

## 들깨잎과 쑥 추출물의 구강병 원인균에 대한 항균 및 KB 세포 증식 억제효과

조민정<sup>†</sup> · 민경진

계명대학교 공중보건학과

## Anti-microbial Activities Against Oral Microbes and Growth-Inhibitory Effect on Oral Tumor Cell of Extracts of *Perilla* and *Mugwort*

Min Jung Jo<sup>†</sup> · Kyung Jin Min

Department of Public Health, Keimyung University

(Received February 16, 2007/Accepted April 18, 2007)

### ABSTRACT

Methanol extracts of *Perilla* and *Mugwort* were stepwise extracted with hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol and water. Anti-microbial activities and inhibitory effect on growth of oral tumor cell of each extract were investigated. Each extracts of *Perilla* and *Mugwort* were investigated to anti-microbial effects on oral microbes by means of agar diffusion method and MIC. These results suggest that the hexane extracts of *Perilla* and *Mugwort* have antimicrobial activities against *S. mutans* and potent inhibitory Effect to KB cell growth.

**Keywords:** *Perilla*, *Mugwort*, oral microbes, anti-microbial activity, KB cell

### I. 서 론

우리나라의 국민구강건강실태조사 중 구강건강을 위하여 해결되어야 할 중요도에서 1위 치아우식증, 2위 치주질환으로 보고되고 있다.<sup>1)</sup> 따라서 치아우식증과 치주질환으로 치아를 잃게 되는 경우를 예방 한다면 구강건강 증진에 큰 도움이 될 것이다.

치아우식증은 치면세균막내 세균 중에서도 *Streptococcus mutans*(*S. mutans*)가 주 원인균으로 알려져 있다.<sup>2)</sup> 치주질환은 흑색집락형성 그람 음성 혐기성세균이 주 원인균이라고 밝히고 있으며, 그 중에서도 *Porphyromonas gingivalis*(*P. gingivalis*)는 치주염, 특히 성인형 치주염과 깊은 연관성이 있는 것으로 보고되고 있다.<sup>3-5)</sup> 또한, *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*)는 치과치료 후의 병원성 감염을 유발하는 주요 원인균으로 치과치료 후 발생하는 심내막염, 균혈증, 복막

염 그리고 연조직 감염 등에 이 균이 깊이 관여하고 있는 것으로 보고되고 있다.<sup>6,7)</sup>

최근 구강암의 발생율은 전체 악성 종양의 약 3~5%에 해당되며, 구강암의 90% 이상이 구강편평상피암세포로 보고되고 있다.<sup>8,9)</sup> 치료는 크게 수술요법, 방사선요법, 약물요법 등으로 구분될 수 있지만, 이런 화학요법에 사용되는 항암제는 많은 발전에도 불구하고 독성문제 및 부작용을 해결하지 못하고 있다.<sup>10,11)</sup>

구강병 원인균을 억제시키려는 목적으로 항생제, chlorohexidine, 불소함유제 등을 많이 사용하고 있지만, 항생제 내성 및 불소와 chlorohexidine에 대한 부작용이 보고되고 있다.<sup>12,13)</sup> 이에 최근 천연물을 이용한 구강병 원인균 억제제 및 항암제 개발에 관심이 높아지고 있으며, 많은 연구가 진행되고 있다.<sup>14)</sup> 그러나 들깨와 쑥을 이용한 구강병 원인균에 대한 연구는 미흡한 현실이다.

들깨잎(*Perilla frutescens* var. *japonica* Hare, 이하 *Perilla*)은 꿀풀과(*Labiatae*)에 속하는 일년생 초본 식물로서 한방에서는 강장, 소화, 해독, 음증 및 옷의 해독 등에 사용되고 있다.<sup>15)</sup> 쑥(*Artemisia princeps*

<sup>†</sup>Corresponding author : Department of Public Health, Keimyung University  
Tel: 82-53-580-5229, Fax: 82-53-580-5469  
E-mail : kim422@kmu.ac.kr

*Pampanini*, 이하 *Mugwort*)은 한국에서 자생하는 야생 식물로 번식력이 강한 국화과(*Compositae*)의 다년생 식물로서 식용 또는 약용으로 많이 사용되고 있으며, 한 방에서는 기혈을 다스리고 한습을 몰아내며 온경, 지혈, 안태의 효능이 있으며, 복부의 냉증에 의한 통증, 설사전근, 토혈, 하혈, 월경불순의 치료에 효과가 있는 것으로 알려져 있다.<sup>16)</sup>

이 연구는 들깨잎(*Perilla*)과 쑥(*Mugwort*)의 메탄올 추출물을 분획 추출하여 구강병 원인균에 대한 항균효과 및 KB 세포 증식 억제효과를 조사하여 그 결과를 보고하고자 한다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험 재료

이 실험에 사용한 쑥(잎)은 대구 약령시 한약재상에서 건조 상태의 것을 구입하여 사용하였으며, 들깨(잎)는 재래시장에서 구입하여 건조 후 사용하였다.

