

향부자 메탄올 추출물의 *Streptococcus mutans*에 대한 성장, 산생성, 부착 및 비수용성 글루칸 합성 억제에 미치는 영향

유현희 · 서세정¹ · 김연화¹ · 이해연¹ · 이용욱¹ · 전병훈² · 유용욱^{1*}

군산대학교 식품영양학과, 1: 원광대학교 치과대학 구강생화학교실, 2: 원광대학교 한의과대학 병리학교실

Effects of methanol extract of *Cyperus rotundus* on the growth, acid production, adhesion, and insoluble glucan synthesis of *Streptococcus mutans*

Hyeon Hee Yu, Se Jeong Seo¹, Yeon Hwa Kim¹, Hae Youn Lee¹, Yong Wuk Lee¹, Byung Hun Jeon², Yong Ouk You^{1*}

Department of Food and Nutrition, Kunsan National University.

1: Department of Oral Biochemistry, School of Dentistry, Wonkwang University.

2: Department of Oriental Pathology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

Streptococcus mutans (*S. mutans*) is known as the causative bacterial playing the most important role informing plaque and it is being noticed as major causative bacteria of dental caries. Therefore, development of more effective, substantial and safe preventive agent against dental caries and periodontal disease is honestly required. The present study was designed to investigate the effect of *Cyperus rotundus* (Cyperaceae) methanol extracts on the growth, acid production, adhesion, and insoluble glucan synthesis of *S. mutans*. The methanol extract of *C. rotundus* showed concentration dependent inhibitory activity against the growth and acid production of *S. mutans*, and produced significant inhibition at the concentration of 0.5, 1, 2 and 4 mg/ml compared to the control group. The extracts markedly inhibited *S. mutans* adherence to HA treated with saliva, and cell adherence was repressed by more than 50% at the concentration of 0.5 mg/ml and complete inhibition was observed at the concentration of 4 mg/ml. On the activity of glucosyltransferase which synthesizes water insoluble glucan from sucrose, methanol extract of *C. rotundus* showed more than 10% inhibition over the concentration of 2 mg/ml. Thus, the application of *C. rotundus* can be considered a useful and a practical method for the prevention of dental caries.

Key words : *Cyperus rotundus*, dental caries, *Streptococcus mutans*

서 론

치아우식증은 전 세계적으로 널리 만연된, 사람이 치아를 상실하는 대표적인 원인질환으로서 당 섭취 증가와 평균수명이 늘어남에 따라 발생이 증가하는 추세이므로 그 효과적인 관리대책이 절실히 요구되고 있다¹⁻³. 우리나라에서도 치아를 상실하게 되는 원인 중 75.2%가 치아우식증 때문이며^{4,5}, 치아우식증은 한국

인의 구강건강을 악화시키는 중대구강병으로 지적되고 있다. 그러나 치아우식 예방에 대한 일반인들의 인식은 경제성, 마스크의 발달, 구강진료 기술의 발달 및 국민건강보험의 확대 적용 등으로 인하여 상당히 향상되고 있지만 아직도 인식의 개선이 미흡한 실정이다^{6,7}.

치아우식의 주요원인은 젖산에 의한 치아 경조직의 탈회인 것으로 알려져 있다⁷. 기질로부터의 산생산능은 치아우식 유발성 미생물로서 필수적이다. 구강미생물의 산생산능은 세균종 균주에 따라 다르지만, 초기 병소로부터 검출되는 우세 미생물 속에는 *Streptococcus mutans* (*S. mutans*)가 무엇보다 강하다.

* 교신저자 : 유용욱, 약산시 신용동 원광대학교 치과대학 구강생화학교실

E-mail : hope7788@wonkwang.ac.kr, Tel : 063-850-6926

접수 : 2005/01/24 · 수정 : 2005/02/27 · 채택 : 2005/03/22

특히 균체가 밀집하여 증식하고 있는 상태의 치면세균막에서는 보다 빠르게 기질로부터 다양한 산을 생산하여 국소의 pH를 우식임계 pH 5.5이하로 떨어뜨린다^{1,7,8)}. 또한 *S. mutans*가 생산하는 glucosyltransferases (GTFase)는 자당을 기질로 하여 점착성의 비수용성 글루칸을 합성하는 반응을 촉매한다. 이 점착성 비수용성 글루칸은 *S. mutans*를 치면에 부착시켜 다른 미생물을 끌어들이고, 치면에서의 부착, 증식을 가능하게 한다. 또한 치면세균막중에 있어 이 글루칸의 존재는 비수용성으로 조밀하기 때문에 치면세균막으로부터의 산 확산이나 완충작용 등을 가진 타액의 치면세균막내로의 침투에 대한 장벽이 되고, 생산된 산을 국소에 정체시켜 탈회작용을 지속시킴으로써 치아우식을 유발하게 된다⁹⁻¹¹⁾.

