

## 편백 목부 정유의 항염증 효과 평가

양지윤<sup>1</sup> · 안창환<sup>2</sup> · 정의배<sup>2</sup> · 최원실<sup>3</sup> · 김재우<sup>1</sup> · 박미진<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>국립산림과학원 임산공학부 화학미생물과, <sup>2</sup>충북대학교 수의대학교, <sup>3</sup>서울대 NICEM

### Anti-inflammatory Activity of Essential Oil Extracted from *Chamaecyparis obtusa* (Sieb. et Zucc.) Wood

Jiyoon Yang<sup>1</sup>, Changhwan Ahn<sup>2</sup>, Eui-Bae Jeung<sup>2</sup>, Won-Sil Choi<sup>3</sup>, Jae-Woo Kim<sup>1</sup> and Mi-Jin Park<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Wood Chemistry & Microbiology, Department of Forest Products,  
National Institute of Forest Science, Seoul 02455, Korea

<sup>2</sup>College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea

<sup>3</sup>National Instrumentation Center for Environmental Management, Seoul National University, Seoul 08826, Korea

**Abstract** – This study was conducted to determine the anti-inflammatory effect of essential oil extracted from the wood of *Chamaecyparis obtusa* Sieb. et Zucc. Endl. (Cupressaceae). The essential oil was extracted from the wood of *C. obtusa* by hydro-distillation method, and conducted the analysis on the chemical composition of the extracted *C. obtusa* wood oil through GC-MS. The major constituents of the oil were found to be:  $\alpha$ -pinene (11.4%), cadinene (5.4%),  $\delta$ -cadiene (9.0%),  $\tau$ -muurolol (22.2%),  $\alpha$ -cadinol (20.8%) etc. We attempted to identify the anti-inflammatory activities of the oil when it is injected in the lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RBL-2H3 cells, along with its effects on the secretion of interleukin-4 (IL-4), interleukin-13 (IL-13),  $\beta$ -hexosaminidase. According to the cell viability analysis conducted by MTT assay, the oil in  $10^{-7}$ ~ $10^{-5}$ % concentration showed no effect on the cell viability. After RBL-2H3 cells treated by LPS stimulation were exposed to  $10^{-7}$ % concentration of *C. obtusa* wood oil, the expression levels of IL-4, IL-13 within the cell were observed to remarkably decrease. Also, it was attenuated the release of  $\beta$ -hexosaminidase from mast cells to a significantly meaningful level. These results suggest that *C. obtusa* wood oil exerts the anti-inflammatory effect, by regulating the expression of inflammatory cytokines, which is a valuable feature to be highly utilized as the functional materials in the future.

**Keywords** – *Chamaecyparis obtusa*, Essential oil, Anti-inflammatory, Interleukin,  $\beta$ -Hexosaminidase

편백(*Chamaecyparis obtusa* Sieb. et Zucc. Endl. [Cupressaceae])은 일본, 대만이 원산지인 측백나무과에 속하는 상록교목이다. 편백의 목재는 재질이 우수하며 독특한 향을 지니고 있어 건축자재와 고급 가구재 등으로 많이 사용되고 있다. 또한 잎, 목재, 가지, 뿌리 등에서 얻어지는 정유(essential oil)는 방향제, 입욕제 등 다양한 용도로 사용되고 있다.

정유는 수목에 존재하는 휘발성 물질로 식물의 2차 대사 물질이다. 편백 잎 정유는 약 66% monoterpene류와 25%의 sesquiterpene류로 구성되어 있으며, 다양한 생리활성을 갖고 있다.<sup>1)</sup> 편백에서 추출한 정유가 아토피를 악화시키는 곰

팡이와 진드기를 방지하는 항균 및 방충효과 외에도 항염, 항산화 등 생리활성에 높은 효과가 있음이 밝혀지면서 더 많은 기능성 물질을 찾아내고자 하는 연구와 노력이 계속되고 있다.<sup>2,3)</sup> Lee 등(2002)의 결과에 의하면 편백 잎 정유는 목재부후균 및 수목병원균에 대한 항진균활성이 우수하며, 그람양성균 및 음성균에 대한 항세균활성을 조사한 결과 편백 잎이 잣나무와 화백에 비해 높은 활성을 보였다.<sup>4)</sup> Park *et al.*(2015)은 편백 잎 정유에 함유되어 있는 elemol 성분에 의해 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , iNOS와 COX-2를 포함한 전염증성 매개물이 억제되고, 이를 통해 편백 정유가 면역억제 및 항염증 효과를 보인다고 하였다.<sup>5)</sup> 또한 편백 정유는 활성라디칼 소거능과 지질산화 억제능이 있어 항산화제로서 충분히 사용 가능하다고 알려져 있다.<sup>6)</sup> Koyama *et al.*(1997)은 편백 정유를 HeLa 세포에 처리하여 세포사멸 유도과정

\*교신저자(E-mail): lionpmj@korea.kr  
(Tel): +82-2-961-2765

을 밝히며 편백 정유의 항암제로써 활용가능성을 제시하였다. 이 밖에도 편백 정유를 포함한 비누와 스프레이, 로션이 아토피성 피부염의 가려움증 완화 효과가 있는 것으로 연구되었다.<sup>7-10)</sup> 이렇듯 편백 잎 정유는 항염증성, 항균성, 항산화, 탈취성, 살충성, 신경안정성 등 다양한 생리활성이 있으며, 산업적으로 활용가능성도 높게 평가되고 있다.