### 2. 기기 및 시약

실험에 사용한 기기로는 rotary vacuum evaporator (Eyela, N-1000, Japan), CO<sub>2</sub> incubator (Sanyo, MCO-17 AIC, Japan), Anaerobic chamber (Forma Anaerobic System 1025 (Thermo)) incubator (Sanyo, MIR-153, Japan), ELISA reader (Molecular Device, SpecTRA MAX 340, Austria), microplate shaker (FINEPCR, SH30, Korea), high centrifuge (Hanil, Supra22K, Korea) 등이었고, 그 외 실험실에서 사용하는 일반기구들을 사용하였다.

시료의 추출 및 분획에 사용된 용매로써 methanol, n-hexane, chloroform, ethyl acetate 및 n-butanol은 J. T. Baker사(USA)의 특급시약을 사용하였으며, dimethyl sulfoxide(DMSO), Brain Heart Infusion broth, Brain Heart Infusion agar, Mitis Salivarius agar, Muller

Hinton broth, Muller Hinton agar, Trypticase Soy broth(TS broth), Trypticase Soy agar(TS agar) 등은 Difco사(U.S.A) 제품을 사용하였다. 세포배양에 사용된 RPMI1640 with L-glutamine(300 mg/l), 25 mM HEPES and 25 mM NaHCO<sub>3</sub>, fetal bovine serum은 Gibco BRL사(USA)의 특급시약을 사용하였고, MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide] solution은 Sigma사(U.S.A), 그 외 시약은 특급 이상을 사용하였다.

### 3. 시료의 추출 및 분획

#### 1) 메탄올 추출

분쇄한 각 시료에 10배량(w/v)의 80% methanol을 가하여 24시간씩 3회 정치하여 추출하고, 추출액은 여과지(Adventec toyo2, Japan)를 사용하여 2회 감압 여과하고 rotary vacuum evaporator로 농축하였다. 이를 동결건조 후 dry keeper에 보관하여 사용하였다.

#### 2) 메탄올 추출물의 용매분획

메탄올 추출물의 용매분획은 항균성 검색에서 항균활성이 가장 높게 나타난 들깨와 쑥 추출물을 일정량의 증류수를 가하여 현탁시킨 후 증류수와 동량의 n-hexane을 가하여 진탕하고 방치한 다음 분획 후 농축하여 n-hexane 분획을 얻었다. 남아있는 수층을 이와 같은 방법으로 chloroform, ethyl acetate 및 n-butanol을 첨가하여 순차 분획한 후 농축하였고, 남은 수층은 농축하여 물 분획으로 하였다. 위 시료들은 동결건조 후 dry keeper에 보관하며 사용하였다.

### 4. 항균성 시험

#### 1) 사용균주 및 배지

이 실험에 사용한 균주들은 *S. mutans* KCTC 5316, *P. gingivalis* KCTC 5352, *S. aureus* KCTC 1927로 한국생명공학연구소로부터 분양받아 사용하였다.

Table 1. Bacterial strains and growth condition

Bacterial strains	Character	Growth conditions	Medium
<i>Streptococcus mutans</i> KCTC 5316	Gram(+) Anaerobes	37°C Anaerobic chamber (CO <sub>2</sub> 10%)	Brain Heart Infusion Broth Mitis Salivarius Agar (1% potassium tellurite, 0.2 unit bacitracin)
<i>Porphyromonas gingivalis</i> KCTC 5352	Gram(-) Anaerobes	37°C Anaerobic chamber (CO <sub>2</sub> 10%, N <sub>2</sub> 85%, H <sub>2</sub> 5%)	Trypticase Soy Broth Trypticase Soy Agar (TSA+ 10.0 ml/(final)hemin solution + 10.0 ml/( final) menadione solution + 5% blood)
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1927	Gram(+) Aerobes	37°C incubator	Muller Hinton Broth Muller Hinton Agar

2) 디스크 확산법

시료의 항균성 검색은 paper disk(φ6 mm)를 이용한 agar diffusion법<sup>17,18)</sup>으로 실험하였다. Agar plate에 미리 배양한 균 배양액을 McFarland No. 0.5 농도가 되게 희석시킨 후 멸균 면봉으로 도말하고 추출물을 DMSO에 용해한 후 paper disk에 30 μl를 흡수시켜 건조시켰다. 용매를 완전히 휘발시킨 다음 agar plate 표면에 paper disk를 놓아 밀착시키고 멸균수 20 μl로 확산시켰다. 배양기에서 24~48시간 배양한 후, disk 주위의 inhibition zone(mm)의 직경을 측정하였다.

3) 액체배지희석법

들깨와 쑥 핵산 추출물의 최소성장억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC)를 측정하기 위해 액체배지희석법<sup>16)</sup>을 이용하였다. 96-microwell plate에 broth를 분주한 후 시료 최고농도에서 연속적으로 단계 희석하였다. 균 배양액을 McFarland No. 0.5 농도가 되게 희석한 후, 다시 100배 희석한 균액을 각 well에 분주하여 배양기에서 24시간 배양한 후, 균의 증식이 없는 농도를 최소성장억제농도로 하였다.

