산제약, 한국)을 사용하였고 Cholinesterase(ChE)활성 측정은 Kit시약(Mizuho medy RH-141k, 일본)을 사용하였고, 아래의 공식에 의하여 Iu/L로 하였다(Bardwill and Chang, 1963, Karmen. *et al.* 1995).

$$\text{Cholinesterase activity(Iu/L)} = \frac{\text{혈청흡광도}}{\text{표준액흡광도}} \times \text{표준액의 표시값}(1,000\text{Iu/L})$$

Lactate Dehydrogenase(LDH)의 활성측정(Amador. *et al.* 1963)은 Kit시약(Mizuho medy SR-1110, 일본)을 이용하였으며 효소활성도는 아래의 공식에 의하여 Wro·u(Wro·u=0.4821 Iu/L)로 산출하였다.

$$\text{Lactate Dehydrogenase Activity(Wro·u)} = \frac{\text{혈청의 흡광도}}{\text{표준시료의 흡광도}} \times \text{표준시료의 환산계수}$$

III. 결과 및 고찰

혈청 중의 GPT나 GOT는 정상상태에서는 효소의 활성이 낮으나 조직이 이상이 있거나 질병이 발생하면 세포내에 존재하는 효소가 다량 혈중으로 이동되기 때문에 질병에 의한 장애정도를 진단하는 자료로 이용되고 특히 간기능의 장애정도를 측정하는데 이용되고 있다. 제비콩 잎 추출물로 투여농도가 GPT와 GOT의 활성정도에 미치는 영향을 조사하여 적정투여 농도를 구명코자 증류수+기본식이를 대조구로 하고 추출물 섭취농도를 1, 3, 5%로 하여 GPT와 GOT의 활성을 비교검정한 결과 처리간 유의차는 없었으며 제비콩잎 추출물 투여처리에서 GPT가 다소 낮아지는 경향을 보였다(Table 3).

Table 3. Enzyme activity in mice blood at different feeding amount of Jebikong leave extract.

Diet	GOT (king-amstrong)	GPT (king-amstrong)	LDH (Wro · u)	ChEase (lu/L)
Distilled water	214	63	1,783	326
1% extract	225	60	2,162	316
3% extract	222	58	1,989	349
5% extract	186	51	1,842	318

GOT : Glutamate Oxaloacetate Transaminase

GPT : Glutamate Pyruvate Transaminase

LDH : Lactate Dehydrogenase

ChEase : Cholinesterase

LDH는 심장과 근육활동에 관여하는 효소로 심장, 간, 신장, 근육 등에 이상이 생기면 이 효소의 활성이 증가한다. Table 3에서 보면 증류수+기본식이에 비해 제비콩잎 투여처리에서 LDH효소활성이 낮아지는 경향을 보이지 못했으며 농도간에서도 유의성이 없었고 1%에 비해 3%와 5% 처리에서 다소 낮아지는 경향을 보였다. Choline esterase는 중추신경계 전달효소로서 활성이 감소되면 뇌신경의 이상을 가져오게 된다. Table 3에서와 같이 처리간 Choline esterase의 활성은 유의성을 나타내지 않았다. 이상의 실험결과를 고찰하여 볼 때 정상상태에서는 제비콩잎 추출물이 생리활성효과에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 사료되었다.

Table 4는 낱의 섭취농도를 100ppm과 200ppm으로 하고 기본식이를 섭취케 한 처리와 제비콩잎 추출물 3%를 섭취케 한 처리의 효소활성 정도를 측정된 결과이며 GOT, GPT, LDH가 제비콩잎 추출물 투여처리에서 낮아지는 경향을 보였고, ChEase는 높아지는 경향을 보였다.

카드뮴의 투여처리가 쥐의 혈청효소 활성에 미치는 영향을 보면 GOT, GPT, LDH는 처리간 유의성을 보였다(Table 5).

Table 5에서 보면 카드뮴 처리농도간에는 유의적인 차이는 없었으나 제비콩 추출물을 투여한 처리에서 GOT, GPT, LDH의 활성이 각각 현저히 낮았다. ChEase의 활성은 처리간 유

의성은 없었으나 제비콩잎 추출물을 투여한 처리에서 다소 높아지는 경향을 보였다.

Table 4. Effect of Jebikong leave extract on enzyme activity in mice blood at lead treatment.

Diet	GOT (king-amstrong)	GPT (king-amstrong)	LDH (Wro · u)	ChEase (lu/L)
Pb100ppm	255 ^b	79 ^a	2,222 ^a	291
Pb200ppm	244 ^b	75 ^{ab}	2,745 ^a	251
Pb100ppm+3%extract	188 ^a	63 ^{bc}	1,400 ^b	284
Pb200ppm+3%extract	163 ^a	48 ^c	1,556 ^b	282

Same letters within a column were not significantly different at 0.05 probability by Duncan's multiple range test.

GOT : Glutamate Oxaloacetate Transaminase

GPT : Glutamate Pyruvate Transaminase

LDH : Lactate Dehydrogenase

ChEase : Cholinesterase

Table 5. Effect of Jebikong leave extract on enzyme activity in mice blood at Cadmium treatment.

Diet	GOT (king-amstrong)	GPT (king-amstrong)	LDH (Wro · u)	ChEase (lu/L)
Cd 50ppm	233 ^a	78 ^a	2,779 ^a	242
Cd100ppm	237 ^a	79 ^a	2,986 ^a	241
Cd 50ppm+3%extract	169 ^b	68 ^{ab}	1,775 ^b	243
Cd100ppm+3%extract	195 ^b	61 ^b	1,776 ^b	246

Same letters within a column were not significantly different at 0.05 probability by Duncan's multiple range test.