편백 잎 정유의 다양한 효과가 알려지면서 편백 잎 정유를 활용한 제품화-산업화가 진행되고 있으나, 일부에서는 편백 잎 정유의 효과를 편백 목부의 효과로 여겨 편백 목부를 이용한 제품들이 판매되고 있는 실정이다. 잎과 목부 정유는 구성 성분에 차이가 있기 때문에 동일한 효능이 있다고 단정 지을 수 없다. 또한 편백 목부의 생리활성을 뒷받침할 수 있는 과학적 근거도 부족하여 이에 대한 연구가 필요한 실정이다. 특히, 최근에 편백이 알려지성 질환인 아토피 피부염을 개선한다고 알려져 있어 알려지성 면역반응에 미치는 편백의 영향을 조사할 필요가 있다.

알레르기 및 면역반응은 밀접한 관계를 가지고 있다. 면역이란 생체에 유해한 물질을 약화시키거나 중화시키는 반응이고, 알레르기란 생체의 변화된 반응이라는 뜻으로 면역기전에 의한 항원-항체 반응에 있어 인체에 유해한 반응을 유발하는 생물학적 현상이다.<sup>11,12)</sup> 알레르기는 외부 자극에 대해 인체의 면역 기전이 과민한 반응을 유발하는 것으로 4 가지 유형이 있다. 제 1형 과민반응은 anaphylaxis type 또는 IgE 의존형이라고 하고, 제 2형은 cytolytic type 또는 조직특이형이라 하며, 제 3형은 arthus type 또는 면역복합체형이라 하고, 제 4형은 tuberculin type 또는 지연형이라 한다. 알레르기 반응은 대부분 제 1형 anaphylactic인 즉시성 과민반응에 속하며, 항원에 대해 감작(sensitization)이 되어 IgE에 의해 매개된다.<sup>13)</sup> 즉시성 과민반응은 다양한 외부자극에 의해 비만세포의 Fc수용체에 결합된 IgE에 특이적인 항원이 결합함으로써 발생한다.<sup>14)</sup> 이 상호작용은 비만세포의 탈과립(degranulation)과 히스타민, 세로토닌, 호산구, 싸이토카인과 같은 염증매개물질의 방출을 초래한다. 비만세포에서 분비되는 interleukin과 TNF- $\alpha$ (tumor necrosis factor alpha)와 같은 싸이토카인들은 알레르기 반응에서 주요한 역할을 한다.<sup>15-17)</sup> 비만세포 활성화를 통해 분비되는 IL-4, IL-13 등은 Th2 세포의 반응을 증가시키고, Th2는 이어서 B세포의 IgE 생성을 유도하여 알레르기성 반응을 일으킨다.<sup>18-21)</sup> 이와 같이 비만세포는 급성·만성염증에 모두 관련되어 있어, 비만세포의 생성과 싸이토카인들의 분비 억제는 염증성 질환들의 치료에 매우 중요한 인자이다.<sup>22,23)</sup>

본 연구는 염증반응을 유발한 비만세포에 편백 목부 정유를 처리하여 염증성 싸이토카인의 발현에 미치는 편백 목부 정유의 영향을 조사하고자 하였다. 이를 통해 편백 목부 정유의 항염증 효과를 평가하였다.

## 재료 및 방법

**공시재료 및 세포 배양** - 정유 추출을 위해 남해에서 2014년 12월에 벌채된 편백을 가평 산림조합을 통해서 구입하였다. 최종적으로 수종 식별은 국립산림과학원 재료공학과 의 임창득 연구사에 의해 편백임을 확인받았다. 본 연구에 사용된 정유는 편백 목부를 분쇄하여 증류법(hydrodistillation)으로 추출하였다. 추출한 정유는 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ (SAMCHUN, 98.5%)로 수분을 제거한 후 실험에 사용될 때까지 냉장보관하였다.

RBL-2H3 비만세포(CRL-2256<sup>TM</sup>; American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA)를 분양 받아 본 연구에 사용하였다. 37°C, 5%  $\text{CO}_2$  조건의 배양기에서 10% fetal bovine serum(FBS; Gibco), 1% penicillin-streptomycin과 0.4  $\mu\text{L}/\text{mL}$  mycoplasma guard을 넣은 dubecco's modified eagle medium(DMEM; Gibco)배양액으로 배양하였다.