4) 농도에 따른 성장 억제효과

Broth에 시료 최고농도 1.0 mg/ml에서 최저농도 0.004 mg/ml까지 단계 희석한 시료를 첨가하였다. 균 배양액을 McFarland No. 0.5 농도가 되게 희석한 후, 다시 100배 희석한 균액을 각 well에 분주하여 배양한 다음 ELISA reader를 사용하여 625 nm에서 흡광도를 측정하여 성장변화를 관찰하였다.

5. KB 세포 증식 억제효과 측정

1) 세포주 및 배양조건

세포 증식 억제효과를 측정하기 위하여 사용된 세포는 인체 구강편평상피암주인 KB cell(KCLB 10017, Korean Cell Line Bank)이었으며, 한국 세포주 은행으로부터 분양받아 사용하였다. 세포 배양은 10% fetal bovine serum과 1% antibiotics(penicillin/streptomycin)를 함유한 RPMI 1640 with L-glutamine(300 mg/l), 25 mM HEPES and 25 mM NaHCO<sub>3</sub>(Gibco) 배지를 사용하여 37°C에서 95% O<sub>2</sub>와 5% CO<sub>2</sub>를 공급하고 100% 습도가 유지되는 배양기내에서 배양하였다.

2) MTT assay법

세포의 대사활성이나 증식 및 세포독성을 측정하는데 사용되는 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT) 정량분석법<sup>19)</sup>으로 측정하였다. 실험을 위해 배양한 세포를 trypsin-EDTA 용액으로 처리하여 부착된 세포를 1000 rpm에서 5분간 원심 분리하여 상층액을 버린 후 배양액으로 세포 부유액을

만들고 세포수가 1×10<sup>4</sup> cells/well이 되도록 분주 후 배양하였다. 다음날 배양액을 교환하고 시료를 DMSO로 녹여 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 mg/ml의 농도를 각 well에 첨가하여 3일간 배양하였다. Well에 MTT(2 mg/ml) 50 μl를 가한 후 37°C 배양기에서 3시간 동안 방치하였다. MTT 용액을 제거하고, blue formazen 결정을 용해시키기 위해 DMSO를 200 μl/well씩 넣어 5분간 실은 방치하였다. 세포활성의 정도는 ELISA reader에 의한 흡수과장 540 nm에서의 흡광도(O.D.)로 측정하였다. 증식 억제효과는 세포성장 저해율로 평가하였다.

6. 통계처리

자료의 분석과 통계처리는 SPSS 12.0을 사용하여 일원분산분석(one-way ANOVA)으로 유의성을 검증하고, Duncan's multiple range test로 각 실험군별 유의성을 검증하였다. 유의성 검증은 α=0.05 수준에서 실시하였으며 모든 실험은 3회 반복 실험하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 항균성시험

1) 들깨와 쑥의 메탄을 추출물의 용매 분획별 항균성  
들깨와 쑥의 메탄을 추출물로부터 분리한 각 순차 추출물의 항균성을 측정된 결과는 Table 2 및 Fig. 1과 같다. 들깨는 *S. mutans*, *S. aureus* 모두 핵산 추출물에서 항균성이 나타났으며, *S. aureus* 보다 *S. mutans*에서 우수한 항균성이 나타났다. 쑥의 경우 *S. mutans*, *S. aureus*는 핵산 추출물에서 항균성이 나타났으며, *P. gingivalis*는 클로로포름, 헥산, 에틸 아세테이트 추출물 순으로 항균성이 나타났다.

전<sup>18)</sup>은 오미자의 핵산 추출물, 정<sup>20)</sup>은 오미자·황련·정향의 환류냉각기를 이용한 추출물, 남 등<sup>22)</sup>은 두송실의 핵산 추출물, 박<sup>23)</sup>은 작약의 핵산 추출물 등이 *S. mutans*에 대해 항균성이 있음을 보고하였고, 이 등<sup>24)</sup>은 녹차 및 결명자 추출물, 이와 김<sup>25)</sup>은 된장 콩 추출물, 최<sup>4)</sup>는 Polyphosphate, 강<sup>26)</sup>은 콜로이드상은, 김 등<sup>27)</sup>은 옥수수 불검화 추출물과 후박 추출물 혼합물에서 *P. gingivalis*에 대한 항균성이 있음을 보고하였으며, 박과 성<sup>28)</sup>은 백두홍 추출물, 김<sup>29)</sup>은 청국장외 에틸 아세테이트 추출물이 *S. aureus*에 대해 항균성이 있음을 보고하였다.

