

## 벗나무 추출물의 OVA 유도 천식동물모델에서 항염증 효능

김 명 규\* · †강 순 아\*\*,\*\*

호서대학교 벤처대학원 융합공학과 박사과정, \*호서대학교 보건산업연구소 연구원,  
\*\*호서대학교 벤처대학원 융합공학과 교수, \*\*\*호서대학교 보건산업연구소 소장

### Ant-Inflammatory Effect of *Prunus serrulata* var. *spontanea* Extract in OVA-Induced Asthma Animal Model

Myung Kyu Kim\* and †Soon Ah Kang\*\*,\*\*

Ph.D. Student, Dept. of Convergence Technology, Graduate School of Venture, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

\*Researcher, Institute of Health Industry, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

\*\*Professor, Dept. of Convergence Technology, Graduate School of Venture, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

\*\*\*Director, Institute of Health Industry, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

#### Abstract

The objective of this study was to determine the efficacy of a natural product of cherry tree (*Prunus serrulata* var. *spontanea*: PS) as a test substance for improving cytokine and ovalbumin-specific IgE using an ovalbumin-induced asthma disease model of 5-week-old male BALB/c mice. Lung tissue pathology was analyzed to confirm anti-inflammatory and asthmatic effects. As a result of examining the effect on changes in inflammatory cells in bronchoalveolar lavage fluid in an ovalbumin-induced asthma disease model by administering the PS sample, total cells, eosinophil, neutrophil, lymphocyte, and monocytes were significantly decreased. Concentrations of cytokine-based TNF-alpha and IL-4 and immunoglobulin E in serum were significantly increased in the asthma-inducing negative control group than in the normal group. However, high concentrations of PS decreased them. In histopathological examination of the lung tissue, it was confirmed that inflammatory cells infiltrated around the alveoli and bronchioles were increased in ovalbumin-induced asthma disease model. After administration of cherry tree extract, bronchiolar morphological changes such as mucosal thickening were slightly improved. From the above results, it was confirmed that extract of cherry tree significantly reduced inflammation expression and tissue damage in alveolar tissues. It was also confirmed that the cherry tree extract had an excellent efficacy in improving asthma inflammation.

Key words: *Prunus serrulata* var. *spontanea*, ovalbumin-induced asthma disease model, anti-inflammatory effect

#### 서 론

산업화, 도시화 등 환경변화에 따른 대기오염 문제가 확산되고 있으며, 미세먼지 이슈 등과 함께 호흡기 질환 발병의 원인으로 국민들의 우려의 목소리가 높아지고 있다(Kim BH 2019). 천식은 “만성기도염증을 특징으로 다양한 임상 양상을 보이는 질환이다. 가변적인 호기 기류제한과 함께 시간에 따라 증증도가 변하는 호흡기 증상(천명, 호흡곤란, 가슴답

답함, 기침 등)의 병력이 있는 것”으로 정의된다(Asthma Treatment Guideline Revision Committee 2022).

OECD에서 발표한 우리나라 천식 사망률은 2019년 기준 2.2명(10만 명당)으로 비OECD 국가와 대비하여 낮은 수준이나, OECD 국가들 중 의료수준이 비슷한 국가와 비교하면 여전히 높은 수준이다(Asthma Treatment Guideline Revision Committee 2022). 연령대 별 유병률은 상이한 편으로, 세부적으로는 50대부터 높아지는 구조로 70대 이상 고령층에서 6~

† Corresponding author: Soon Ah Kang, Professor, Dept. of Convergence Technology, Graduate School of Venture, Hoseo University, Seoul 06724, Korea. Tel: +82-2-2059-2353, Fax: +82-2-2059-1405, E-mail: sakang@hoseo.edu

8%를 보이고 있다(KAAACI 2021). 이에 따라 2025년 초고령 사회에 도달할 것으로 예측되는 우리나라의 유병률은 더욱 높아질 것으로 예상된다.

천식을 유발하는 인자는 유전적 인자와 환경적 인자로 구분된다(Baek K 2020). 유전적 인자는 알레르기 특이 immunoglobulin (IgE) 항체, 염증매체(cytokines, chemokines 등), T 림프구면역 반응, 호산구, 성별, 가족력, 비만 등이며, 환경적 인자는 집 먼지진드기, 대기오염, 감염, 음식, 흡연 등이 이에 속한다(Kraft M 2006; Lee 등 2009; Yoo H 2015; Chung M 2016). 천식은 다양한 특징을 지니고 있어 하나의 정의나 진단이 어려운 경우가 존재한다. 임상적으로는 만성 호흡기 증상과 더불어 급성 악화가 특징이며, 생리학적으로는 기도폐쇄와 기도 과민성 등으로 기류 장애가 나타나고, 병리학적으로는 호산구 구성 염증 반응과 관련된 만성적 기도염증이 가장 큰 특징이며, 심한 경우 기도개형(airway remodeling)으로 기도의 구조 변화가 발생된다(Slade & Kraft 2006; Yoo H 2015).

천식 치료는 천식의 발생 원인이 되는 항원을 방어하는 것이 가장 이상적이거나, 실제로는 거의 불가능하여 약물 치료를 중심으로 활용되고 있다(Jung JK 2017, Han JH 2019). 천식 치료과정이 복잡하고 완치가 어려우며, 급성악화가 오게 되면 응급실 입원상황이 발생하는 등 높은 비용을 부담해야 하고 사망률 또한 높아질 수 있다(Kim SH 2012; Park JE 2022). 가장 보편적 조절제인 흡입스테로이드는 증상 완화 등 다양한 효과를 나타내는 항염증 약제(Han JH 2019)이나, 천식을 완치시키지 못한 한계가 존재한다. 또한, 현재까지 많이 사용되는 항염증 약제는 스테로이드 치료제로 다양한 위험과 부작용을 동반하고 있어, 부작용이 없는 비스테로이드 성분의 치료제가 필요하다. 이러한 생체 내에서의 부작용을 저감하고 안정성 증대를 위해, 최근에는 천연물인 식물 등으로부터 추출한 성분을 활용한 천연물 기반 항염증 치료제 개발이 나타나고 있다(Newman 등 2000; Choi OB 2002; Koch & Waldmann 2005; Kim YS 2021).

벚나무 속 식물들은 진정작용, 항염증, 항고지혈증 활성 등과 같은 생리활성에 대한 특성을 지니고 있어 민간요법에 활용되어 왔다(Choi 등 2013; Kim 등 2016; Hong HJ 2019; Hong 등 2019). 벚나무속(*Prunus*)은 장미과(*Rosaceae*), 앵두나무아과(*Prunoideae*)에 속하는 식물로, 북반구 온대지방에 분포하며(Jung HA 2003), 우리나라 전국에는 20여종이 자생하고 있다(Jung YH 1998). 벚나무 열매로 불리는 앵두는 심장마비, 부종, 유선염, 치통 등을 치료하는 목적으로 활용되었다(Hong HJ 2019). 또한, 왕벚나무(*Prunus yedoensis*)는 염증질환이나 피부 관련 질환에 이용되며, 수피와 함께 화피(樺皮) 또는 앵피(櫻皮)라는 생약재로 알려져 있다(Yang SA 2013). 산벚나무(*Prunus sargentii*)의 경우 껍질인 화피의 우

수한 항염증 효과가 보고되고 있는 등(Jung HA 2003), 벚나무 속 식물들의 천연물로서의 유효성분에 대한 연구가 활발히 나타나고 있다. *Prunus cerasoides*는 요통, 염증 및 상처 치유를 위한 전통 의학으로 사용되어 왔으며(Manandhar NP 2002), 테르페노이드, 플라보노이드 및 페놀 등 생체 활성을 분석하였다(Bahuguna 등 1987; Poonam 등 2011; Fatima 등 2013; Jangwan & Kumar 2015). 또한 Kim 등(2020)의 연구에 의하면 벚나무 추출물의 생물활성 성분은 에스트로겐 활성을 갖는 것으로 관찰되었으나 천식효능 연구는 미비하다.

본 연구는 5주령 수컷 BALB/c mice로 ovalbumin 유도 천식질환모델을 형성하여 시험물질인 벚나무(*Prunus serrulata* var. *spontanea*)추출물인 천연물(이하 PS)의 투여로 인한 싸이토키인과 ovalbumin specific IgE 개선 효능을 분석하여 항염증 효과 및 천식 효능을 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시험물질 제조

본 연구에 사용한 식물추출물(KPM027-056)은 한국생명공학연구원(Daejeon, Korea) 한국식물추출물은행으로부터 입수 받은 자생식물인 벚나무 추출물로서 학명은 *Prunus serrulata* Lindl. f. *spontanea* (E. H. Wilson) Chin S. Chang이며 학명은 천연물중앙은행(<https://kobis.re.kr/npcb>) 홈페이지에 등록되어 있다. 장미과의 벚나무의 줄기 수피 부분의 추출물로서 대한민국 경상북도 청도군에서 2005년 채집하였다. 식물체(100 g)를 음건하여 분말화한 것을 methyl alcohol 95%(HPLC급) 1 L에 첨가하여 30 cycle(40 kHz) 초음파 추출기(SDN-900H, SD-ULT RASONIC Co., Ltd)를 사용하여 실온에서 1,500 W, 15분 초음파 처리하면서 주기당 120분 방치하였다. 여과(Qualitative Filter No.100, Hyundai Micro Co., Ltd) 후 감압 건조하여 추출물(6.41g)을 얻었다.

