

## 구강병인균에 대한 마와 꿀풀추출물의 항균·항우식효과

정기옥<sup>†</sup> · 민경진

계명대학교 공중보건학과

### Anti-microbial and Anticariogenic Activity of Yam and *Prunella* Extract against Oral Microbes

Gi Ok Jung<sup>†</sup> · Kyung Jin Min

Department of Public Health, Keimyung University  
(Received February 7, 2007/Accepted April 18, 2007)

#### ABSTRACT

*Yam, Prunella* was stepwise extracted with hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol, and water. Anti-microbial activity of each extract was investigated. Hexane extract was tested for anti-microbial effect on *Streptococcus mutans*, one of causative factor of dental caries. Methanol extracts of 7 plants were investigated to anti-microbial effects on *S. mutans* KCTC 5316, *P. gingivalis* KCTC 5352, *S. aureus* KCTC 1927 by means of agar diffusion method. Methanol extract of *Yam* and *Prunella* revealed anti-microbial activity against *S. mutans*, *P. gingivalis*, and *S. aureus*. Also, hexane fraction of *Yam* revealed anti-microbial activity against *S. mutans*. In sequence of hexane, chloroform, ethylacetate, butanol fraction by *Prunella* acted as potent anti-microbial agent on *P. gingivalis*. The measured MIC of hexane fraction of *Yam* and *Prunella* on *S. mutans* KCTC 5316 strain was 0.25 mg/ml and 0.5 mg/ml and the MIC of hexane fraction of *Prunella* on *S. aureus* was 0.5 mg/ml. The hexane fraction of *Yam* and *Prunella* suppressed viable cell counts(VCC) of *S. mutans*, especially after 24 hrs. The *Prunella* hexane fraction suppressed VCC of *S. aureus*, after 12 and 24 hrs. Tested concentrations were 0.1, 0.25 and 0.5 mg/ml. the results were compared with control (0 mg/ml). The pH of *S. mutans* media and GTase activity were determined to evaluate the anticariogenic activity of *Yam, Prunella* hexane fraction. The pH were increased from 5.6 to 7.0-7.2 in concentration of 2.0 mg/ml. *Yam* hexane extraction revealed 35% inhibition to GTase activity and *Prunella* inhibited 25% of GTase. These results suggest that the hexane extracts of *Yam* and *Prunella* have Antibacterial activities against *S. mutans, P. gingivalis, S. aureus* and have preventive effect on dental caries.

**Keywords:** *yam, prunella*, anti-bacterial, anticariogenic, oral microbes

#### I. 서 론

구강은 외계와 직접 통하고 있기 때문에 항상 미생물의 침입을 받고 있으며 구강환경은 영양적·생리적으로 세균이 증식하는데 적합하여 항상 많은 세균이 정착하여 상재 세균총을 이룬다. 보통 사람의 구강에는 30종 이상의 세균으로 구성된 구강세균총은 개인의 감수성, 연령, 건강상태, 식이상태 또는 위생상태에 따라 그 종류와 비율이 항상 변한다.<sup>1)</sup> 정상인의 경우는 구강 내에 상주하는 정상균총 간에 서로 균형을 이루고 있으나, 어떠한 요인에 의하여 균형을 잃게 될 때 특정의

구강질환을 일으킬 가능성이 높아지게 된다.<sup>2)</sup>

치아우식증은 구강질환의 가장 대표적인 질환으로 치아파괴를 동반한 감염성 질환이다. 치아우식증은 치면세균막 내 세균, 음식물, 타액의 상호작용에 의하여 유발되는 질환으로서 치면세균막 내 세균 중에서도 *Streptococcus mutans*(*S. mutans*)가 주된 원인균으로 알려져 있다.<sup>3)</sup> *S. mutans*는 치면에 부착, 증식 및 산생성 과정을 거쳐 치아 우식을 유발한다.<sup>4)</sup>

치주질환은 치면세균막의 축적으로 치주인대의 염증과 치조골을 흡수시키고 치아의 동요를 야기시켜 결국에는 치아상실을 초래하는 중년기 이후의 주요 구강병이다.<sup>5)</sup> *Porphyromonas gingivalis*(*P. gingivalis*)는 치주염, 특히 성인형 치주염과 깊은 연관성이 있는 것으로 치근단 감염과 치주질환을 일으키는 세균 중 가장 독성이 강한 것으로 보고되었다.<sup>6)</sup>

<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

치과치료 후의 병원성 감염을 유발하는 *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*)는 심내막염, 균혈증, 복막염 그리고 연조직 감염 등에 이 균이 깊이 관여하고 있는 것으로 보고되고 있다. 또한 건강인의 비강, 인후의 점막이나 피부에 정상 세균총으로 존재하며, 기회감염을 통하여 국소 및 전신감염을 유발하는 그람양성구균으로 화농성 감염의 80% 이상을 차지하는 감염성 질환의 주요 원인균이다.<sup>7,8)</sup>

