

부추 N-Butyl Alcohol 추출액의 투여가 개의 혈액상에 미치는 영향

이성동 · 김하동 · 박승춘 · 송재찬 · 김영홍 · 오태호 · 이근우¹

경북대학교 수의과대학

Hematological Changes in Dogs Administrated N-Butyl Alcohol Extracts of The Korean Chinese Chives(*Allium tuberosum Rottler*)

Sung-dong Lee, Ha-dong Kim, Seung-chun Park, Jae-chan Song, Young-hong Kim, Tac-ho Oh and Keun-woo Lee¹

College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, 702-701 Daegu, Republic of Korea

Abstract : The Korean Chinese Chives(*Allium tuberosum Rottler*) are a perennial herb and have been used from ancient as food and medical purpose in Korea. They are known to posses diuresis, sthemia activities and used for the treatment or anemia, haematemesis, and eczema. Recently the Korean Chinese Chives have been studied on the morphologic property, the classification of origin and chemical constituent. However there has not been studied on hematological changes administrated excessive n-butyl alcohol extracts of Korean Chinese chives in dogs. In this experiment clinically healthy 10 dogs were administrated n-butyl alcohol extracts of Korean Chinese Chives (5 ml/kg) for 6 days and observed the hematological effects in dogs. The results are as follows, 1. The red blood cell count was significantly ($P < 0.05$) decreased on day 2. 2. The reduced glutathion(GSH) concentration was significantly ($P < 0.05$) increased on day 4 and Met-hemoglobin concentration was significantly ($P < 0.05$) increased on 3 hrs after administration. 3. Packed cell volume(PCV) and hemoglobin concentration were not showed significant difference during experimental periods. 4. The mean corpuscular volume(MCV) was significantly($P < 0.05$) increased on 3 hours after administration.

Key words : Korean Chinese Chive, N-butyl alcohol extract, GSH, Met-Hb

서 론

부추(Korean Chinese Chive)는 학명으로는 *Allium tuberosum Rottler*인 백합목, 백합과(Liliaceae)에 속하는 다년생 초본으로 중국과 인도가 원산지이며 현재 우리나라를 비롯하여 중국, 대만, 일본, 인도네시아 등의 아시아 여러나라에서 널리 재배되고 있다^{21,22}. 부추는 예로부터 식용으로서 뿐만 아니라 구자(韮子, 부추씨), 구백(韮白, 줄기와 잎)이라 하여 한방에서 널리 사용되고 있다. 전자는 비뇨기질환의 치료제, 혈액정화제, 강심제 그리고 강장제 등으로 사용되고 있으며, 후자는 요통, 야뇨, 토혈, 이뇨, 하리, 습진, 화상, 일사병 등의 치료에 사용되고 있다^{23,24}.

부추는 다른 백합과 식물과는 달리 단백질, 지질, 당, vitamin A 등을 많이 함유하고 있으며²⁶ 또한 부추의 독특한 향기를 내는 유황화합물(dimethyl disulfide, dimethyl trisulfide, trans-1-propenyl methyl disulfide, trans-1-propenyl disulfide, trans-2-hexeol, methylallyl disulfide)은 마늘의 성분과 유사한 것으로 알려져 있다²³. 현재까지 부추에 관한 연구는 대부분이 백합과 식물연구^{5,6}, 휘발성 성분^{3,8,17}, anti-

microbial 성분^{4,9} 등의 주로 형태학적 특징 및 부추의 화학적 성분 보고가 대부분이었으며 이 등¹², 장 등²⁵은 마늘에서, 김 등²⁰은 미나리에서 또한 김 등¹¹, 오 등¹⁶은 부추의 생즙 및 농축액의 과량투여 시 개에서 용혈성 빈혈의 발생을 보고한 바 있으나 부추의 N-butyl alcohol 추출액 투여시의 혈액학적 변화에 관한 연구는 아직 보고되어 있지 않다.