### 2. UPLC-Q-TOF MS를 통한 활성물질 동정

추출물을 원심 분리 후, 상층액을 UPLC-Q-TOF MS로 분석하였다. 대사산물은 UPLC-Q-TOF MS 시스템(Vion, G2-S; Waters, Milford, MA, USA)을 이용하여 분석하였다. 시료를 0.1% 포름산을 함유하는 물로 평형화과정을 거쳐, column 온도 40°C 조건으로 유속 0.35 mL로 용출시키는 acquity UPLC BEH C18 column(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm; Waters)기기에 시료를 주입하였다. 용리제(eluent)는 양성 및 음성 전기 분무 이온화(ESI) 모드를 갖는 Q-TOF MS 시스템 하에서 분석하였다. TOF MS 데이터의 스캔 범위 50~1,500 m/z, 스캔 시간 0.2초, 모세관 및 샘플링 콘 전압 각각 3, 2.5 kV 및 40 V였다. 탈 용매유량은 800 및 900 L/h이며 온도는 400°C이고, 원료 온

도는 100°C였다. Leucine-enkephalin([M + H] = 556.2771, [MH] = 554.2615)은 대사산물의 질량 측정 정확도를 보장하기 위해 유량 0.35  $\mu\text{L}/\text{min}$ 과 10초 주파수로 주입되었고 계측기에 의해 분석되었다. 충돌 에너지 램프(10~30 eV)하에서 MS/MS 스펙트럼을 얻었다. m/z, 체류 시간 및 이온 강도를 포함하는 질량 분석 데이터는 UNIFI version 1.8.2(Waters)를 사용하여 진행하였다.

### 3. 실험동물 사육조건

BALB/c mice 수컷 5주령 40마리를 대상으로 (주)대한바이오링크(Eumseong, Korea)에서 구입하였고 온도조건 22±2°C, 상대습도 조건 50.0±15.0%, 명암주기 12시간(07:00~19:00:명주기), 조도조건 150~300 Lux, 환기 횟수는 시간당 10~20회 등 자동 설정된 SPF(specific pathogen free) 조건 하에 동물 사육실(polysulfone, 331 D×159 W×132 H(mm))을 이용하여 4주간 사육하였다. 실험 전에 동물의 외관 검사를 먼저 실시하면서 체중 측정을 하여 개체식별법에 따라 7일간의 순화 기간을 설정하고 해당 동물실로 이동한 후, 매일 1회 일반 증상을 관찰하였다. 순화기간 종료일에 체중을 전자저울로 측정하고, 체중변화와 일반 증상을 확인한 후 체중증가에 이상이 없는 동물을 선택하여 체중을 균등하게 동물을 배치하였다. 실험동물용 고형사료로 일반동물식이(20% protein, R3+, SAFE Inc., France)를 (주)우정바이오에서 구매하여 급이기에 사료를 넣어서 자유섭취 시켰다. 음용수는 UV 멸균 후 필터로 여과된 정제수를 250 mL polysulfone 음수병에 넣어 자유섭취하게 하였다. 시험물질은 투여용량에 맞게 투여당일에 전자저울로 칭량한 후, 멸균수와 혼합하여 sonication 30분간 한 후 사용하였고 존데(DAZ01, Fuchigami, Japan)를 이용하여 경구투여하였다.

### 4. 난알부민(Ovalbumin) 유도 알레르기성 기관지 천식 동물모델

알레르기성 기관지 천식 동물모델을 유도하기 위하여 0, 14 day에 ovalbumin(20  $\mu\text{g}$  OVA(Sigma, A6075) )/1 mg aluminum hydroxide(Sigma, 239186)를 200  $\mu\text{L}/\text{head}/\text{PBS}(\text{pH}7.4)$  용량으로 복강 주사를 하였다. 15일차부터 23일차까지 시험물질(HS)을 100, 200, 300 mg/kg을 각각 경구투여 하였다. 투여액은 10 mL/kg으로, 개체별 투여용량은 최근 측정된 체중을 기준으로 산출하였고, 투여 전 시험물질을 균 설정일부터 최종 투여일까지 2차 유도물질투여 후 15일차부터 9회(3차 유도물질투여일 21, 22, 23일차) 경구 투여를 실시하였다(Jung JK 2017; Natural Medicine Research Center 2018; Han JH 2019). 본 시험의 개시용량은 시험약물 저, 중, 고농도로 100 mg/kg, 200 mg/kg, 300 mg/kg으로 설정하였다. 용량 결정은

Kim 등(2020)의 연구에 의하면 *Prunus cerasoides* 즉 벚나무 추출물은 상대적으로 높은 수준의 플라본과 이소플라본을 함유하고 있어서 100~300 mg/kg 용량 범위에서 실험을 하였고 강력한 에스트로겐 활성효과를 분석하였는데 250 mg/kg의 용량에서 유의성이 있는 결과를 보임으로써 이 연구의 결과를 참고하였다. 2~3일간의 독성증상 관찰 및 사망유무 관찰하며 다음의 용량에 따라 시험물질을 투여하였다. 이때 대조군은 생리식염수를 동량으로 복강 내에 주사하였다. 마지막 복강 내 주사를 하고 7일 후 실험쥐를 50×15×50 cm 크기로 된 상자 안에 넣고 분사기 Nebulizer(0.15 mL/min)로 15분간 간격으로 생리식염수를 3회 5일 간 분사하였다. 21, 22, 23 day에 3% ovalbumin(Sigma, A5503) in PBS를 Ultrasonic Nebulizer(NE-U12, Omron, Japan)로 분무하여 30분간 흡입시킨 후 기도 알리지를 유도하였다. 실험군은 정상식이군(G1), 음성대조군(G2), HS 저농도(100 mg/kg, G3), 중농도(200 mg/kg, G4), 고농도(300 mg/kg, G5)로 총 5개 군으로 구성하였다. 본 실험은 실험동물 관리 및 사용에 적용되어지는 모든 규정을 준수하였으며, 동물보호법(제정 1991년 5월 21일 법률 제 4379호, 일부개정 2020년 2월 11일 법률 제 16977호)에 근거하여 우정유전체연구소 동물실험윤리위원회(IACUC) 회의를 통하여 승인(승인번호: IACUC2204-015)을 받아 진행하였고, 시험의 모든 규정은 우정유전체연구소 실험동물 윤리위원회 내부 규정에 의하여 수행되었다.

### 5. 혈액 및 시료채취

사육 기간 중 실험동물의 식이 섭취량과 일반적 증상 확인은 매일 측정하였고, 체중은 일정한 시간에 7일 주기로 측정하였다. 23일 마지막 ovalbumin 흡입유도 후 24시간이 되기 전에 24일차 오전에 동물들을 희생하였다. Sacrifice를 진행하면서 혈액 채취 후 BALF를 채취하여 neutrophil 등 5종의 변화를 확인하였다. 투여기간 동안 일반적 증상을 관찰하였고, 체중을 주기적으로 측정하였고, 실험기간 종료 시 부검을 실시하였다. 시험기간 종료 후 안와정맥총 채혈을 실시하여 싸이토카인계열 및 IgE level 분석을 위하여 혈청을 분리하였으며, 채혈 후 안락사(경추탈구)를 진행한 후 BALF를 수집 후 주요 장기 폐 조직을 적출하고 개량하였다. 큰엽은 10% 포르말린용액에 고정시킨 후 H&E stain을 실시하였다. 나머지 각 개별 폐조직은 액체 질소에 급속 냉동하여 보관하였다.

### 6. 기관지폐포세척액(Bronchoalveolar lavage fluid) 분리

동물 실험 최종일에 동물을 희생시키기 전에 마우스를 럼퐁(rompun)과 알팍산(alfaxan)을 이용하여 마취시킨 후 기관지 삽입을 위하여 목 부위를 절개한 후 기관지에 카테터를 삽입하였다. 카테터를 통해 생리식염수 1 mL를 주사기를 이

용하여 주입한 후 2회 순환시키면서 BALF를 회수하였다. 회수한 BALF는 4,000 rpm에서 3분간 원심 분리시켜 세포와 상등액을 각각 수거하였다. 상층액은  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 보관하여 150  $\mu\text{L}$  RBC lysis buffer을 넣고 cell을 resuspension한 후 350  $\mu\text{L}$ 의 RPMI1640(10% FBS)을 넣어주는 과정을 2회 한다. 0.4% trypan blue와 cell을 1:1로 혼합 후 hemocytometer에서 현미경으로 세포수를 측정하였다.

### 7. 기관지폐포세척액 내의 염증세포 분석

기관지폐포세척액으로부터 세포를 분리하여, 적혈구 용해 용액(RBC lysis buffer)으로 적혈구를 용해시킨 후 1x PBS로 부유시킨다. 부유 후 cytospin을 이용하여 1,000 rpm에서 10분간 분리한 후 슬라이드 위에 고정시켜서 건조한 후 Diff-Quik 용액으로 염색하였다. 염색되어진 세포는 광학현미경(Leica DM2500)으로 세포의 핵 모양을 관찰하였고, 염색되어진 특징에 따라 대식세포(macrophage), 호산구(eosinophil), 림프구(lymphocyte), 중성구(neutrophil)로 구분하여 각 세포의 수를 측정하였다.