치아우식증 예방을 위해 치면세균막 형성의 원인균 퇴치에 penicillin과 erythromycin 같은 항생제가 효과적인 역할을 하는 것으로 보고된 바 있지만, 장기간의 사용시 항생제에 대한 내성이 발생하므로 인해 임상에서 사용되지 못하고 있다¹²⁾. 그 외 불소 화합물의 이용법¹³⁻¹⁶⁾, 불소를 방출하는 여러 장치와 재료¹⁷⁻¹⁸⁾, 몇몇 자동 잇솔질 기구 등¹⁹⁾의 방법들이 개발되어 소개되어 왔다. 그러나, 아직까지도 치아우식이 주요한 치아상실의 원인으로 부각되는 것은 이러한 방법이 충분한 효과를 거두지 못하고 있다는 증거이다. 따라서 보다 효과적이고, 실용적이며, 안정성이 있는 치아우식증 예방법의 개발이 요구되고 있는 실정이다.

향부자 (*Cyperus rotundus* Linne)는 사초과 (莎草科 ; Cyperaceae)에 속하며, 뿌리줄기를 약용으로 사용한다²⁰⁾. 동의보감에 치통, 치주병 및 치은염의 치료에 사용한다고 기록되어 있으며²¹⁾, 또한 신경성 위통, 월경통, 신경통에 쓰이며²²⁻²⁵⁾, 향말라리아, 해열, 진통, 향말라리아, 항염증 효과도 있다²⁶⁻²⁹⁾고 한다. 향부자는 1% 정도의 정유를 함유하며 주성분으로는 α -cyperone, β -cyperone, α -cyperol, β -cyperol, cyperene 이며 β -pinene, camphene, 1,8-cineole, limonene, selinatriene, β -selinene, patchoulenone, α -rotunol, β -rotunol, copadiene, epoxyguaine, cyperolone, rutundone, kobusone limonene, selinatriene, patchoulenone, copadiene, epoxyguaine, eypepolone, rutundone, kobusone, hydrocarbons (-)-isorotundene, (-)-cypera-2,4(15)-diene, (-)-norrotundene, (+)-cyperadione 등과 sesquiterpene, triterpenes, alkaloids, flavones을 함유하고 있는 것으로 보고되었다³⁰⁻³²⁾. 그러나 아직까지 향부자가 치면세균막 형성의 원인균인 *S. mutans*에 미치는 영향에 대한 과학적인 실험 결과는 보고가 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 향부자의 메탄을 추출물의 *S. mutans*의 성장과 산 생성 억제 효과, S-HA에 대한 부착억제와 비수용성 글루칸 합성 억제를 관찰하여 보고하고자 한다.

실험재료 및 방법

1. 연구재료

1) 향부자 추출물 준비

향부자는 익산시 대학한약국에서 구입한 후 냉암소에 보관하여 사용하였다. 건조하여 세절한 향부자 600g 을 메탄을 3L로

상온에서 3일간 2회 추출하여 메탄을 추출물을 45.43g (7.57%) 을 얻었다.

2) 균주 및 배양

본 실험에 사용한 균주는 *Streptococcus mutans* ATCC 25175 로 Brain heart infusion (BHI, Difco, USA) 액체배지에 1-2차 계대배양 후 같은 배지에 식균하여 37 °C의 항온기에서 24시간 배양하여 사용하였다.

2. 연구방법

1) *S. mutans*의 성장과 산생성 억제 실험

1%의 glucose가 들어 있는 BHI 액체배지에 향부자 메탄을 추출물을 첨가한 후 균을 1×10^8 CFU/ml이 되게 접종하였다. 37 °C의 항온기에서 24시간 배양한 후 BHI 액체배지를 기준으로 ELISA reader (Molecular Devices Co., CF., U.S.A.)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였으며, pH meter (ORIONSA 720, U.S.A.)를 이용하여 pH를 측정하여 산 생성 억제 효과를 관찰하였다. 대조군은 향부자 추출물을 넣지 않고 시행하였다.