따라서 본 연구에서는 부추 N-butyl alcohol 추출액의 과량 투여가 개에서 어떠한 혈액학적 변화를 일으키는지를 관찰하고자 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

실험동물

임상적으로 건강한 평균 체중 4.17(±1.5)kg의 잡종 성견 10두를 암/수 구별 없이 사용하였으며, 사료와 음수는 자유 급식 시켰다.

부추 N-butyl alcohol 추출

부추는 시판되는 부추(*Allium tuberosum Rottler*)를 구입하여 수세한 후 녹즙기를 이용하여 부추 생즙을 채취하였다. 생즙을 N-butyl alcohol과 1:1의 비율로 혼합하여 Shaking Waterbath(37°C, 140 rpm, 4 hr)로 진탕 시킨 후 Separtory funnel에 24시간 동안 방치한 다음 N-butyl alcohol층만 채

¹Corresponding author.

E-mail : kwolee@knu.ac.kr

이 논문은 2001년도 경북대학교 연구비에 의하여 연구되었음.

취하여 저온 원심 분리기(3,000 rpm, 20 min, 4°C)로 원심 분리하였다. 회전 진공농축기(Heidolph, LABOROTA 4000, Germany)로 추출하여 완전히 건조 시킨 후 추출액 1g당 용액 (10% tween 80) 10 ml에 희석하여 사용하였다.

투여방법

부추 N-butyl alcohol 추출물을 용매에 희석한 다음 위관 투여를 이용하여 체중 kg당 5 ml의 용량으로 1일 1회 6일간 연속 투여하였다.

혈액채취

모든 채혈은 요골측 피하정맥 (Cephalic vein)에서 실시하였으며, 투여 1일은 3시간, 6시간, 12시간에 그리고 2일부터는 1일 1회 6일간 연속 실시하였다. 채취한 혈액은 2Na-EDTA 35 µl가 함유된 Eppendorf tube에 분주하여 즉시 검사하였다.

검사항목 및 분석방법

Complete blood count(CBC). RBC, WBC, Hb, MCV, MCHC는 자동 혈구 계산기(HEMAVET 600, USA)를 사용하여 측정하였으며 PCV는 Microhematocrit법으로 측정하였다.

Reduced Glutathione (GSH) 함량 측정. GSH는 Beutler 등의 방법에 따라 실시하였다. 즉 원심 분리용 시험관에 3차 증류수 900 µl 시료혈액 100 µl를 충분히 혼합시켜 metaphosphate 1,500 µl을 첨가하여 vortex mixer에서 충분히 혼합한 후, 저온원심분리(3,000 rpm, 15 min, 4°C)한 상층액 1,000 µl를 0.3 M PB(Na₂HPO₄ · 12H₂O) 4,000 µl가 담긴 시험관에 주입하여 DTNB (5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoate derivatives) 500 µl와 충분히 혼합한 후 UV spectrophotometer (Metertk SP-870, USA)를 이용하여 412 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Met-Hemoglobin 함량 측정. Met-Hb농도는 Nakamura 등의 방법에 따라 실시하였다. Eppendorf tube에 3차 증류수 925 µl를 넣고 시료 혈액 200 µl를 충분히 pipetting한 후 0.5 M PB 375 µl를 첨가하여 저온원심분리(15,000 rpm, 3 min, 4°C)하여 상층액을 채취하였다. 준비된 시약 A(5% K₃Fe(CN)₆ 20 µl, 0.5 M PB 250 µl, 3차 증류수 730 µl의 혼합액)와 시약 B(10% NaCN 50 µl, 12% Acetic acid 15 µl의 혼합액)을 이용하여 UV spectrophotometer(Metertk SP-870, USA)로 632 nm에서 흡광도를 측정하였다

통계학적 분석

이 모든 실험 결과는 Student's *t*-test에 의해 유의성을 검증하였다.

결 과

RBC 및 PCV

총 적혈구 수치는 실험 전 평균 $718.83 \times 10^4/\mu\text{l}$ 에 비해

투여 3시간 후부터 감소경향을 나타내었으며 2일에는 평균 $624.00 \times 10^4/\mu\text{l}$ 로 유의한($P < 0.05$)감소를 나타내었다(Fig 1). PCV치는 실험 전 평균 47.33%에 비하여 전 실험기간 동안 유의한 변화는 인정되지 않았다(Fig 2).