**정유의 성분 분석** - 정유 성분은 GC-MS(Trace 1310/ISQ-LT, ThermoScientific, USA)를 이용하여 정성분석 하였으며, 분석조건은 다음과 같다.

Tr-5MS capillary column(30m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$ ; Thermo-scientific, USA)을 사용하였으며 carrier gas는 He(1 mL/min, 25 psi)을 사용하고, 시료 주입구는 250°C로 유지하였다. 오븐은 40°C에서 3분간 유지하고 3°C씩 승온하여 200°C까지 올린 뒤 이 온도에서 15°C씩 승온하여 340°C까지 올리고 10분간 유지하였다. 검출된 화합물은 FID 신호와 질량스펙트럼 모두를 기록하였다. FID는 280°C 조건하에 make-up gas는 헬륨으로 40 mL/min을 유지하였다. 질량분석기의 인터페이스와 이온소스의 온도는 각각 280°C와 250°C로 유지하였고, 질량스펙트럼은 EI-스캔 범위 35~360 m/z로 0.2 scans  $\text{s}^{-1}$ 의 속도로 획득하였다.

분석한 정유 내 물질들은 시료의 TIC(total-ion chromatogram)에서 S/N 비율이 100 이상인 피크들의 질량스펙트럼을 NIST 11(National Institute of Standards and Technology, USA) mass spectral library와 비교하여 match 값이 가장 높은 것을 선택하였으며, 목부 정유의 주성분을 중점적으로 확인하여 화합물명을 목록화 하였다.

**MTT Assay** - 편백 목부 정유의 세포독성을 알아보기 위해 MTT(3-(4, 5-dimethylthiazole-2-yl)-2, 5-diphenyl-tetrazolium bromide) assay를 실행하였다.

96-well plate의 각 well에 200  $\mu\text{L}$ 의 배지와  $8 \times 10^3$  cells/well을 넣고 37°C, 5%  $\text{CO}_2$  조건의 인큐베이터에서 하루 동안 배양시켰다.  $10^{-7}$ ~ $10^{-5}$ % 농도의 편백 목부 정유를 처리한 비만세포에 MTT reagent를 첨가한 후, 37°C 인큐베이터에서 6시간 동안 방치시켰다. 성장배지와 MTT reagent를 제거한 후, dulbecco's phosphate-buffered saline(DPBS; Gibco)로 세척하였다. 각 well에 100  $\mu\text{L}$  dimethyl sulfoxide

(DMSO; Sigma)를 첨가한 후, 상온에서 10분간 보관하였다.

Spectrophotometer로 농도별 정유 처리한 세포를 관찰하였다.

**RT-PCR에 의한 mRNA 정량분석** - 6-well plate의 각 well에 배양된 세포에 0.5  $\mu$ L TRIzol reagent(Invitrogen, Life Technologies)로 세포를 분리한 후, 100  $\mu$ L chloroform을 첨가하여 14,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상층액 150  $\mu$ L를 분취한 후 동량의 isopropanol을 첨가한 뒤, -20°C에서 12시간동안 RNA를 응축시켰다. 14,000 rpm으로 10분 동안 4°C에서 원심분리한 뒤 상층액을 제거하고, 200  $\mu$ L DEPC-EtOH을 첨가하여 원심분리를 실시한 후 상층액을 완전 제거하였다. 20  $\mu$ L DEPC-DW를 첨가하여 55°C에서 5분 동안 가온한 뒤 RNA 농도를 측정하였다. RNA 농도는 micro-plate spectrophotometer(Epoch, model Take 3; BioTek Inc., winooski, VT, USA)를 이용하여 260 nm에서 측정하였다. 정량분석을 통해 mRNA로부터 cDNA를 합성한 후 7300 Real-time PCR System(Applied Biosystems, Foster, CA, USA)기기를 이용하여 Real Time-PCR을 수행하였다. Oligonucleotide primer의 sequences를 Table I에 나타내었다. 각 정유의 상대적 발현량 값은 RQ software(version 1.3, Applied Biosystems)를 이용하여 분석하였다.

**$\beta$ -Hexosaminidase 분비량 분석** - RBL-2H3 비만세포에서 편백 목부 정유에 의한  $\beta$ -hexosaminidase의 분비량 변화를 분석하기 위하여 96-well plate에 well당  $2 \times 10^5$  cells을 분배한 후 DNP-specific IgE(800 ng/mL, Sigma, 미국)로 자극하였다. 배지 제거 후 Tyrodes' assay buffer[119 mM NaCl, 4.74 mM KCl, 2.5 mM CaCl<sub>2</sub>, 1.19 mM MgSO<sub>4</sub>, 10 mM HEPES, 5 mM glucose, 0.1%(w/v) BSA, pH 7.3]로 2회 세척하였으며, 편백 목부 정유와 DNP-BSA를 1시간 처리하였다. 그 후 상층액 50  $\mu$ L를 tube에 옮기고 200  $\mu$ L의 1 mM P-nitrophenyl-N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminide와 섞어준 뒤 37°C에서 1시간 배양하였다. 반응 종결을 위하여 0.05 M sodium bicarbonate buffer를 넣어준 후 405 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

**Table I.** Oligonucleotide sequences for quantitative real-time polymerase chain reaction

Gene	Primer sequence (5'-3')
IL-4	F : tgatgtacctccgtgctga
	R : aggacatggaagtcaggac
IL-13	F : ctggaatccctgaccaacat
	R : ccatagcggaaaagtgtctt
$\beta$ -actin	F : ttctacaatgagctgcgtgtg
	R : accagaggcatcacaggaca

F, forward; R, reverse

## 결과 및 고찰

**정유의 화학적 조성** - GC-MS 분석에 의한 편백 목부 정유의 성분분석 결과는 Table II와 같다. 편백 목부 정유에서 주요물질로 약 35종의 휘발성 성분들이 검출되었으며, 그 중 monoterpene류가 12종, sesquiterpene류가 21종, 그 외 성분 2종이 포함되었다.

