

삼백초 추출물의 항치아우식 효과

이다홍 · 유현희¹ · 정수영² · 문해담² · 박기봉² · 조수민² · 전병훈³ · 김인숙 · 유용욱^{2*}

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

Anticariogenic Properties of the Extract of *Saururus chinensis*

Da Hong Lee, Hyeon Hee Yu¹, Su Young Jung², Hae Dalma Moon², Ki Bong Park², Soo Min Cho²,
Byung Hun Jeon³, In Sook Kim, Yong Ouk You^{2*}

Department of Food and Nutrition, Wonkwang University, 1: Department of Food and Nutrition, Kunsan National University,
2: Department of Oral Biochemistry, School of Dentistry, 3: Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

It has been well established that *S. mutans* is the major etiological agent in dental caries, one of the most common oral diseases worldwide. The present study was designed to investigate the effect of *Saururus chinensis* (*S. chinensis*) ethanol extracts on the growth, acid production, biofilm formation, adhesion, and insoluble glucan synthesis of *S. mutans*. The ethanol extracts of *S. chinensis* showed concentration dependent inhibitory activity against the growth and acid production of *S. mutans*, and produced significant inhibition at the concentration of 0.025, 0.05, 0.1, 0.2 and 0.4 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 80% at the concentration of 0.05 mg/ml and complete inhibition was observed at the concentration of 0.4 mg/ml. On the activity of glucosyltransferase which synthesizes water insoluble glucan form sucrose, ethanol extract of *S. chinensis* showed more than 10% inhibition over the concentration of 0.025 mg/ml. The synthesis of insoluble glucan was decreased in the presence of 0.025 ~ 0.4 mg/ml of the ethanol extract of *S. chinensis*. Our research strongly suggested *S. chinensis* was a promising natural product for the prevention of dental caries.

Key words : *Saururus chinensis*, dental caries, *Streptococcus mutans*

서 론

최근 우리나라는 경제발전으로 인하여 생활방식이 다양해지고, 국민의 생활수준이 많이 향상되었다. 문화수준이 높을수록 정제되고 설탕을 많이 함유한 식품을 섭취하게 되면서, 설탕이 치아우식증을 유발시키는 요인으로 작용하여 중요한 문제로 다루어지고 있다¹⁾. 우리나라에서는 치아우식증은 10대 만성질환 중에서 유병율이 15.8%로 가장 높게 나타났으며, 2004년 건강보험 급여 다빈도 상병 현황에서 치수 및 치근단주위조직의 질환(4위), 치아우식증(7위), 치은염 및 치주질환(9위) 등이 10대 질환에 포함돼 있어²⁾, 치아우식증이 한국인의 구강건강을 악화시키는 중대 구강병으로 지적되고 있다.

치아우식증이란 치은연상 및 치은 연하 치면세균막에 의하여 유발되고, 치면세균막에 많이 존재하는 세균이 형성한 젖산에 의하여 무기질과 유기질이 파괴되어 치아 경조직을 탈회시킨다³⁾. 기질로부터의 산생산능은 치아우식 유발성 미생물로써 필수적 성분이다. 구강 미생물의 산생산능은 세균 종 군주에 따라 다르지만 초기 병소로부터 검출되는 우세 미생물 속에는 *Streptococcus mutans* (*S. mutans*)가 무엇보다 강하다. *S. mutans*는 통성 혐기성 세균으로 구강내의 치면세균막에 상주하여 섭취한 음식물에 포함된 포도당, 과당 등을 분해하고 그 대사과정에서 발생하는 부산물인 젖산을 세포외로 방출함으로써 치아법랑질을 탈회시킨다^{1,4)}. 또한 *S. mutans*가 생산하는 GTFase는 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. 치아우식증 예방을 위해 penicillin, erythromycin과 같은 항생제가 효과

* 교신저자 : 유용욱, 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 치과대학

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

· 접수 : 2007/05/17 · 채택 : 2007/06/11

적인 역할을 하는 것으로 보고되고 있지만 장기간 사용시 항생제에 대한 내성이 발생하므로 임상에서 사용되지 못하고 있다⁴⁾. 그 외에 불소 화합물의 이용법^{5,6)}, 불소를 방출하는 여러 장치와 재료^{9,10)}, 자동 잇솔질 기구¹¹⁾ 등 방법들이 개발되어 소개되어 왔으나 아직까지 치아우식증을 예방법으로 효과를 거두지 못하고 있다. 따라서 보다 효과적이고 실용적이며 안정성이 있는 치아우식증의 예방법의 개발이 요구되고 있는 실정이다.