Hemoglobin 및 WBC

Hb 함량은 실험 전 평균 14.8 g/dl에 비하여 전 실험기간 동안 감소 경향은 나타내었으나 유의성은 인정되지 않았으며(Fig 3), 총백혈구 수는 실험 전 평균 $9,375/\mu\text{l}$ 에 비해 전 실험기간 동안 유의한($P < 0.01$) 증가가 인정되었으며 특히 투여 12시간에는 평균 $26,717/\mu\text{l}$ 로서 최대치를 나타내었다(Fig 4).

MCV 및 MCHC

MCV는 실험 전 평균 65.85 fl에 비하여 투여 후 2일과

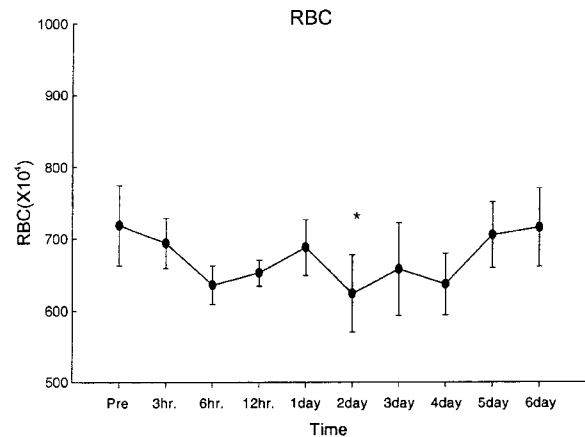


Fig 1. Changes of RBC levels in dogs administrated N-butyl alcohol extract of the Korean chinese chives daily for 6days. Data represent mean \pm SD of 10 dogs. *: means significant ($P < 0.05$) difference.

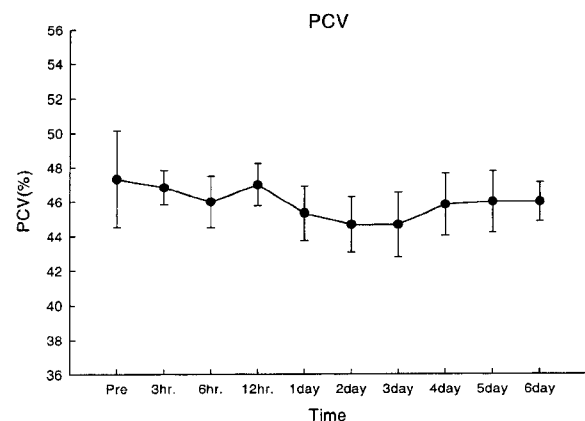


Fig 2. Changes of PCV in dogs administrated N-butyl alcohol extract of the Korean chinese chives daily for 6days. Data represent mean \pm SD of 10 dogs. *: means significant ($P < 0.05$) difference.

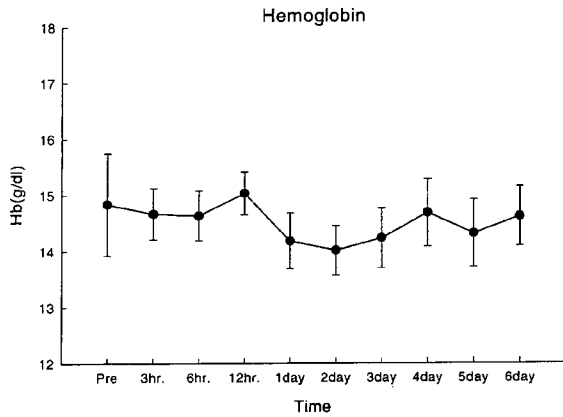


Fig 3. Changes of Hb concentration in dogs administrated N-butyl alcohol extract of the Korean chinese chives daily for 6days. Data represent mean \pm SD of 10 dogs. *: means significant ($P < 0.05$) difference.