2) 타액준비

타액은 건강한 성인 남자로부터 파라핀왁스로 자극하여 분리된 것을 냉각된 비이커에 채취한 다음, 채취된 타액은 원심분리 (12,000 rpm, 4 °C, 15분)하여 상청액을 취한 다음, 분해효소를 불활성화시키기 위하여 60 °C에서 30분간 처리한 후, -20 °C에 보관하면서 사용하였다.

3) S-HA에 부착 억제 실험

Hydroxyapatite beads (Bio-Rad Lab., U.S.A.) 30mg을 증류수로 5회 세척하여 작은 입자를 제거한 후 37 °C에서 건조시켜 사용하였다. 건조된 hydroxyapatite bead 30mg을 1ml의 타액으로 37 °C에서 60분간 처리하여 타액을 bead에 코팅시켰다. 그 후 S-HA를 0.1 M potassium phosphate buffer (KPB, pH 7.0)으로 3회 세척한 후 향부자의 메탄을 추출물을 각각의 농도별로 넣고, *S. mutans*를 1×10^7 CFU/ml이 되게 넣은 다음 37 °C의 흔들리는 배양기에서 90분 동안 S-HA에 부착시켰다. 그 후 0.1 M KPB (pH 7.0)로 3회 세척한 후 초음파 장치 (50W, 30초)를 이용해 S-HA에 부착된 균을 떨어지도록 하였다. 그 다음 균액을 회석하여 Mitis salivarius agar plate (Difco Laboratories, U.S.A.)에 도말하여 37 °C 항온기에서 24시간 동안 배양시켜 집락수를 세었다. 대조군은 향부자 메탄을 추출물을 넣지 않고 시행하였다.

4) Glucosyltransferase (GTFase)의 준비

다음과 같은 방법으로 GTFase를 얻는다. *S. mutans*를 BHI 액체배지 2L에 배양한 후, 원심분리 (15,000 rpm, 4 °C, 20분)하여 상청액을 취한 후 60~70% ammonium sulfate를 넣은 후 다시 원심분리 (15,000 rpm, 4 °C, 20분)하여 단백질을 가라앉혔다. 이 단백질을 0.1 M KPB (pH 6.0)을 4시간마다 바꾸어주며, 4°C에서 24시간동안 투석시킨 후 냉동보관 (-80 °C)하였다가 사용하였다.

5) GTFase에 의한 비수용성 글루칸 합성 억제능 검사

0.04% sodium azide를 첨가한 0.4 M KPB (pH 6.0)을 0.25 ml 취하여, 0.25 ml의 0.4M 자당용액, 0.25 ml의 각 농도별 독활

메탄올 추출물을 넣고, GTFase를 넣어 최종 1 ml이 되게 하였다. 37 °C에서 18시간 배양한 후 증류수로 세척한 후 글루칸을 떼어 내기 위하여 초음파장치 (40W, 4초)를 이용하였다. 그 후 5% phenol을 1 ml, 진한 H₂SO₄를 5 ml 넣어준 후 30분간 반응시킨 후 ELISA reader (Molecular Devices Co., CF., U.S.A.)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 시험물질을 넣지 않은 군을 대조군으로 하였다.

3. 통계처리

실험은 모두 3회 반복하였으며, 억제비율은 [(대조군-실험군)/대조군]×100의 식을 이용하여 계산하였다. 얻은 결과는 통계 프로그램인 SPSS (ver 10.0) 를 사용하여, 평균과 표준편차로 제시하였으며, α=0.05 수준에서 실험군과 대조군의 평균치를 independent sample t-test로 유의성을 검증하였다.

실험성적

1. 향부자의 메탄올 추출물의 *S. mutans* 성장억제에 미치는 효과

향부자 메탄올 추출물의 *S. mutans*에 대한 항균 활성을 관찰하기 위하여 BHI 액체배지에 향부자의 메탄올 추출물을 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml의 농도로 첨가한 후, *S. mutans*를 접종하여 37 °C 항온기에서 24시간 배양한 후 흡광도를 측정하였다. 결과는 Fig. 1과 같다. 향부자 추출물을 넣지 않은 대조군에서 0.560±0.017 흡광도를 나타내었다. 그런데, 0.25 mg/ml 농도에서 메탄올 추출물은 0.337±0.248 흡광도를 나타내고, 0.5 mg/ml 농도에서는 0.022±0.002, 1 mg/ml 농도에서는 0.015±0.005, 2 mg/ml에서는 0.007±0.003, 4 mg/ml에서는 0.007±0.004을 나타내었다. 0.5 mg/ml 이상 농도에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 차이를 나타내었으며 (p<0.05), 대조군에 비하여 각각 40%, 96%, 97%, 99%, 99%의 성장억제 효과를 보였다.

