

생약 추출물의 항균력 및 인공치태형성 억제효과

조민정 · 이향님 · 김은미¹

광주보건대학 치위생과, ¹광양보건대학 치위생과

색인: 생약 추출물, 인공치태, 치아우식원인균

1. 서 론

치아우식증은 치주질환과 함께 구강영역에서 발생하는 양대 질환으로 치태내 세균에 의해 발생¹⁾되며 치태를 구성하는 세균 중에서도 *streptococcus mutans*가 치아우식증의 주요 원인 인자이다²⁾.

최근 들어 천연식물 추출물이 *streptococcus mutans*의 성장을 억제한다는 연구가 보고^{3,4)}되고 있으며, 이들 항세균제는 치아표면에 대한 세균의 접착력을 감소시키거나 세균의 성장 증식을 억제하고 또는 불용성 glucan의 형성억제 등 다양한 기전에 의해 치태내의 미생물에 작용한다.

특히 한방에서 약초로 이용되는 식물류들은 임상에서 효능이 검증된 바가 많아 항균 효능 및 생리활성 물질의 개발에 관한 연구에 있어서 접근이 용이하기 때문에 많은 연구자들이

관심을 기울이고 있다^{5, 6)}.

강⁷⁾ 등은 녹차 등의 생약성분을 함유한 세치제가 치태를 억제하는데 효과가 있음을 보고하였고, 박과 최⁸⁾도 황백, 길경, 형개 추출물과 죽염을 세치제에 배합하여 사용한 결과 치태 억제효과가 있음을 보고하였다. 이러한 항균성 물질은 상호작용에 의하여 그 효과가 크게 상승하므로 유익한 항균성 물질을 계속 탐색하고 그 유효성을 확인하여 사용범위를 확대해 나갈 필요가 있다. 이러한 관점에서 항균활성을 보이는 생약재의 검색은 중요하다고 생각된다.

치아우식증과 치주질환의 원인은 치태에 있으므로 부작용 없이 치태형성을 억제할 수 있는 생약물질을 찾고자, 여러 종류의 천연 추출물을 대상으로 항균력과 인공치태형성 억제효과를 측정하여 생약 추출물을 함유한 시판용 치약 개발의 기초 및 근거자료로 활용할 수 있도록 하는데에 본 연구의 목적이 있다.

2. 연구재료 및 방법

2.1 생약 추출 및 항균력 측정

2.1.1 생약 추출

(1) 연구재료

본 실험에 사용된 오미자(*Schisandar chinensis*), 고삼(*Sophora flavescens*), 관중(*Dryopteris crassirhizoma*), 마두령(*Aristolochia contorta*) 등을 분쇄기(SM2000, Retsch, Germany)로 분쇄하여 시료로 사용하였다.

(2) 추출방법

시료 100g당 5배(W/V)의 80% MeOH에 침지하여 24시간 동안 실온에 방치하면서 3회 반복 추출한 후 여과(Whatman NO.2)하였다.

얻어진 여액을 cooling aspirator(COOL ACE CA-III, Eyela, Tokyo, Japan)로 감압 농

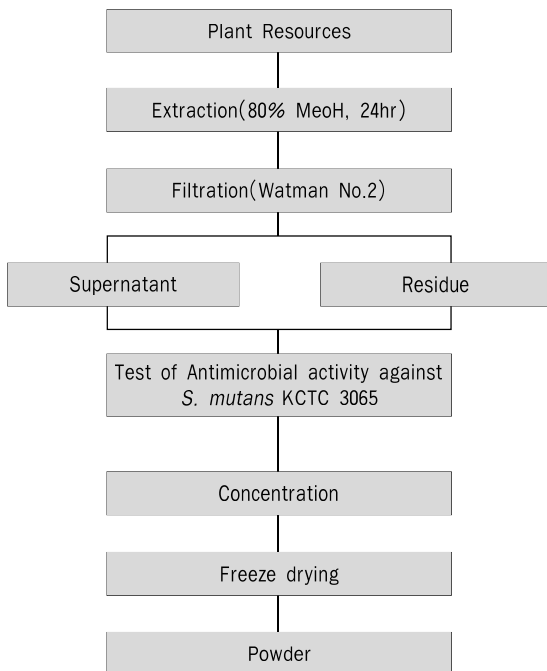


그림 1. Extraction procedure of Herbal medicine extract

축한 후 동결건조(FDU-500, Eyela, Tokyo, Japan)하여 시료로 사용하였다(그림 1).

