

충치원생세균 *Streptococcus mutans* OMZ 176에 대한 약용식물 추출물의 항균활성

도동선¹ · 이상명² · 나민균³ · 배기환^{3*}

¹한올제약 중앙연구소, ²한국생명공학연구원, ³충남대학교 약학대학

Antimicrobial Activity of Medicinal Plant Extracts against a Cariogenic Bacterium, *Streptococcus mutans* OMZ 176.

DongSun Do¹, SangMyung Lee², MinKyun Na³, and KiHwan Bae^{3*}

¹HanAll Pharmaceutical Co., Ltd, Daejeon 400-1, Korea

²Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 305-600, Korea

³College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Abstract – This study was carried out to develop anticariogenic agents from natural products, the methanol and ethyl acetate extracts of 105 medicinal plants were tested for the antimicrobial activity against a cariogenic bacterium, *Streptococcus mutans* OMZ 176. Among them, the *Aristolochia contorta*, *Dryopteris crassirhizoma*, *Eugenia caryophyllata*, *Hemerocallis fulva*, *Pinellia ternata*, *Pyrola japonica*, and *Scrophularia buergeriana* showed significant antimicrobial activity.

Key words – *Streptococcus mutans* OMZ 176; anticariogenic agents; medicinal plants.

구강내에 존재하는 세균인 *Streptococcus mutans*가 충치를 일으킨다는 것이 발견된 이래 충치에 대한 연구가 활발히 진행되어 왔다.^{1,2)} 현재 충치 예방 및 치료에 사용되고 있는 약물들은 효능이 현저히 저하되었거나, 구강점막손상, 장내세균총의 교란 등의 부작용으로 임상적 사용이 어렵게 되고 있다. 즉, penicillin, erythromycin, tetracycline과 같은 항생제는 항균효과 및 collagenase의 작용을 차단하는 등의 효과가 있지만 이러한 약제의 사용은 내성균의 발현, 소화기 장애 및 과민반응 등의 부작용을 나타내고 있으며³⁾ chlorohexidine은 강력한 항균 및 정균작용을 보이나⁴⁾ 치아에 착색을 일으키고 구강점막상피 탈락이나, 궤양 또는 미각장애, 박리 치아에 석회 침착물을 부착시키는 등의 부작용으로 인해 장기간 고농도의 사용은 하지 못하고 있는 실정이다.⁵⁾ 또한, 새로운 예방법의 하나로 백신이나 dextranase 등의 효소이용은 효과가 없어 임상에 응용하지 못하고 있다.⁶⁾ 현재, 충치 예방에는 불소혼입 치약, 충치 치료에는 sealant법에 의존하나 효과적인 충치예방 및 치료법은 아직도 개발되어 있지 않다. 따라서 최근, 생약에서 충치균에 대

한 항균활성 물질을 찾는 연구가 활발히 진행되어 왔다.⁷⁻¹⁰⁾ 생약제제로서는 Sanguinaria,^{11,12)} Magnoliae Cortex, Zizyphi Fructus 등이 치주질환의 치료 및 예방이 가능한 것으로 알려져 있다.^{7,13)} 본 연구에서는 생약 및 자생식물에서 충치원생세균에 보다 강한 항균활성을 가진 화합물을 탐색하기 위하여 105종의 식물자원의 추출물을 이용하여 *S. mutans* OMZ 176에 대한 항균활성을 검색하였다.

실험재료 및 방법

실험재료 및 시약 – 항균실험에 사용된 실험재료는 Agar (Sigma), Nutrient Broth (BBL), Paper Disk (Toyo Seisakusho Co., Ltd)를 사용하였다. 실험에 사용한 균주는 그람 양성균인 *Streptococcus mutans* OMZ 176이며 충남대학교 의과대학에서 분양받아 2주에 한번씩 계대 배양하여 사용하였다. 생약재료는 서울 경동시장에서 구입하여 감정을 받아 본 실험에 사용하였다. 또한 항균실험에 지표물질로 사용한 magnolol은 후박나무로부터 단리하여 사용하였다. 기타 실험에 사용한 시약 및 용매류는 국내외에 시판하는 특급시약을 사용하였다.