### 8. 혈청 생화학 분석(Biochemistry)

생화학자동분석기(7020, Hitachi, Japan)로 알려진 아미노기전이효소(ALT(GPT), 아스파테이트 아미노기전이효소(AST(GOT)), 혈액요소질소(BUN), 크레아티닌(creatinine), 토탈프로테인(total protein), 알부민(albumin), 락테이트 디하드로게네이스(LDH), 글루코오스(glucose), 토탈빌리루빈(total bilirubin), 알칼린포스파타제(alkaline phosphatase)을 분석하였다.

### 9. 난알부민-특이 IgE 농도 측정

실험동물로부터 분리한 기관지폐포세척액(BALF)과 혈청 내 난알부민-특이 IgE의 양을 OVA-specific IgE Assay ELISA kit(IgE, LOT: ME-22A1, Richmond, USA)로 측정하였고, kit에 정해진 표준용액 정량곡선을 기준으로 농도를 재계산하였다.

### 10. 사이토카인 농도 측정

실험동물로부터 분리한 혈청으로부터 TNF-alpha(BMS60 7-3, LOT:234889-017), IL-4(BMS613HS, LOT:262333-003) 농도를 ELISA kit(Invitrogen, USA)를 이용하여 측정하여 kit 내 표준용액의 정량곡선을 기준으로 농도를 계산하였다.

### 11. 폐 조직의 병리학적 표본 제작, 염색 및 관찰

본 실험동물의 폐 조직 중 오른쪽 조직을 절단하여 10% paraformaldehyde 용액에서 24시간 고정한 다음 파라핀 용액으로 고정하여 블록을 제작하였다. 블록을 microtome으로 폐 조직 내부 세기관지 부위를 중심으로 2~5  $\mu\text{m}$  두께 절편을

만들어서 슬라이드 위에 각각 부착시켰다. 파라핀을 제거하기 위해 xylene, xylene+100% ethanol, 100% ethanol, 95% ethanol, 90% ethanol, 80% ethanol, 증류수 순으로 수화시켰다. 폐 조직의 형태학적 변화를 보기 위하여 H&E(Hematoxylin & Eosin) 염색을 수행하였다. 조직 슬라이드를 hematoxylin 용액으로 약 4분 동안 염색한 후, 증류수로 약 5분 동안 행군 다음 0.3% hydrochloric acid alcohol로 빠른 시간에 탈색시키고 다시 증류수로 행군 후 Eosin에서 약 2분 동안 염색시킨 후 수화의 역순서로 탈수과정을 한 다음 coverslip을 덮은 뒤 synthetic mount media로 고정하였다. 염색된 조직을 광학현미경으로 상피세포층의 손상 정도와 점막하 조직의 충혈, 부종, 선세포의 확장 정도 등을 형태학적 변화 정도로 관찰하였다. 폐 조직 내 세기관지 부위에서 호산구 침윤 정도 및 점액 분비를 측정하고자 PAS(periodic acid solution) 염색을 수행하였다. 염색되어진 조직 슬라이드를 5분간 0.5% PAS에서 산화시킨 후, 증류수로 행군 후 PAS 용액에 15분 동안 담근 후 증류수로 5분간 행군 다음 hematoxylin으로 20초간 빠르게 염색하였다. 그리고 폐 조직의 콜라겐 집적에 의한 섬유화 정도를 관찰하고자 M-T(Masson's trichrome) 염색을 수행하였다. 실험방법은 슬라이드를 Bouin's solution에서  $56^{\circ}\text{C}$  온도를 유지하면서 약 1시간 동안 고정시켰고, 증류수로 약 5분 동안 행군 다음 Weigert's iron hematoxylin working solution으로 5분 동안 염색하였다. 슬라이드를 증류수로 10분 동안 세척한 다음 Biebrich scarlet-acid fuchsin solution으로 10분 동안 염색하였다. 염색 후 증류수로 세척한 다음 phosphomolybdic-phosphotungstic acid solution에서 5분 동안 반응시켰고 바로 aniline blue solution으로 5분간 염색한 후 증류수로 세척하였다. 최종적으로 1% acetic acid solution에서 1분 동안 담가서 반응을 정지시키고 증류수로 5분 동안 세척하였다. 염색된 폐 조직은 광학현미경(Leica DM2500, Leica Co., Wetzlar, Germany) 하에서 염색 정도 및 형태 변화를 관찰하였다.

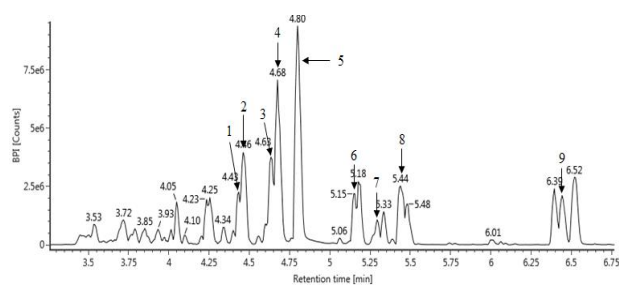
### 12. 통계 분석

실험결과는 평균과 표준오차(SE; standard error)로 표시하였다. 정상군(G1)과 대조군(G2)는 질환이 유도되었는지를 student's *t*-test로 확인하였다. 통계분석 처리는 ANOVA(one-way analysis of variance) 통계처리 한 다음 유의도 검사는 Duncan's multiple range test로 각 군 사이의 유의성을 통계적으로 검증하여 유의성이 있다는 평가는  $p < 0.05$  이하일 때로 하였다. 통계프로그램은 SPSS v18 statistical software package(SPSS Inc., Westlands, Hong Kong)로 모든 실험 결과를 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 추출물의 활성물질 동정

추출물의 활성물질을 UPLC-Q-TOF MS로 분석한 결과는 다음과 같다(Fig. 1, Table 1). 분석결과 주된 물질은 shekanin (tectoridin), methyl luteolin, hispidulin, naringenin-7-methyl ether, sakuranetin, methylapigenin, acacetin(methyl apigenin), genistein, galangin, apigenin, hydroxydaidzein, methylgenistein, galangin, hydroxydaidzein, trihydroxyisoflavone, sulfurein, aloe emodin, lucidin, baicalein, methylapigenin 등이다. Shekanin은 tectoridin으로 불리며 플라보노이드의 일종인 이소플라본이며 tectorigenin의 7-glucoside이며 푸에라리아 튜베리아나(Leguminosae)의 꽃에서 분리되어지는 물질이며 혈당강하활성 및 종양세포주에 대한 시험관 내 세포 독성 활성이 있다고 알려졌다(Bae 등 1999). 또한 산화적 스트레스에 대하여 신경세포 보호 활성 및 전뇌 허혈 모델을 이용한 tectoridin의 뇌 신경 세포 보호 효과도 보고되어졌다(Sohn HA 2006). 이소플라본의 배당체 형태로서의 역할 및 estrogen receptor 기능을 한다고 알려진 물질로서 본 추출물의 생리활성의 가능성을 시사하였다. 또한 주 물질인 methyl luteolin은 플라보노이드로 항아토피성 피부염 효과가 있으며 면역글로불린 E(IgE)와 IL-4의 혈청 수치를 감소시켜 피부 장벽 기능을 개선한 연구결과도 있었다(Kim 등 2022). 또한 주물질인 hispidulin은 저빌실험에서 잠재적인 항간질성 활성을 가진 천연플라본(Lin 등 2012)이며 주로 배암차즈기와 같은 식물체에서 발견되고 전통의학 및 보완의학에서 항산화, 항진균, 항염증, 항돌연변이 특성이 있다고 알려져있다(Patel & Patel 2017). Kim 등(2020)의 연구에 의하면 *Prunus cerasoides* 즉 벗



**Fig. 1. Analysis of major metabolites in *Prunus serrulata* extract by liquid chromatogram.** 1, methyl luteolin/hispidulin; 2, galangin/ hydroxydaidzein/ trihydroxyisoflavone/ sulfurein/ aloe emodin/ lucidin /baicalein; 3, naringenin-7-methyl ether; 4, methylapigenin; 5, methylapigenin/ methylgenistein; 6, sakuranetin; 7, shekanin; 8, genistein/ galangin/ apigenin/ hydroxydaidzein; 9, acacetin (methyl apigenin).

나무 추출물은 상대적으로 높은 수준의 플라본과 이소플라본을 함유하고 있어서 폐경 후 식물성 에스트로겐의 잠재적 공급원이 될 수 있다고 제안하였고 강력한 에스트로겐 활성 효과를 분석하면서 폐경 및 폐경 후의 경우 완화를 해주는 유망한 식물성 에스트로겐 공급원으로 사용할 수 있는 가능성을 보였다. 본 연구의 시료인 벗나무 추출물에 들어있는 활성물질도 이소플라본을 비롯한 플라보노이드 계통이 함유되어있어서 항산화 효과 및 항염증효과에 유의할 것으로 사료된다.