2.1.2 항균력 측정

(1) 사용균주 및 배양

치아우식증 원인균에 대한 항균 활성을 검정하기 위해 *Streptococcus mutans* KCTC 3065를 37°C BHI(Brain Heart Infusion) 배지(Difco, Detroit, MI, USA)에서 24시간 동안 3회 반복하여 배양한 후 접종균주로 사용하였다.

(2) 항균활성 측정

항균활성은 paper disc(8mm, whatman) 방법으로 측정하였다. *S. mutans* 균주를 pour-plate method에 의해 45°C로 조절된 멸균배지 20ml에 전 배양액 0.2ml를 무균적으로 옮겨 잘 혼합한 후 9.0cm인 petridish에 넣고 응고시켰다. 여기에 시료를 함유한 paper disc를 배치한 후 생리 식염수(0.85%NaCl) 65ul로 확산시켰다. 그리고 37°C에서 16시간 동안 배양하여 paper disc 주위의 clear zone의 크기(mm)로 활성의 정도를 측정하였다. 대조군으로는 식품보존제로 널리 이용되고 있는 benzoic acid(Hayashi pure chemical Industries, Osaka, Japan) 0.5mg을 사용하여 항균활성을 비교하였다.

2.2 생약 추출물의 인공치태형성 억제효과 측정

2.2.1 공시균주 및 배양

동결건조로 보관중인 *Streptococcus mutans* sero type c(Ingbritt strain)를 M17 broth(Difco, Detroit, MI, USA)에 접종하여 CO₂ 배양기(Forma Scientific Div. of Mallinckrodt, Inc, USA)에서 37°C로 배양하여 이용하였다.

표 1. Antimicrobial activity of herbal medicine extract resources against *Streptococcus mutans*

Herbal medicine extract	0.5mg	Inhibition(clear zone, mm)		
		5mg eq	10mg eq	20mg eq
<i>Schisandra chinensis</i>	-	12	18	20
<i>Sophora flavescens</i>	-	11	17	18
<i>Dryopteris crassirhizoma</i>	-	18	21	25
<i>Aristolochia contorta</i>	-	11	15	21
<i>Benzoic acid</i>	12			

2.2.2 인공치태형성 억제효과 측정

M17 SY(sucrose 5%, yeast extract 0.5%)에 0.1M MOPS[3-(N-Morpholino) propanesulfonic acid]를 첨가한 배지에 오미자(*Schisandra chinensis*), 고삼(*Sophora flavescens*), 관중(*Dryopteris crassirhizoma*), 마두령(*Aristolochia contorta*) 등의 추출물을 각각 0.4%의 농도로 첨가한 배지를 40ml씩 만들었다.

5.0×10^6 개의 *S. mutans*를 접종하고 치태 무게의 측정을 위해 송⁹⁾ 등의 보고에 기술된 방법으로 0.016 inch stainless steel 재질의 교정용 wire(ORMCO, Glendora, CA, USA)를 3개씩 비커에 매달아 배지에 잠기도록 하였다. 37°C 진탕 배양기에서 흔들면서(30rpm) 24시간 배양한 후 3개의 wire 상에 형성된 인공치태의 무게를 9회 반복 측정하였다. 대조군은 생약 추출물을 첨가하지 않은 M17 SY(sucrose 5%, yeast extract 0.5%)에 0.1M MOPS를 첨가하여 배지를 만들고 *S. mutans*를 접종, 배양하였다.

균활성을 검정하였다. 그 결과 오미자, 고삼, 마두령은 5mg 상당량에서는 억제대가 11mm, 12mm로 대조군 12mm보다 같거나 적게 나타나 항균력이 없었으나 10mg, 20mg 상당량에서는 강한 항균활성을 보였다. 그러나 관중은 5mg, 10mg, 20mg 모두에서 대조군(benzoic acid)보다 강한 항균활성을 보였다(표 1).