*교신저자(E-mail) : baekh@cnu.ac.kr

Table I. Antimicrobial activity of ethyl acetate and methanol extracts of medicinal plants against *Streptococcus mutans* OMZ 176

학명 (생약명)	사용부위	Methanol	Ethyl
		ext.	acetate ext.
		(100 µg/disk)	
<i>Achyranthes japonica</i> (우슬)	Root	+	-
<i>Aconitum carmichaeli</i> (천오)	Tuber	+	-
<i>Alisma orientale</i> (택사)	Tuber	+	+
<i>Alium sativum</i> (대산)	Bulb	-	+++
<i>Aloe katsumadai</i> (노회)	Stem	-	-
<i>Alpinia officinarum</i> (초두구)	Seed	+	++
<i>Alpina officinarium</i> (양강)	Rhizoma	++	++
<i>Althaea rosea</i> (접시꽃)	Root	-	-
<i>Amomum kravanh</i> (백두구)	Fruit	-	-
<i>Anemarrhena asphodeloides</i> (지모)	Rhizoma	-	-
<i>Angelica dahurica</i> (백지)	Root	-	-
<i>Anthriscus sylvestris</i> (전호)	Root	+	-
<i>Areca catechu</i> (빈랑자)	Seed	-	-
<i>Arisaema amurense</i> (천남성)	Rhizoma	+	++
<i>Aristolochia contorta</i> (마두령)	Fruit	+++	++++
<i>Asiasarum sieboldi</i> (세신)	Root	-	-
<i>Asparagus cochinchinensis</i> (천문동)	Tuber	-	-
<i>Aster tartaricus</i> (자원)	Root	+	-
<i>Astragalus membranaceus</i> (황기)	Root	-	-
<i>Atractylodes japonica</i> (백출)	Rhizoma	++	+
<i>Bupleurum falcatum</i> (시호)	Root	-	+
<i>Caragana sinica</i> (골담초)	Root	-	-
<i>Carthamus tinctorius</i> (홍화)	Flower	-	-
<i>Cassia obtusifolia</i> (결명자)	Seed	-	-
<i>Cephalotaxus koreana</i> (개비자)	Leaf	-	-
<i>Chelidonium majus</i> (백굴채)	Herb	++	-
<i>Cimicifuga hercleifolia</i> (승마)	Rhizoma	+++	++
<i>Cnidium officinale</i> (천궁)	Rhizoma	+	+
<i>Crataegus pinnatifida</i> (산사자)	Fruit	-	-
<i>Crucuma zedoaria</i> (봉출)	Rhizoma	-	-
<i>Cynanchum paniculatum</i> (산해박)	Root	-	+
<i>Cyperus rotundus</i> (향부자)	Rhizoma	+	-
<i>Davallia mariesii</i> (골채보)	Rhizoma	-	-
<i>Dianthus sinensis</i> (구맥자)	Fruit	+	+
<i>Dictamnus dasycarpus</i> (백선피)	Root	+	+
<i>Dryopteris crassirhizoma</i> (면마)	Rhizoma	++++	+++