따라서 구강 내에서 *S. mutans*, *P. gingivalis*, *S. aureus*의 성장을 억제할 수 있다면 구강병을 크게 감소시킬 수 있을 것이다.<sup>9)</sup> 구강질환에 천연추출물을 이용하여 안전성이 높고 내성균주의 출현 및 조직의 위해작용도 적어 부작용 없이 지속적으로 작용할 수 있는 새로운 물질을 개발하고자 많은 관심과 연구가 진행되고 있다.<sup>9)</sup> 마와 꿀풀을 이용한 선행연구에서 구강위생에 미치는 바를 관찰한 연구는 매우 미흡한 실정이다. 이 연구에서는 마, 꿀풀, 향유, 소엽, 속단, 형개, 익모초를 대상으로 7종의 식물의 methanol 추출물을 사용하여 *S. mutans*, *P. gingivalis*, *S. aureus*에 대한 항균성을 조사한 후 그 중 항균성이 뛰어난 마와 꿀풀 추출물에 대하여 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 등의 용매 분획별 항균력을 보았으며, 아울러 산 생성억제, GTase의 활성저해를 관찰하여 항우식능을 조사하여 보고하고자 한다. 나아가 이 연구는 인체에 안전하고 경제적인 구강질환의 예방 및 치료제로서의 활용되어 국민의 구강건강증진에 기여할 수 있을 기초 자료를 제시하고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험재료

#### 1) 재료

이 실험에서 사용한 마, 꿀풀, 향유, 소엽, 속단, 형개, 익모초는 대구 약령시 한약재상에서 건조 상태의

**Table 1.** List of plants used for Antibacterial experiments

Botanical name	Korean name	Parts used
<i>Dioscorea batatas</i>	Ma	Radix
<i>Prunella vulgaris var. lilacina</i>	Kkulpul	Whole
<i>Elsholtzia ciliata</i>	Hyangyu	Whole
<i>Perilla frutescens var. acuta</i>	Soyeop	Fruit
<i>Phlomis umbrosa</i>	Sokdan	Radix
<i>Schizonepeta tenuifolia var. japonica</i>	Hyeonggae	Whole
<i>Leonurus sibiricus</i>	Exmocho	Whole

것을 구입하여 사용하였다(Table 1).

#### 2) 기기 및 시약

실험에 사용한 기기로는 CO<sub>2</sub> incubator(Sanyo, MCO-17 AIC, Japan), anaerobic chamber(Thermo, Forma Scientific Co., U.S.A.), ELISA reader (Molecular Device, SpecTRA MAX 340, Austria), pH meter 등이었고, 시료의 추출 및 분획에 사용된 용매로써 methanol, n-hexane 등은 특급시약을 사용하였으며, hemin, vitamin K<sub>1</sub> 등은 Sigma사(U.S.A.), Brain Heart Infusion(BHI) broth, Brain Heart Infusion(BHI) agar, Mitis Salivarius(MS) agar, Muller Hinton(MH) broth, Muller Hinton(MH) agar, Trypticase Soy broth (TSB), Trypticase Soy agar(TSA), hemin, menadione 등은 Difco사(U.S.A) 제품을 사용하였다. Potassium tellurite, bacitracin 등은 Sigma사(U.S.A.) 제품을 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, Toyo Roshi Kaisha, 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 마, 꿀풀 추출물을 methanol 추출물에 일정량의 증류수를 가하여 현탁 시킨 후 증류수와 동량의 n-hexane을 가하여 진탕하고 방치한 다음 분획 후 농축하여 n-hexane 분획을 얻었다. 남아있는 수용성층을 이와 같은 방법으로 chloroform, ethyl acetate 및 n-butanol을 첨가하여 순차 분획한 후 농축하여 각각 chloroform 분획, ethyl acetate 분획 및 n-butanol 분획을 얻었고 남은 수용성층은 농축하여 물 분획으로 하였다. 위 시료들은 동결건조 후 dry keeper에 보관하여 사용하였다.

### 2. 항균성 시험

#### 1) 사용균주

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

#### 2) 디스크 확산법

시료의 항균성 검색은 agar diffusion법<sup>10,11)</sup>으로 실험하였다. Agar plate에 미리 배양한 균 배양액을 McFarland No. 0.5 농도로 희석시킨 후 면봉으로 도

말하고 추출물을 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 용해한 후 paper disk에 30  $\mu$ l를 흡수시켜 건조시켰다. 용매를 완전히 휘발시킨 다음 agar plate 표면에 paper disk를 밀착시키고 멸균수 20  $\mu$ l로 확산시켰다. 배양한 후, disk 주위의 inhibition zone(mm)의 직경을 측정하였다.

### 3) 액체배지희석법

마, 꿀풀 핵산 추출물의 최소성장억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC)를 측정하기 위해 액체배지희석법<sup>10)</sup>을 이용하였다. 96-micro well plate에 broth를 분주한 후 시료 최고농도 0.5 mg/ml에서 최저농도 0.004 mg/ml까지 단계 희석한 시료를 첨가하였다. 균 배양액을 McFarland No. 0.5 농도가 되게 희석한 후 well에 분주하여 37°C, 24시간 배양한 후 ELISA reader를 사용하여 625 nm에서 흡광도를 측정하여 성장 억제능을 관찰하였다.