**Table II.** Chemical composition of the essential oil of *C. obtusa* wood

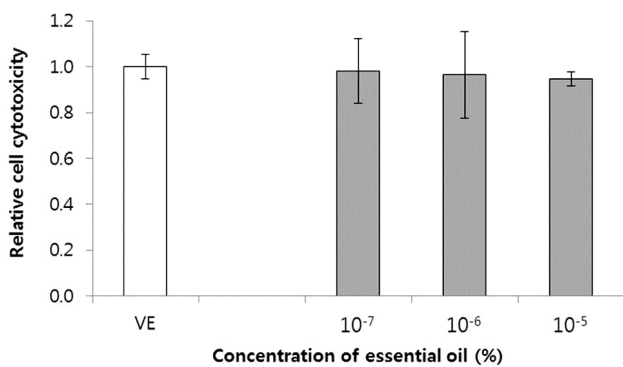
RT	Constituents	Area %
13.68	$\alpha$ -Pinene	11.37
14.56	Camphene	0.03
16.15	1-Heptanol	3.25
16.34	$\beta$ -Pinene	0.07
19.87	D-Limonene	0.81
24.04	$\alpha$ -Terpinolene	0.07
25.63	D-Fenchyl alcohol	0.23
29.20	1-Borneol	0.89
30.07	Terpinen-4-ol	0.44
30.99	Terpineol	2.46
31.45	Myrtenol	0.02
37.39	Bornyl acetate	0.34
41.54	Terpinenyl acetate	0.89
43.16	$\alpha$ -Copaene	0.11
44.21	$\beta$ -Elemene	0.86
45.80	trans-Caryophyllene	0.15
46.37	Methyl undecanoate	4.85
47.87	Humulene	0.30
48.48	Germacrene-D	0.06
49.15	$\beta$ -Cadinene	0.12
49.34	$\gamma$ -Muuroleone	1.99
49.85	$\beta$ -Eudesmene	0.58
50.41	$\alpha$ -Selinene	0.42
50.78	$\alpha$ -Muuroleone	2.87
51.55	Cadinene	5.37
52.15	$\delta$ -Cadinene	8.96
52.60	Cadine-1,4-diene	0.09
52.87	$\alpha$ -Cadinene	0.69
53.12	$\alpha$ -Calacorene	0.38
54.23	(E)-Nerolidol	0.64
56.23	Cubenol	1.14
56.72	1-epi-Cubenol	2.06
57.25	$\tau$ -Muurolol	22.15
57.38	$\delta$ -Cadinol	3.62
57.69	$\alpha$ -Cadinol	20.83

정유 성분 중에서 monoterpene류, sesquiterpene류가 차지하는 비율은 각각 17.8%, 74.1%이었다. 검출된 휘발성 성분들 중 sesquiterpene류인  $\tau$ -muurolol 22.15%의 비율이 가장 높았으며, 그 다음 순으로  $\alpha$ -cadinol 20.83%,  $\alpha$ -pinene 11.37%,  $\delta$ -cadinene 8.96%, cadinene 5.37% 이었다. 본 연구 결과에서는 muurolol,  $\alpha$ -cadinol,  $\delta$ -cadinene과 같은 sesquiterpene류가 높은 비율을 차지하고 있다. Sesquiterpene류는 monoterpene류보다 구조가 다양하고 항진균과 항진통 등 다양한 생리활성에 효과가 있는 것으로 보고되고 있다. 대표적으로 편백 목부 정유의 주성분으로 검출된  $\alpha$ -cadinol과  $\tau$ -muurolol은 항진드기 효과 등의 생리활성이 보고된 물질이다.<sup>24,25)</sup>

증류법에 의해 추출된 편백 잎 정유는 sabinene(12.4%), limonene(8.94%),  $\alpha$ -terpinyl acetate(10.77%)의 monoterpene류와 sesquiterpene류인 elemol(13.64%)이 주요 성분으로 확인되었다.<sup>26)</sup> 본 연구에서 확인한 편백 목부 정유 성분과는 차이를 보였다. 또한 대만산 편백(*Chamaecyparis obtusa* f. *formosana*) 목부의 정유 성분은  $\alpha$ -terpineol(19.4%),  $\tau$ -muurolol(16.9%), borneol(16.0%)과  $\alpha$ -cadinol(10.9%)이 주요 성분으로 보고되었다.<sup>27)</sup> 본 연구에 사용된 국산 편백 목부 정유의 주성분은  $\tau$ -muurolol(22.2%),  $\alpha$ -cadinol(20.8%),  $\alpha$ -pinene(11.4%),  $\delta$ -cadiene(9.0%), cadinene(5.4%)으로 대만산 편백 목부 정유의 주요 구성 성분과 유사하나 함유율에는 차이를 보였다.

