

# 오배자 *Galla Chinensis* 추출물이 *Streptococcus mutans*의 우식활성 억제에 미치는 영향

박복임<sup>1</sup> · 정원창<sup>1</sup> · 유성진<sup>1</sup> · 이찬우<sup>1</sup> · 김정선<sup>1</sup> · 안소연<sup>2</sup> · 전병훈<sup>3</sup> · 유용옥<sup>1,5</sup> · 김강주<sup>4\*</sup>

1: 원광대학교 치과대학 구강생화학교실, 2: 원광대학교 치과대학 소아치과학교실, 3: 원광대학교 한의과대학 병리학교실, 4: 원광대학교 치과대학 구강미생물학교실, 5: 원광식품산업연구원

## Inhibitory Effects of *Galla Chinensis* Extract on Cariogenic Properties of *Streptococcus mutans*

Bog Im Park<sup>1</sup>, Won Chang Jung<sup>1</sup>, Sung Jin You<sup>1</sup>, Chan Woo Lee<sup>1</sup>, Jung Sun Kim<sup>1</sup>, So Youn An<sup>2</sup>,  
Byung Hun Jeon<sup>2</sup>, Yong Ouk You<sup>1,5</sup>, Kang Ju Kim<sup>4\*</sup>

1: Department of Oral Biochemistry & Vestibulocochlear Research Center, 2: Department of Pediatric Dentistry,  
3: Department of Oriental Pathology, College of Korean Medicine,  
4: Department of Oral Microbiology, School of Dentistry, Wonkwang University,  
5: Wonkwang Research Institute for Food Industry

*Streptococcus mutans* (*S. mutans*) is one of the most important bacteria in the formation of dental plaque and dental caries. *S. mutans* adheres to an acquired pellicle formed on the tooth surface, and aggregates with many oral bacteria, and initiates plaque formation by synthesizing glucan from sucrose, which is catalyzed by glucosyltransferases. *S. mutans* metabolizes the dietary sugar to the organic acids. The organic acids demineralize tooth surface and result in dental caries. *Galla Chinensis* have been traditionally used for stopping bleeding of gingiva, removing edema and halitosis, drainage, fixing the teeth and as an antiphlogistic agent. In previous reports, antibacterial effects of *Galla Chinensis* have been investigated whereas anti-cariogenic effects is still not examined enough. Therefore we tested effects of ethanol extracts of *Galla Chinensis* on the cariogenic properties such as the growth, acid production, adhesion, and insoluble glucan synthesis of *S. mutans*. In the result, ethanol extracts of *Galla Chinensis* showed the inhibition of *S. mutans* growth and organic acids production over 0.031 mg/ml concentrations. The adhesion of *S. mutans* to Saliva-coated Hydroxyapatite beads S-HAs has decreased with the increase of concentration of ethanol extracts of *Galla Chinensis*. And it seems to have adhesion inhibitory effect in concentration of over 0.25 mg/ml. It gives us the result that *Galla Chinensis* have anti-caries effects. But ethanol extract of *Galla Chinensis* didn't have inhibitory effect on insoluble glucan synthesis. Preliminary phytochemical analysis of the ethanol extract of *Galla Chinensis* showed strong phenolic compounds, medium steroids & terpenoids and glycosides, and weak organic acids and peptides. These results suggest that the ethanol extracts of *Galla Chinensis* may have anti-cariogenic properties, which may be able to be related with strong phenolic compounds.

keywords : *Galla Chinensis*, Dental caries, *Streptococcus mutans*, Insoluble glucan

### 서 론

현대사회가 발전하면서 구강건강 문제가 중요하게 대두되고 있다. 치아우식증은 치면세균막내 세균의 당 대사를 통해 생성되는 산에 의해 치질이 탈회되는 과정으로 이루어지는 세균성 치아경조직 질환이다<sup>1)</sup>. 이를 방지하게 되면 치수염을 일으켜 심한 통증을 느끼게 되고, 이로 인해서 치아를 상실할 수도 있다. 치아우식증을 유발

하는데 관련된 요인으로는 크게 미생물요인<sup>2)</sup>, 숙주요인 및 식이요인<sup>3)</sup> 등이 있는데, 이 중에서 미생물요인은 치아우식증의 원인균들과 관련된 중요한 인자이다. 치아우식증에 관련된 여러 세균 중에서 그람양성 세균인 *Streptococcus mutans*는 외부로부터 섭취한 음식물에 포함되어 있는 설탕(sucrose)이나 포도당 등을 분해하여 치아우식증을 유발하는 중요한 원인으로 지적되어왔다<sup>4)</sup>. 또한, *S. mutans*가 생산하는 GTFase는 자당을 기질로 하여 점착성의 비수용성 글