### 4) 농도에 따른 생균수 측정

(1) 마, 꿀풀 핵산 추출물의 농도에 따른 *S. mutans* 생균수 측정

마, 꿀풀 핵산 추출물의 *S. mutans*에 대한 생육저해작용은 BHI broth에 초기 균수가 약 10<sup>6</sup> CFU/ml가 되도록 조정하여 측정하였다. 마 핵산 추출물을 0.1, 0.25, 0.5 mg/ml의 농도로, 꿀풀 핵산 추출물을 0.25, 0.5, 1 mg/ml의 농도로 첨가 후, 37°C, CO<sub>2</sub> 배양기에 24시간 배양하면서 일정량의 배양액을 MS agar(1% potassium tellurite, 0.2 unit bacitracin)에 접종하여 배양시간에 따른 생균수를 측정하였다.

(2) 꿀풀 핵산 추출물의 농도에 따른 *S. aureus* 생균수 측정

꿀풀 핵산 추출물의 *S. aureus*에 대한 생육저해작용은 MH broth에 초기 균수가 약 10<sup>6</sup> CFU/ml가 되도록 조정하여 측정하였다. 꿀풀 핵산 추출물을 0.25, 0.5, 1 mg/ml의 농도로 첨가 후, 37°C 배양기에 24시간 배양하면서 일정량의 배양액을 MH agar에 접종하여 배양시간에 따른 생균수를 측정하였다.

## 3. 마, 꿀풀 핵산 추출물의 항우식 효과

### 1) *S. mutans*의 산 생성 억제

BHI broth에 마, 꿀풀 핵산 추출물을 0.1, 0.5, 1, 2 mg/ml로 첨가한 후 미리 배양한 *S. mutans*를 1×10<sup>6</sup> CFU/ml가 되게 접종하여 37°C의 CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간 배양한 후 BHI broth의 pH를 측정하여 산 생성 억제효과를 관찰하였다.

### 2) Glucosyltransferase의 분리 및 활성 저해

GTase의 분리는 목본식물의 방법<sup>12)</sup>을 사용하여 분리

하였다. *S. mutans*를 BHI broth에 배양하여 종균으로 하고, 종균 배양액을 1 l의 BHI broth에 접종하여 다시 배양을 하였다. 배양액을 6,000 rpm으로 20분간 원심 분리하여 상등액을 취하고 냉각시킨 에탄올을 첨가하여 4°C 냉장고에서 overnight시켰다. 8,000 rpm에서 30분간 원심 분리하여 침전물을 0.06 M potassium phosphate buffer(pH 6.8)에 현탁하고 -20°C 냉동고에 보관하며 GTase 효소활성의 검정액으로 사용하였다. 활성 검정은 0.06 M potassium phosphate buffer(pH 6.8, sucrose, Na<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), GTase, 핵산 추출물(0.1, 0.5, 1, 2 mg/ml)을 넣어 37°C에서 17시간 정제 배양 후 상층액은 버리고 증류수 2 ml를 가하여 씻어내었다. 다시 증류수 가하여 30분간 초음파처리를 하여 용기벽에 부착된 glucan을 탈착 및 파쇄하고, spectrophotometer에 의한 흡수과장 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 4. 통계처리

모든 실험은 3회 반복하였으며, 자료의 분석과 통계 처리는 SAS 8.01을 사용하여 Levene 통계량을 이용하여 등분산에 대한 검정한 다음, 등분산이 인정되면 각 실험군에 대한 다중검증을 위해 일원분산분석법(one-way ANOVA)으로 검정하였다. 또한 분산분석결과 구간 유의한 차이가 있을 경우 유의수준은  $\alpha=0.05$ 에서 Duncan's multiple range test로 사후 검정하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 항균성 시험