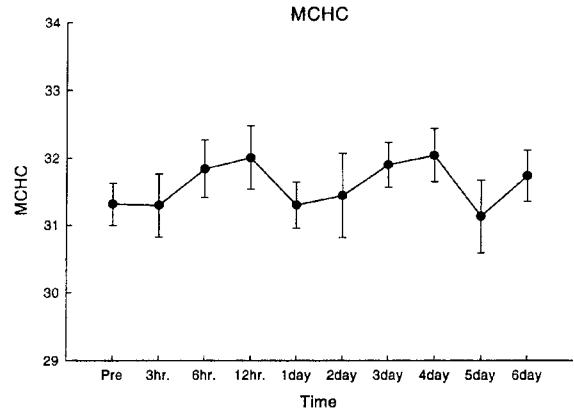


Fig 6. Changes of MCHC levels in dogs administrated N-butyl alcohol extract of the Korean chinese chives daily for 6days. Data represent mean \pm SD of 10 dogs. *: means significant ($P < 0.05$) difference.

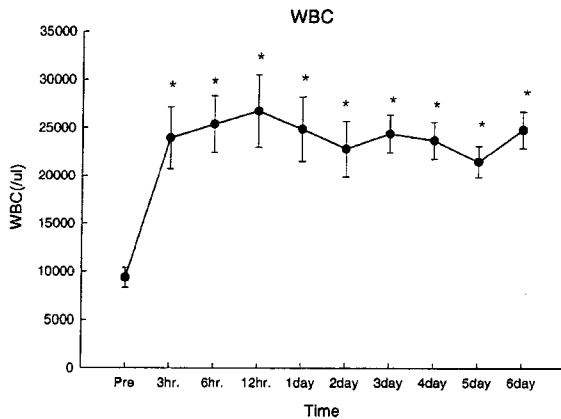


Fig 4. Changes of White Blood Cell levels in dogs administrated N-butyl alcohol extract of the Korean chinese chives daily for 6days. Data represent mean \pm SD of 10 dogs. *: means significant ($P < 0.05$) difference.

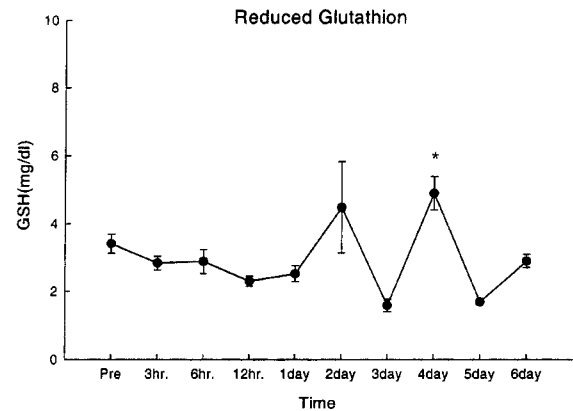


Fig 7. Changes of Reduced Glutathion(GSH) levels in dogs administrated N-butyl alcohol extract of the Korean chinese chives daily for 6days. Data represent mean \pm SD of 10 dogs. *: means significant ($P < 0.05$) difference.

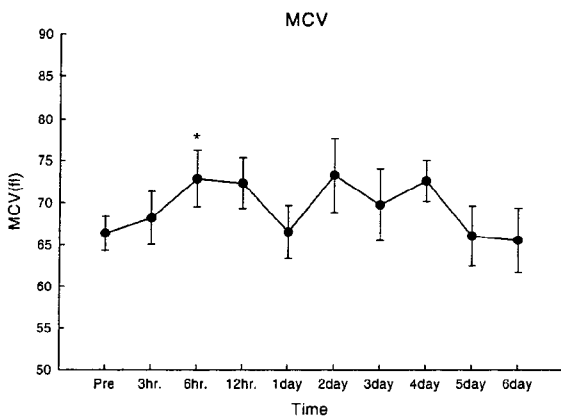


Fig 5. Changes of MCV levels in dogs administrated N-butyl alcohol extract of the Korean chinese chives daily for 6days. Data represent mean \pm SD of 10 dogs. *: means significant ($P < 0.05$) difference.