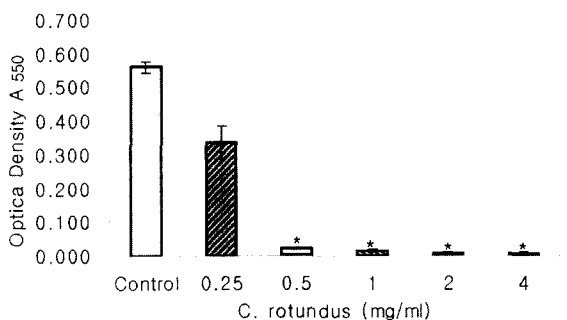


Fig. 1. The optical density of *Streptococcus mutans* by various concentrations of methanol extract of *Cyperus rotundus*. The optical density of A550 were read by a spectrophotometer. *p<0.05 was statistically significant as determined by independent sample t-test for the mean values different from the control group.

2. 향부자 메탄올 추출물의 *S. mutans* 산 생성 억제에 미치는 효과

향부자 메탄올 추출물 첨가에 따른 *S. mutans*에 의한 유기산 생성 억제 효과를 알아보기 위해 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 농도의 시료에 *S. mutans*를 접종하여 24시간 배양 후에 pH meter로 pH

를 측정하고, 결과를 Table 1과 같다. 향부자 추출물을 넣지 않은 대조군에서 pH는 5.05±0.07을 나타내었다. 메탄올 추출물은 0.25 mg/ml농도에서 5.44±0.15, 0.5 mg/ml농도에서는 6.72±0.13, 1 mg/ml농도에서는 6.86±0.01, 2 mg/ml농도에서는 6.85±0.06, 4 mg/ml농도에서는 6.98±0.14로, 0.5 mg/ml 이상 농도에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다 (p<0.05).

Table 1. The pH of *Streptococcus mutans* by the various concentrations of methanol extract of *Cyperus rotundus*

Conc.(mg/ml)	pH
Control	5.05±0.07 ¹⁾
0.25	5.44±0.15
0.5	6.72±0.13*
1	6.86±0.01*
2	6.85±0.06*
4	6.98±0.14*

1) Value represent the Mean±SD obtained from triplicate experiment *p<0.05 was statistically significant as determined by independent sample t-test for the mean values different from the control group

3. 향부자 메탄올 추출물의 S-HA 부착 억제에 미치는 효과

향부자 메탄올 추출물이 S-HA에 *S. mutans* 부착 억제 효과가 있는지 알아본 결과 (Fig. 2) 대조군은 750±1.2 (×10⁴) CFU/ml이었으며, 메탄올 추출물 0.25 mg/ml 농도에서는 748±90.7 (×10⁴) CFU/ml, 0.5 mg/ml 농도에서는 403±74.5 (×10⁴) CFU/ml, 1 mg/ml 농도에서는 248±89.7 (×10⁴) CFU/ml, 2 mg/ml 농도에서는 80±11.0 (×10⁴) CFU/ml, 4 mg/ml 농도에서 34±9.0 (×10⁴) CFU/ml로 0.5 mg/ml 이상 농도에서 대조군에 비하여 부착하는 균 수가 유의하게 적어졌으며 (p<0.05), 대조군에 비해 각각 1%, 46%, 67%, 89%, 95%의 부착억제율을 보였다.

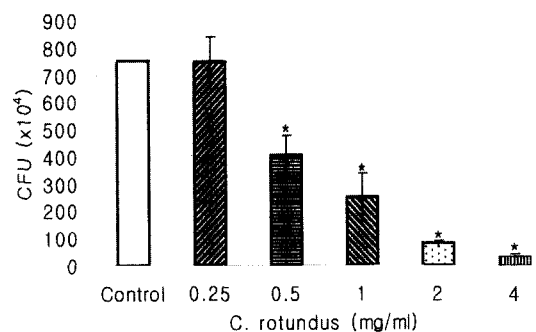


Fig. 2. The colony forming unit (CFU) of *Streptococcus mutans* to the 30 mg saliva-coated hydroxyapatite beads by various concentrations of methanol extract of *Cyperus rotundus*. *p<0.05 was statistically significant as determined by independent sample t-test for the mean values different from the control group.