\* Corresponding author

Kang Ju Kim, Department of Oral Microbiology, School of Dentistry, Wonkwang University, 344-2, Sinyong-dong, Iksan-si, Jeollabuk-do, Korea  
·E-mail : kjkimom@wku.ac.kr ·Tel : +82-63-850-6858

·Received : 2014/12/22 ·Revised : 2015/02/23 ·Accepted : 2015/02/26

© The Korean Society of Oriental Pathology, The Physiological Society of Korean Medicine

pISSN 1738-7698 eISSN 2288-2529 <http://dx.doi.org/10.15188/kjopp.2015.04.29.2.189>

Available online at [http://society.kisti.re.kr/sv/SV\\_svsj03L.do?method=list&poid=ksomp&kojic=DRSRDH&sVnc=v28n5&menuid=1&subid=13](http://society.kisti.re.kr/sv/SV_svsj03L.do?method=list&poid=ksomp&kojic=DRSRDH&sVnc=v28n5&menuid=1&subid=13)

투칸을 합성하는 반응을 촉매한다. 이 점착성 비수용성 글루칸은 *S. mutans*를 치면에서의 부착, 증식을 가능하게 한다<sup>5)</sup>. 치아우식증을 예방하기 위해서는 잇솔질과 같이 기계적인 방법으로 치면세균막을 제거하는 것이 가장 효과적인 방법이다<sup>6)</sup>. 그러나 이러한 방법은 환자가 비협조적일 때 치아우식증 예방효과를 기대할 수 없는 단점이 있다. 백신을 사용하여 구강 내 치아우식 유발 세균을 억제하려는 많은 연구가 행해지고 있지만, 임상적으로 이용 가능한 백신의 개발에는 많은 어려움이 있다<sup>7)</sup>. 치아우식증을 예방하기 위한 또다른 방법으로 항미생물제제들이 개발되고 있다. 이러한 항미생물제제 중 치과의사들이 진료실에서 흔히 사용하고 환자들에게 처방하는 것은 클로르헥시딘이다. 클로르헥시딘을 고농도로 장기간 사용할 때 구강 내 정상 세균총의 균형이 깨지는 문제가 있으며 치면과 혀의 착색 미각이상 보철물의 변색 구강 점막의 통증 등이 나타나는 부작용이 있다<sup>8)</sup>. 또, 항생제를 자주 사용하게 되면 내성을 가진 세균이 생성되고, 우식유발 세균뿐만 아니라 정상 세균 총까지 파괴되는 문제점이 있다<sup>9,10)</sup>. 그러므로 구강 내 정상 세균 총에는 영향을 미치지 않으면서 우식 유발 세균에만 선택적으로 작용하는 강력한 항생 요법이 필요하다.