3.2 생약 추출물의 인공치태 억제효과 측정

0.1M MOPS를 첨가한 M17 SY 배지에 오미자, 고삼, 관중, 마두령 등의 추출물 최종농도가 0.4%가 되도록 첨가하고, *S. mutans*를 접종한 후 37°C 배양기에서 24시간 배양하여 형성된 인공치태의 무게를 9회 반복 측정하고 평균치를 산출하였다. 그 결과, 오미자의 인공치태 무게는 110.42 ± 16.97 mg으로 대조군 $270.70 \pm$

표 2. The weight of artificial plaque in the culture of *Streptococcus mutans*(Ingbritt strain) with herbal medicine extract (unit mg)

Herbal medicine extract	Artificial plaque weight mean $\pm$ SD
<i>Schisandra chinensis</i>	110.42 $\pm$ 16.97
<i>Sophora flavescens</i>	232.17 $\pm$ 42.50
<i>Dryopteris crassirhizoma</i>	2.01 $\pm$ 1.81
<i>Aristolochia contorta</i>	192.84 $\pm$ 15.97
control	270.70 $\pm$ 78.98

3. 연구결과

3.1 생약 추출물의 항균력 측정

오미자, 고삼, 관중, 마두령의 시료를 80% MeOH로 추출하여 얻어진 추출물을 5mg, 10mg, 20mg 상당량으로 *S. mutans*에 대한 항

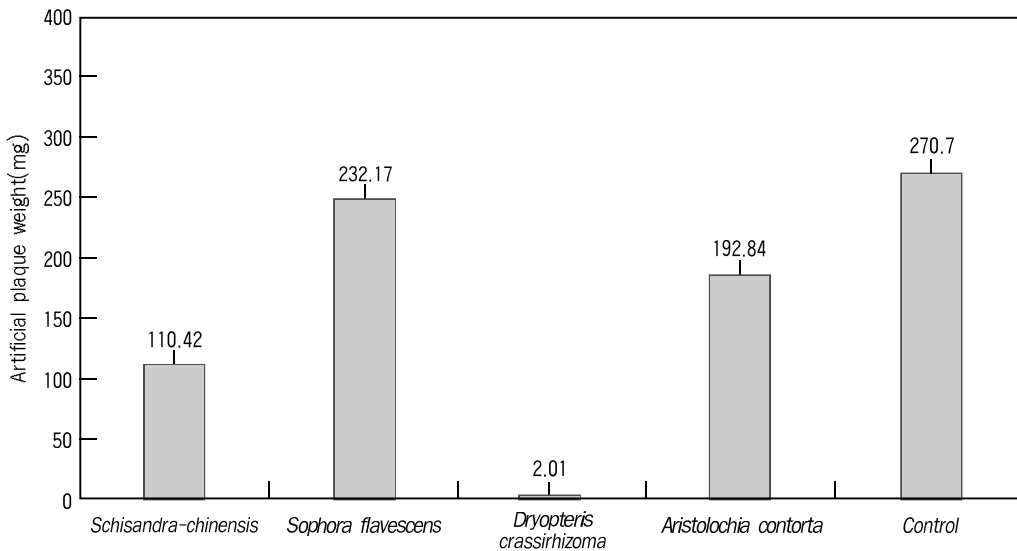


그림 2. The weight of artificial plaque in the culture *Streptococcus mutans*(Ingbritt strain)

78.98mg에 비해 무게가 줄어든 것으로 보아 인공치태형성을 약 2.5배 억제시켰으며, 고삼은 $232.17 \pm 42.50\text{mg}$ 으로 인공치태 형성을 억제하지 못하였다. 그러나 관중은 $2.01 \pm 1.81\text{mg}$ 으로 인공치태형성을 거의 완전하게 억제시켰으며, 마두령은 인공치태 무게가 $192.84 \pm 15.97\text{mg}$ 으로 1.4배 억제시켰다(표 2, 그림 2).

4. 고 찰

최근에는 치아우식증 예방에 여러 가지 항균제를 첨가함으로써 치아우식증과 치주질환 예방까지 겸하는 기능을 추구하고 있다.

따라서 구강내 적용시 과민반응이 나타날 수 있는 기존의 화학 합성 항균물질을 대신할 수 있는 천연물에 관심이 집중되고 있다¹⁰⁻¹²⁾.

그러므로 본 연구에서도 치아우식증과 치주질환 예방을 위해 부작용 없이 지속적으로 사용할 수 있는 천연 추출물을 개발하고자 생약 추출물에 대한 항균활성 및 인공치태형성 억제효과를

알아보았다. 치태내의 *S. mutans*가 높은 산생성 능력과 치아표면에 부착할 수 있는 능력이 커서 치아우식증의 원인이 되고 있으므로 본 실험에서는 *S. mutans*에 생약 추출물로 처리한 paper disc를 배치시켜 배양한 후 disc 주위 clear zone의 직경 크기를 측정하여 항균활성을 비교하였다.