4. 향부자 메탄올 추출물의 GTFase에 의한 비수용성 글루칸 합성 억제에 미치는 효과

향부자의 추출물이 비수용성 글루칸 합성 저해 효과가 있는지 알아본 결과는 Fig. 3과 같다. 메탄올 추출물은 대조군에 비해 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 각각의 농도에서 96.7±8.6 %, 94.3±9.1 %, 92.3±10.3 %, 86.3±1.2 %, 69.3±2.3 %의 생성율을 보여, 2 mg/ml 농도 이상에서 대조군과 유의한 차이를 보였다 (p<0.05).

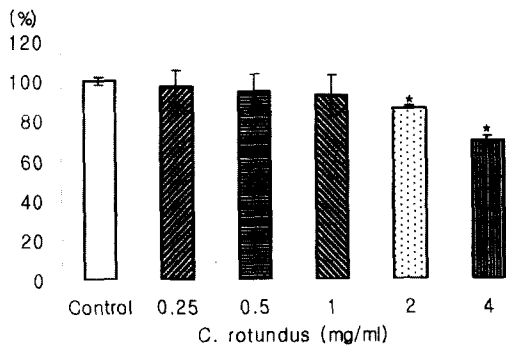


Fig. 3. Rate of loss insoluble glucan of *Streptococcus mutans* by the various concentrations of methanol extract of *Cyperus rotundus*. *p<0.05 was statistically significant as determined by independent sample t-test for the mean values different from the control group.

고찰

치아우식증의 주된 원인은 치은연상 및 치은연하 치면세균막에 의하여 유발되는데, 치면세균막에는 많은 함량의 미생물이 존재하는 것으로 알려져 있다. 치면세균막내 미생물은 당질을 대사하여 유기산을 형성함으로써 치아의 경조직을 파괴하고, 미생물에 대한 인체의 염증 반응은 치주병을 유발하는 것으로 보고된 바 있다. *S. mutans*는 치면세균막형성에 가장 중요한 역할을 하는 원인균으로 알려져 있으며, *S. mutans*는 치아우식을 일으키는 주요 원인균으로 주목 받고 있다^{6,8}). 이에 본 연구에서는 전통적으로 치과 질환에 쓰여온 향부자를 메탄올로 추출한 후 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 농도별 시료에 대한 *S. mutans*에 대한 성장억제 효과를 관찰한 결과 *S. mutans*의 성장이 대조군에 비해 메탄올 추출물 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 농도에서 각각 40%, 96%, 97%, 99%, 99%의 성장억제 효과를 나타내었다. 또한, 향부자 메탄올 추출물을 넣지 않은 대조군에서 pH는 5.05±0.07을 나타내었으나, 메탄올 추출물 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 농도에서, 각각 5.44±0.15, 6.72±0.13, 6.86±0.01, 6.85±0.06, 6.98±0.14을 나타내어 0.5 mg/ml 이상에서는 우식임계 pH 5.5를 넘어서 *S. mutans*에 의한 유기산 생성을 억제하였음을 보여주었다.

각 농도별 향부자 메탄올 추출물이 치아표면의 세균 부착을 억제하는지 알아보기 위해 S-HA에 대한 부착억제 효과를 확인한 결과 대조군에서는 750±1.2 (×10⁴) CFU/ml이 부착한 반면, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 각각의 농도에서는 748±90.7 (×10⁴) CFU/ml, 403±74.5 (×10⁴) CFU/ml, 248±89.7 (×10⁴) CFU/ml, 80±11.0 (×10⁴) CFU/ml, 34±9.0 (×10⁴) CFU/ml 부착을 보여, 대조군에 비해 각각 1%, 46%, 67%, 89%, 95%의 부착억제율을 보여 0.5 mg/ml 이상으로 첨가한 군에서 유의한 차이를 볼 수 있었다. GTFase에 의한 비수용성 글루칸 형성을 향부자가 억제하는지 알아본 결과 향부자 메탄올 추출물을 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 농도로 첨가한 군은 대조군에 비해 각각 96.7±8.6%, 94.3±9.1%, 92.3±10.3%, 86.3±1.2%, 69.3±2.3%의 생성율을 보여, 2 mg/ml 이상에서 대조군 보다 유의하게 적었다 (p<0.05).