삼백초(*Saururus chinensis* Baill.)는 삼백초과에 속하는 다년생 초본으로 고산 근처의 습지에서 자생하고, 예로부터 다양한 약효를 가지고 민간약으로 널리 사용되어 왔으며 특히 부종, 이뇨, 소종, 해독 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다¹²⁾. 최근에는 간 보호 작용, 항암, 진통작용 및 뇌신경 세포 손상에 방어효과가 있는 것으로 보고되고 있다¹³⁾. 한의학 서적에 기술된 효능을 좀 더 살펴보면, 삼백초는 해열(解熱), 해독(解毒), 소염(疏熱), 소종(消腫), 이뇨(利尿) 작용이 있어 소변불리(小便不利), 수종(水腫), 각기(脚氣), 간염(肝炎), 황달(黃疸) 및 암종(癰腫), 대하(帶下), 부종(浮腫), 화농(化膿), 말라리아, 열독(熱毒) 등의 치료에 사용된다고 기술되어 있다. 또한, 종기, 화농, 농양, 살충, 말라리아, 상처 및 궤양치료제로도 알려져 있다^{14,15)}. 특히 삼백초의 성분중 하나인 Quercetin은 항균 및 항산화 효과를 나타내는 것으로 알려져 있으며, 최근에는 항암성 및 모세혈관 강화작용 등의 효과들이 알려져 있다¹⁵⁻²⁴⁾. 한약백과도감에 삼백초는 치통, 치주병의 치료에 사용한다고 기록되어 있다²⁵⁾. 그러나 아직까지 삼백초가 치면세균막 형성의 원인균인 *S. mutans*에 미치는 영향에 대한 과학적인 실험결과는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 삼백초 에탄올 추출물이 *S. mutans*의 성장과 산 생성, 부착 및 글루칸 생성에 미치는 효과를 관찰하고 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 연구재료

1) 삼백초 추출물 준비

삼백초는 익산시 대학한약국에서 구입한 후 냉암소에 보관하여 사용하였다. 건조하여 세절한 삼백초 100 g을 에탄올 3.4 L로 상온에서 3일간 2회 추출하여 에탄올 추출물을 4.96 g(4.96%) 얻었다.

2) 균주 및 배양

본 실험에 사용한 균주는 *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) ATCC 25175로 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 산 생성 억제 실험

1%의 glucose가 들어 있는 BHI 액체배지에 삼백초 에탄올 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 (HANNA instrument,

philippines)를 이용하여 pH를 측정하여 산 생성 억제 효과를 관찰하였다. 대조군은 삼백초 추출물을 넣지 않고 시행하였다.

2) 타액준비

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

3) S-HA에 부착 억제 실험

Hydroxyapatite beads (Bio-Rad Lab., U.S.A.) 30 mg을 증류수로 5회 세척하여 작은 입자를 제거한 후 37°C에서 건조시켜 사용하였다. 건조된 hydroxyapatite bead 30 mg을 1 ml의 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 삼백초의 에탄올 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 (AMPLITUDE 30, PULSE 3)를 이용해 S-HA에 부착된 균을 떨어지도록 하였다. 그 다음 균액을 희석하여 Mitis salivarius agar plate (Difco Laboratories, U.S.A.)에 도말하여 37°C 항온기에서 48시간 동안 배양시켜 집락수를 세었다. 대조군은 삼백초 추출물을 넣지 않고 시행하였다.