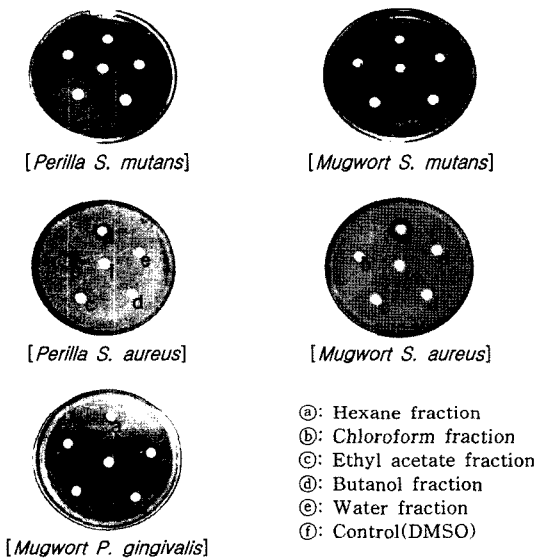
또한, 이<sup>21)</sup>는 칩쑥정유의 항세균 효과를 실험한 결과 *S. mutans*와 *S. aureus*에서 항균성이 있다고 보고하였고, 전<sup>13)</sup>은 환류냉각기를 이용한 쑥 추출물에서 *S. mutans*에서 항균성이 있다고 보고하였으나 용매 추출

**Table 2.** Antibacterial activities of various solvent fractions from methanol extract of *Perilla* and *Mugwort*

Strains	Inhibition zone (mm)*					
	<i>Perilla</i>			<i>Mugwort</i>		
	<i>S. mutans</i>	<i>P. gingivalis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>	<i>P. gingivalis</i>	<i>S. aureus</i>
Hexane	22 ± 2.0	-	10 ± 0.5	19 ± 1.5	22 ± 1.0	15 ± 0.0
Chloroform	8 ± 0.5	-	-	-	26 ± 1.5	-
Ethyl acetate	-	-	-	-	15 ± 0.5	-
Butanol	-	-	-	-	-	-
Water	-	-	-	-	-	-

Each value represents the mean ± S.D. (N=3).

\*: Diameter, -: No inhibition, concentration: 10 mg/ml.



**Fig. 1.** Antibacterial activities of each fraction from methanol extract of *Perilla* and *Mugwort* (10 mg/ml).

한 이 연구의 결과와 직접 비교할 수 없었으며, 들깨 추출물은 구강병 원인균에 대한 항균효과를 측정할 보고가 없어 이 연구와 비교할 수 없었다.

2) 들깨, 쑥 핵산 추출물의 최소성장억제농도

들깨와 쑥 용매별 추출물 중 구강병 원인균에 대한 항균 효과가 높게 나타난 핵산 추출물을 이용하여 *S. mutans*, *S. aureus*에 대하여 최소성장억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC)를 측정하였다. *S. mutans*는 들깨와 쑥 모두 0.5 mg/ml로 나타났고, *S. aureus*는 들깨는 40.0 mg/ml, 쑥은 20.0 mg/ml의 MIC를 보였다 (Table 3). 이 결과 들깨와 쑥 핵산 추출물의 구강미생물에 대한 항균효과는 일반세균보다 혐기성세균에서 더 우수하게 나타났다. 따라서 균주들에 대한 특성과 항균 기전 등의 연구가 추가적으로 필요할 것으로 생각된다.

쑥은 Karlsruhe 장치를 이용하여 steam-kistillation한 후 얻어진 essential oil을 ether로 추출하여 얻은 추출물로 MIC 측정 결과는 1 mg/ml에서 항균효과가 나타났다고 보고하였다.<sup>21)</sup> 조 등<sup>30)</sup>은 쑥의 생산지에 따라 성분의 차이가 있다고 보고하였듯이, 이 결과의 차이가 쑥의 생산지, 추출방법, 추출 용매의 극성, 혹은 추출 순서 등 여러 가지 원인에 의한 결과일 수 있다고 추정된다. 따라서 앞으로 그 이유에 대한 추가 연구의 필요성이 있음을 보여준다.

최근 천연물을 이용한 미생물에 관한 보고들을 살펴 보면 *S. mutans*에 대한 MIC가 된장 1.25 mg/ml, 콩 40.0 mg/ml,<sup>25)</sup> CTS 50 키토산 1.25 mg/ml,<sup>31)</sup> 녹차·결명자 5.0 mg/ml,<sup>12)</sup> 소목 2.5 mg/ml, 지부자·황금 5.0 mg/ml<sup>13)</sup> 등의 항균효과가 있다고 보고하였으며, Sato 등<sup>32)</sup>은 *Erythrina variegata*에서 분리한 isoflavonoids 중 erycristagallin이 *S. mutans*에 대한 MIC가 6.25 µg/ml였고, Hayacibara 등<sup>33)</sup>은 propolis를 분획하여 *S. mutans*에 대해 MIC를 측정할 결과, 핵산과 클로로포름 분획이 25~400 µg/ml 범위에서 항균효과가 나타났고, 전<sup>18)</sup>은 오미자의 메탄올 추출물 중 핵산 추출물에서 분리된 활성물질 gomisin N, gomisin A, schizandrol A가 *S. mutans*에 대한 MIC가 25 µg/ml로 나타났고, 이<sup>21)</sup>는 고삼의 에틸 아세테이트 추출물에서 분리한 분획물에서 MIC가 50 µg/ml로 보고하였다.