생약 추출물로 오미자, 고삼, 관중, 마두령을 80% MeOH에 침지하여 추출한 후 여과액을 감압 농축하여 동결 건조시킨 시료로 항균활성 정도를 비교한 결과 오미자, 고삼, 마두령은 5mg 상당량에서는 대조군보다 억제대가 같거나 아주 미미하게 낮았으며 10mg, 20mg 상당량에서는 강한 항균 활성을 보였고, 관중은 5mg, 10mg, 20mg 모두에서 대조군보다 강한 항균 활성을 보였다. 관중은 면마과 양치식물로 동의 보감에 의하면 “상충과 촌백충을 죽이나 공복에 달여 먹거나 또는 가루로 하여 먹는다” 라고 소개되어 있다. 뿌리는 albaspidin, aspidin, flavaspidic acid 등의 phloroglucinal 유도체들을 함유하고 있으며¹³⁾ 이의 ethanol 추출물이 항균 활성을 가진 것으로 알려져 있다¹⁴⁾. 그러

나 관중의 주성분인 aspidin과 albaspidin은 기생충의 근육을 마비시키는 근육독으로 신경계를 침범하며 산, 산소, 온도에 의해 쉽게 변화되고 구충성분이 강한 것으로 알려져 있다¹⁵⁾.

도 등⁶⁾도 생약 추출물을 ethyl acetate, methanal에 침지하여 추출한 물질에서 *S. mutans*에 대한 항균활성을 조사한 결과 관중, 마두령, 정향 등이 강한 항균 활성을 나타내었다고 하였으며 활성 측면에서 다소 차이는 있으나, 본 실험에서 사용된 80% MeOH 추출물과 대체적으로 비슷한 결과를 나타내었다.

또한 안 등⁵⁾은 수종의 생약 추출물을 에탄올에 침지하여 추출한 후 paper disc 방법으로 실험한 결과 *S. mutans*에 대한 항균력이 관중, 고삼, 오미자, 오배자, 소목 등에서 강한 항균활성을 보였다고 하여 본 연구와도 일치하였다.

이로 미루어 추출방법 및 용매의 차이가 실험결과를 크게 좌우하지 않은 것으로 사료된다.

고삼 추출물도 항우식 효과와 세포독성에서 치아우식 발생의 주요 원인균인 *S. mutans*의 성장을 강하게 억제시키고 GTase 합성도 저해하는 것으로 보고하였다¹⁶⁾.

*S. mutans*는 glucosyl-transferase(GTase)를 생산하여 이 효소가 sucrose로부터 glucose의 polymer인 glucan을 형성하게 되어 치아우식을 일으킨다¹⁷⁾.

그러므로 연구자들 사이에 sucrose로부터 glucan 형성에 관여하는 GTase의 활성 저해물질에 대하여 많은 연구가 이루어지고 있는 실정이다¹⁸⁻¹⁹⁾.

따라서 *S. mutans*의 성장 억제나 GTase 활성 저해제를 탐색하는 것이 치아우식증을 예방하는 수단으로 인정되고 있으며 그 방법의 일환으로 천연물로부터 항우식물질을 개발하고자 하는 노력이 시도되고 있다.

오미자, 고삼, 관중, 마두령의 추출물이 인공

치태형성에 미치는 영향을 알아보기 위해 M17 SY(0.1M MOPS) 배지에 추출물의 농도가 0.4%가 되도록 각각 첨가시키고 *S. mutans* serotype c(ingbritt strain) 5.0×10^6 cfu/ml 접종한 후 37°C에서 30rpm으로 진행하면서 24시간 배양하여 인공치태 무게를 측정하고 그 평균치를 구하였다.

대조군은 추출물을 첨가하지 않은 M17 SY(0.1M MOPS) 배지에 *S. mutans*를 접종 배양한 것을 이용하였다. 오미자는 인공치태형성을 약 2.5배 억제시켰으나 고삼은 인공치태형성을 억제하지 못하였다. 그러나 관중은 인공치태형성을 거의 완전하게 억제시켰으며 마두령은 인공치태형성을 1.4배 억제시켰다.

김²¹⁾의 보고에 의하면 *S. mutans* 단독 배양시에는 인공치태 무게가 증가하였다고 하였으나 본 연구에서는 김²¹⁾과 같은 실험방법이었지만 생약 추출물을 첨가하였으므로 추출물에 따라 치태무게가 감소된 것으로 보아 생약 추출물이 인공치태형성을 억제시켰다고 보여진다.