4) Glucosyltransferase (GTFase)의 준비

다음과 같은 방법으로 GTFase를 얻는다. *S. mutans*를 BHI 액체배지 2 L에 배양한 후, 원심분리 (15,000 rpm, 4°C, 20분)하여 단백질을 가라앉혔다. 이 단백질에 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 0.04 M KPB (pH 6.0)을 0.25 ml 취하여, 0.25 ml의 0.4 M 자당용액, 0.25 ml의 각 농도별 삼백초 에탄올 추출물을 넣고, GTFase를 넣어 최종 1 ml이 되게 하였다. 37°C에서 18시간 배양한 후 증류수로 세척한 후 글루칸을 떼어내기 위하여 초음파장치(40 W, 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 균으로 하였다.

3. 통계처리

실험은 모두 3회 반복하였으며, 얻은 결과는 통계프로그램인 SPSS (ver 10.0)를 사용하여 평균과 표준오차로 제시하였고, $\alpha=0.05$ 수준에서 실험군과 대조군의 평균치를 independent sample t-test로 유의성을 검증하였다.

성 적

- 삼백초 에탄올 추출물의 *S. mutans* 성장억제에 미치는 효과
삼백초 에탄올 추출물의 *S. mutans*에 대한 항균 활성을 관찰

하기 위하여 BHI 액체배지에 삼백초의 에탄올 추출물을 0, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 mg/ml의 농도로 첨가한 후, *S. mutans*를 접종하여 37°C 항온기에서 24시간 배양한 후 흡광도를 측정할 결과는 Fig. 1과 같다. 삼백초 에탄올 추출물을 넣지 않은 대조군에서는 0.245±0.025의 흡광도를 나타내었다. 0.025 mg/ml의 농도에서는 0.222±0.009의 흡광도를, 0.05 mg/ml에서는 0.203±0.006, 0.1 mg/ml에서는 0.199±0.003, 0.2 mg/ml에서는 0.002±0.002의 흡광도를 나타내었다. 그리고 0.4 mg/ml에서는 0.001±0.002의 흡광도를 나타내어 0.2 mg/ml 이상 농도에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다 ($p<0.05$). 대조군에 비하여 9.4%, 17.1%, 18.8%, 99.2%, 99.6%의 성장억제효과를 나타내었다.

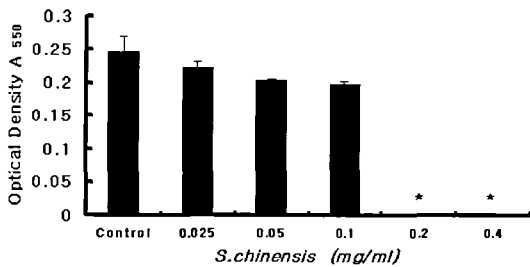


Fig. 1. The optical density of *S. mutans* by various concentrations of ethanol extract of *S. chinensis*. The optical density of A550 were read by a spectrophotometer. * $p<0.05$ was statistically as determined by independent sample t-test for the mean values different from the control group.

2. 삼백초 에탄올 추출물의 *S. mutans* 산 생성 억제에 미치는 효과

삼백초 에탄올 추출물 첨가에 따른 *S. mutans*에 의한 유기산 생성 억제 효과를 알아보기 위하여 0, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 mg/ml 농도의 시료에 *S. mutans*를 접종하여 24시간 배양 후에 pH meter로 pH를 측정할 결과는 Table 1과 같다. 삼백초 추출물을 넣지 않은 대조군에서는 pH 5.35±0.039를 나타내었다. 삼백초 에탄올 추출물은 0.025 mg/ml에서 5.30±0.000, 0.05 mg/ml에서는 5.25±0.074, 0.1 mg/ml에서는 5.48±0.083, 0.2 mg/ml에서는 7.33±0.086, 0.4 mg/ml에서는 7.18±0.029로 0.2 mg/ml 이상의 농도에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다($p<0.05$).