**Table 3.** Minimal inhibitory concentrations of hexane extracts on the growth of oral bacteria

Strains	Fraction	Minimal growth inhibitory concentration (MIC)	
		<i>Perilla</i> (mg/ml)	<i>Mugwort</i> (mg/ml)
<i>S. mutans</i>	Hexane	0.5	0.5
<i>S. aureus</i>	Hexane	40.0	20.0

Each value represents the mean (N=3).

들깨와 쑥 핵산 추출물을 고삼<sup>21)</sup>과 오미자<sup>18)</sup> 등 처럼 순수 물질을 분리하여 측정 한 것과 비교 시 높은 농도에서 MIC가 나타났다. 그러나 이 두 물질도 순수 물질을 분리하여 측정한다면 더 낮은 농도에서 MIC가 나타날 것으로 추정된다.

3) 들깨와 쑥 핵산 추출물의 농도에 따른 성장 억제 효과

*S. mutans*에 대해 들깨와 쑥의 용매 분획별 항균성을 측정 한 결과 핵산 추출물에서 가장 항균성이 우수하였다. 따라서 *S. mutans*에 대해 들깨와 쑥의 핵산 추출물을 농도별(mg/ml)로 처리하여 24시간동안 배양한 다음 균의 성장변화를 상대성장률(Relative Growth Ratio(%), RGR)로 산출하였다.

들깨는 0.063 mg/ml 농도에서 79.59±8.2%의 성장을 보였고, 0.125 mg/ml 농도에서는 11.84±1.1%, 0.25 mg/ml 농도에서는 4.71±2.12%의 성장을 보였으며, 0.5 mg/ml 농도에서는 0.00±0.0%의 성장을 보였다 (Fig. 2). 쑥은 0.063 mg/ml 농도에서는 78.12±5.4%, 0.125 mg/ml 농도에서는 35.22±10.56%, 0.25 mg/ml 농도에서는 17.39±2.12%의 성장을 보였고, 0.5 mg/ml 농도에서는 0.00±0.0%의 성장을 보였다(Fig. 3).

위의 결과들로 보아 추출물의 농도가 증가함에 따라 흡광도 값이 유의하게 나타나(p<0.05) *S. mutans*의 성장이 억제되는 것을 볼 수 있다. 또한 들깨가 쑥보다 낮은 농도에서 더 많은 *S. mutans*의 성장 억제효과를 볼 수 있으나, 두 물질 모두 MIC의 결과와 같이 0.5 mg/ml의 농도에서 균의 성장이 완전히 억제되었다.

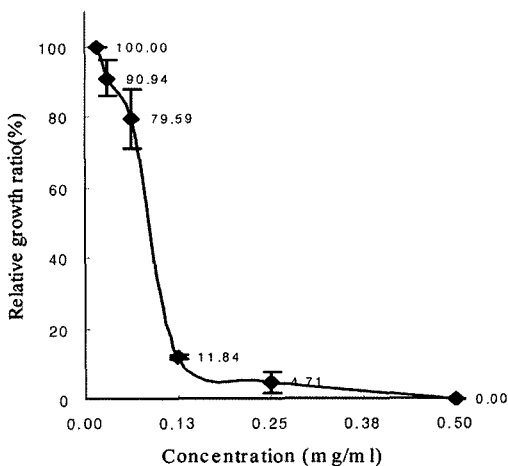


Fig. 2. Relative growth ratio (%) of *S. mutans* cultured at different concentrations of hexane extract of *Perilla* (p<0.05).

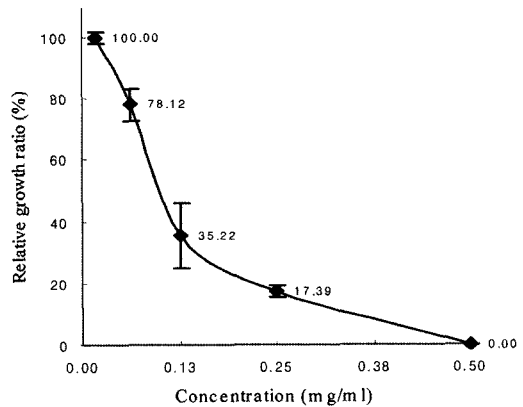


Fig. 3. Relative growth ratio (%) of *S. mutans* cultured at different concentrations of hexane extract of *Mugwort* (p<0.05).

*S. aureus*에서는 농도에 따른 성장 억제효과를 측정 하였으나 추출물의 저농도에서는 성장 억제효과를 볼 수 없었고, 추출물의 고농도에서는 시료농도 때문에 흡광도 값을 측정하는데 어려움이 있어 성장 억제효과를 측정할 수 없었다.