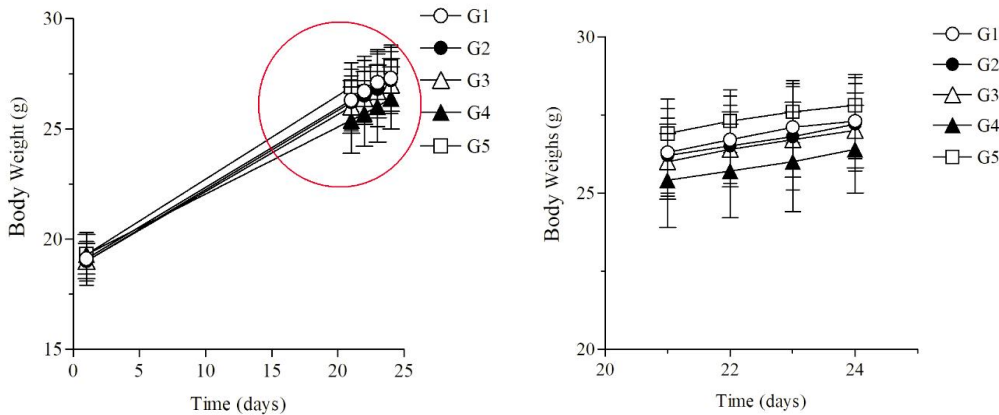
### 2. 일반증상 및 체중, 식이섭취량 변화

모든 실험 군에서 시험시료 투여 전 후와 부검 전까지 특이한 이상증상은 보이지 않았다. 시험 기간 동안 체중과 식

**Table 1. Identification of major metabolites contributing the separation among sample groups in LC/MS**

No.	RT (min)	Component name	Exact mass (Da)	Adducts	Fragments
1	4.39	Methyl luteolin / hispidulin	300.0633	+H	124,147,258,285
2	4.42	Galangin / hydroxydaidzein / Trihydroxyisoflavone / sulfurein / Aloe emodin / lucidin / Baicalein	270.0528	+H	119,153,215
3	4.60	Naringenin-7-methyl ether	286.0841	+H	77,119,147,167
4	4.64	Methylapigenin	284.0684	+H	124,242,270
5	4.77	Methylapigenin / methylgenistein	284.0684	+H	163,242
6	5.15	Sakuranetin	286.0841	+H	19,147,167,269
7	5.26	Shekanin	462.1162	+H	301,343
8	5.45	Genistein / galangin / apigenin / hydroxydaidzein	270.0528	+H	119,147,153
9	6.42	Acacetin (methyl apigenin)	284.0684	+H	160,241,242,270

Note: RT retention time, Exact mass was the mass calculated from a molecular formula using known masses of specific isotopes with the appropriate number of decimal places.

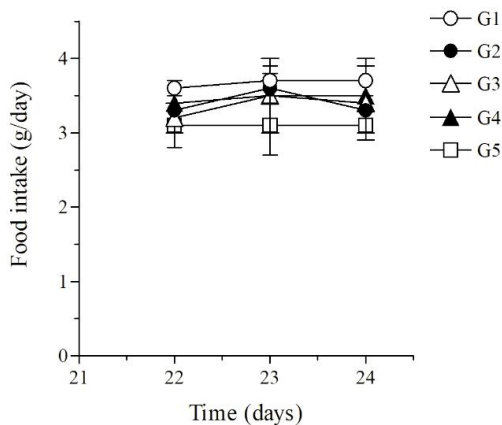


**Fig. 2. Changes of body weight in OVA-induced asthma mice.** G1, normal group; G2, OVA-induced asthma group, G3, Asthma/PS 100 mg/kg; G4, Asthma/PS 200 mg/kg; G5, Asthma/PS 300 mg/kg; PS, *Prunus serrulata* var. *spontanea*.

이섭취량에서도 대조군 대비 시험물질 투여 군에서 유의성 있는 체중변화는 관찰되지 않았다(Fig. 2). 섭취량에 있어서도 전 기간 동안 정상군, 음성 대조군과 시료 실험 군 간에 유의한 차이는 발생하지 않았다(Fig. 3). 육안적인 부검소견 결과 정상, 대조군을 포함한 모든 실험 군에서 주요 장기로의 시험물질 투여로 인한 별다른 이상 병변이 관찰되지 않았다.

**3. 기관지폐포세척액(BALF) 염증세포 측정**

난알부민으로 유도된 알레르기 기관지 천식모델에서 BALF액의 염증세포 침윤현상에 시험물질의 억제효과를 확인하고자 total cells(WBC), eosinophil, neutrophil, lymphocyte, monocyte의 세포수를 측정된 결과는 Fig. 4에서 보여주었다.



**Fig. 3. Changes of food intake in OVA-induced asthma mice.** G1, normal group; G2, OVA-induced asthma group, G3, Asthma/PS 100 mg/kg; G4, Asthma/PS 200 mg/kg; G5, Asthma/PS 300 mg/kg; PS, *Prunus serrulata* var. *spontanea*.

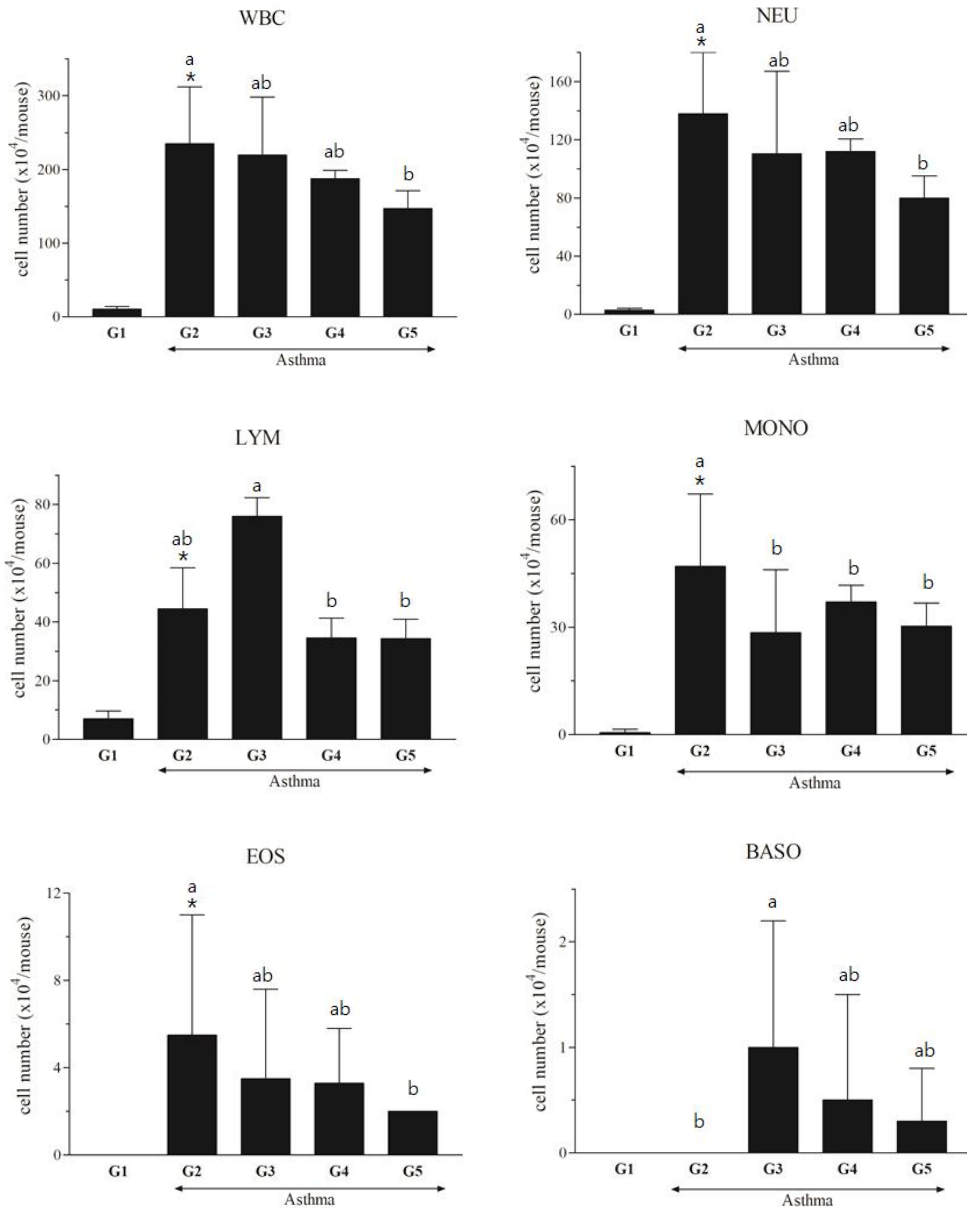
Total cells(WBC)의 경우 기관지 천식 유발된 대조군(G2)에서  $234.8 \pm 77.4 (\times 10^4 \text{ cells})$ 로 정상군(G1)의  $10.5 \pm 3.4 (\times 10^4 \text{ cells})$ 에 비해 통계학적으로 유의적인 증가를 보였다( $p < 0.05$ ). 또한 대조군에 PS를 100 mg/kg(G3)과 200 mg/kg(G4) 용량으로 투여하였을 때 각각  $219.5 \pm 78.5$ 과  $187.3 \pm 11.6 (\times 10^4 \text{ cells})$ 로 대조군에 비해 유의적은 아니지만 농도에 의존적으로 총 세포 수가 감소되었다. PS 고농도(G5) 300 mg/kg(G5) 용량으로 투여하였을 때  $146.8 \pm 24.4 (\times 10^4 \text{ cells})$ 로 대조군(G2)에 비하여 통계학적으로 유의적인 감소함을 확인하였다( $p < 0.05$ ).