#### 1) 메탄올 추출물의 항균성

구강미생물에 대한 항균성을 검색하기 위하여 약용식물 7종을 메탄올로 추출하여 1차 항균성을 조사한 결

Table 2. Antibacterial activities of methanol extract of some herbs

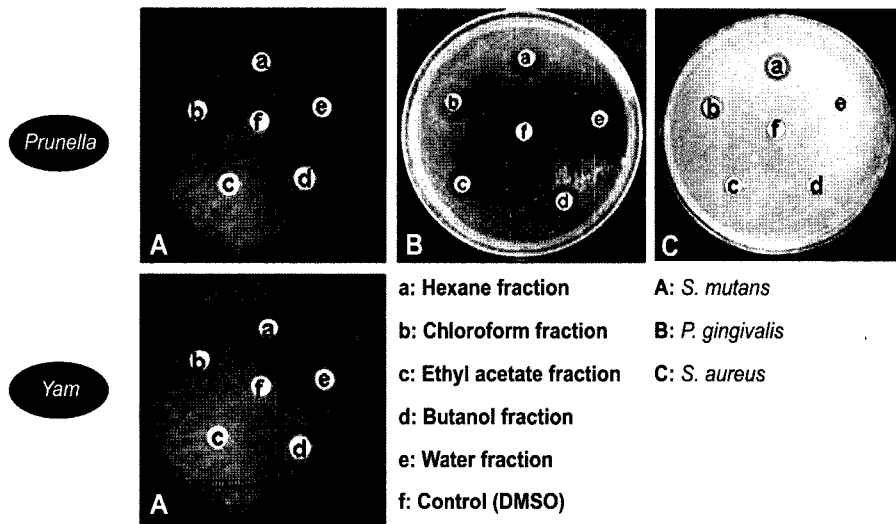
Botanical name	Inhibition zone (mm)*		
	<i>S. mutans</i>	<i>P. gingivalis</i>	<i>S. aureus</i>
<i>Dioscorea batatas</i>	17	-	-
<i>Prunella vulgaris</i> var. <i>lilacina</i>	12	10	8
<i>Elsholtzia ciliata</i>	-	-	7
<i>Perilla frutescens</i> var. <i>acuta</i>	-	-	-
<i>Phlomis umbrosa</i>	-	-	-
<i>Schizonepeta tenuifolia</i> var. <i>japonica</i>	-	-	-
<i>Leonurus sibiricus</i>	-	-	9

\*: Diameter, -: No inhibition.

**Table 3.** Antibacterial activities of various solvent fractions from methanol extract of *Yam* and *Prunella*

Strains	Inhibition zone (mm)*									
	Hexane		Chloroform		Ethyl acetate		Butanol		Water	
	Yam	Prunella	Yam	Prunella	Yam	Prunella	Yam	Prunella	Yam	Prunella
	10 mg/ml									
<i>S. mutans</i>	23 ± 1.7	18 ± 1.5	12 ± 1.0	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. gingivalis</i>	-	15 ± 0.6	-	12 ± 0.6	-	10 ± 0.6	-	9 ± 1.0	-	-
<i>S. aureus</i>	-	10 ± 0.6	-	7 ± 0.3	-	-	-	-	-	-

Each value represents the mean ± S.D. of 3 experiments, \*: Diameter.



**Fig. 1.** Antibacterial activities of various fractions from methanol extracts of *Yam* and *Prunella* (10 mg/ml).

과는 Table 2와 같다. 7종 식물 중에서 마, 꿀풀 메탄을 추출물이 가장 우수한 항균성을 나타내었다. 마는 *S. mutans*에 대해 강한 항균성이 나타났으며, 꿀풀은 *S. mutans*, *P. gingivalis*, *S. aureus* 3종의 균주에 대해 항균성이 있었고 향유, 익모초는 *S. aureus*에 대해 항균성이 있었다.

2) 마, 꿀풀 메탄을 추출물의 용매 분획별 항균성 항균활성이 가장 우수한 마, 꿀풀의 메탄을 추출물을 각종 용매로 분획하여 항균활성을 측정한 결과는 Table 3 및 Fig. 1과 같다. *S. mutans*에는 특이적으로 마의 헥산분획 추출물에서 항균력이 가장 우수하였으나 *P. gingivalis*, *S. aureus* 2종에서는 항균력이 없었다. 꿀풀의 헥산 추출물에서는 *S. mutans*, *P. gingivalis*, *S. aureus* 3균주에 항균력이 있었고, 분획별로는 헥산에서 가장 항균력이 강하였으며 *S. mutans*에 가장 항균력이 우수하였다. 전<sup>11)</sup>은 오미자의 헥산 추출물이 *S. mutans*에 대해 강한 항균력이 있음을 보고하였고, 남상해 등<sup>13)</sup>은 두송실의 헥산 추출물이 *S. mutans*에 강한 항균력

이 있다고 보고하였다. 이 실험에서도 마찬가지로 마와 꿀풀 역시 헥산분획의 추출물에서 우수한 항균력을 보였다.

3) 마, 꿀풀 추출물의 최소성장억제농도

마, 꿀풀 헥산 추출물의 *S. mutans*에 대한 최소성장억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC)를 측정한 결과, 마가 0.25 mg/ml, 꿀풀이 0.5 mg/ml로 각각 나타났으며 *S. aureus*에 대한 꿀풀 헥산 추출물의 최소성장억제농도는 0.5 mg/ml로 나타났다.

오미자의 헥산 추출물에서 *S. mutans*에 대한 효과가 있어 헥산을 3종의 분리된 활성물질 gomisin N, gomisin A, Schizandrol A를 얻었다고 보고하였다.<sup>11)</sup> Chung 등<sup>14)</sup>은 육두구에서 분리된 macelignan이 *S. mutans*와 *S. aureus*에 성장억제효과가 나타났다고 보고되었다. 김 등<sup>14)</sup>은 호장근으로부터 분리, 동정한 emodin이 *S. mutans*에 성장억제효과가 나타났다고 보고하였다. 이와 같은 선행연구에서는 마와 꿀풀 보다 모두 낮은 농도에서도 성장억제를 보인 것으로 보아 이

**Table 4.** Minimal inhibitory concentrations of hexane extracts on the growth of oral bacteria

Strains	Concentration (mg/ml)	
	Yam	Prunella
<i>S. mutans</i>	0.25	0.5
<i>S. aureus</i>	-	0.5

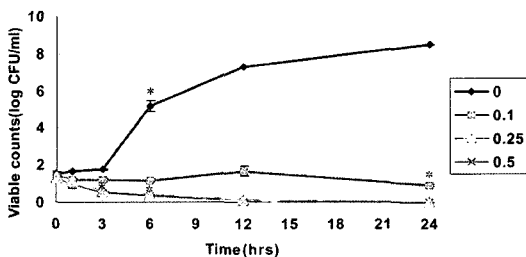
Each value represents the mean of 3 experiments.