Table I. Contined

학명 (생약명)	사용부위	Methanol	Ethyl
		ext.	acetate ext.
		(100 µg/disk)	
<i>Echinops setifer</i> (절굿대)	Root	-	-
<i>Elsholzia ciliata</i> (향유)	Herb	-	+
<i>Ephedra sinica</i> (마황)	Herb	-	+
<i>Equisetum hyemale</i> (목적)	Herb	+	+
<i>Equisetum arvense</i> (쇠뜨기)	Herb	-	-
<i>Eucommia ulmoides</i> (두충)	Leaf	+	-
<i>Eugenia caryophyllata</i> (정향)	Flower	++	++++
<i>Forsythia koreana</i> (연교)	Fruit	-	-
<i>Fritillaria ussuriensis</i> (패모)	Bulb	-	-
<i>Gardenia jasminoides</i> (치자)	Fruit	-	-
<i>Gastrodia elata</i> (천마)	Rhizoma	++	-
<i>Ginkgo biloba</i> (백과)	Seed	-	+
<i>Hemerocallis fulva</i> (원추리)	Herb	+++	+++
<i>Hemistepta carthamoides</i> (지칭개)	Herb	+	+
<i>Hepatica asiatica</i> (장이세신)	Herb	+++	+
<i>Houttuynia cordata</i> (어성초)	Herb	+	-
<i>Indigofera kirilowii</i> (산두근)	Root	-	-
<i>Inula Britannica</i> (선복화)	Flower	-	-
<i>Ixeris dentate</i> (씀바귀)	Herb	-	-
<i>Juncus effuses</i> (등심초)	Herb	-	-
<i>Kalopanax pictus</i> (해동피)	Root Bark	-	-
<i>Lilium distichum</i> (말나리)	Herb	+	+
<i>Lindera strichnifolia</i> (오약)	Root	+	+
<i>Liriope platyphylla</i> (맥문동)	Tuber	-	-
<i>Lonicera japonica</i> (금은화)	Leaf	-	-
<i>Lycium chinense</i> (구기자)	Fruit	-	-
<i>Lycoris aurea</i> (개상사화)	Rhizoma	-	-
<i>Melandrium firmum</i> (왕불유행)	Herb	-	-
<i>Mentha arvensis</i> (박하)	Herb	-	-
<i>Morus alba</i> (상백피)	Root Bark	++	-
<i>Orotachys japonicus</i> (바위솔)	Leaf	-	-
<i>Paeonia japonicus</i> (백작약)	Root	+	-
<i>Phyllostachys nigra</i> (죽엽)	Leaf	-	-
<i>Phytolacca americana</i> (미국자리공)	Herb	-	-
<i>Penellia ternate</i> (반하)	Tuber	+++	+++
<i>Piper longum</i> (필발)	Fruit	+	+
<i>Plantago asiatica</i> (차전자)	Seed	+	+
<i>Platycodon grandiflorum</i> (길경)	Root	++++	+
<i>Polygonatum sibiricum</i> (황정)	Rhizoma	++	-
<i>Polyporus umbellatus</i> (저령)	Hyppha	-	-

Table I. Continued

학명 (생약명)	사용부위	Methanol	Ethyl
		ext.	acetate ext.
		(100 µg/disk)	
<i>Prunella Vulgaris</i> (하고초)	Herb	+	+
<i>Pulasatilla koreana</i> (백두옹)	Root	-	-
<i>Pyrola japonica</i> (녹수초)	Herb	+++	++++
<i>Raphanus sativus</i> (내복자)	Seed	-	-
<i>Reynoutria elliptica</i> (호장근)	Rhizoma	-	++
<i>Rhemannia glutinosa</i> (건지황)	Root	-	-
<i>Rubus coreanus</i> (복분자)	Fruit	-	-
<i>Sanguisorba officinalis</i> (지유)	Root	-	-
<i>Scilla scilloides</i> (무릇)	Herb	-	-
<i>Scirpus flubiatilis</i> (삼릉)	Rhizoma	-	-
<i>Scrophularia buergeriana</i> (현삼)	Root	+++	+++
<i>Scutellaria baicalensis</i> (황금)	Root	+	++
<i>Sinomenium acutum</i> (방기)	Rhizoma	-	-
<i>Solidago virga-aurea</i> (미역취)	Herb	+	-
<i>Sophora flavescens</i> (고삼)	Root	++	+
<i>Sophora japonica</i> (괴화)	Flower	-	-
<i>Stephanandra incisa</i> (국수나무)	Leaf	+++	-
<i>Strychnos ignatii</i> (보두)	Seed	-	+
<i>Syneilesis palmate</i> (우산나물)	Herb	-	-
<i>Taraxacum platycarpum</i> (민들레)	Herb	-	-
<i>Terminalia chebula</i> (가자)	Fruit	++++	-
<i>Teucrium veronicoides</i> (괘향)	Herb	+++	++
<i>Torreya nucifera</i> (비자)	Herb	+++	++
<i>Tribulus terrestris</i> (백질러)	Fruit	-	-
<i>Viola mandshurica</i> (지정)	Herb	-	-
<i>Vitex rotundifolia</i> (만형자)	Fruit	-	-
<i>Zanthoxylum piperitum</i> (산초)	Fruit	-	-
<i>Zingiber officinale</i> (건강)	Rhizoma	+	+
<i>Zizyphus jujuba</i> (산조인)	Seed	-	-