호중구(neutrophil)는 정상군이  $3.0 \pm 1.2 (\times 10^4 \text{ cells})$ , 대조군이  $137.8 \pm 42.2 (\times 10^4 \text{ cells})$ 로 대조군에서 통계학적으로 유의적인 증가를 정상군에 비하여 보였고( $p < 0.05$ ), 대조군에 PS를 100 mg/kg(G3)과 200 mg/kg(G4) 용량으로 투여하였을 때 각각  $110.5 \pm 56.6$ ,  $112.0 \pm 8.5 (\times 10^4 \text{ cells})$ 로 대조군에 비해 유의적은 아니지만 농도에 의존적으로 호중구 수가 감소되었다. PS 고농도(G5)에서는  $80.0 \pm 15.1 (\times 10^4 \text{ cells})$ 로 대조군(G2)에 비하여 통계학적으로 유의적인 감소함을 확인하였다( $p < 0.05$ ).

림프구(lymphocyte)에서는 정상군이  $7.0 \pm 1.6 (\times 10^4 \text{ cells})$ , 대조군이  $44.5 \pm 13.9 (\times 10^4 \text{ cells})$ 로 대조군에서 유의적으로 증가하였고, PS 고농도(G5) 300 mg/kg(G5) 용량으로 투여하였을 때  $34.3 \pm 6.6 (\times 10^4 \text{ cells})$ 로 대조군(G2)에 비하여 유의적은 아니지만 농도에 의존적으로 림프구 수가 감소되었다.

호산구(eosinophil)에서도 정상군(G1)에 비해 대조군(G2)에서 유의적으로 증가되었음을 보이면서 모든 항목에서 음성 대조군 대비 eosinophilic, neutrophil, lymphocyte, monocytes에서 시료군의 면역세포의 억제하는 경향을 보이는 것으로 나타났다.

Jung JK(2017)에 의하면 난알부민 유도로 알레르기성 기관지 천식 동물모델을 만든 상태에서 기관지폐포세척액 내의



**Fig. 4. Effects of PS on inflammatory cells in bronchoalveolar lavage fluids of OVA-induced asthma mice.** G1, normal group; G2, OVA-induced asthma group, G3, Asthma/PS 100 mg/kg; G4, Asthma/PS 200 mg/kg; G5, Asthma/PS 300 mg/kg; PS, *Prunus serrulata* var. *spontanea*; WBC, white blood cell; NEU, neutrophil; LYM, lymphocyte; MONO, monocytes; EOS, eosinophil; BASO, basophil. \* $p < 0.05$  compared to G1 by student's *t*-test. <sup>a,b</sup>Means with the different letters among asthma groups are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range tests.

염증세포 변화에서 총세포수, 대식세포, 림프구, 호중구, 호산구 세포의 수가 정상군에 비하여 대조군에서 유의적으로 증가하였고 옥병풍산가미방 시료를 투여한 군에서 농도 의존적으로 감소함을 보였다. Han JH(2019) 연구에 의하면 마우스를 이용한 향천식연구에서 조록나무는 천식에 의하여 증가한 호산구 증가증을 용량의존적으로 감소하여 천식 예방

및 치료에 우수함을 보였다. 향천식 효능이 가장 우수하다고 평가된 조록나무 추출물에서 약 14종(catechin, epicatechin gallate, 4-O-caffeoylquinic acid, hyperoside, nicotiflorin, rutin, nicotiflorin, quercitrin, quercetin, chlorogenic acid, kaempferol, ethyl gallate, myricitrin, kaempferin, astragaline)을 확인하였다. 담배연기로 유발된 염증세포 중 호중구의 침윤현상을 억제

하는 것은 만성폐쇄성 폐질환의 매우 중요한 치료로 인식되는데 Natural Medicine Research Center(2018)의 천연물신약(YPL-001)은 호중구의 침윤 현상을 완화함을 확인하였다. 천식을 진단하는 중요한 지표는 호산구(eosinophil)의 침윤으로 Han JH(2019) 연구에 의하면 OVA로 천식유발군은 기관지 폐포 세척액(BALF) 내 호산구를 비롯한 염증세포 수가 정상대조군에 비하여 현저하게 증가하였다. 천식유도군(OVA), 제주 식물자원 곰의말채나무 시료 30 mg/kg(#42-30), 시료 60 mg/kg(#42-60)을 처리한 결과 macrophage와 total cell의 유의적인 감소가 있었다.

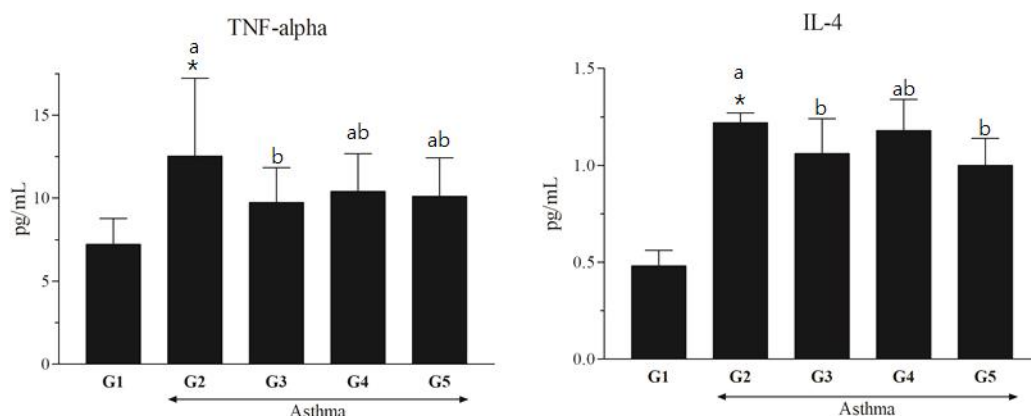
#### 4. 사이토카인 농도 측정

혈청을 이용하여 TNF-alpha(BMS607-3, LOT:234889-017), IL-4(BMS613HS, LOT:262333-003) 농도를 ELISA kit(Invitrogen, USA)를 이용하여 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. 난알부민 유도 천식모델의 혈청내 알레르기 반응 유도 물질인 사이토카인 TNF-alpha 농도는 정상군이 7.22±1.56 pg/mL에 비하여 대조군이 12.53±4.69 pg/mL로 통계학적으로 유의하게 증가하였고( $p<0.05$ ), 대조군에 PS를 100 mg/kg(G3)과 200mg/kg(G4) 용량으로 투여하였을 때 각각 9.74±20.9, 9.85±1.88 pg/mL로 대조군에 비해 유의적은 아니지만 농도에 의존적으로 감소되었다. PS 고농도(G5) 300 mg/kg(G5) 용량으로 투여하였을 때 8.51±2.11 pg/mL로 대조군(G2)에 비하여 통계학적으로 유의적인 감소함을 확인하였다( $p<0.05$ ). 특히 IL-4 계열의 경우 정상군이 0.48±0.08 pg/mL에 비하여 대조군이 1.22±0.05 pg/mL로 통계학적으로 유의하게 증가하였고( $p<0.05$ ), 대조군에 PS를 100 mg/kg(G3)과 300 mg/kg(G5) 용량으로 투여하였을 때

각각 1.06±0.18, 1.00±0.14 pg/mL로 대조군(G2)에 비하여 통계학적으로 유의적인 감소함을 확인하였다( $p<0.05$ ). 정상군에 비해 음성대조군의 염증발현이 유의하게 차이가 나타나는 상태에서 음성대조군 대비 PS 저, 고농도 투여군에서 cytokine level(TNF-alpha, IL-4) 감소로 염증억제의 유의적인 효능이 보이는 것으로 나타났다.

Jung JK(2017) 연구에 의하면 난알부민으로 유도한 알레르기성 기관지 천식 동물모델에서 혈청 내 알레르기 면역반응 유도물질인 Th2 사이토카인인 IL-4 분비가 증가하였으나 옥병풍산가미방 시료를 100 mg/kg 농도와 200 mg/kg 농도로 투여한 군에서 농도 의존적으로 감소함을 보였다. 또한 사이토카인 IL-5와 IL-13, TNF-alpha 생성이 천식에 의하여 증가하였으나 옥병풍산가미방 시료를 투여한 군에서 농도 의존적으로 감소함을 보였다. Kim YS(2021) 연구에서는 아토피 피부염 개선효과를 주는 천연물소재연구에서 IL-4 발현 억제 효과가 수국추출물의 EA 분획물 농도의존적으로 (10~100 µg/mL) 억제 효과를 보임을 관찰하였다. 세포내 독성이 없는 100 µg/mL 농도로 처리 시 최대 약 57% IL-4 발현 억제를 관찰하였다. EA 분획물의 주요 화합물은 hydrangenol, hydrangenol 8-O-glucoside으로 확인하였다.

Natural Medicine Research Center(2018)의 천연물신약연구에서 담배연기와 LPS 처리로 유도된 COPD 마우스에서는 염증성 cytokines인 IL-1, IL-6 및 TNF-a가 정상대조군보다 뚜렷하게 증가하였다. 그러나, suffruticosol A 투여한 군은 COPD 유발군에 비하여 염증성 사이토카인들의 생성이 크게 감소되었다. 황칠나무 잎 추출물은 담배노출에 의하여 유발된 만성폐쇄성폐질환 마우스모델에서 기관지폐포세척액 내 염증



**Fig. 5.** Effects of PS on the serum levels of TNF-alpha and IL-4 in OVA-induced asthma mice. G1, normal group; G2, OVA-induced asthma group, G3, Asthma/PS 100 mg/kg; G4, Asthma/PS 200 mg/kg; G5, Asthma/PS 300 mg/kg; PS, *Prunus serrulata* var. *spontanea*; \* $p<0.05$  compared to G1 by student's *t*-test. <sup>a,b</sup>Means with the different letters among asthma groups are significantly different ( $p<0.05$ ) by Duncan's multiple range tests.