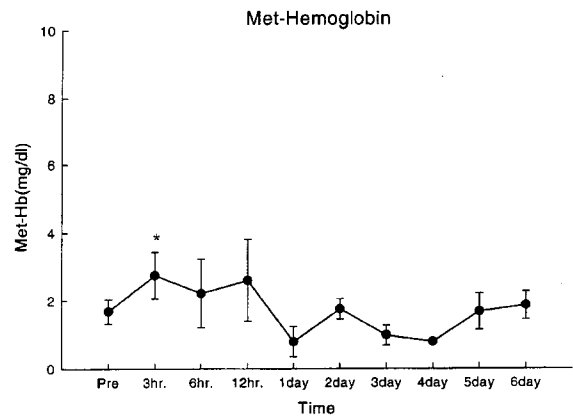


Fig 8. Changes of Met-Hemoglobin(Met-Hb) levels in dogs administrated N-butyl alcohol extract of the Korean chinese chives daily for 6days. Data represent mean \pm SD of 10 dogs. *: means significant ($P < 0.05$) difference.

4일이 평균 71.58 fl과 71.91 fl로 유의한($P < 0.05$) 증가를 나타내었으나(Fig 5), MCHC는 실험 전 평균 31.3 g/dl에 비하여 전 실험기간 동안 유의한 변화는 인정되지 않았다(Fig 6).

Reduced Glutathione (GSH) 함량 및 Met-Hemoglobin (Met-Hb) 함량

GSH 함량은 실험 전 평균 3.41 mg/dl에 비하여 투여 후 2일에 평균 4.90 mg/dl로 유의한($P < 0.05$) 증가가 인정되었으며(Fig 7), Met-Hb 함량 또한 실험 전 평균 1.69 mg/dl에 비하여 투여 후 3시간에 평균 2.75 mg/dl로 유의한($P < 0.05$) 증가가 인정되었다(Fig 8).

고 찰

예로부터 각종 치료 목적뿐 아니라 식생활에도 널리 이용되고 있는 백합과의 다년생 초본인 부추에 관한 연구 중 N-butyl alcohol 추출액의 투여 시 혈액학적인 변화에 관하여서는 지금까지 보고 되어 있지 않다.

같은 백합과 식물인 양파의 경우 과량 섭취시 개에서 용혈성 빈혈이 유발된다는 사실이 Sebrell¹⁸에 의해 최초로 보고된 후 여러 연구가들에 의하여 동일한 결과가 보고되었으며¹⁴ 또한 백합과 식물인 마늘의 과량 섭취시 및 미나리의 과량 섭취시에도 용혈성 빈혈이 유발된다는 사실이 이 등¹², 장 등²⁵, 김 등²⁰에 의해 연구된 바 있다. 따라서 본 연구에서는 부추의 N-butyl alcohol 추출액을 개에 투여했을 시에도 이러한 용혈성 빈혈이 발생하는지를 관찰하고자 실험을 실시하였다.

본 실험 결과 총적혈구 수는 실험 전 평균 $718.83 \times 10^4/\mu\text{l}$ 에 비해 부추 N-butyl alcohol 추출액 투여 3시간 후부터 감소경향을 나타내기 시작하여 2일째 평균 $624.00 \times 10^4/\mu\text{l}$ 로 유의한($P < 0.05$) 감소를 나타내었다. PCV치 역시 실험 전 평균 47.33%에 비하여 전 실험기간 동안 감소 경향을 나타내었으며 특히 투여 후 2일째와 3일째 평균 44.67%로서 최소치를 나타내었으나 이러한 결과는 Anderson과 Gee¹이 보고한 정상범위인 37~55% 이내에서의 변화로 인정된다. 이러한 총적혈구 수와 PCV치 변화는 Kent 등¹⁰을 비롯하여 Sebrell 등¹⁸, Yamato 등¹⁹, 이 등¹², 장 등²⁵ 그리고 김 등²⁰이 보고한 개에서 과량의 양파, 마늘 및 미나리를 투여시 보고한 총적혈구 수와 PCV치의 감소 경향과 일치하는 것으로 사료된다.