김²²⁾은 자일리톨과 과당을 병합하면 *S. mutans*가 형성한 인공치태 무게는 현저히 감소되었다고 하였으며, 민²³⁾도 현재까지 인체에 위해작용 없이 널리 이용되고 있는 오미자에 대한 연구에서 오미자 추출물이 치아우식증과 치주병의 원인균 성장을 유익하게 억제시켰다고 하였다. 김²⁴⁾도 관중은 항균력이 있다고 보고하였으며, Chlorohexidine과의 비교에서는 다소 떨어지나 차이는 미미하다고 하였다.

이상과 같은 결과를 종합해 볼 때, 생약 추출물인 관중은 치아우식증의 원인균인 *S. mutans*에 강한 항균 활성을 보였으며, 또한 인공치태형성 억제에 대하여도 강한 효과가 있는 것으로 보아 항우식 예방제로 이용할 수 있는 생약 추출물이라고 사료되나 실제 임상실험을 통한 연구가 더 필요하다고 본다.

5. 결 론

본 연구는 천연 생약 추출물에 대한 항균 활성 및 인공치태형성 억제효과를 평가하고자 생약 추출물로 오미자, 고삼, 관중, 마두령을 이용하였다.

이 추출물의 항균 활성을 알아보기 위해 시료를 80% MeOH로 추출하여 5mg, 10mg, 20mg 상당량으로 *S. mutans*에 대한 항균활성을 검정하였다.

또한 추출물의 인공치태형성 억제효과도 알아보기 위해 M17 SY(0.1M MOPS) 배지에 추출물을 0.4%의 농도로 첨가시키고 5.0×10^6 개의 *S. mutans*를 접종한 후 24시간 배양시킨 다음 인공치태의 무게를 측정 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 생약 추출물의 *S. mutans*에 대한 항균력은 관중은 강한 항균활성을 나타내었으나 오미자, 고삼, 마두령은 대조군보다 미미한 차이로 낮게 나타났다.
2. 생약 추출물에 의한 인공치태형성 억제효과는 추출물 0.4% 농도에서 관중이 치태형성을 완전히 억제시켜 가장 우수하였으며 다음으로 오미자, 마두령 순이었고, 고삼은 치태형성을 거의 억제시키지 못하였다.

이상의 결과로 관중은 *S. mutans*에 강한 항균활성을 나타냈으며 또한 인공치태형성 억제에도 효과가 있었다.

참고문헌

1. Harris NO, Garcia-Godog F. Primary preventive dentistry. 5th ed. Connecticut : Appleton & Lange 1995 : 4-5.
2. Hamada S, Koga T, Ooshima T virulence factors of *streptococcus mutans* and dental caries prevention. J Rent Res 1984; 63: 407-411.
3. 이강욱, 이수경, 장기완. 계피추출물이 *mutans streptococci*의 성장과 hydroxyapatite beads에의 부착에 미치는 효과. 대한구강보존학회지 1999; 23(1): 25-33.
4. 유광호, 성진호, 장기완. 느릅나무 뿌리 추출물의 *mutans streptococci*와 *lactobacilli* 균주에 대한 항세균 및 S-HA bead에의 부착 억제효과. 대한구강보존학회지 2000; 24(2): 115-125.
5. 안대진, 박이성, 김미주, 이종철, 신창식, 정기택. 일부 식품 부패성 및 병원성 미생물에 대해 항균활성을 나타내는 생약자원의 검색. 약물작용학회 2000; 8(2): 109-116.
6. 도동선, 이상명, 나민균, 배기환. 충치원생균 *Streptococcus mutans* OMZ 176에 대한 약용 식물 추출물의 항균활성. 생약학회지 2002; 33(4): 319-323.
7. 강인구, 이상철, 정종평, 손성희. 녹차, 몰약, 상백피, 승마 추출물을 함유한 치약의 임상 및 미생물학적 효과에 관한 연구. 대한치주과학회지 1991; 21 : 1-15.