오배자 (*Galla Chinensis*)는 우리나라 각지의 산에서 자라는 붉나무의 잎에 오배자진딧물의 충영으로, 염폐강화(殮肺降火), 삼장지사(澀腸止瀉) 작용과 더불어 지한지혈(止汗止血) 작용이 있어서 체허다한(體虛多汗), 치혈(痔血), 변혈(便血), 탈장(脫腸) 등의 병증에 응용 한다<sup>11)</sup>. 또한 동의보감<sup>12)</sup>에 의하면 오배자는 이빨이 들뜨는 것[齒宣]과 감근, 폐에 풍독이 있어서 피부가 헐거나 버짐이 생겨 가렵고 고름 또는 진물이 흐르는 것을 낮게 하며, 5가지 치질로 하혈이 멎지 않는 것과 어린이의 얼굴과 코에 생긴 감창(疔瘡), 어른의 입 안이 헐 것 등을 치료한다고 하였다. 牙齒질환에 대한 단미약으로는 백번, 승마, 석고, 세신, 오배자 등이 활용되었는데, 이 중에 오배자는 주로 동통제거, 치은출혈방지, 부종제거, 배농, 구취제거, 치아교정 및 소염 등의 목적으로 사용되었으며, 한방약제와 현대 약물의 화학성분이 유사하다고 보고<sup>13)</sup>되고 있다. 또한 단백질과 쉽게 결합할 수 있는 polyphenol 단량체의 상승효과에 의해 오배자 추출물의 항 박테리아 활성이 야기되고, 차(茶)의 polyphenol과 오배자는 특히 *Lactobacillus*의 산 형성을 효과적으로 억제한다<sup>14)</sup>고 하였으며, 오배자는 우식 유발 박테리아가 획득피막에 우선적으로 달라붙는 것을 효과적으로 억제할 약물이다<sup>15)</sup>라고 하였다. 안<sup>16)</sup> 등과 이<sup>17)</sup> 등은 오배자가 항균력뿐만 아니라 충치생성에 관여하는 GTFase 활성 저해 효과를 갖는 것으로 보고했는데, 이런 효과를 보이는 화합물은 polyphenol 화합물 계통으로 추정된다고 하였다. 그리고 하<sup>18)</sup> 등은 *S. mutans*에 대해서 저지를 보였다고 하였으며, 김<sup>13)</sup> 등은 뼈모유사세포의 활성화와 치주인대 섬유모세포의 활성을 유의하게 증가시킨 것으로 보아 뼈의 생성능력에 유의한 효과를 보이는 것으로 사료된다고 하였다. 이처럼 오배자의 항균효과에 대한 실험이 다양한 분야에서 이루어지고 있기는 하지만 직접적으로 오배자에 대한 치아우식 예방에 대한 연구는 보고되지 않고 있다. 이에 본 연구에서는 치아우식 예방 물질을 개발하기 위한 기초자료로 활용하기 위해서, 오배자가 우수한 항균력을 갖는다는 점에 착안하여, 오배자 에탄올 추출물의 *S. mutans*의 성장, 산생성, S-HA부착 및

비수용성 글루칸 합성 억제 효과를 관찰하여 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 연구재료

#### 1) 오배자 추출물 준비

오배자는 원광대학교 대학한약국에서 구입한 후 냉암소에 보관하여 사용하였다. 건조하여 세절한 오배자 600 g을 에탄올 3 L로 상온에서 3일간 2회 추출하여 에탄올 추출물을 42.38 g (7.06%)을 얻었다.

#### 2) 균주 및 배양

본 실험에 사용한 균주는 *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 오배자 에탄올 추출물을 첨가한 후 균을  $1 \times 10^8$  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 오배자 추출물을 넣지 않고 시행하였다.

2) 타액으로 도말된 Hydroxyapatite bead(S-HA)에 부착 억제 측정 타액은 건강한 성인 남자로부터 파라핀왁스로 자극하여 분비된 것을 냉각된 비커에 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.

Hydroxyapatite beads (Bio-Rad Lab., U.S.A.) 30 mg을 증류수로 3회 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 오배자 에탄올 추출물을 각각의 농도별로 넣고, *S. mutans*를  $1 \times 10^7$  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 (50 W, 30초)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 24시간 동안 배양시켜 집락수를 세었다. 대조군은 오배자 추출물을 넣지 않고 시행하였다.

#### 3) Glycosyltransferase (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 4시간마

다 바꾸어주며, 4°C에서 24시간동안 투석시킨 후 냉동보관 (-80°C) 하였다가 사용하였다.

4) 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 0.4 M 자당용액, 0.25 ml의 각 농도별 오배자 에탄올 추출물을 넣고, GTFase를 넣어 최종 1 ml이 되게 하였다. 37°C에서 18시간 배양하고 증류수로 세척하였다. 그 후 5% phenol을 1 ml, 진한 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 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 군으로 하였다.