GOT : Glutamate Oxaloacetate Transaminase

GPT : Glutamate Pyruvate Transaminase

LDH : Lactate Dehydrogenase

ChEase : Cholinesterase

본 실험결과를 종합 고찰하여 볼 때 제비콩잎 추출물의 생리활성 효과는 중금속이 체내 흡수되어 조직이 이상이 생긴 상태에서 더 높은 것으로 사료되었다. 본 실험에서는 분획물별 생리활성 효과를 측정하지 못했으나 Kim, *et al*(1995) 등이 methanol 추출물에서 높은 항산화 효과가 있다고 보고한 내용과 비슷한 경향을 보였고, 제비콩잎은 유희자원으로서 그 가치성이 높다고 사료되며 이제까지 약용으로 사용해온 점을 감안한다면 안정성도 크게 문제되지 않을 것으로 사료되었다.

IV. 적 요

본 실험은 유희자원으로서 가치가 높은 제비콩잎의 이용성을 확인하고자 제비콩잎 추출물에 대한 임상검증의 일환으로 쥐를 이용한 혈청효소 활성을 조사하였다.

1. 증류수+기본식이를 대조구로 하고 제비콩잎 추출물 섭취농도를 1, 3, 5%로 하여 Glutamate Pyruvate Transaminase(GPT), Glutamate Oxaloacetate Transaminase (GOT), Lactate Dehydrogenase(LDH)와 Cholinesterase(ChE)의 활성을 조사한 결과 처리간 유의성을 나타내지 않았으며, 제비콩잎 추출물 처리에서 GPT가 다소 낮아지는 경향을 보였다.
2. 낱과 제비콩잎 추출물 식이처리가 제비콩잎 추출물을 투여하지 않고 낱만 섭취케 한 처리에 비해 GPT, GOT, LDH가 현저히 낮아지는 경향을 보였고, ChEase 활성은 처리가 유의성을 나타내지 않았으나 제비콩잎 식이처리에서 다소 높아지는 경향을 보였다.
3. 카드뮴과 제비콩잎 추출물 식이처리가 카드뮴 단일투여처리에 비해 GOT, GPT, LDH가 현저히 낮아졌고, ChEase 활성은 처리가 유의성은 없었으나 제비콩잎 추출물 섭취처리에 높아지는 경향을 보였다.
4. 본 실험 결과를 종합하여보면 생체내에 이상이 있을 때 제비콩잎의 생리적 효과가 뚜렷하였고, 중금속 해독작용에 효과가 있는 것으로 사료되었다.

인용문헌

1. Amador, E. L., E. Dorfman, and W. E. Wacker. 1993. Serum lactic dehydrogenase activity, an analytical assessment of current assays. Clin. Chem. 9 : 391-394.
2. Bae, E. A. and G. S. Moon. 1997. A study on the antioxidant activities of Korean soybeans. J. Korea Soc. Food Sci. Nutr. 26(2) : 203-208.
3. Bardwill, C. and C. Chang. 1963. Serum lactic dehydrogenase, leucine amin peptidase and 5-Nucleotidase activity : Observation in pancreas and metatobiliary. Canada. Med. Ass. J. 89 : 755-757.
4. Cai, Q. and H. Wei. 1996. Effect of dietary genistein on antioxidant enzyme activities in cancer mice. Nutr. and Cancer. 25 : 1-7.
5. Hundemer, J. K., S. P. Nabor., B. J. Shriver, and L. P. Forman. 1991. Dietary effect of fiber sources lower blood cholesterol in C57BL16 mice. J. Nutr.

- 121 : 1360-1365.
6. Karmen, A., F. Wrohlewski. and J. S. Ladue. 1955. Transaminase activity in human blood appendix, note on spectrophotometric assay of glutamic oxaloacetic transaminase in human blood serum. *J. Clin. Invent.* 34 : 126-134.
 7. Kim, G. Y., Y. S. Maeng. and K. Y. Lee. 1995. Antioxidative effects of soybean extract by using various solvents. *Korean. J. Food Sci Technol.* 27 : 635-639.
 8. Kim, Y. W. et al. 2000. Development of useful new application of soybean and bamboo leaves. *RDA Reoport.* p.38-49.
 9. Kwon, T. W., Y. S. Song., J. S. Kim., G. S. Moon., J. I. Kim. and J. H. Hong. 1998. Current research on the bioactive function of soy foods in Korea. *Korea. Soybean Digest.* 15(2) : 147-160.
 10. Lee, Y. S. and J. S. Koh. 1994. Effect of dietary soy protein and calcium on blood and tissue in rats fat-enriched diet. *Korean. J. Nutr.* 27 : 3-11.
 11. Peterson, G. and S. Barnes. 1991. Genistein inhibition of the growth of human breast cancer cell : independence from estrogen receptors and the multidrug resistance gene. *Bio Chem. Biophys. Res. Comm.* 179 : 661-667.
 12. Pratt, D. E. and P. M. Birac. 1979. Sources of antioxidant activity of soybeans and soy product. *J. Food Sci.* 44 : 1720.
 13. Record, I. R., E. Dreosti. and J. K. McInerney. 1995. The antioxidant activity of genistein in vitro. *Nutr. Bio Chem.* 6 : 481-485.
 14. Reitman, S. and S. Frankel. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamin pyruvic transaminase. *Amer. J. Clin. Pathol.* 28 : 56-63.