2. 들깨와 쑥 추출물의 KB 세포 증식 억제효과

KB 세포주에 들깨와 쑥의 메탄올, 핵산, 클로로포름, 에틸 아세테이트, 부탄올, 물 추출물을 각각 0, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 mg/ml씩 첨가하여 배양한 후 MTT 정량분석법을 이용하여 증식 억제효과를 측정 한 결과는 Table 4와 같다.

들깨는 0.5 mg/ml를 첨가 시 KB 세포 증식 억제효과는 메탄올 추출물에서 46%, 핵산 추출물에서 81%의 억제율을 보였다. 쑥은 0.5 mg/ml를 첨가하였을 때의 KB 세포 증식 억제효과는 메탄올과 핵산 추출물에서 각각 37%, 70%의 억제율을 보였으며, 들깨와 쑥의 통계적 유의성 검정 결과 농도가 증가할수록 흡광도 값이 유의하게 나타났다(p<0.05). 반면 클로로포름, 에틸 아세테이트, 부탄올, 물 추출물에서는 대조군에 비해 오히려 성장이 증식되거나, 효과가 나타나지 않아 추출물에 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

메탄올 추출물보다 메탄올을 순차 분획한 핵산 추출물에서 KB 세포 억제효과가 높게 나타났으며, 쑥보다 들깨에서 다소 높은 억제효과가 나타났다(p<0.05).

구강암 치료의 화학요법은 많은 발전에도 불구하고 독성문제를 해결하지 못하고 있어 부작용을 최소화하기 위해 천연물을 이용한 항암제 개발이 지속적으로 연구되고 있다. 서 등<sup>34)</sup>은 천연약제 momodin이 KB 세

**Table 4.** Growth-inhibitory effect of extracts of *Perilla* and *Mugwort* on KB cell

Fractions	Concentration (mg/ml)	<i>Perilla</i>		<i>Mugwort</i>	
		Mean $\pm$ S.D. <sup>2)</sup>	Inhibition rate (%) <sup>1)</sup>	Mean $\pm$ S.D. <sup>2)</sup>	Inhibition rate (%) <sup>1)</sup>
MeOH	Control	2.25 $\pm$ 0.58 <sup>a3)</sup>	0	1.51 $\pm$ 0.23 <sup>a3)</sup>	0
	0.05	1.53 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	32	1.28 $\pm$ 0.16 <sup>ab</sup>	16
	0.10	1.39 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	58	1.08 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>	29
	0.25	1.25 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	44	0.99 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>	35
	0.50	1.21 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	46	0.96 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	37
Hexane	Control	2.27 $\pm$ 0.74 <sup>a</sup>	0	2.62 $\pm$ 0.56 <sup>a</sup>	0
	0.05	1.40 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>	38	1.39 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup>	47
	0.10	1.03 $\pm$ 0.13 <sup>bc</sup>	56	1.27 $\pm$ 0.05 <sup>bc</sup>	51
	0.25	0.69 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	69	1.19 $\pm$ 0.07 <sup>bc</sup>	54
	0.50	0.44 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>	81	0.78 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	70

<sup>1)</sup>Inhibition rate (%) = [1-(treated O.D./control O.D.)]  $\times$  100.

<sup>2)</sup>Each value represents the mean  $\pm$  S.D. (N=3).

<sup>3)</sup>Values with different superscripts in the same column are significant different by Duncan's multiple range test(p<0.05).

포에 대하여 항암효과를 나타내는 것을 확인하였고, 항암작용기전은 세포주기에 비 특이적으로 apoptosis를 유도하기 때문이라고 보고하였고, 이와 한<sup>35)</sup>은 포공명 물 추출물에서는 0.01 mg/ml 농도에서 72.2%의 성장이 억제되었다고 보고하였고, 이성림, 김종규는<sup>36)</sup> 된장 및 콩 추출물을 KB에 대한 억제효과 측정 시 된장이 콩 추출물보다 효과가 뛰어났으며 5 mg/ml의 된장 에틸아세테이트 분획에서 89.8% 증식이 억제된다고 보고하였다. 이 등<sup>8)</sup>은 14종의 약용식물을 70% 메탄올 추출물로 얻어 KB 세포의 성장억제 효과를 실험한 결과, 0.5 mg/ml에서, 파두·독할·댕댕이 나무가 각각 30, 15, 62%였다고 보고하였고, 박<sup>23)</sup>은 작약의 핵산 추출물이 0.5 mg/ml에서 76.7%의 억제율을 보고하였으며, 고삼의 에틸아세테이트 추출물이 KB 세포 증식 억제효과에 대한 연구<sup>21)</sup> 등을 보고하였다.