들은 순수 물질을 분리하여 측정한 결과이므로 마와 꿀풀 또한 순수 물질을 분리, 동정하여 실험한다면 더 낮은 농도에서도 성장억제력을 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

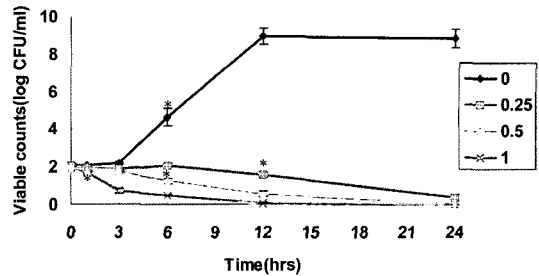
#### 4) 농도에 따른 생균수 측정

##### (1) 마 핵산 추출물의 농도에 따른 *S. mutans* 생균수 측정

*S. mutans*의 생균수를 측정된 결과는 Fig. 6과 같다. 마 핵산 추출물을 첨가하지 않은 배지의 대조군에는 3시간 이후부터 급격히 균수가 증가하기 시작하여 6시간부터 통계적으로 유의하게 증가하였다( $p < 0.05$ ). 한편, 마 핵산 추출물을 0.1 mg/ml의 농도로 첨가한 경우는 12시간까지 균수가 초기와 유사하였으나, 24시간 이후 통계적으로 유의하게 균수가 점차 감소하였다( $p < 0.05$ ). 0.25 mg/ml의 농도에서는 3시간 동안 균수가 초기와 유사하였으나, 6시간 이후부터 시간이 지남에 따라 통계적으로 유의하게 감소되었고 24시간 이후 완전 사멸하였다( $p < 0.05$ ). 또한 0.5 mg/ml의 농도에서는 3시간부터 감소하기 시작하여 24시간 이후 완전 사멸하여 시간이 지남에 따라 통계적으로 유의하게 감소됨을 보였다. 마의 핵산 추출물의 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 *S. mutans*의 생균수가 감소되었다. 이 실험의 결과, 0.25 mg/ml 농도에서 24시간 이후 균이 완전 사멸한 것은 최소성장억제농도가 0.25 mg/ml인 것과 일치하였다.

**Fig. 2.** Inhibitory effect of hexane fraction of Yam on the growth of *S. mutans* (mg/ml).

\* $p < 0.05$  compared with control.

**Fig. 3.** Inhibitory effect of hexane fraction of *Prunella* on the growth of *S. mutans* (mg/ml).

\* $p < 0.05$  compared with control.

##### (2) 꿀풀 핵산 추출물의 농도에 따른 *S. mutans* 생균수 측정

*S. mutans*의 생균수를 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. 꿀풀 핵산 추출물을 첨가하지 않은 대조군에는 3시간 이후부터 급격히 균수가 증가하여, 6시간 이후 통계적으로 유의하게 균수가 증가되었다( $p < 0.05$ ). 한편, 꿀풀 핵산 추출물을 0.25 mg/ml의 농도로 첨가한 경우는 6시간까지 균수가 초기와 유사하였으나, 12시간 이후 통계적으로 유의하게 균수가 감소되었다( $p < 0.05$ ). 0.5 mg/ml의 농도로 첨가한 경우, 3시간까지 균수가 초기와 유사하였으나, 6시간 이후 시간이 지남에 따라 통계적으로 유의하게 감소되었다( $p < 0.05$ ). 또한 1.0 mg/ml의 농도로 첨가한 경우, 1시간 이후부터 시간이 지남에 따라 통계적으로 유의하게 감소됨을 보여, 꿀풀 핵산 추출물의 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 생균수가 감소하였다( $p < 0.05$ ). 이 실험의 결과, 농도·시간의존적 균증식의 억제를 관찰하였으며 0.5 mg/ml 농도에서 24시간 이후 균이 완전 사멸한 것은 최소성장억제농도가 0.5 mg/ml인 것과 일치하였다.