**세포 독성 평가** - 편백 목부 정유의 RBL-2H3 세포 생존 및 증식에 미치는 영향을 알아보기 위해 목부 정유를  $10^{-7}$ ~ $10^{-5}$ % 농도로 처리하여 세포 독성을 평가하였다. 세포 독성평가 결과는 Fig. 1과 같다.

정상군(VE)과  $10^{-7}$ ~ $10^{-5}$ % 농도의 편백 목부 정유에서의 세포 생존율이 유사하였다. 정상군에서의 세포 생존율은 100%였으며, 편백 목부 정유의 경우  $10^{-5}$ % 농도에서 생존



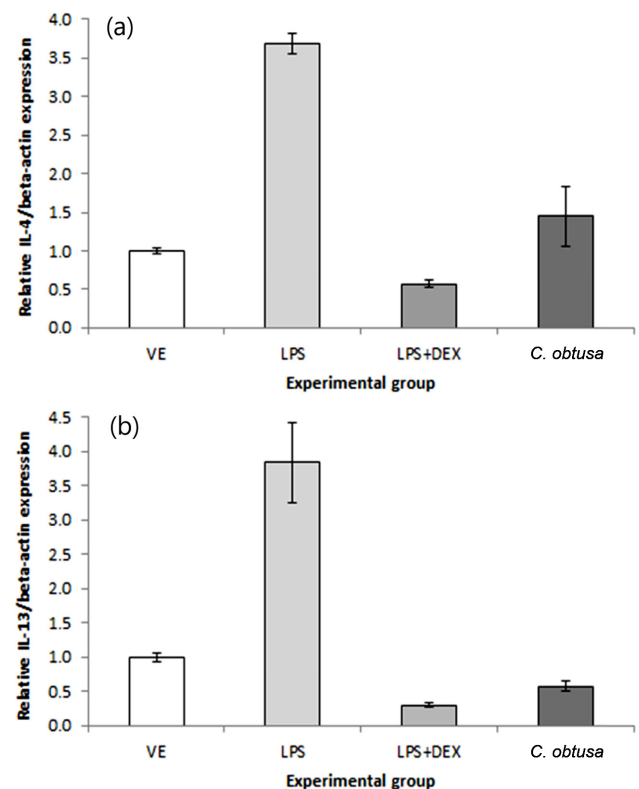
**Fig. 1.** Effects of *C. obtusa* wood oil on the viability of RBL-2H3 cells. Group: VE (vehicle), the  $10^{-7}$ ~ $10^{-5}$ % concentration of *C. obtusa* wood oil. Values are expressed as the mean±standard deviation.

율 90%,  $10^{-6}$ %일 때 100%,  $10^{-7}$ %일 때 100% 생존율을 보였다. 이렇듯 편백 목부 정유는 정상군과 비교하였을 때  $10^{-7}$ ~ $10^{-5}$ % 농도에서 세포 독성을 보이지 않는 것을 확인하였다.

이러한 결과를 바탕으로 편백 목부 정유의 항염증 효과를 확인하기 위해  $10^{-7}$ % 농도로 실험을 진행하였다.

**IL-4와 IL-13 유전자 발현에 미치는 영향** - 비만세포에서 분비되는 싸이토카인 중 IL-4와 IL-13은 알러지 반응의 전형적인 표시인자로 알려져 있어, 편백 목부 정유 처리에 의한 IL-4, IL-13의 발현 변화를 조사하였다. 정상군(VE)과 염증 유발군(LPS), 염증 유발 후 스테로이드성 항염증제로 알려진 dexamethasone(DEX) 처리군(LPS+DEX), 염증 유발 후 편백 목부 정유 처리군(*C. obtusa*)으로 나누어 진행하였다. 시험군별 IL-4와 IL-13 유전자의 상대적 발현량을 조사한 결과는 Fig. 2에 나타내었다.

Fig. 2(a)의 결과를 보면 비만세포에 염증을 유발하는 LPS를 처리하자 정상군(VE)에 비해 IL-4의 상대적 발현량이 약 3.7배 증가하였다. 염증치료제인 dexamethasone 처리군(LPS+DEX)은 IL-4의 상대적 발현량이 염증유발군(LPS) 대



**Fig. 2.** Pro-inflammatory cytokine mRNA expression on RBL-2H3 cells treated with *C. obtusa* wood oil. (a) IL-4 relative expression, (b) IL-13 relative expression. Group: VE (vehicle), negative control (LPS), positive control (LPS+DEX), treatment of *C. obtusa*. Values are expressed as the mean±standard deviation.

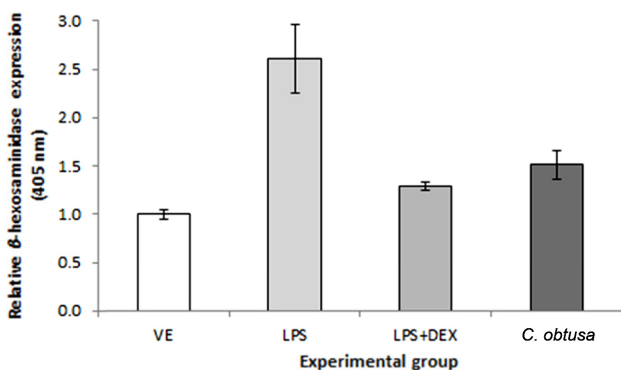
비 약 84.5% 감소하였으며, 편백 목부 정유 처리군의 IL-4 발현량은 염증유발군 대비 약 60.8% 감소하였다.