이 연구는 들깨와 쑥 추출물들의 정상세포에 미치는 영향을 평가하지 못하였다는 제한점을 갖는다. 따라서 정상세포에 대한 실험과 더불어 세포 증식 억제에 작용하는 성분의 확인에 대한 연구가 필요하다고 생각된다.

#### IV. 요약 및 결론

이 연구는 들깨(*Perilla*)과 쑥(*Mugwort*) 메탄올 추출물의 용매 분획별(핵산, 클로로포름, 에틸 아세테이트, 부탄올, 물) 구강병 원인균(*S. mutans* KCTC 5316, *P. gingivalis* KCTC 5352, *S. aureus* KCTC 1927)에 대한 항균효과를 관찰하고, 구강평상피암세

포인 KB 세포의 증식 억제효과를 관찰할 목적으로 수행하였다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

들깨와 쑥 추출물에서 구강병 원인균에 대해 디스크 확산법(agar diffusion)을 측정한 결과, 들깨 추출물이 *S. mutans*, *S. aureus*에 항균효과가 나타났고, 쑥 추출물은 *S. mutans*, *P. gingivalis*, *S. aureus*에 항균효과가 나타났다. *S. mutans*는 들깨와 쑥 모두 핵산 분획에서 우수한 항균효과를 보였고, *P. gingivalis*는 쑥의 클로로포름, 핵산, 에틸 아세테이트 분획의 순으로 항균효과가 나타났으며, 들깨 추출물에서는 항균효과가 나타나지 않았다.

또한, 들깨와 쑥의 핵산 추출물을 이용하여 최소성장 억제농도(MIC)를 측정된 결과 *S. mutans*는 들깨와 쑥 모두 0.5 mg/ml, *S. aureus*는 들깨 40.0 mg/ml, 쑥 20.0 mg/ml이었다. 또한, 상대성장률 측정에서도 MIC와 같은 농도에서 모든 균이 사멸되었다.

들깨와 쑥 추출물의 분획별 KB 세포의 증식 억제효과에 대한 결과 들깨는 0.5 mg/ml 농도에서 메탄올 46%, 핵산 81%의 억제율을 보였고, 쑥은 0.5 mg/ml 농도에서 메탄올 37%, 핵산 70%의 억제율을 보였다.

이상의 결과에서 들깨와 쑥 모두 핵산 추출물에서 항균효과 및 KB 세포 증식 억제효과가 우수하여 치아우식 및 KB 세포 예방효과를 기대할 수 있을 것으로 생각되며, 이와 함께 들깨와 쑥의 항균효과가 우수한 성분을 분리, 정제하는 연구와, KB 세포증식억제작용이 있는 성분을 분리, 확인할 필요가 있으며, 이는 추후의 후속 연구에서 밝혀져야 할 것으로 생각된다.

### 감사의 글

본 연구는 산업자원부지원 계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터의 지원에 의한 것입니다.