5) 정성실험을 통한 오배자의 성분 검사

오배자 에탄올 추출물의 성분을 알아내기 위해 Alkaloid는 10% HCl 20 ml에 용해하고 40ml의 ether로 진탕한 다음 수층을 분리하여 10% NH<sub>4</sub>OH로 alkali성으로 한 다음, CHCl<sub>3</sub> 20 ml로 진탕하여 CHCl<sub>3</sub>층을 취하여 증발 농축한 후 소량의 10% HCl에 용해하고, 필요하면 여과한 후 Mayer's 시약으로 백탁 또는 백색침전의 생성 여부를 관찰한다. Phenolics (flavonoid, tannin)는 물 또는 MeOH 5 ml에 녹이고 10% FeCl<sub>3</sub> EtOH 용액 1-2방울 적가할 때 자색-청색의 정색여부를 관찰하고, Glycosides (탄수화물 배당체)는 Molish 실험으로 물 또는 MeOH 녹이고 20% a-naphthol EtOH 용액 1-2방울을 적가한 후 농황산을 기벽에 통하여 가할 때 경계면에 적자색환을 관찰한다. Peptide는 물 2 ml에 녹이고 필요하면 여과한 다음 10% NaOH 1 ml를 가하여 alkali성으로 한 후, 1% CuSO<sub>4</sub>를 1-2방울 떨어뜨리고 청색-적자색의 정색 여부를 확인하고, Flavonoid는 Mg-HCl 시약으로, Steroid, terpenoid, saponin는 유리접시에 무수초산 1방울을 떨어뜨리고 검체를 용해한 후, 주변에 농황산 1방울을 떨어뜨리고 초자봉으로 살짝 접촉시킬 때 양액의 경계부위가 적색-청색-녹색으로 정색되는지 관찰하며, organic acid는 silver nitrate 시약으로 정성분석을 시행하였다<sup>19)</sup>.

3. 통계처리

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

결 과

1. 오배자 에탄올 추출물의 *S. mutans* 성장억제에 미치는 효과

오배자 에탄올 추출물의 *S. mutans*에 대한 항균 활성을 관찰하기 위하여 BHI 액체배지에 오배자의 에탄올 추출물을 0.031, 0.062, 0.125, 0.25 mg/ml의 농도로 첨가한 후, *S. mutans*를 접종하여 37°C 항온기에서 24시간 배양한 후 흡광도를 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 오배자 에탄올 추출물을 넣지 않은 대조군에서 *S. mutans* 많이 형성된 것을 볼 수 있으며, 오배자 에탄올 추출물 농도가 높아질수록 *S. mutans* 생성이 억제 되었다. 특히 0.25

mg/ml 이상 농도에서는 1% NaF 와 유사하게 *S. mutans* 생성 억제 효과를 나타남을 알 수 있다.

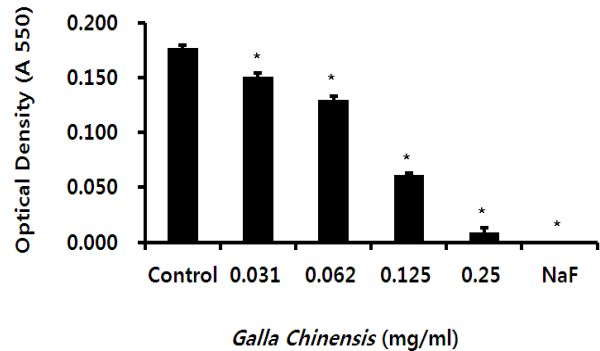


Fig. 1. Effect of ethanol extract of *Galla Chinensis* on the growth of *S. mutans*. *S. mutans* was inoculated into BHI broth with various concentrations of *Galla Chinensis* and incubated for 24h at 37°C The optical density(A550) was read using a spectrophotometer. Data are mean ± standard deviation. \*P<0.05 compared to the control group.

2. 오배자 에탄올 추출물의 *S. mutans* 산 생성 억제에 미치는 효과  
 각 용매별 오배자 에탄올 추출물 첨가에 따른 *S. mutans*에 의한 유기산 생성 억제 효과를 알아보기 위해 0.031, 0.062, 0.125, 0.25 mg/ml<sup>20)</sup> 농도의 시료에 *S. mutans*를 접종하여 24시간 배양 후에 pH meter로 pH를 측정된 결과는 Table 1과 같다. 오배자 에탄올 추출물을 넣지 않은 대조군에서 pH는 5.41±0.02을 나타내었다. 오배자 에탄올 추출물은 0.031 mg/ml에서 5.43±0.01, 0.062 mg/ml에서는 5.48±0.04, 0.125 mg/ml에서는 6.05±0.03, 0.25 mg/ml에서는 7.19±0.01 를 나타내었다. 오배자 에탄올 추출물의 농도 의존적으로 대조군에 비하여 유의한 차이를 나타내었고 (p<0.05), 특히 0.125 mg/ml 이상의 농도에서는 치아 우식 임계 pH 5.5 이상을 나타내었다.