Table 1. The pH of *S. mutans* by the various concentrations of ethanol extract of *S. chinensis*.

Conc. (mg/ml)	pH
Control	5.35±0.029 ¹⁾
0.025	5.30±0.086
0.05	5.25±0.083
0.1	5.48±0.074
0.2	7.33±0.000*
0.4	7.18±0.039*

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. 삼백초 에탄올 추출물의 S-HA 부착 억제에 미치는 효과

삼백초 에탄올 추출물이 S-HA에 대하여 *S. mutans* 부착 억제 효과가 있는지 알아본 결과(Fig. 2), 대조군은 606±301 ($\times 10^3$)

CFU/ml이었으며, 삼백초 에탄올 추출물 0.025 mg/ml에서는 510±60 ($\times 10^3$) CFU/ml, 0.05 mg/ml에서는 79±6 ($\times 10^3$) CFU/ml, 0.1 mg/ml에서는 53±8 ($\times 10^3$) CFU/ml, 0.2 mg/ml에서는 41±1 ($\times 10^3$) CFU/ml, 그리고 0.4 mg/ml에서는 0.0±0.001 CFU/ml이었다. 실험 결과, 0.05 mg/ml 이상의 농도에서 대조군에 비하여 S-HA에 부착하는 균수가 농도 의존적으로 유의한 차이를 보이며 적어졌으며($p<0.05$), 대조군에 비해 각각 15.8%, 87.0%, 91.2%, 93.2%, 100%의 부착 억제율을 보였다.

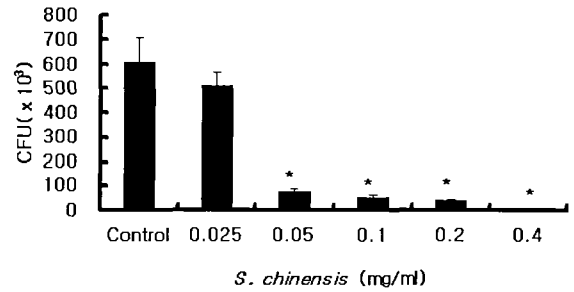


Fig. 2. The colony forming unit(CFU) of *S. mutans* to the 30 mg saliva-coated hydroxyapatite beads by various concentrations of ethanol extract of *S. chinensis*. * $p<0.05$ was statistically significant as determined by independent sample t-test for the mean values different from the control group.

4. 삼백초 에탄올 추출물의 GTFase에 의한 비수용성 글루칸 합성 억제에 미치는 효과

삼백초 추출물이 비수용성 글루칸 합성 저해 효과가 있는지 알아본 결과는 Fig. 3과 같다. 삼백초 에탄올 추출물은 대조군에 비해 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 mg/ml 각각의 농도에서 86.3±4.4%, 85.8±5.2%, 85.6±5.1%, 84.9±4.1%, 84.5±5.6%의 생성율을 보여, 삼백초 에탄올 추출물이 비수용성 글루칸 합성 저해 효과가 있는 것으로 나타났다. 특히 삼백초 에탄올 추출물의 GTFase에 의한 비수용성 글루칸 합성 억제 효과는 대조군에 비하여 0.025 mg/ml 이상의 농도에서 억제율을 보였다($p<0.05$).

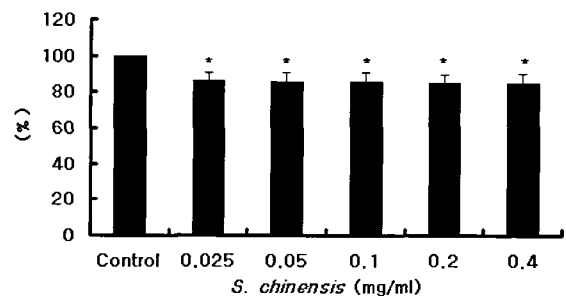


Fig. 3. Rate of insoluble glucan synthesis of *S. mutans* by the various concentration of ethanol extract of *S. chinensis*. * $p<0.05$ was statistically significant as determined by independent sample t-test for the mean values different from the control group.