이상의 결과를 종합해 보면, 향부자의 메탄올 추출물은 농도

의존적으로 *S. mutans*의 성장 억제, 유기산의 생성 억제, S-HA에 대한 부착억제, 비수용성 글루칸 합성 억제에 효과가 있으며, 특히 향부자의 메탄올 추출물은 0.5 mg/ml 이상의 농도에서는 *S. mutans*의 성장 억제, 유기산의 생성 억제, S-HA에 대한 부착억제에 모두 효과적임을 알 수 있었다. 이에, 앞으로 향부자의 어떤 구성성분이 어떤 효과를 나타내는지에 대해서 순수정제 과정을 거쳐 연구가 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

결론

치아우식 예방제를 개발하기 위해 천연물인 향부자를 메탄올로 추출하여 *S. mutans*의 성장과 산 생성 억제 효과, S-HA에 대한 부착억제와 비수용성 글루칸 합성 억제를 측정하고 다음과 같은 결과를 얻었다. *S. mutans*의 성장억제율이 향부자 추출물은 넣지 않은 대조군에 비해 메탄올 추출물은 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 농도에서 대조군에 비하여 각각 40%, 96%, 97%, 99%, 99%로 0.5 mg/ml 이상의 농도에서 대조군과 유의한 차이를 보여 *S. mutans* 성장억제 효과를 나타내었다 (p<0.05). *S. mutans*의 산 생성량은 대조군에서 pH는 5.05±0.07이었고, 향부자 메탄올 추출물 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 첨가군에서, 각각 5.44±0.15, 6.72±0.13, 6.86±0.01, 6.85±0.06, 6.98±0.14로 0.5 mg/ml 이상의 농도에서 우식 임계 pH 5.5보다 높아 산 생성 억제 효과를 보였다 (p<0.05). S-HA에 *S. mutans* 부착율이 향부자의 메탄올 추출물 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 농도에서 대조군에 비해 각각 1%, 46%, 67%, 89%, 95%의 부착억제율을 보여 0.5 mg/ml 이상의 농도에서 대조군과 유의한 차이를 보였다 (p<0.05). GTFase에 의한 비수용성 글루칸 정량 실험을 한 결과 대조군에 비해 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 농도에서 각각 6.7±8.6%, 94.3±9.1%, 92.3±10.3%, 86.3±1.2%, 69.3±2.3%의 생성율을 보여, 2 mg/ml 이상에서 대조군 보다 유의하게 감소하였다 (p<0.05).

이상의 결과를 토대로 하여 볼 때, 향부자 메탄올 추출물은 *S. mutans*의 성장 억제, 유기산의 생성 억제, S-HA에 대한 부착억제, 비수용성 글루칸 합성 억제에 효과가 있으므로, 향부자우식 효과를 기대할 수 있을 것으로 보인다.

감사의 글

이 논문은 2004년도 한국과학재단의 지원에 의하여 연구되었음 (R08-2004-000-10287-0).

참고문헌

- Asikaine, S., Alausua, S. Bacteriology of dental infections. Eur Hear J 14, 43-50, 1993.
- Tanzer, J.m. Essential dependence of smooth surface caries on and augmentation of fissure caries by sucrose and *Streptococcus mutans* infection. Infect Immuno 25, 5226-531, 1979.