Hb 농도는 실험 전 평균 14.8 g/dl에 비하여 전 실험기간 동안 감소 경향을 나타내었고, MCV치는 실험기간동안 유의한 증가 경향을 나타내었으며 특히 투여 후 6시간에는 평균 72.3 fl로써 투여 전 평균 65.9 fl에 비해 최대치를 나타내었으나 MCHC는 전 실험기간 동안 유의한 변화가 인정되지 않았다. 이러한 결과들 역시 총적혈구 수와 PCV치의 결과와 마찬가지로 김 등²⁰, 이 등¹², 장 등²⁵ 및 Kent 등¹⁰, Lincoln 등¹³이 보고한 백합과 식물 즉, 마늘, 양파, 미나리 등의 과량 투여 시의 변화와 일치하는 것으로 생각된다.

총백혈구 수는 전 실험 기간동안 유의한 증가 경향을 나타내었으나 이러한 증가는 스트레스성 백혈구 증가증으로 사료된다.

GSH 함량은 투여 후 4일이 평균 4.90 mg/dl로써 투여 전 평균 3.41 mg/dl에 비해 유의한 증가가 인정되었으며 Met-Hbshd도 역시 투여전 1.69%에 비하여 투여 3시간이 2.75%로서 유의한 증가를 나타내었다.

이러한 결과는 Harvey 등⁷, Yamato 등¹⁹, 김 등²⁰, 이 등¹², 장 등²⁵, 김 등¹¹, 오 등¹⁶이 과량의 양파, 마늘, 미나리 및 부추의 투여시 개에서 총적혈구수, PCV, Hb함량의 감소 및 MCV, GSH농도 및 Met-Hbcl의 증가로 인한 용혈성 빈혈의 발생을 보고한 결과와 일치하는 것이라 생각되며 부추의 N-butyl alcohol 추출액의 과량 투여시에도 용혈성 빈혈이 유발된다는 사실을 확인할 수 있었으나 그 정확한 기전은 앞으로 규명되어야 할 문제로 사료된다.

요 약

부추는 예로부터 식용으로뿐만 아니라 한방에서는 치료의 목적으로 널리 이용되어온 백합과에 속하는 다년생 초본으로서 과량의 생즙 및 농축액을 개에 투여시 용혈성 빈혈이 발생된다는 사실은 보고되어 있으나 이러한 부추의 N-butyl alcohol 추출액의 투여에 의한 혈액학적 변화에 관하여서는 아직 보고되어 있지 않은 실정이다.

따라서 본 연구에서는 건강한 성견 10두에 N-butyl alcohol 추출액을 과량 투여한 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 총 적혈구수는 N-butyl alcohol 추출액 투여 후 2일에 유의한($P < 0.05$) 감소를 나타내었으나 혈구용적은 전 실험기간 동안 유의한 변화가 인정되지 않았다.
2. GSH 함량 및 Met-Hb 농도는 투여 후 4일 및 3시간에 유의한($P < 0.05$) 증가를 나타내었다.
3. MCV는 투여 후 3시간에 유의한($P < 0.05$) 증가를 나타내었다.

참 고 문 헌

1. Anderson AC, Gee W. Normal blood values in the beagle. *Vet Med* 1958; 135-138.
2. Beutler E, Duron O. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61: 882-888.
3. Cai, Xiao-Jia, Peter C. Uden *et al.* Allium Chemistry: Identification of natural abundance organoselenium volatiles from garlic, elephant garlic, onion, and chinese chive using headspace gas chromatography with atomic emission detection. *J Agric Food Chem* 1994; 42: 2081-2084.
4. Choi, Jae-Sue, Park, Si-Hyang and Kim, Il-Sung. Studies on the active principles of wild vegetables on biotransformation of drug. *Kor J Phamacogn* 1989; 20: 117-122.
5. Hahn, Sang-Jung. Studies on the Chinese chives(*Allium tuberosum* ROTTER) and a wild type of Allium species in