고찰

치아우식증은 현재 인간에게 발생하는 질환 중 가장 빈발하

는 만성 질환으로서 누구에게나 널리 퍼져있는 다발성 질환이다^{26,27}. 현재까지 연구된 바에 의하면 치아우식증의 주요 원인균으로는 *S. mutans*와 *S. sorbinus*가 있다. 특히, *S. mutans*는 당질 분해능을 가지고 있으며 텍스트란을 형성하여 치태를 형성한다³. 타액 내 당단백질로부터 획득피막이 형성되고 음식물에 의해 치태가 침착되면 그 자리에 치면세균막 세균이 붙어, 이 치면세균막 세균이 만드는 유기산에 의해 법랑질 표면이 탈석회화 되어 치아우식이 발생한다³. 특히 균체가 밀집하고 증식하고 있는 상태의 치면세균막에서는 보다 빠르게 기질로부터 다양한 산을 생산하여 국소의 pH를 우식임계 pH 5.5이하로 떨어뜨린다²⁸. 이에 본 연구에서는 삼백초를 에탄올로 추출한 후 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 mg/ml의 농도별 시료를 사용하여 *S. mutans*에 대한 성장억제효과를 관찰한 결과, *S. mutans*의 성장률이 대조군에 비해 0.2 mg/ml 이상의 농도에서 95% 이상의 성장억제 효과를 나타내었다. 또한 삼백초 에탄올 추출물을 넣지 않은 대조군에서 pH는 5.35를 나타내었으나, 삼백초 추출물 0.2, 0.4 mg/ml 농도에서 각각 7.33, 7.18을 나타내어 *S. mutans*에 의한 유기산 생성을 억제하였음을 보여주었다. *S. mutans*가 생산하는 GTFase는 자당을 기질로 하여 점액성의 비수용성 글루칸을 합성하는 반응을 촉매한다²⁹. 이 점착성 비수용성 글루칸은 *S. mutans*를 치면에 부착시켜 다른 미생물을 끌어들이며 그 치면에서의 부착, 증식을 가능하게 한다. 삼백초 에탄올 추출물이 치아표면의 세균 부착을 억제하는지 알아보기 위해 S-HA에 대한 부착억제 효과를 확인한 결과 대조군에서는 606±301 ($\times 10^3$) CFU/ml, 0.025 mg/ml에서는 510±60 ($\times 10^3$) CFU/ml, 0.05 mg/ml에서는 79±6 ($\times 10^3$) CFU/ml, 0.1 mg/ml에서는 53±8 ($\times 10^3$) CFU/ml, 0.2 mg/ml에서는 41±1 ($\times 10^3$) CFU/ml이 관찰된 반면, 0.4 mg/ml에서는 세균을 관찰할 수 없어 대조군에 비하여 각각 15.8%, 87.0%, 91.2%, 93.2%, 100%의 부착 억제율을 보여 0.05 mg/ml 이상으로 첨가한 군에서 유의한 차이를 볼 수 있었다 ($p < 0.05$). *S. mutans*는 타액성 획득피막성분인 당단백질에 부착하는 대표적인 세균 중 하나로 GTFase를 생성하여 글루칸을 합성한다. 합성된 글루칸은 점착성이 있어 세균이 치아 평활면에 잘 부착되게 하여 치아우식증 및 치주질환을 발생시킨다³⁰. 이에 본 연구에서 GTFase에 의한 비수용성 글루칸 형성을 삼백초가 억제하는지 알아본 결과 삼백초 에탄올 추출물을 0.025 mg/ml 이상의 농도에서 억제율을 보였다.