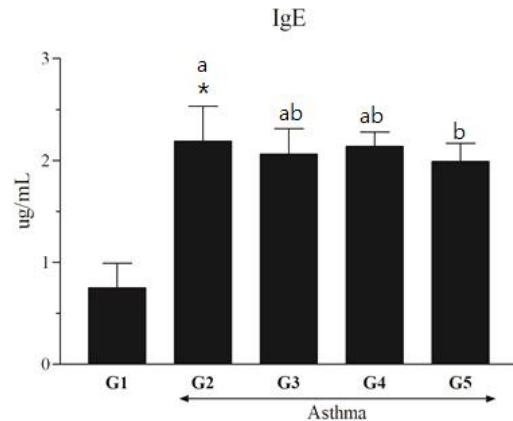
세포들의 침윤현상, 전염증성 cytokines(TNF- $\alpha$ , IL-6) 생성, toxic molecules(ROS, elastase) 생성 및 폐조직내 염증세포들의 침윤현상이 효과적으로 감소시켰다. 염증현상 중 Th2에 의하여 유도된 염증이 아닌 비Th2 유형에는 Th1이 중요한 역할을 하지만 최근에는 IL-17의 발현 증가를 보이는 Th17 면역반응과 염증현상도 천식의 병태학적 생리에 중요한 역할을 한다고 보고되고 있다(AI-Ramli 등 2009; Kim SH 2012)

천식의 발달에 염증성 cytokine인 Interleukin-5(IL-5)과 Interleukin-13(IL-13)은 중요한 매개체이다. 이러한 사이토카인은 호산구의 침윤성 및 활성을 크게 증가시키면서, 천식의 임상증상들을 더욱 악화시킨다. Han JH(2019) 연구에 의하면 천식유발군은 기관지 폐포 세척액(BALF) 내 IL-5와 IL-13의 생성이 정상대조군에 비해 유의하게 증가하였다. 그러나 제주도 식물자원 곰의말채나무 시료 60 mg/kg(#42-60) 투여에 의하여 유의적이지는 않지만 감소하는 경향성을 보였다.

올벚나무(*Prunus pendula* for. *ascendens* (Makino) Ohwi) 잎 추출물 효능 연구에서 마우스대식세포에서 항염 활성 연구에서 NO 생성을 억제하였고 iNOS 단백질 발현의 감소를 유도하여 전염증성 사이토카인 생성을 농도 의존적으로 감소시킴을 확인하였다(Hong HJ 2019). 올벚나무 잎에서 분리된 활성물질은 ursolic acid, prunasin, methyl p-coumarate, kaempferol, astragalol 등이다. Jung HA(2003)의 연구에 의하면 한국에서 자생하는 벚나무 속인 올벚나무(*Prunus pendula* for. *ascendens*), 산복사(*P. davidiana*), 벚나무(*P. pendula* var. *ascendens*), 왕벚나무(*P. yedoensis*) 등의 메탄올 추출물의 DPPH 소거능 활성이 뛰어났고, 수종의 벚나무들의 부위별 활성을 보면 주로 가지와 심재에서 가장 활성이 높았고, 잎과 꽃, 그리고 열매 순으로 활성이 나타났다고 한다. 특히 섬개 벚나무(*P. buergeriana*)에서는 잎에서는 활성이 나타나지 않았지만 수피와 심재에서 강한 활성이 나타나면서 본 연구의 벚나무 잎추출물 이외의 부위별 천식효과에 유용한 물질 탐색 연구가 필요하다고 사료된다.

### 5. 혈청 면역글로블린 E(IgE) 농도

천식의 여러 임상증상을 발현시키는데 immunoglobulin은 중요한 매개체로 인식되고 있다. 혈청 면역글로블린 E(IgE, LOT:ME-22A1) 농도를 ELISA kit(Shibayagi FUJI film, Japan)를 이용하여 측정된 결과는 Fig. 6과 같다. 혈청 내 IgE 농도는 정상군이  $0.75 \pm 0.24$   $\mu\text{g/mL}$ 에 비하여 대조군이  $2.19 \pm 0.34$   $\mu\text{g/mL}$ 로 통계학적으로 유의하게 증가하였고( $p < 0.05$ ), 대조군에 PS를 100 mg/kg(G3)과 200 mg/kg(G4) 용량으로 투여하였을 때 각각  $2.06 \pm 0.25$ ,  $2.14 \pm 0.14$   $\mu\text{g/mL}$ 로 대조군에 비해 유의적이지는 않지만 농도에 의존적으로 감소되었다. PS 고농도(G5) 300 mg/kg(G5) 용량으로 투여하였을 때  $1.82 \pm 0.22$   $\mu\text{g/mL}$ 로 대조군(G2)에 비하여 통계학적으로 유의적인 감소



**Fig. 6. Effects of PS on the serum levels of IgE in OVA-induced asthma mice.** G1, normal group; G2, OVA-induced asthma group, G3, Asthma/PS 100 mg/kg; G4, Asthma/PS 200 mg/kg; G5, Asthma/PS 300 mg/kg; PS, *Prunus serrulata* var. *spontanea*; \* $p < 0.05$  compared to G1 by student's *t*-test. <sup>a,b</sup>Means with the different letters among asthma groups are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range tests.

함을 확인하였다( $p < 0.05$ ).

Jung JK(2017) 연구에 의하면 난알부민으로 유도한 알레르기성 기관지 천식 동물에서 혈청 내 OVA-specific IgE 농도는 기관지 천식모델에서 유의적인 증가를 보였으나 옥명풍산가미방 시료를 100 과 200 mg/kg 투여한 군에서 농도 의존적으로 감소함을 보였다. 또한 기관지폐포세척액 내 IgE 농도는 천식유발군에서 유의적인 증가를 하였으나 옥명풍산가미방 시료를 200 mg/kg 투여한 군에서 유의하게 감소함을 보였다. Lee 등(2009)의 연구에서는 중증 천식과 COPD에서 기도상피세포 단백질에 대한 자가면역반응이 공통적으로 관찰되어짐을 확인하였다. 기관지천식과 COPD 환자의 혈액에서 기도상피세포에 대한 IgG 자가항체 반응검사 결과 공통 반응하는 표적 자가항원의 하나로서 기도상피세포 단백질로 cytokeratin 8 단백질을 규명하여 천식치료제 개발에 중요한 자료로 활용될 수 있다고 하였다. Han JH(2019) 연구에서 천식유발군에서 ovalbumin 특이성 IgE의 생성이 정상대조군에 비해 유의하게 증가하였고, dexamethason 투여군은 천식유발군에 비해 IgE의 생성이 크게 감소하였다. 제주도 식물자원 곰의말채나무 시료 30 mg/kg(#42-30)와 시료 60 mg/kg(#42-60)를 처리하였을 때 통계적으로 유의하지는 않았지만 감소하는 경향성을 보였다. 식물자원 시료물질 71번 시료인 조록나무 추출물은 유의하게 감소함을 보였다.

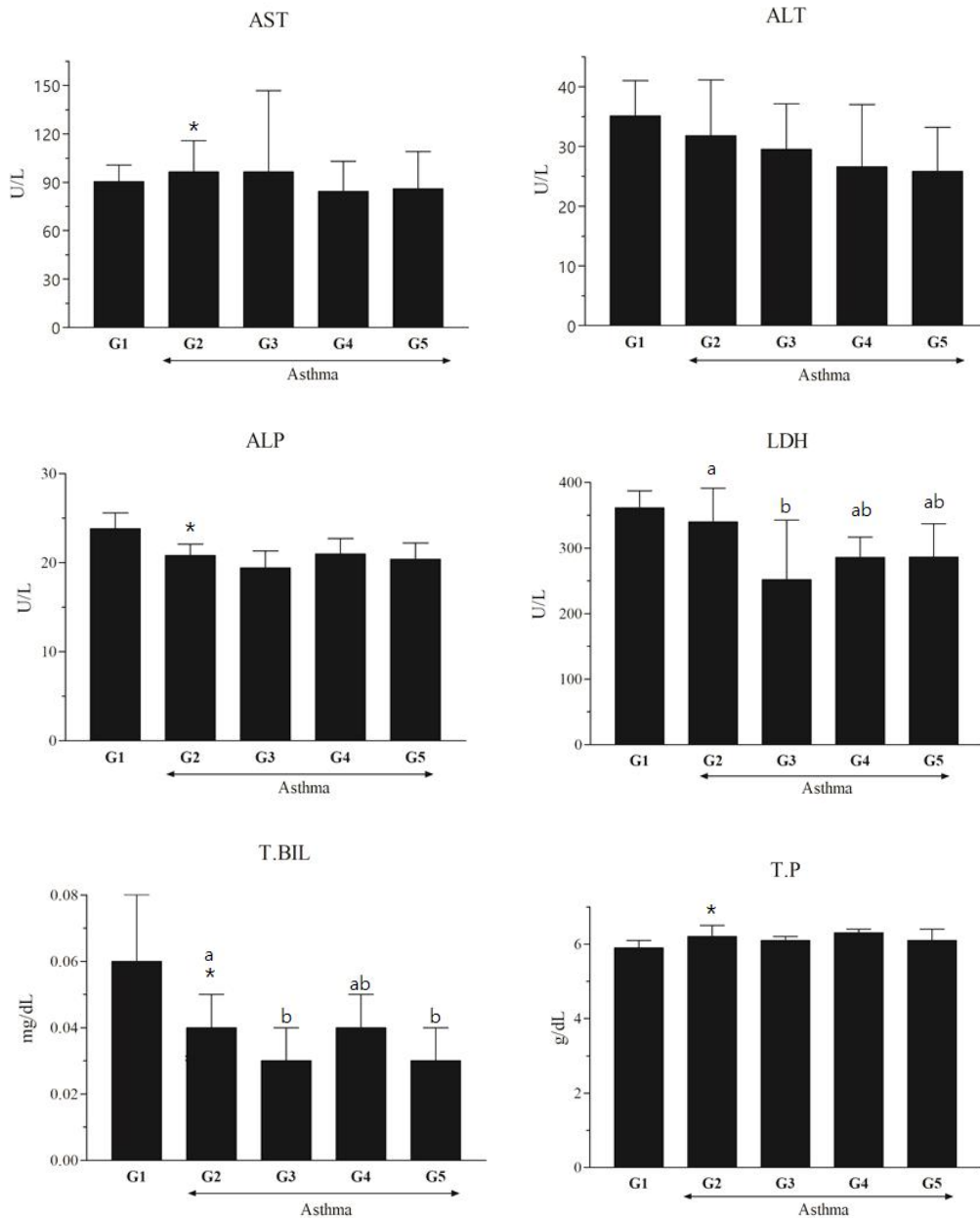
## 6. 혈청 생화학 분석(Biochemistry)