The antimicrobial activity was represented as followed; -, no inhibitory zone; +, 8.5-11.0 mm; ++, 11.1-13.0 mm; +++, 13.1-15.0 mm; +++++, over 15.1 mm.

시료의 추출 - 건조하여 세말로 만든 생약시료 20 g을 Soxhlet 추출기에 넣고 각각 에틸아세테이트와 메탄올로 각각 12시간 추출한 후 감압건조하여 건조 엑스를 얻었다. 각각의 엑스를 에탄올에 녹여 10 mg/ml 용액을 만들고, 에탄올에 난용성인 엑스는 dimethylsulfoxide에 녹여 사용하였고, 100 µg/disk의 농도로 사용하였다.

항균활성실험 - 각 생약시료의 항균활성도의 측정에는 디스크 확산법을 사용하였다. 즉, *S. mutans* OMZ 176을 실험하기 전에 nutrient agar slant에 접종하여 180 rpm으로 진탕 배양하여 배양균액을 얻었다. 이 배양균액을 550 nm에서 투과도가 10%가 되도록 멸균 생리식염수로 희석하여 희석균액을 만들고, 미리 멸균하여 45°C로 유지시킨 nutrient agar에 이 희석균액을 1% 접종하여 접종용배지로 사용하였다. 10 ml의 nutrient agar basal layer 위에 6 ml의 접종배지를 부은 후 상온에서 응고시켰다. 응고 표면에 약물이 함유된 paper disk(직경 8 mm)를 올려놓고 37°C에서 16시간 배양한 뒤 생장이 억제된 직경을 0.1 mm까지 측정하였다.

결과 및 고찰

105종 생약의 에틸 아세테이트 및 메탄올 추출물의 총치균 *Streptococcus mutans* OMZ 176에 대한 항균활성은 Table I과 같다. 마두령의 에틸아세테이트 및 메탄올 추출액에서 강한 항균활성을 나타내었다. 마두령은 쥐방울(*Aristolochia contorta*)의 건조한 성숙과실로서 종자에는 aristolochic acid와 4급 ammonium alkaloid, magnoflorine 등이 함유되어 있고 그의 물 엑스에는 피부진균에 대하여 상당한 억제작용을 가진다고 알려져 있다. 또한 신선한 마두령의 과실과 잎은 황색포도상구균에 대하여 억제작용이 있는 것으로 보고되어 있으므로^{14,15)} 본 연구의 결과와 일치하였다. 먼마는 관중(*Dryopteris crassirhizoma*)의 뿌리로서 albaspidin, aspidin, flavaspidic acid 등의 phloroglucinol 유도체들을 함유하고 있으며¹⁶⁾ 이의 ethanol 추출물이 항균활성을 가진 것으로 알려져 있으며¹⁷⁾ 본 실험에서도 그의 메탄올 또는 에틸아세테이트 추출물에서 *S. mutans*균에 대하여 강한 항균활성을 나타내었다. 에틸아세테이트 추출물에서 강한 항균활성을 나타내는 정향은 정향나무(*Eugenia caryophyllata*)의 꽃봉오리를 약제로 하며 방향성건위제로서 사용하고 있다. 특히, 정향의 ether 침출액은 *C. albicans*, *Cryptococcus neoformans* 등에 대하여 항균활성을 가지고 있으며 정향의 정유성분중 eugenol 또는 acetyl eugenol은 정향 추출물중 항균활성을 나타내는 주성분으로 알려져 있다.¹⁸⁾ 녹수초는 노루발풀(*Pyrola japonica*)의 전초로서 그의 함유성분인 chimaphlin, 5,8-dihydro-chimaphilin이 암세포에 대하여 강한 세포독성을 나타내고있는 것으로 보고되어 있으며 이러한 naphthoquinone 계 화합물은 대부분 강한 항균활성을 지닌 것으로 알려져 있다.¹⁹⁾ 현삼(*Scrophularia buergeriana*) 및 동속 근연 식물의 뿌리인 현삼도 본 항균 실험에서 비교적 강한 활성을 나타내고 있으며 보고에 의하면 다수의 피부선상균에 대하여 억제효과가 있는 것으로 알려