이상의 결과를 종합해 보면, 삼백초 에탄올 추출물은 *S. mutans*의 성장 억제, 유기산의 생성 억제, S-HA 부착 억제, 비수용성 글루칸 합성 억제에 효과적임을 알 수 있었다. 이에 앞으로 삼백초의 어떤 구성성분이 어떤 효과를 나타내는지에 대해서 순수정제 과정을 거쳐 연구가 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

결 론

치아우식증 예방제를 개발하기 위하여 천연물인 삼백초를 에탄올로 추출하여서 *S. mutans*의 성장과 산 생성 억제 효과, S-HA에 대한 부착억제와 비수용성 글루칸 합성 억제를 측정하

고 다음과 같은 결과를 얻었다. *S. mutans*의 성장억제율이 삼백초 추출물을 넣지 않은 대조군에 비해, 삼백초 에탄올 추출물은 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 mg/ml의 농도에서 대조군에 비하여 각각 9.4%, 17.1%, 18.8%, 99.2%, 99.6%로 0.2 mg/ml 이상의 농도에서 대조군과 유의한 차이를 보여 *S. mutans* 성장억제 효과를 나타내었다($p < 0.05$). *S. mutans*의 산생성량은 대조군에서 pH는 5.350±0.039이었고, 삼백초 에탄올 추출물의 경우, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 mg/ml의 농도에서 각각 5.30±0.086, 5.25±0.083, 5.48±0.074, 7.33±0.000, 7.18±0.039로 0.2 mg/ml 이상의 농도에서 우식 임계 pH 5.5보다 높아 산생성 억제 효과를 보였다($p < 0.05$). S-HA에 *S. mutans*의 부착율이 삼백초의 에탄올 추출물 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 mg/ml 농도에서 대조군에 비해 각각 15.8%, 87.0%, 91.2%, 93.2%, 100%의 부착억제율을 보여 0.05 mg/ml 이상의 농도에서 대조군과 유의한 차이를 보였다($p < 0.05$). GTFase에 의한 비수용성 글루칸 정량실험을 한 결과 대조군에 비해 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 mg/ml 농도에서 각각 86.3±4.4%, 85.8±5.2%, 85.6±5.1%, 84.9±4.1%, 84.5±5.6%의 생성율을 보였다. 특히 0.025 mg/ml 이상 농도에서 대조군 보다 유의하게 감소하였다($p < 0.05$).

이상의 결과를 토대로 하여 볼 때 삼백초 에탄올 추출물은 성장 억제, 유기산의 생성억제, S-HA에 대한 부착억제, 비수용성 글루칸 합성 억제에 효과가 있으므로, 항치아우식 효과를 기대할 수 있을 것으로 보인다. 이에 앞으로 삼백초의 어떤 구성성분이 어떤 효과를 나타내는지에 대해서 순수정제 과정을 거쳐 연구가 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 정부(교육인적자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (R08-2004-000-10287-0).

참고문헌

1. 김종배, 백대일, 신승철, 김동기, 진보형, 박덕영. 치학개론. 교문사, 1999.
2. 보건복지부. 구강공공의료를 보완하는 대책. 2005.
3. 정선일, 이현옥, 김강주. 구강면역학, 대학사, pp 216-231, 1998.
4. Tsuneno, N., Masa, T., Masao, H. Dental caries prevention by traditional chinese medicines. Plant Med 44: 100-106, 1982.
5. Svanberg, M., Roll, G. Streptococcus mutans in plaque and saliva after mouthrinsing with SnF₂. Scand J Dent Res 90: 292-298, 1982.
6. Svanberg, M., Westergren, G. Effect of SnF₂ administered as mouthrinse or topically applied, on Streptococcus mutans, Streptococcus sanguis and lactobacilli in dental plaque and saliva. Scand J Dent Res 9: 123-129, 1983.
7. Zimmer, S., Barthel, C.R., Koehle, C., Roulet, J.F. Enamel fluoride retention after application of fluoride-containing rubber cups. Am J Dent 15: 11-14, 2002.