독성지표를 나타내는 임상병리 생화학지표를 검사하였을 때 정상군(G1) 및 질환유도군간(G2)의 차이를 본 결과는 Fig. 7과 같다. 질환유도군간(G2)의 크레아티닌, 토탈프로테인, 글루코오스 농도가 유의적으로 증가하였으나 PS 시료 물질

투여에 의하여 감소함을 보였고 PS시료에 의한 이상적인 증상은 다른 생화학지표에선 안 보이는 것으로 나타났다.

## 7. 폐조직무게 및 조직병리검사

적절한 폐조직의 무게를 측정된 결과는 Fig. 8과 같다. 정

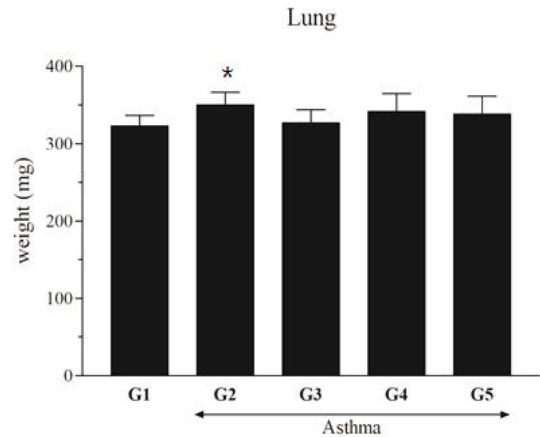


**Fig. 7.** Effects of PS on the serum biochemistry in OVA-induced asthma mice. G1, normal group; G2, OVA-induced asthma group, G3, Asthma/PS 100 mg/kg; G4, Asthma/PS 200 mg/kg; G5, Asthma/PS 300 mg/kg; PS, *Prunus serrulata* var. *spontanea*; \* $p < 0.05$  compared to G1 by student's *t*-test. <sup>a,b</sup>Means with the different letters among asthma groups are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range tests.

상군(G1)에 비해 OVA 유발한 음성 대조군(G2)이 무게가 늘어남을 통계적으로 유의하게 무게 차이를 보였다. PS 시료처리군(G3~5)의 무게에서는 유의한 차이를 보이지 않았다.

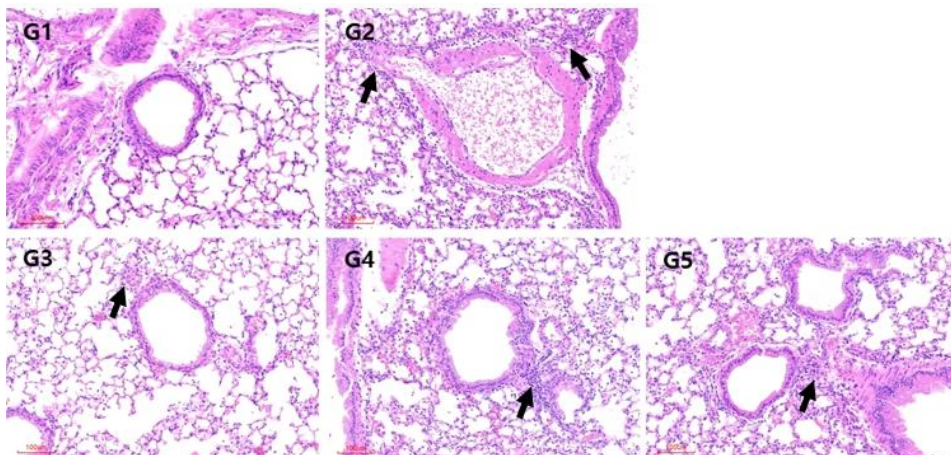
정상군(G1)에 비해 OVA로 유발한 음성 대조군(G2)에서 폐조직 폐포(aveola) 주위에 호산구 같은 천식유발 염증세포의 침윤현상이 다량으로 형성되어 폐포조직 내의 지지분한 감염 혹은 염증 발현이 관찰되었으며 세기관지의 형태학적인 변형과 점막비후현상으로 좁아짐을 관찰하였다(Fig. 9). 시험물질(PS) 투여군(G3~5)에서 폐포와 세기관지 주위에 침윤되어진 염증세포들이 감소되는 것을 확인할 수 있었고, 세기관지 형태학적 변형이나 점막 비후 현상이 다소 개선되는 것으로 관찰되었다. 이는 시험물질(PS)의 투여로 인해서 폐포 조직의 염증발현 억제와 조직손상을 현저히 감소시키는 것으로 확인할 수 있었다.

Jung JK(2017) 연구에 의하면 난알부민으로 유도한 알레르기성 기관지 천식 동물에서 폐포 주위 염증세포의 침윤현상이 뚜렷하였고 세기관지 변형과 점막비후에 의한 좁아지는 현상을 관찰되었으며 옥병풍산가미방 시료를 100과 200 mg/kg 투여한 군에서 폐포주위의 염증세포 침윤이 감소함을 보였으며 양성약물에 비하여 세기관지 형태학적 변형은 효과적이지는 않았다고 보고하였다. Han JH(2019) 연구에서 천식유발군(OVA)에서 정상군에 비하여 기관지 주위 염증세포의 침윤이 크게 증가하였고 제주도 식물자원인 조록나무 추출물을 30 mg/kg(#71-30), 시료물질 60 mg/kg(#71-60) 처리시 조직의 염증 및 점액 생산 지수가 감소함을 보이면서 신소재의 가능성을 시사하였다.



**Fig. 8.** Changes in weight of lung in OVA-induced asthma mice. G1, normal group; G2, OVA-induced asthma group, G3, Asthma/PS 100 mg/kg; G4, Asthma/PS 200 mg/kg; G5, Asthma/PS 300 mg/kg; PS, *Prunus serrulata* var. *spontanea*; \* $p < 0.05$  compared to G1 by student's *t*-test. <sup>a,b</sup>Means with the different letters among asthma groups are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range tests.

기도염증 혹은 천식 기도개형(airway remodeling)은 지속적으로 폐기능 저하 및 치료지연 현상을 가져오므로, 중증 천식환자의 기도에서 기도개형 변화를 줄여줌으로써 기도 상피세포의 증식의 변화를 줄 수 있다는 연구가 있다(Cohen 등 2007; Busacker 등 2009; Kim SH 2012). CT를 통한 연구에서는 중증 천식에서 보여주는 기도 상피세포의 증식 및 비후현



**Fig. 9.** Effects of PS on histopathological changes in lung tissues of OVA-induced asthma mice. G1, normal group; G2, OVA-induced asthma group, G3, Asthma/PS 100 mg/kg; G4, Asthma/PS 200 mg/kg; G5, Asthma/PS 300 mg/kg; PS, *Prunus serrulata* var. *spontanea*; Lung tissues were stained with H&E and observed by microscope ( $\times 200$  original magnification). Arrows represent proliferation on mucosal epithelium and hypertrophy on submucosal smooth muscle.

상이 기관지 벽의 두께가 증가하면서 일어나므로 공기 저류 현상을 유도하고 폐용적 증가현상도 가져옴으로써(Cohen 등 2007) 이러한 현상을 가져올 새로운 소재 탐구 연구가 이루어져야 한다고 하였다.