##### (3) 꿀풀 핵산 추출물의 농도에 따른 *S. aureus* 생균수 측정

*S. aureus*의 생균수를 측정된 결과 Fig. 4와 같다. 추출물을 첨가하지 않은 대조군에는 3시간 이후부터 급격히 균수가 증가하여, 6시간 이후 통계적으로 유의하게 균수가 증가되었다( $p < 0.05$ ). 한편, 꿀풀 핵산 추출물을 0.25 mg/ml의 농도로 첨가한 경우는 6시간까지 균수가 초기와 유사하였으나, 12시간부터 통계적으로 유의하게 균수가 감소되었다( $p < 0.05$ ). 0.5 mg/ml의 농도로 첨가한 경우, 1시간까지 균수가 초기와 유사하였으나, 3시간 이후 시간이 지남에 따라 통계적으로 유의하게 감소되어, 24시간 이후에는 균이 사멸하였다( $p < 0.05$ ). 또한 1.0 mg/ml의 농도로 첨가한 경우, 첨가 후 3시간 이후 시간이 지남에 따라 통계적으로 유의하게 감소되

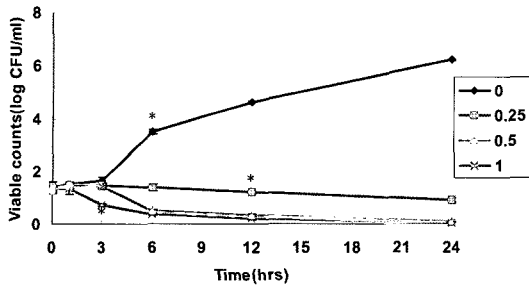


Fig. 4. Inhibitory effect of hexane fraction of *Prunella* on the growth of *S. aureus* (mg/ml). \* $p < 0.05$  compared with control.

어, 24시간 이후에는 균수가 완전히 사멸하여 꿀풀 핵산 추출물의 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 생균수가 감소되었다( $p < 0.05$ ).

이 실험의 결과, 농도와 시간에 따른 균증식의 억제 효과를 관찰하였으며 또한 0.5 mg/ml 농도에서 24시간 이후 균이 완전 사멸한 것은 최소성장억제농도가 0.5 mg/ml인 것과 일치하였다.

## 2. 항우식 효과

### 1) *S. mutans*의 산 생성 억제

마 핵산 추출물의 *S. mutans*에 의한 산 생성 억제 효과는 Fig. 5과 같다. 추출물을 첨가하지 않은 대조군의 pH는  $5.6 \pm 0.1$ 였고, 핵산 추출물을 0.1 mg/ml 첨가하였을 때의 pH는  $5.8 \pm 0.2$ 로 대조군과 비교하여 뚜렷한 차이는 없었다. 그러나 0.5 mg/ml를 첨가하였을 때 pH는  $6.4 \pm 0.1$ , 1.0 mg/ml에서는 pH가  $6.7 \pm 0.2$ , 2.0 mg/ml에서는 pH가  $7.2 \pm 0.1$ 로 대조군과 비교하여 통계적으로 유의하게 산 생성을 억제함을 보였다 ( $p < 0.05$ ). 그리고 배양 전 추출물을 첨가한 배지와 추출물을 첨가하지 않은 배지 모두 pH는  $7.02 \pm 0.01$ 이었는데 24시간 이후 대조군에서는 pH가  $5.6 \pm 0.1$ 로 나타났으며 마 핵산 추출물 2.0 mg/ml을 첨가하였을 때 pH는  $7.2 \pm 0.1$ 로 나타나 핵산 추출물이 산 생성을 억제하

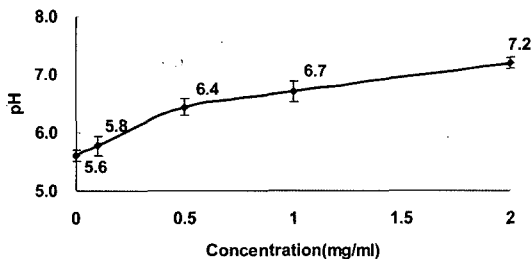


Fig. 5. The change of pH induced by *S. mutans* under varying concentrations of hexane extract of *Yam*.

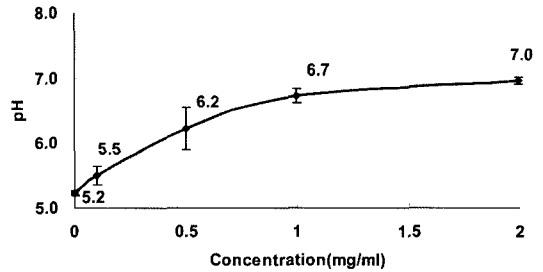


Fig. 6. The change of pH induced by *S. mutans* under varying concentrations of hexane extract of *Prunella*.

였음을 알 수 있었다.

꿀풀 핵산 추출물의 *S. mutans*에 의한 산 생성 억제 효과는 Fig. 6과 같다. 추출물을 첨가하지 않은 대조군의 pH는  $5.2 \pm 0.03$ 였고, 핵산 추출물을 0.5 mg/ml 첨가하였을 때의 pH는  $5.5 \pm 0.15$ 로 대조군과 비교시 억제 효과는 없었다. 그러나 0.5 mg/ml를 첨가하였을 때 pH는  $6.2 \pm 0.32$ , 1.0 mg/ml에서는 pH가  $6.7 \pm 0.11$ , 2.0 mg/ml에서는 pH가  $7.0 \pm 0.06$ 로 대조군과 비교하여 통계적으로 유의하게 산 생성을 억제함을 보였다 ( $p < 0.05$ ). 그리고 배양 전 추출물을 첨가한 배지와 첨가하지 않은 배지 모두 pH는  $7.02 \pm 0.01$ 이었으나 24시간 이후 대조군에서는 pH가  $5.2 \pm 0.03$ 로 나타났으며 마 핵산 추출물 2.0 mg/ml을 첨가시 pH는  $7.0 \pm 0.06$ 로 나타나 핵산 추출물이 산 생성을 억제함을 보여주고 있다.