염증반응 조절인자인 IL-13의 상대적 발현량을 비교한 Fig. 2(b)의 결과를 보면 염증 유발인자인 LPS를 처리하자 IL-13 상대적 발현량이 정상군(VE)에 비해 약 3.8배 증가하였다. 이와 대조적으로 염증유발 후 항염증제인 dexamethasone과 편백 목부 정유를 처리하자 상대적 발현량이 큰 폭으로 감소하였다. Dexamethasone(LPS+DEX)과 편백 목부 정유 처리시 IL-13의 상대적 발현량은 염증유발군(LPS) 대비 각각 92.1%, 85.1% 감소하였다. 편백 목부 정유는 dexamethasone과 유사하게 IL-13의 발현을 억제함으로써 높은 항염증 활성을 보였다.

Yang *et al.*(2015)은 DNCB(2,4-dinitrochlorobenzene)로 염증반응을 유발한 비만세포에 편백 잎 정유에 함유된 elemol을 처리한 후 IL-4와 IL-13의 상대적 발현량을 조사하였다.<sup>28)</sup> 그 결과, IL-4와 IL-13의 상대적 발현량이 음성 대조군 대비 각각 약 48.8%, 54.4% 정도의 감소를 보였다. 이러한 결과는 편백 목부 정유가 염증반응 유발 비만세포내의 IL-4와 IL-13 발현량을 억제하는 것보다도 더 낮은 수치이다. 따라서 편백 목부 정유는 편백 잎 정유 보다 더 높은 항염증 효과가 있을 것이라 판단된다.

**$\beta$ -Hexosaminidase 분비에 미치는 영향** -  $\beta$ -Hexosaminidase는 호염구나 비만세포의 히스타민이 저장된 과립 안에 존재하며 알러지 반응에 의해 세포 밖으로 분비되므로 탈과립의 지표로 이용되고 있다.<sup>29)</sup> 본 연구에서는 편백 목부 정유의 항염증 효과를 평가하기 위해 탈과립의 지표인  $\beta$ -hexosaminidase의 분비량을 측정하였다. 그 결과는 Fig. 3과 같다.

염증 유발인자인 LPS를 처리한 대조군은 탈과립이 촉진되어  $\beta$ -hexosaminidase 분비가 정상군에 비해 2.6배 증가하였고, 편백 목부 정유 처리군에서는 dexamethasone과 마찬가지로



**Fig. 3.** Inhibitory effects of *C. obtusa* wood oil on the release of  $\beta$ -hexosaminidase. Group: VE (vehicle), negative control (LPS), positive control (LPS+DEX), treatment of *C. obtusa*. Values are expressed as the mean±standard deviation.

가지로  $\beta$ -hexosaminidase 분비가 감소하였다. Dexamethasone (LPS+DEX)을 처리하였을 때 발현량이 약 50.8% 감소하였고, 유사하게 편백 목부 정유 처리군도  $\beta$ -hexosaminidase 분비가 약 42.3% 감소하였다. 편백 목부 정유에서 항염증제인 dexamethasone과 유사한 수치를 보이며 항염증 활성을 보이는 것을 확인하였다.

Choi *et al.*(2006)에 의하면 편백 잎 정유와 정유 분획물을 IgE가 감작된 비만세포에 처리하여  $\beta$ -hexosaminidase 분비가 감소함으로써 알러지 억제 효과가 있음을 제시하였다.<sup>30)</sup> 편백 잎 정유 처리군에서 대조군 대비  $\beta$ -hexosaminidase 분비량이 12.5% 감소하였고, 주요 성분을 구명하기 위해 잎 정유를 분획하여 RBL-2H3 비만세포주에 처리하였다. 그 결과  $\alpha$ -cedrol,  $\gamma$ -eudesml, elemol 성분이  $\beta$ -hexosaminidase 분비량을 약 40~60% 감소시키는 것을 확인하였다. 본 연구 결과와 비교하였을 때 편백 잎 정유보다 편백 목부 정유가  $\beta$ -hexosaminidase 분비량을 감소시키는데 더 효과적이지만 편백 잎 정유의 주요 성분인 elemol에 비해서는 그 효과가 낮았다.

이러한 편백 목부 정유의 항염증 효과는 목부 정유 내 주요 성분 에 의한 것으로 사료된다. 따라서 추후 편백 목부 정유 성분 중 항염증 효과를 보이는 활성성분을 구명할 필요가 있다.