8. 황충주, 임선아. NaF 0.05% 양치액 사용시 고정성 교정장치 장착 환자에서의 *Streptococcus mutans* 변화에 관한 연구. 대치교정지 27: 539-548, 1997.
9. Gwinnett, A.J., Ceen, R.F. Plaque distribution on bonder brackets: a scanning microscope study. Am J Ortho 75: 667-677, 1979.
10. Wilson, T.G., Gregory, R.L. Clinical effectiveness of fluoride-releasing elastomers. I: Salivary *Streptococcus mutans* numbers. Am J Orthod Dentofacial Orthop 107: 293-297, 1995.
11. Boyd, R.L., Murray, P., Robertson, P.B. Effect of rotary electric versus manual toothbrush on periodontal status during orthodontic treatment. Am J Orthod Dentofac Orthop 96: 342-347, 1989.
12. 박종현. 삼백초와 천궁을 이용한 약용주 개발 연구. 농림부 보고서. 1996.
13. 정연구, 이해숙, 이경애, 정 옥, 오원근, 김광동. 임종석, 문자영, 조용권, 박순희, 윤도영. 삼백초 추출물의 자궁경부암세포 억제 효능. 약학회지 46: 426-432, 2002.
14. 구분칠, 조영민. 태권도 선수에 대한 어성초·삼백초 추출액 복용전후 중성지방의 수치변화 비교. 교육이론과 실천, 2000.
15. 김숙경, 반소연, 김준성, 정신교. 천연물, 유기합성 추출조건에 따른 삼백초 추출물의 항산화 활성 및 성분의 변화. 한국응용생명화학회, 48: 89-92, 2005.
16. 이성태, 박정민, 이회경, 김만배, 조주식, 허중수. 삼백초의 생육 시기 및 부위별 성분 함량 비교. 한국 약용 작물학회, 8: 312-318, 2000.
17. 최 면, 신건재, 최근표, 도재호, 김종대. 흰쥐의 항산화 활성에 미치는 홍삼, 삼백초, 복분자 추출물의 상승효과. 한국 약용 작물학회, 11: 148-154, 2003.
18. 김민자, 김인재, 남상영, 이철희, 윤 태, 송범현. 건조방법에 따른 삼백초의 유효성분 함량, 항산화능 및 색도. 한국 약용 작물학회, 14: 8-13, 2006.
19. 김병희, 송화순. 삼백초의 염색성 및 항균성(I). 대한가정학회지 38, 2000
20. 하배진. 환경 Hormone에 대한 삼백초의 Glutathione 및 항산화 활성 효과. 한국 식품 위생안전성 학회, 18: 161-165, 2003.
21. 이인선. 삼백초 열수추출물의 항암 및 세포독성 저해 효과. 한국 식품 저장 유통 학회, 8: 213-216. 2001.
22. 박미림, 한대용, 신용승, 원청길, 연성찬, 정태성, 김종수, 이 후장, 김용환, 김은희, 김곤섭. 삼백초 및 홍화가 육계의 이화학적 특성에 미치는 영향. 한국 임상 수의학회, 22: 125-129, 2005.
23. 고무석. 삼백초 추출물의 항균활성. 한국 식품영양과학회, 33: 1098-1105, 2004.
24. Cho, H.Y., Cho, C.W., Song, Y.S. Antioxidative and anti-inflammatory effects of *Saururus chinensis* Methanol extract in RAW 264.7 macrophages. J Med Food 8: 190-197, 2005.
25. 박종희. 한약백과도감. 신일상사. 2002.
26. 전국보건관리학교수협의회. 공중보건학연습. 지구문화사, p 290, 2000.
27. Asikainen, S., Alaluusua, S. Bacteriology of dental infections. Eur Hear J 14: 43-50, 1993.
28. 김영권, 한만덕. 구강미생물학. 고문사, pp 261-262, 1998.
29. Leitao, D.P., Filho, A.A., Polizello, A.C., Bastos, J.K., Spadaro, A.C. Comparative evaluation of in-vitro effects of Brazilian green propolis and *Baccharis dracunculifolia* extracts on cariogenic factors of *Streptococcus mutans*. Biol Pharm Bull 27: 1834-1839, 2004.
30. Socransky, S.S., Haffajee, A.D. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. J periodontol 63: 322-331, 1992.