- Korea. Karyotype, growth pattern and main components. J Kor Soc Hort Sci 1986; 27: 1-10.
6. Hahn, Sang Jung. Studies on the Chinese chives(*Allium tuberosum* ROTTER) and a wild type of *Allium* species in Korea.; Effects of day length and temperature on the flower-bud differentiation and growth. J Kor Soc Hort Sci 1986; 27: 105-110.
 7. Harvey JW, Rackear D. Experimental onion-induced hemolytic anemia in dogs. Vet Pathol 1985; 22: 387-392.
 8. Hiroshi Iida, Seiji Hashimoto, Mitsuo Miyazawa and Hiromu Kameoka. Volatile flavor components of Nira(*Allium tuberosum* Rottl.). Journal of Food Science 1983; 48: 660.
 9. Hong, Heong-Hwa. Lee, Mi-Hyoung. Kang, Min-Chul and Hur, Sung-Ho . Separation and Identification of Antimicrobial compounds from Korean Leek(*Allium tuberosum*). J Food Hyg Safety 2000; 12: 235-240.
 10. Kent R. Van Kampen, Lynn F. James A. Earl Johnson MS. Hemolytic anemia in sheep fed wild onion (*Allium validum*) JAVMA 1970; 156: 328-332.
 11. Kim, Joo-Wan. Oh, Hye-Won. et al. The Hematological Effect of Excessive Crude *Allium tuberosum* Extract Administrated in Large Dogs. J Vet Clin 2002; 19: 55-60.
 12. Lee, Keun-Woo. Yamato, O. Tajima, M. et al. Hematologic changes associated with the appearance of eccentrocytes after intragastric administration of garlic extract to dogs. AJVR 2000; 61: 1446-1450.
 13. Lincoln, S.D. Howell, M.E. Combs, J.J. Hinman, D.D. Hematologic effects and feeding performance in cattle fed cull domestic onions(*Allium cepa*). JAVMA 1992; 200: 1090-1094.
 14. Nakamura I, Nishid N. Microdetermination of methemoglobin and the normal value. St Marianna Med J 1980; 8: 146-152.
 15. Ogawa, E. Shinoki, T. Akahori, F. and Masaoka, T. Effect of onion ingestion on anti-oxidizing agents in dog erythrocytes. Jpn J Vet Sci 1986; 48: 685-691.
 16. Oh, Hye-Won. Kim, Joo-Wan. et al. Hematological Effect of Administration Excessive Amount of the Korean Native Chinese Chive Extracts in Small Dogs. J Vet Clin 2002; 19: 61-65.
 17. Park, Eun-Ryong. Jo, Jung-Ok. Kim, Sun-Min. et al. Volatile Flavor components of leek(*Allium tuberosum* Rottler). J Korean Soc Food Sci Nutr 1998; 27: 563-567.
 18. Sebrell W. H. An anemia in dogs produced by feeding onions. Public Health Rep 1930; 45: 1175-1189.
 19. Yamato O, Maede Y. Novel Heinz body hemolysis factors in onion(*Allium cepa*). Biosci Biotech Biochem 1994; 58: 221-222.
 20. 김홍태, 장혜숙, 안병만, 김영홍 등. 미나리 생즙 투여가 개의 혈액상에 미치는 영향. J Vet Clin 2001; 18: 105-110.
 21. 이우승. 한국의 채소. 경북대학교 출판부 1994: 371-380.
 22. 표현구, 최연일. 채소 원예 각론. 향문사 1997: 385-388.
 23. 배기환. 한국의 약용 식물. 교학사 2000: 525.
 24. 윤세영. 원색 한국 자원 식물도감. 아카데미서적 1995: 55
 25. 장우석, 김홍태, 진태원 장혜숙 등. 소형견에서 마늘 투여가 혈액상에 미치는 영향. J Vet Clin 1999; 16: 276-280.
 26. 홍정화, 이미형, 강민철, 허성호 부추의 항미생물 활성물질의 분리 J Fd Hyg Safety 2000; 15: 235-240.