## 결론

편백 목재의 사용이 늘고 기능성이 중요시되면서 편백 목부 정유에 대한 관심이 높아지고 있다. 그러나 편백 목부 정유의 기능성 등 관심을 충족시킬 수 있는 과학적 근거들이 부족한 실정이다. 지금까지 알려진 편백 정유의 다양한 효능들은 주로 잎에서 추출한 정유를 대상으로 한 연구들이다. 추출물의 경우 채취 부위에 따라 서로 성분 차이를 보이는 것으로 알려져 있어 편백 잎 정유의 효능을 편백 목부 정유의 효능으로 제시하기는 어렵다. 따라서, 본 연구에서는 편백 목부 정유의 효과를 구명하고자 편백 목부 정유의 성분 분석 및 알러지성 염증 개선효과를 분석하였다.

증류법(hydrodistillation)을 이용하여 추출한 편백 목부 정유를 GC-MS로 성분 분석한 결과, 주요물질로  $\alpha$ -pinene(11.4%), cadinene(5.4%),  $\delta$ -cadiene(9.0%),  $\tau$ -muurolol(22.2%),  $\alpha$ -cadinol(20.8%) 등이 검출되었다. 편백 목부 정유의 알러지성 염증 개선효과를 확인하고자 먼저 MTT assay를 통해 세포독성을 평가하였다. 편백 목부 정유는  $10^{-5}$ ~ $10^{-7}$ % 농도에서 비만세포(RBL-2H3)에 세포 독성을 보이지 않았다. 이를 바탕으로 LPS 처리된 RBL-2H3 세포에  $10^{-7}$ % 농도로 정유를 처리하였을 때, 염증 관련 사이토카인인 IL-4, IL-13의 발현 변화와  $\beta$ -hexosaminidase의 분비량을 측정하였다. 편백 목부 정유는 LPS에 의해 자극된 IL-4와 IL-13의 발현

을 감소시켰고,  $\beta$ -hexosaminidase의 분비를 유의하게 억제하는 것으로 나타나 편백 목부 정유는 급성 알러지 반응을 억제하는 효과가 있는 것으로 보인다.

결론적으로 편백 목부 정유가 염증 치료제인 dexamethasone와 비슷한 수치로 알러지성 염증효과를 보임을 확인하였으며 염증관련 질환의 예방 및 개선에 유용할 것이라 생각된다. 또한, 이를 통해 편백 목부 정유의 활용성에 대한 이해가 넓어지고 연구가 활성화 되는데 중요한 기초자료로 활용될 것이라 판단된다.