### 참고문헌

1. 보건복지부 : 2003 국민구강건강실태조사, 2006.
2. Loesche, W. J., Rowan, J., Straffon, L. H. and Loos, P. J. : Association of *Streptococcus mutans* with human dental decay. *Infection and Immunity*, **11**, 1252-1260, 1975.
3. Tanaka, S., Murakami, Y., Ogiwara, T., Shoji, M., Seto, K. and Nagasaki, M. : The high frequency of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, and *Prevotella nigrescens* in subgingival plaque may be associated with periodontal diseases in subjects aged 30 to 49 years. *Journal of Evidence-Based Dental Practics*, **3**, 103-104, 2003.
4. 최인식 : Polyphosphate의 *Porphyromonas gingivalis*에 대한 항균효과. 박사학위논문, 경희대학교, 1998.
5. Mayanagi, G., Sato, T., Shimauchi, H. and Takahashi, N. : Microflora profiling of supragingival plaque of healthy and Periodontitis subjects by nested PCR. *International Congress Series*, **1284**, 195-196, 2005.
6. 김강주 : 치과영역 포도상구균(*Staphylococcus*)의 분포 및 항생제 내성. 대한치과의사협회지, **34**(2), 110-118, 1996.
7. 정경석, 이희주 : 인천시내 일부 종합병원 종사자와 대학생의 비강내 *Staphylococcus aureus*의 보균상태 및 항균제에 대한 감수성. 한국환경보건학회, **19**(1), 71-76, 1993.
8. 이영훈, 김여갑, 김정희 : 구강암에 대한 약용식물 추출물의 항암효과에 관한 연구. 대한구강악안면외과학회지, **26**(1), 53-58, 2000.
9. 이종수, 김여갑, 김정희 : 소목 추출물의 구강암 및 골육종 세포주에 대한 항암작용에 관한 연구. 대한구강악안면외과학회지, **27**(4), 281-288, 2001.
10. 윤필영, 옥용주, 명훈, 이종호, 김명진 : 구강암 세포주에 대한 CKD-602의 항암효과. 대한구강악안면외과학회지, **31**, 7-12, 2005.
11. 이종환, 김명진 : 구강편평세포암 세포주에서의 cisplatin 과 5-fluorouracil의 항암감수성의 측정. 대한구강악안면외과학회지, **24**(2), 165-171, 1998.
12. 서정순 : 녹차 및 결명자추출물이 *mutans streptococci*의 항균작용에 미치는 영향. 석사학위논문, 조선대학교, 2003.
13. 전은숙 : 한약제 추출물이 *Streptococcus mutans*에 대한 항균효과. 석사학위논문, 대구카톨릭대학교, 2000.
14. 김정희, 현진원, 김여갑 : 천연 약용식물 추출물의 구강상피세포암 세포주에 대한 항암효과. 동서의학연구소논문집, **6**, 221-225, 1999.
15. 김태정 : 한국의 자원식물IV. 서울대학교 출판부, 1996.
16. 배기환 : 한국의 약용식물, 2000.
17. 국립보건원 : 병원미생물검사기준, 국립보건원, 1985.
18. 전형오 : *Streptococcus mutans*에 대한 오미자(*Schizandra chinensis*)의 항균활성 성분. 석사학위논문, 충남대학교, 2000.
19. Mosmann, T. : Rapid colorimetric assay for celler growth and survival : Application to proliferation and cytotoxicity assay. *Journal of Immunological Methods*, **65**, 55-63, 1983.
20. 정현자 : 天然資源을 이용한 口腔細菌 抑制效果에 관한 研究. 석사학위논문, 대구카톨릭대학교, 2000.
21. 이현옥 : 약용식물로부터 추출한 천연물질의 항균효과와 항암활성. 박사학위논문, 원광대학교, 2000.
22. 남상해, 서원택, 최상도, 장대식, 양민석 : 두송실에 의한 충치균의 유기산 생성 억제효과. 한국농화학회지, **41**(5), 395-398, 1998.
23. 박현숙 : 작약 추출물의 구강병원인균에 대한 항균성 및 구강암 세포 증식 억제효과. 석사학위논문, 계명대학교, 2006.
24. 이은숙, 안태영, 윤정중, 국중기, 이병래, 김동기 : 녹차 및 결명자 추출물의 치주조직병 원인균에 대한 억제효과. 대한구강보건학회지, **27**(4), 569-677, 2003.
25. 이성림, 김중규 : 콩 추출물의 구강미생물에 대한 항균효과. 한국환경보건학회, **32**(2), 192-197, 2006.
26. 강기현 : 폴리이드산 은이 수종의 구강 세균에 미치는 항균효과. 박사학위논문, 전북대학교, 2003.
27. 김태일, 최은정, 정종평, 한수부, 구영 : 옥수수 불검화 추출물(*Zea Mays L.*)과 후박(*Magnoliae cortex*) 추출물 혼합물의 치주질환원인균에 대한 항균작용 및 치은섬유아세포 활성화도에 미치는 영향. 대한치주과학회, **32**(1), 249-255, 2002.
28. 박수현, 성인화 : 백두홍 추출물의 항균활성에 관한 연구. 대한화확요법학회, **25**(2), 383-394, 2001.
29. 김윤 : 청국장 발효관련 미생물 *Bacillus licheniformis*가 생산하는 항미생물 활성물질의 분리 및 동정. 석사학위논문, 전남대학교, 2002.
30. 조연희, 강재희 : 인진쑥, 황해쑥, 사자발쑥의 정유성분 및 항균효과. 한국국제농업개발학회, **13**(4), 313-320, 2001.
31. 배광학, 전은주, 이선미, 이은정, 백대일, 김진범 : CTS 50 키토산이 수종의 구강병원인균에 미치는 항균효과. 대한구강보건학회지, **29**(1), 58-66, 2005.
32. Sato, M., Tanaka, H., Fujiwara, S., Hirata, M., Yamaguchi, R., Etoh, H. and Tokudal, C. : Antibacterial property of isoflavonoids isolated from *Erythrina variegata* against cariogenic oral bacteria. *Phytomedicine*, **9**, 427-433, 2002.
33. Hayacibara, Mitsue F., Hyun Koo, Pedro L. Rosalen, Simone Duarte, Eliane M. Franco, William H. Bowen, Masaharu Ikegaki, and Jaime A. Cury : In vitro and in vivo effects of isolated fractions of Brazilian propolis on caries development. *Journal of Ethnopharmacology*, **101**, 110-115, 2005.
34. 서경성, 김여갑 : 천연약제 Momordin의 구강암(KB) 세포주에 대한 항암작용기전에 관한 연구. 대한구강악안면외과학회지, **27**(3), 209-213, 2001.

35. 이명호, 한두석 : 포공령 물추출물이 배양 인체 구강 유상피암세포에 미치는 항암효과. 원광생체재료 · 매식, 7(2), 79-92, 1998.
36. 이성림, 김종규 : 한국 전통 된장 및 추출물의 KB 세포에 대한 증식 억제효과. 한국환경보건학회, 31(5), 444-450, 2005.