져 있다.²⁰⁾ 원추리(*Hemerocallis fulva*) 역시 그의 지하부에는 anthraquinone 및 sterol 성분들이 항균작용이 있는 것으로 밝혀져있다.²¹⁾ 그러나 메탄올 및 에틸아세테이트 추출물에서 항균활성을 나타낸 반하는 끼무릇(*Pinellia ternate*) 지하경으로서 이것의 항균활성 물질에 대한 연구 결과는 보고되어있지 않기 때문에 이에 대한 연구가 계속되어야 할 것이다.

이상과 같이 본 실험에서 *S. mutans* OMZ 176 충치원생 세균에 대하여 강한 항균활성을 가지는 *Aristolochia contorta*, *Dryopteris crassirhizoma*, *Eugenia caryophyllata*, *Hemerocallis fulva*, *Pinellia ternate*, *Pyrola japonica* 및 *Scrophularia buergeriana*는 다양한 종의 세균에 대하여 항균 활성을 나타내고 있는것으로 보고 되어있으며, 이상에 언급한 7종의 생약을 비롯한 다수의 생약 추출물들은 한약재라는 특성상 인체에 대하여는 비교적 안전할 것이라 생각된다. 따라서 본 실험에서 나타난 항균활성 생약추출물들은 충치 치료 및 예방 등에 관한 유용성이 크다 할 수 있다. 임상적으로 응용하기 위해서는 구강에 존재하는 많은 세균들에 대한 실험과 분획물 또는 단일물질 수준의 항균실험이 필요 할 것으로 사료된다.

결 론

105종 생약의 ethyl acetate, methanol 추출물 가운데서 충치균 *Streptococcus mutans* OMZ 176에 대하여 강한 항균 활성을 나타내는 생약추출물은 마두령(*Aristolochia contorta*), 관중(*Dryopteris crassirhizoma*), 정향(*Eugenia caryophyllata*), 원추리(*Hemerocallis fulva*), 반하(*Pinellia ternate*), 녹수초(*Pyrola japonica*), 현삼(*Scrophularia buergeriana*) 등이었다.

감사의 말씀

본 연구는 2000년도 충남대학교 약학대학 부속 의약품개발연구소의 학술연구조성비로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. Ellwood, D.C., Baird, J.K., Hunter, J.R., Longyear, V.M.C. (1976) Variations in surface polymers of *Streptococcus mutans*, *J. Dent. Res.*, **55**: 42-45.
2. Inoue, M., Koga, T. (1979) Fractionation and properties of glucans produced by *Streptococcus mutans*. *Infect. Immunity*. **25**: 922-925.