마와 꿀풀 두 물질을 비교하였을 때 마 핵산 추출물에서 산 생성 억제력이 높았다.

### 2) Glucosyltransferase 활성 저해

*S. mutans*에 대한 마와 꿀풀 핵산 추출물을 첨가하여

Table 5. Inhibitory effects of the hexane fraction of *Yam* and *Prunella* on glucosyltransferase activities

Concentration (mg/ml)	GTase activity* (O.D. 550 nm)		Inhibition rate (%)†	
	yam	Prunella	yam	Prunella
Control	0.057 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.047 ± 0.002 <sup>a</sup>	0	0
0.1	0.052 ± 0.002 <sup>b</sup>	0.044 ± 0.001 <sup>ab</sup>	9	6
0.5	0.047 ± 0.002 <sup>c</sup>	0.041 ± 0.001 <sup>bc</sup>	18	11
1.0	0.041 ± 0.001 <sup>d</sup>	0.039 ± 0.001 <sup>c</sup>	28	16
2.0	0.037 ± 0.001 <sup>e</sup>	0.035 ± 0.003 <sup>d</sup>	35	25

\*Values are mean ± S.D. (n=3).

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

†Inhibition rate (%) = [(control O.D. - treated O.D.) / control O.D.] × 100.

GTase의 활성 저해효과를 측정한 결과는 Table 5와 같다. 마 핵산 추출물의 사후검정결과, 모든 균에서 대조군과 비교시 마 핵산 추출물에 대해 농도 의존적으로 유의하게 활성이 저해되었고, 꿀풀 핵산 추출물의 사후검정결과, 대조군과 비교시 0.1 mg/ml를 제외한 0.5 mg/ml 이상의 농도에서는 농도 의존적으로 유의하게 활성을 저해시킴을 확인할 수 있었다. 한편 aloe vera<sup>16</sup>에서 분리, 정제한 aloe-emodin과 barbaloin의 100 µg/ml에서 각각 99.8%, 98.4%의 활성저해를 보였으며 콜레스테롤 강화작용과 비만방지 등 효과가 있는 (+)-catechin<sup>17</sup>은 100 µg/ml에서 99.8%의 높은 억제율을 보였다. 선행연구와 비교한 결과 마 핵산 추출물의 GTase 활성 저해율이 꿀풀 핵산 추출물에 비해 높게 나타났지만 선행연구자들의 결과에 비해 효과가 낮은 것으로 보아 유효 성분을 분리, 정제하여 실험해 보아야 할 필요성이 대두된다.

#### IV. 요약 및 결론

7종 약용식물의 메탄올 추출물을 이용하여 항균활성을 조사하고 그 중 가장 항균력이 우수한 마, 꿀풀 추출물의 용매 분획별 구강병인균에 대한 항균성과 항우식 효과를 알아본 결과는 다음과 같다.

마의 핵산 추출물은 특이적으로 *S. mutans*에 대해 강한 항균력이 나타났으며, 꿀풀의 핵산 추출물은 *S. mutans*, *P. gingivalis*, *S. aureus* 3균주에 항균력을 나타내었다. 마의 핵산 추출물의 *S. mutans*에 대한 시간, 농도별 생존수를 비교해본 결과 6시간 이후 0.1, 0.25, 0.5 mg/ml 모두에서 대조군과 비교하여 유의하게 감소하였고 24시간 이후 0.1 mg/ml과 비교 시 0.25, 0.5 mg/ml에서 각각 통계적으로 유의하게 감소됨을 확인하였다. 꿀풀의 핵산 추출물에 대한 시간, 농도별 *S. mutans*의 생존수를 비교해본 결과 12시간 이후 0.25 mg/ml과 비교 시 0.5, 1.0 mg/ml 농도에서 유의한 감소를 보였고, 24시간 이후 대조군과 비교 시 모든 실험군에서 통계적으로 유의한 감소를 보였다. 꿀풀의 핵산 추출물에 대한 *S. aureus*의 시간, 농도별 생존수를 비교해본 결과 12시간째는 모든군에서 유의한 차이를 보였고 24시간 이후 0.5 mg/ml, 1.0 mg/ml에서 각각 통계적으로 유의하게 감소함을 나타내었다.

*S. mutans*에 대한 마, 꿀풀 핵산 추출물이 항우식능을 측정하고자 pH, GTase를 측정한 결과, 2.0 mg/ml 농도에서 마가 pH 7.2, 꿀풀이 pH 7.0로 나타나 pH 5.6, pH 5.2인 대조군과 비교하여 볼 때 마, 꿀풀 핵산 추출물을 첨가물이 산 생성을 억제하여 증성으로 보여

주고 있으며, GTase 활성 저해효과는 마와 꿀풀의 핵산 추출물의 2.0 mg/ml 농도에서 35%, 25%로 각각 활성을 저해하였다.