3. HANada, N. Current understanding of the cause of dental caries. *Jpn J Infect Dis* 53, 1-5, 2000.
4. 보건복지부. 2003년 구강보건사업안내. 2003.
5. 노연기, 문혁수, 백대일, 김종배. 한국사람 치아발거원인 비중에 관한 조사연구. *대한구강보건학회지* 22(3), 183-193, 1998.
6. 김종배, 최유진. *공중구강보건학*. 서울: 고문사. 68-84, 1991.
7. 장선일, 이현욱, 김강주. *구강면역학*. 익산: 대학사. 216-231, 1998.
8. 김영권, 한만덕. *구강미생물학*. 서울: 고문사. 261-262, 1998.
9. Wenham, D.G., Davies, R.M., Cole, J.A. Insoluble glucan synthesis by mutansucrase as determinant of the cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *J Gen Microbiol* 127, 407-415, 1981.
10. Inieue, M., Koga, T., Sato, S., Hamada, S. Synthesis adherent insoluble glucan by the concerted action of the two glucosyltransferase components of *Streptococcus mutans*. *FEBS Lett* 143, 101-104, 1982.
11. Koga, T., Hamada, S., Murakawa, S., Endo, A. Effect of a glucosyltransferase inhibitor on glucan synthesis and cellular adherence of *Streptococcus mutans*. *Infect Immun.* 38(3), 882-886, 1982.
12. Tsuneno, N., Masa, T., Masao, H. Dental caries prevention by traditional chinese medicines. *Plant Med* 44, 100-106, 1982.
13. Svanberg, M., Rolla, G. *Streptococcus mutans* in plaque and saliva after mouthrinsing with SnF2. *Scand J Dent Res* 90, 292-298, 1982.
14. Svanberg, M., Westergren, G. Effect of SnF2 administered as mouthrinse or topically applied, on *Sterptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* and lactobacilli in dental plaque and saliva. *Scand J Dent Res* 9, 123-129, 1983.
15. Zimmer, S., Barthel, C.R., Koehler, C., Roulet, J.F. Enamel fluoride retention after application of fluoride-containing rubber cups. *Am J Dent* 15(1), 11-14, 2002.
16. 황충주, 입선아. NaF 0.05%양치액 사용시 고정성 교정장치 장착 환자에서의 *Streptococcus mutans*변화에 관한 연구. *대치교정지* 27, 539-548, 1997.
17. Gwinnet, A.J., Ceen, R.F. Plaque distribution on bonded bracket: a scanning microscope study. *Am J Ortho* 75, 667-667, 1979.
18. Wilson, T.G., Gregory, R.L. Clinical effectiveness of fluoride-releasing elastomers. I: Salivary *Streptococcus mutans* numbers. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 107(3), 293-297, 1995.
19. Boyd, R.L., Murray, P., Robertson, P.B. Effect of rotaryelectric toothbrush versus manual toothbrush on periodontal status during orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 96, 342-347, 1989.
20. 김정수. 표준 본초학. 서울: 진명출판사. p 428, 1975.
21. 허준 편. *원저 동의학 연구소 역. 동의보감*. 서울: 여강 출판사. 838-841, 1994.
22. 박종희 외. *간명 생약학*. 서울: 계축문화사. p 29, 1993.
23. 전국한의과대학 본초학 교수. *본초학*. 서울: 영림사. p 355, 1998.
24. 김창민 외. *중약대사전*. 서울: 정담. 6124-6130. 1998.
25. *생약학 연구회. 개정판 현대 생약학*. 서울: 한국 학습 교재사. p 338, 1985.
26. Gupta, M.B., Palit, T.K., Singh, N., Bhargava, K.P. Pharmacological studies to isolate the active constituents from *Cyperus rotundus* possessing anti-inflammatory, anti-pyretic and analgesic activities. *Indian J Med Res* 59(1), 76-82, 1971.
27. Thebtaranonth, C., Thebtaranonth, Y., Wanauppathamkul, S., Yuthavong, Y. Antimalarial sesquiterpenes from tubers of *Cyperus rotundus*: structure of 10,12- peroxycalamenene, a sesquiterpene endoperoxide. *Phytochemistry* 40(1), 125-128, 1995.
28. Weenen, H., Nkunya, M.H., Bray, D.H., Mwasumbi, L.B., Kinabo, L.S., Kilimali, V.A. Antimalarial activity of Tanzanian medicinal plants. *Plant Med.* 56(4), 368-370, 1990.
29. Seo, W.G., Pae, H.O., Oh, G.S., Chai, K.Y., Kwon, T.O., Yun, Y.G., Kim, N.Y., Chung, H.T. Inhibitory effects of methanol extract of *Cyperus rotundus* rhizomes on nitric oxide and superoxide productions by murine macrophage cell line, RAW 264.7 cells. *J Ethnopharmacol* 76(1), 59-64, 2001.
30. You-Ping Zhu. *Chinese Materia Medica : Chemistry, Pharmacology and Applications*. Harwood academic publisher 384-386, 1998.
31. Sonwa, M.M., Konig, W.A. Chemical study of the essential oil of *Cyperus rotundus*. *Phytochemistry.* 58(5), 799-810, 2001.
32. Jeong, S.J., Miyamoto, T., Inagaki, M., Kim, Y.C., Higuchi, R. Rotundines A-C, three novel sesquiterpene alkaloids from *Cyperus rotundus*. *J Nat Prod* 63(5), 673-675, 2000.