8. 박경일, 최유진. 수중생약함유세치제가 치태 및 치은염에 미치는 영향에 관한 연구. 경희치대 논문집 1996; 18(2): 301-310.
9. 송도원, 양규호, 정진, 오종석. *Streptomyces exfoliatus*가 생성하는 mutanase에 의한 인공치태억제작용. 대한소아치과학회지 1997; 24: 449-455.
10. Moran J, Addy M, Newcornbe R. Comparison of an herbal toothpaste with a fluoride toothpaste on plaque and gingivitis. Clin Prev Dent 1991; 13(3): 12-15.
11. Mullally BH, James JA, Coulter WA, et al. The efficacy of a herbal-based toothpaste on the control of plaque and gingivitis. J Clin Periodontol 1995; 22(9): 686-689.
12. Estafan D, Gultz J, Kaim JM, et al. Clinical efficacy of an herbal toothpaste. J Clin Dent 1998; 9(2): 31-33.
13. 생약학 연구회. 현대생약학. 서울: 학창사, 1998: 500.
14. KWK, Y.S., Kim, M.J., Ahn, D.J., Lee, J.C. Antimicrobial activity of Dryopteris rhizoma against some food spoilage microorganisms. J. Fd Hyg safety 2000; 15: 36-40
15. 한덕룡. 현대생약학. 학창사 1987: 500-501.
16. 이현옥. 고삼추출물의 항우식효과와 세포독성. 대한구강보건학회지 2001; 25(4): 333-344.
17. Hamada S, Slade HD. Biology, immunolohy and cariogenicity of Streptococcus mutans, Microbial Rev 1980; 44: 331-384.
18. 안봉전. 손예량, 이진태. 한국산 약용식물 추출물의 항균력에 관한 연구. Korean J Life Resources & Industry 1999; 4: 46-58.
19. 이만중, 김관필, 김성호, 정낙현, 임무현. 오배자와 포도껍질 추출물의 항균활성에 관한 연구. Korean J Food & Nutr 1997; 10(2): 174-179.
20. Eisenberg AD, Young DA, Fan Hsu J, Spitz LM. Interaction of sanguinarine and actinomyces species. Caries Res 1991; 25: 185-190.
21. 김선미. *Streptococcus Oralis*의 인공치태억제효과에 관한 연구. 전남대학교 대학원 학위논문 1997.
22. 김경희, 정병호, 오종석, 양규호, 자일리톨과 탄수화물의 *Streptococcus mutanns*에 대한 효과. 대한소아치과학회지 2002; 29(4):561-567.
23. 민윤기, 전재규, 김성곤, 장기완. 오미자 추출물이 수종의 구강내 세균의 성장과 hydroxyapatite bead에의 부착에 미치는 효과. 대한구강보건학회지 2001; 25(2): 165-182.
24. 김승남, 구영, 류민철, 함병도, 배기환, 한수부, 정종평, 최상묵. 관주의 항균작용 및 세포독성에 관한 연구. 대한치주과학회지 2000; 30(1): 65-75.

Abstract

Antimicrobial activity and inhibition effect on the artificial dental plaque formation of herbal medicine extract

Min-Jung Cho, Hyang-Nim Lee, Eun-Mi Kim¹

Department of dental Hygiene, Kwang-ju Health college,

¹department of dental Kwang-yang Health College.

Key words: herbal medicine extract, artificial dental plaque, *Streptococcus mutans*

This study was executed to evaluate the effects of natural herbal medicine extract on the antimicrobial activity and the artificial plaque formation. *Schisandra chinensis*, *Sophora flavescens*, *Dryopteris crassirhizoma* and *Aristolochia contorta* were extracted by 80% MeOH respectively and each concentration(5mg, 10mg, 20mg) of herbal medicine extract was tested to show the antimicrobial activity against *S. mutans*. To show the inhibition effect of herbal medicine extract on the artificial dental plaque formation each extract of 0.4% concentration was added into M 17 broth and inoculated with 5.0×10^6 of *S. mutans*. After 24 hour incubation each weight of artificial dental plaque was measured and compared with each other. Results obtained are as follows:

1. *Dryopteris crassirhizoma* showed very intense antimicrobial effect but *Schisandra chinensis*, *Sophora flavescens* and *Aristolochia contorta* showed a little difference against control.
2. Regarding artificial plaque formation inhibiting activity by each herbal extract at 0.4% concentration, *Dryopteris crassirhizoma* showed the perfect inhibition effect. *Schisandra chinensis* and *Aristolochia contorta* followed in order but *Sophora flavescens* showed the worst value. In conclusion, *Dryopteris crassirhizoma* showed strong antimicrobial effect against *S. mutans* and significant inhibiting effect on the artificial dental plaque formation.