이상의 결과를 종합해 보면, 마, 꿀풀의 핵산 추출물에서 치아우식원인균인 *S. mutans*, 치주질환의 원인균인 *P. gingivalis*, 치과치료 후 병원성 감염 원인균인 *S. aureus*에 대해 항균력을 보였으나 마는 *S. mutans*에서만 항균력이 나타나 마와 꿀풀 추출물을 혼합하여 사용한다면 구강병인균의 증식억제를 증가시킬 것으로 생각되며 구강질환을 예방하는데 기여할 것으로 생각된다. 또한 마와 꿀풀의 핵산 추출물이 생존수를 감소시킴으로써 자연적으로 산 생성억제와 GTase의 활성을 저해하여 치아우식을 예방하는데 기여할 것으로 생각된다.

그러나 천연물질을 이용한 항균활성 및 항우식에 대한 선행연구결과와 비교하여 본 결과 추출방법과 순수 분리정제 및 화학 구조식을 명확하게 하여 실험을 더 하여야 할 것으로 생각되며 천연물질이 인체에 미치는 독성이나 안전성에 대한 *in vitro* 및 *in vivo* 실험이 필요하다고 생각된다. 추후 인체에 독성이 없다는 것이 확인되고 각 성분별 유의성에 대한 검정이 이루어진다면 마와 꿀풀을 이용하여 구강질환예방에 관련된 상품 개발 및 이를 통한 국민의 구강건강증진에 기여할 수 있을 것으로 생각된다.

#### 감사의 글

본 연구는 산업자원부지원 계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터의 지원에 의한 것입니다.

#### 참고문헌

1. 이성립, 김종규 : 콩 추출물의 구강미생물에 대한 항균효과. 한국환경보건학회, 32(2), 192-197, 2006.
2. 조응휘 : 위상차현미경(Phase contrast microscope)을 이용한 구강 미생물검사와 응용법. 치과연구, 21(3), 37-44, 1987.
3. 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.
4. Hamada, S., Koga, T. and Ooshima, T. : Virulence factors of *Streptococcus mutans* and dental caries prevention. *Journal of Dental Research*, 63(3), 407-411, 1984.
5. Slot, J. : The predominant cultivable organism in juvenile periodontitis. *Scand. Journal of Dental Research*, 84, 1-10, 1976.
6. Mayrand, D. and Holt, S. C. : Biology of asaccharo-

- lytic black-pigmented *Bacteroides* species. *Microbiological reviews*, **52**(1), 134-152, 1988.
7. 김강주 : 치과영역 포도상구균(*Staphylococcus*)의 분포 및 항생제 내성. 대한치과과의사협회지, **34**(2), 110-118, 1996.
  8. 정경석, 이희주 : 인천시내 일부 종합병원 종사자와 대학생의 비강내 *Staphylococcus aureus*의 보균상태 및 항균제에 대한 감수성. 한국환경보건학회, **19**(1), 71-76, 1993.
  9. 박현숙, 민경진, 차춘근, 송진욱, 손진창 : 작약 추출물의 구강병원균에 대한 항균성 및 구강암 세포 증식 억제 효과. 한국환경보건학회, **33**(1), 21-29, 2007.
  10. 국립보건원 : 병원미생물검사기준, 국립보건원, 1985.
  11. 전형오 : *Streptococcus mutans*에 대한 오미자(*Schizandra chinensis*)의 항균활성 성분. 충남대학교 대학원 석사학위논문, 2000.
  12. 이위영, 안진권, 권영진 : 목본식물로부터 *Streptococcus mutans*균 증식억제 및 Glucosyltransferase 활성 억제수종의 탐색. 산림과학논문집, **65**, 30-46, 2002.
  13. 남상해, 양민석, 최상도, 장대식, 서원택 : 두송실에 의한 충치균의 유기산 생성억제효과. 한국농화학회지, **41**(5), 395-398, 1998.
  14. Chung, J. Y., Choo, J. H., Lee, M. H. and Hwang, J. K. : Anticariogenic activity of macelignan isolated from *Myristica fragrans* (nutmeg) against *Streptococcus mutans*. *Phytomedicine*, **13**, 261-266, 2006.
  15. 김신규, 송주희, 김종배, 장기완, 전재규 : 호장근의 항세균효과 및 항부착효과. 대한구강보건학회지, **29**(1), 80-89, 2005.
  16. 박정순, 신용서, 류일환, 이갑상 : *Aloe vera* peel 추출물의 *Streptococcus mutans* JC-2에 대한 항균활성(I). 한국식품영양학회지, **13**(2), 139-145, 2000.
  17. 박정순, 신용서, 이갑상, 강인호, 김선숙 : (+)-Catechin이 *Streptococcus mutans* JC-2의 glucosyltransferase의 활성 및 세포막투과성에 미치는 영향. 대한구강보건학회지, **21**(2), 245-253, 1997.