### 인용문헌

- Hong, C. U., Kim, C. S., Kim, N. G. and Kim, Y. H. (2001) Composition of essential oils from the leaves and the fruits of *Chamaecyparis obtusa* and *Chamaecyparis pistifera*. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **44**: 116-121.
- Kim, K. H., Kim, B. C., Shin, C. G., Jeong, S. I., Kim, H. J. and Ju, Y. S. (2004) Susceptibility of oral bacteria to essential oil of *Artemisia capillaris* Thunb. *J. Korean Orient. Med. Soc.* **25**: 121-128.
- Park, M. J., Lee, S. M., Gwak, K. S., Jeung, E. B., Chang, J. W. and Choi, I. G. (2005) Investigation of active antifungal compounds of essential oil from *Chamaecyparis obtusa* against dermatophytes, *Microsporum canis* and *Trichophyton mentagrophytes*. *J. Korean Wood Sci. Technol.* **33**: 72-78.
- Lee, S. S., Kang, H. Y. and Choi, I. G. (2002) Studies on biological activities of woody essential oils (I). *J. Korean Wood Sci. Technol.* **30**: 48-55.
- Park, Y., Jung, S. M., Yoo, S. A., Kim, W. U., Cho, C. S., Park, B. J., Woo, J. M. and Yoon, C. H. (2015) Antinociceptive and anti-inflammatory effects of essential oil extracted from *Chamaecyparis obtusa* in mice. *Int. Immunopharmacol.* **29**: 320-325.
- Park, M. J., Choi, W. S., Min, B. C., Kim, H. Y., Kang, H. Y. and Choi, I. G. (2008) Antioxidant activities of essential oils from *Chamaecyparis obtusa*. *J. Korean Wood Sci. Technol.* **36**: 159-167.
- Koyama, S., Tanaka, S., Yamaguchi, Y. and Motoyoshya, J. (1997) Apoptosis-like (Possible Quantum Thermodynamic) cell death induced by Yoshixol and wood oil of *Chamaecyparis obtusa* (Kiso-Hinoki) on HeLa cell. *Gen. Pharmacol.* **28**: 805-811.
- Mishra, A. K. and Dubey N. K. (1994) Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**: 1101-1105.
- Price, S., L. Price, and S. Pe'noel D. (1995) *Aromatherapy for health professionals* 1<sup>st</sup> ed, 133-167, Chrchill Livingstone, New York.
- Lim, G. S., Kim, R., Cho, H., Moon, Y. S. and Choi, C. N. (2013) Comparison of volatile compounds of *Chamaecyparis obtusa* essential oil and its application on the improvement of atopic dermatitis. *KSBB. J.* **28**: 115-122.
- Kim, H. G., Lee, J. H., Park, S. J., Kim, J. Y., Kim, B. H. and Park, D. I. (2008) Anti-allergic effect of Bopyeoyangyeong-jun. *Korean. J. Orient. Physiol. Pathol.* **22**: 660-665.
- Kim, H. S., Park, J. H., Kim, H. K., Kim, J. H., Lee, B., Min, J. H., Kim, E. Y., Jung, H. S., Lee, H. S. and Sohn, Y. J. (2014) Effects of ethanol extract of *Liriope platyphylla* on allergic inflammation. *J. Physiol. & Pathol. Korean. Med.* **28**: 512-519.
- Lee, J. H., Kim, H. G., Shin, W. J., Kim, J. Y. and Park, D. I. (2009) Anti-allergic effect of Bopyeoyangyeong-jun to cytokines and transcription. *Korean. J. Orient. Physiol. Pathol.* **23**: 127-134.
- Brown, J. M., Wilson, T. M. and Metcalfe, D. D. (2008) The mast cell and allergic diseases: role in pathogenesis and implications for therapy. *Clin. Exp. Allergy* **38**: 4-18.
- Parham, P. (2011) *Immunology*, 351-352, Life Science, Seoul.
- Kim, Y. (2005) *Basic Pathology*, 138-140, 438-439, Hyunmoonsa, Seoul.
- Hack, C. E., Aarden, L. A. and Thus, L. G. (1997) Role of cytokines in Sepsis. *Adv. Immunol.* **66**: 101-195.
- Georas, S. N., Guo, J., Fanis, D. and Casolaro, V. (2005) T-helper cell type-2 regulation in allergic disease. *Eur. Respir. J.* **26**: 1119-1137.
- Sohn, E. H., Jang, S. A., Joo, H., Park, S., Kang, S. C., Lee, C. H. and Kim, S. Y. (2011) Anti-allergic and anti-inflammatory effects of butanol extract from *Arctium lappa* L. *Clin. Mol. Allergy* **9**: 1-11.
- Boguniewicz, M. and Leung, D. Y. (2011) Atopic dermatitis: a disease of altered skin barrier and immune dysregulation. *Immunol. Rev.* **242**: 233-246.
- Toru, H., Pawankar, R., Ra, C., Yata, J. and Nakahata, T. (1998) Human mast cells produce IL-13 by high-affinity IgE receptor cross-linking: enhanced IL-13 production by IL-4-primed human mast cells. *J. Allergy Clin. Immunol.* **102**: 491-502.
- Metz, M., Grimbaldston, M. A., Nakae, S., Piliponsky, A. M., Tsai, M. and Galli, S. J. (2007) Mast cells in the promotion and limitation of chronic inflammation. *Immunol. Rev.* **217**: 304-328.
- Kim, S. H., Park, H. H., Lee, S., Jun, C. D., Choi, B. J., Kim, S. Y., Kim, S. H., Kim, D. K., Park, J. S., Chae, B. S. and Shin, T. Y. (2005) The anti-anaphylactic effect of the gall of *Rhus javanica* is mediated through inhibition of histamine release and inflammatory cytokine secretion. *Int. Immunopharmacol.* **5**: 1820-1829.
- Sode, K., Karube, I., Araki, R. and Mikami, Y. (1989) Microbial conversion of  $\beta$ -ionone by immobilized *Aspergillus niger* in the presence of an organic solvent. *Biotechnol. Bioeng.* **33**: 1191-1195.

25. Chang, S. T., Chen, P. F., Wang, S. Y. and Wu, H. H. (2001) Antimite activity of essential oils and their constituents from *Taiwania cryptomerioides*. *J. Med. Entomol.* **38**: 455-457.
26. Kim, J. W., Choi, W. S., Lee, S. S. and Park, M. J. (2015) Comparative study on the composition of essential oil by supercritical carbon dioxide extraction and hydro-distillation from *Chamaecyparis obtusa* leaves. *J. Korean Wood Sci. Technol.* **43**: 494-503.
27. Chien, T. C., Lo, S. F. and Ho, C. L. (2014) Chemical composition and anti-inflammatory activity of *Chamaecyparis obtusa* f. *formosana* wood essential oil from Taiwan. *Nat. Prod. Commun.* **9**: 723-726.
28. Yang, H., Jung, E. M., Ahn, C., Lee, G. S., Lee, S. Y., Kim, S. H., Choi, I. G., Park, M. J., Lee, S. S., Choi, D. H. and Jeung, E. B. (2015) Elemol from *Chamaecyparis obtusa* ameliorates 2, 4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis. *Int. J. Mol. Med.* **36**: 463-472.
29. Macdonald, A. J., Haig, D. M., Bazin, H., Mcguigan, A. C., Moqbel R. and Miller H. R. P. (1989) IgE-mediated release of rat mast cell protease II,  $\beta$ -hexosaminidase and leukotriene C<sub>4</sub> from cultured bone marrow-derived rat mast cells. *Immunology* **67**: 414-418.
30. Choi, I., Kim, K., Kim, Y., Park, M. J., Lee, Y. S. and Jeung, D. (2006) Fractions of *Chamaecyparis obtusa* display anti-allergic effect in RBL-2H3 cells. *J. Microbiol. Biotechnol.* **16**: 1747-1752.
- (2016. 11. 19 접수; 2016. 12. 15 심사; 2017. 2. 6 게재확정)