3. Terranova, V.P., Franzetti, L.C., Hic, C. (1986) A biochemical approach to periodontal regeneration; Tetracycline treatment pf dentin promotes fibroblast adhesion and growth. *J. Periodont Res.* **21**: 330-337.
4. Gjerme, P. (1989) Chlorhexidine and related compounds, *J. Dent. Res.* **68**: 1602.
5. Lander, P.E., Newcomb, G.M., Seymour G.J., Powell, R.N. (1986) The antimicrobial and clinical effects of a single subgingival irrigation of chlorhexidine in advanced periodontal lesions. *J. Clin. Periodont.* **13**: 74-80.
6. Staat, R.H., Schatele, C.F. (1974) Evaluation of dextranase production by the bacterium *Streptococcus mutans*, *Infect. Immunity*. **9**: 467-469.
7. Namba, T., Tsunozuka, M., Bae, K.H., Hattori, M. (1981) Studies on dental caries prevention by traditional Chinese medicines. *Shoyakugaku Zasshi.* **35**: 295-302.
8. Namba, T., Tsunozuka, M., Hattori, M., Koda, S., Kikuchi, T. (1982) Studies on dental caries prevention by traditional Chinese medicines, *Proc. Sym. Wakan-Yaku.* **15**: 179-181.
9. Namba, T., Tsunozuka, M., Hattori, M., Koda, S. (1982) Studies on dental caries prevention by traditional Chinese medicines, *Shoyakugaku Zasshi.* **36**: 222-226.
10. Namba, T., Tsunozuka, M., Hattori, M., Koda, S. (1982) Dental caries prevention by traditional Chinese medicines, *Planta Medica.* **44**: 100-103.
11. Kopczyk, R.A., Abramaz, H., Brown, A.T., Mateny, J.L., Kaplan, A.L. (1991) Clinical and microbiological effects of a sanguinaria-containing mouthrinse and dentifrice with and without fluoride during 6 months of use. *J. Periodontol.* **62**: 612-622.
12. Kim, S.W., Lee, J.W., Kim, S J., Moon, H.S., Koo, C.H. (1994) The Effects of Dentifrice Containing Camomile, Dentifrice Containing Sage Oil, Dentifrice Containing Chlorhexidine and Dentifrice Containing Sanguinaria on the Antimicrobial Activity against the Periodontal Pathogens, *J. Kor. Acad. Dent. Health.* **18**: 574-581.
13. Bae, K.H., Oh, H.R. (1990) Snergistic effect of lysozyme on bacterial activity of magnolol and honokiol against a cariogenic bacterium, *Streptococcus mutans* OMZ 176. *Arch. Pharm. Res.* **13**: 117-119.
14. Tan, H G; Liu, Y.Q. (1994) Chemical components of *Aristolochia contorta* Bge, *China Journal of Chinese Materia Medica.* **19**: 677-678.
15. 정보섭, 신민교(1990) 도해향약(생약)대사전(식물편), **743**: 영립사, 서울.
16. 생약학연구회(1998) 현대생약학, 현대생약학, **500**: 학창사, 서울.
17. Kwak, Y.S., Kim, M.J., Ahn, D.J., Lee, J.C. (2000) Antimicrobial activity of *Dryopteris rhizoma* against some food spoilage microorganisms, *J. Fd. Hyg. Safety.* **15**: 36-40.
18. 정보섭, 신민교(1990) 도해향약(생약)대사전 (식물편), **737**:

영림사, 서울

19. Lee, S.M., An, R.B., Min, B.S., Na, M.K., Lee, C.H., Kang, S.J., Maeng, H.Y., Bae, K.H. (2001) A new naphthoquinone from *Pyrola japonica*. *Arch. Pharm. Res.* **24**: 522-523.
20. 정보섭, 신민교(1990) 도해향약(생약) 대사전(식물편), **909**: 영림사, 서울.
21. Sarg, T.M., Salem, S.A., Farrage, N.M., Abdel-Aal, M.M., Atey, A.M. (1990) Phytochemical and antimicrobial investigation of *Hemerocallis fulva* L. grown in Egypt. *Int. J. Crude Drug Res.* **28**: 153-156.

(년 월 일 접수)