## 요약 및 결론

본 연구는 5주령 수컷 BALB/c mice로 ovalbumin 유도 천식질환모델을 이용하여 시험물질인 벚나무(*Prunus serrulata* var. *spontanea*) 천연물(이하 PS)의 투여로 인한 싸이토카인과 ovalbumin specific IgE 개선 효능, 폐조직 병리검사를 분석하여 항염증 효과 및 천식 효능을 확인하고자 하였다. 본 시험물질 PS샘플의 투여로 ovalbumin 유도 천식질환모델에서의 기관지폐포세척액(BALF) 내 염증세포 변화에 대한 효과를 본 결과 총 total cell(WBC)을 포함한 eosinophilc, neutrophil, lymphocyte, monocytes의 세포 수가 벚나무 추출물로 인해 유의하게 감소하였다. 혈청 내 싸이토카인 계열 TNF-alpha, IL-4, 면역글로불린(IgE) 농도는 천식유발 음성 대조군에서 정상군에 비하여 유의적으로 증가하였는데, PS 투여에 의하여 감소시키는 효능을 보였다. Ovalbumin 유도 천식질환모델에서 폐포와 세기관지 주위에 침윤된 염증세포들이 증가된 것을 확인할 수 있었고, 벚나무 추출액을 투여한 결과 세기관지 형태학적 변형이나 점막 비후 현상이 다소 개선되는 것으로 관찰되었다. 이는 시험물질(PS)의 투여로 인해서 폐포 조직의 염증발현 억제와 조직손상을 현저히 감소시키는 것으로 확인할 수 있었다. 이상과 같은 결과로 벚나무 추출액의 천식 염증 개선 효능이 우수한 것을 확인하였으며, 본 연구의 벚나무(*Prunus serrulata* var. *spontanea*)추출물 이외의 부위별 천식효과에 유용한 물질 탐색 연구가 필요하다고 사료된다. 이상의 결과로부터 벚나무 추출물이 폐포 조직의 염증 발현 및 조직 손상을 유의하게 감소시키는 것을 확인하였으며, 이는 벚나무 추출물이 천식 염증 개선에 탁월한 효능이 있음을 확인하였다.

## References

- Al-Ramli W, Préfontaine D, Chouiali F, Martin JG, Olivenstein R, Lemièrre C, Hamid Q. 2009. T(H)17-associated cytokines (IL-17A and IL-17F) in severe asthma. *J Allergy Clin Immunol* 123:1185-1187
- Asthma Treatment Guideline Revision Committee. 2022. Asthma treatment guidelines. pp.22-24. The Korean Academy of Tuberculosis and Respiratory Disease
- Bae EA, Han MJ, Lee KT, Choi JW, Park HJ, Kim DH. 1999. Metabolism of 6"-O-xylosyltectoridin and tectoridin by human intestinal bacteria and their hypoglycemic and *in vitro* cytotoxic activities. *Biol Pharm Bull* 22:1314-1318
- Baek K. 2020. Relationship between asthma-related knowledge, self-care and quality of life in early asthmatic patients. Master's Thesis, Ewha Womans Univ. Seoul. Korea
- Bahuguna RP, Jangwan JS, Kaiya T, Sakakibara J. 1987. Puddumin-A, a new flavanone glucoside from *Prunus cerasoides*. *J Nat Prod* 50:232-234
- Busacker A, Newell JD Jr, Keefe T, Hoffman EA, Granroth JC, Castro M, Fain S, Wenzel S. 2009. A multivariate analysis of risk factors for the air-trapping asthmatic phenotype as measured by quantitative CT analysis. *Chest* 135:48-56
- Choi KS, Shin KO, Kim YH, Yoo IS, Jeong H, Kim KS, Lee JS. 2013. The effect of *Prunus sargentii* R. seed oil on the lipid profile in serum in mice. *Korean J Food Nutr* 26:670-677
- Choi OB. 2002. Anti-allergic effects of *Petasites japonicum*. *Korean J Food Nutr* 15:382-385
- Chung M. 2016. Symptom experiences, sleep quality and quality of life in asthma patients. Master's Thesis, Ewha Womans Univ. Seoul. Korea
- Cohen L, E X, Tarsi J, Ramkumar T, Horiuchi TK, Cochran R, DeMartino S, Schechtman KB, Hussain I, Holtzman MJ, Castro M, NHLBI Severe Asthma Research Program (SARP). 2007. Epithelial cell proliferation contributes to airway remodeling in severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 176:138-145
- Fatima A, Alok S, Agarwal P, Singh PP, Verma A. 2013. Benefits of herbal extracts in cosmetics: A review. *Int J Pharm Sci Res* 4:3746-3760
- Han JH. 2019. Study of medicinal activation materials for asthma from the natural plants in Jeju island. Ph.D. Thesis, Jeju National Univ. Jeju. Korea
- Hong HJ, Ko HN, Lee NH. 2019. Anti-inflammatory effects of the extracts of *Prunus pendula* for. *ascendens* (Makino) Ohwi leaves and identification of active constituents. *J Soc Cosmet Sci Korea* 45:117-129
- Hong HJ. 2019. Anti-oxidative and anti-inflammatory constituents from extract of *Prunus pendula* for. *ascendens* leaves. Master's Thesis, Jeju National Univ. Jeju. Korea
- Jangwan JS, Kumar N. 2015. Isolation and characterization of new flavonoid glycoside from the seeds of *Prunus cerasoides*. *J Med Plants Stud* 3:20-22

- Jung HA. 2003. Antioxidative constituents from the leaves of *Prunus serrulata* var. *spontanea*. Ph.D. Thesis, Pukyong National Univ. Busan. Korea
- Jung JK. 2017. Effects of modified-Okbyungpoongsan in allergic asthma. Ph.D. Thesis, Dongguk Univ. Seoul. Korea
- Jung YH. 1998. Phylogenetic relationship among Genus *Prunus* in Mt. Halla using RAPD analysis. Master's Thesis, Cheju National Univ. Jeju, Korea
- Kim BH. 2019. The disease management experience of patients with asthma. Ph.D. Thesis, Ewha Womans Univ. Seoul. Korea
- Kim MJ, Kim KBWR, Kim MJ, Park SH, Kim JH, Park SY, Choi HD, Jang MR, Im MH, Ahn DH. 2016. Anti-inflammatory effect of *Chondria crassicaulis* harvey ethanol extract in a mouse model of croton oil-induced ear edema and LPS-induced RAW 264.7 cells. *Microbiol Biotechnol Lett* 44:461-469
- Kim SD, Kim Y, Kim M, Jeong H, Choi SH, Ryu HW, Oh SR, Lee SW, Li WY, Wu HH, Zhu Y, Wang X, Chang M, Song YS. 2020. Estrogenic properties of *Prunus cerasoides* extract and its constituents in MCF-7 cell and evaluation in estrogen-deprived rodent models. *Phytother Res* 34:1347-1357
- Kim SH. 2012. Clinical and pathophysiological characteristics of severe asthma. *Korean J Med* 83:424-429
- Kim TY, Park NJ, Jo BG, Paik JH, Choi S, Kim SN, Yang MH. 2022. 7-O-methyluteolin suppresses the 2,4-dinitrochlorobenzene-induced Nrf2/HO-1 pathway and atopic dermatitis-like lesions. *Antioxidants* 11:1344
- Kim YS. 2021. A study development of materials natural product with improvement effect on atopic dermatitis. Ph.D. Thesis, Gangneung-Wonju National Univ. Gangneung. Korea
- Koch MA, Waldmann H. 2005. Protein structure similarity clustering and natural product structure as guiding principles in drug discovery. *Drug Discov Today* 10:471-483
- Kraft M. 2006. Asthma and chronic obstructive pulmonary disease exhibit common origins in any country! *Am J Respir Crit Care Med* 174:238-244
- Lee HA, Park JH, Kwon B, Choi GS, Ye YM, Park HS, Nahm DH. 2009. Analysis of airway epithelial cell autoantigens recognized by IgG autoantibodies from patients with severe asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 29:249-255
- Lin TY, Lu CW, Wang CC, Lu JF, Wang SJ. 2012. Hispidulin inhibits the release of glutamate in rat cerebrocortical nerve terminals. *Toxicol Appl Pharmacol* 263:233-243
- Manandhar NP. 2002. Plants and People of Nepal. Timber Press
- Natural Medicine Research Center. 2018. Development of natural drug candidates for the global level therapeutics against chronic inflammation related diseases such as COPD/asthma and obesity. Research project for global new natural products for the treatment of chronic diseases such as COPD/asthma research. pp.1-9. *Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology*. Report No. KGM1221814
- Newman DJ, Cragg GM, Snader KM. 2000. The influence of natural products upon drug discovery. *Nat Prod Rep* 17:215-234
- Park JE. 2022. Incremental healthcare costs of acute exacerbation in patients with asthma: Results from the National Health Insurance Service - National Sample Cohort (NHIS-NSC) Database in Korea. Master's Thesis, Yonsei Univ. Seoul. Korea
- Patel K, Patel DK. 2017. Medicinal importance, pharmacological activities, and analytical aspects of hispidulin: A concise report. *J Tradit Complement Med* 7:360-366
- Poonam V, Raunak, Kumar G, Reddy L CS, Jain R, Sharma SK, Prasad AK, Parmar VS. 2011. Chemical constituents of the genus *Prunus* and their medicinal properties. *Curr Med Chem* 18:3758-3824
- Slade DJ, Kraft M. 2006. Airway remodeling from bench to bedside: current perspectives. *Clin Chest Med* 27:71-85
- Sohn HA. 2006. Neuroprotective effect of tectoridin in SH-SY5Y cells with oxidative stress and transient global ischemia model in gerbil. Master's Thesis, Seoul National Univ. Seoul. Korea
- The Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology [KAAACI]. 2021. Korean Guideline for Asthma 2021. pp.5-7. The Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology
- Yang SA. 2013. A study on cosmeceutical activities of the extract and its fractions from the bark of *Prunus sargentii*. Master's Thesis, Dongshin Univ. Naju. Korea
- Yoo H. 2015. Anti-asthmatic activity and achemical aonstituents of *Sophora tonkinensis* roots and rhizomes. Ph.D. Thesis, Seoul National Univ. Seoul. Korea

Received 26 March, 2023  
 Revised 15 May, 2023  
 Accepted 7 June, 2023