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

Conc. (mg/ml)	pH(before incubation)	pH(after incubation)
Control	7.37 ± 0.00	5.41 ± 0.02 <sup>1)</sup>
0.031	7.39 ± 0.00	5.43 ± 0.01
0.062	7.37 ± 0.00	5.48 ± 0.04*
0.125	7.38 ± 0.00	6.05 ± 0.03*
0.25	7.38 ± 0.00	7.19 ± 0.01*
NaF	7.38 ± 0.00	7.20 ± 0.00*

<sup>1)</sup> Value represent the Mean±SE obtained from triplicate experiment, \* p< 0.05 when compared with the control group after incubation

3. 오배자 에탄올 추출물의 S-HA 부착 억제에 미치는 효과

오배자 에탄올 추출물이 S-HA에 *S. mutans* 부착 억제 효과가 있는지 알아본 결과는 Fig. 2와 같다. 오배자 에탄올 추출물을 넣지 않은 대조군은 677±130.8 (×10<sup>4</sup>)CFU/ml이었으며, 오배자 에탄올 추출물 0.031 mg/ml 농도에서는 385±59.3(×10<sup>4</sup>)CFU/ml, 0.062 mg/ml에서는 254±11.23(×10<sup>4</sup>)CFU/ml, 0.125 mg/ml에서는 208±6.1(×10<sup>4</sup>)CFU/ml, 0.25 mg/ml에서는 86±4.0 (×10<sup>4</sup>)CFU/ml로 오배자 에탄올 추출물의 농도 의존적으로 부착이 억제되었으며,

특히 0.062 mg/ml에서 대조군에 비하여 부착하는 균의 수가 유의적으로 적었다 ( $p < 0.01$ ). 각 실험군은 대조군에 비해 각각 43.13%, 62.48%, 69.28%, 87.3%의 부착 억제율을 보였다.

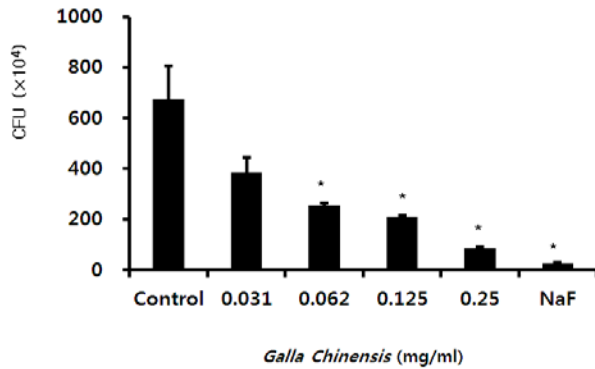


Fig. 2. The colony forming unit (CFU) of *S. mutans* to the 30 mg saliva-coated hydroxyapatite beads by various concentrations of ethanol extract of *Galla Chinensis*. \* $P < 0.05$  was statistically significant as determined by independent sample t-test for the mean values different from the control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

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

오배자 에탄올 추출물이 비수용성 글루칸 합성 저해 효과가 있는지 알아본 결과는 Fig. 3과 같다. 오배자 에탄올 추출물은 대조군에 비해 0.031, 0.062, 0.125, 0.25 mg/ml 각각의 농도에서  $133.33 \pm 2.74\%$ ,  $136.50 \pm 2.74\%$ ,  $133.33 \pm 2.74\%$ ,  $120.63 \pm 5.49\%$ 의 생성율을 보였으며, 각각  $-33.3\%$ ,  $-36.5\%$ ,  $-33.3\%$ ,  $-20.6\%$ 의 합성 억제율을 나타내었다. 따라서 오배자 추출물이 비수용성 글루칸 합성 억제 효과가 없는 것으로 나타났다.

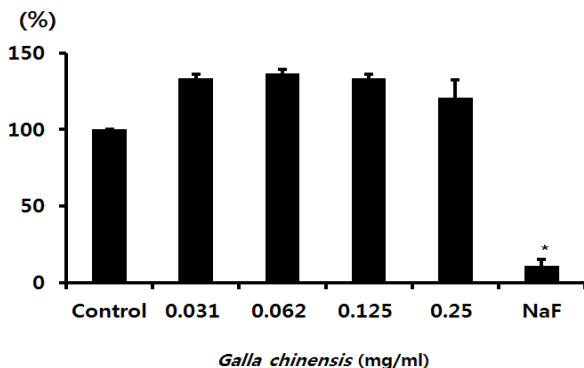


Fig. 3. Rate of insoluble glucan synthesis of *S. mutans* by the various concentration of ethanol extract of *Galla Chinensis*. \* $P < 0.05$  was statistically significant as determined by independent sample t-test for the mean values different from the control group.

#### 5. 정성실험을 통한 오배자의 성분 검사

기존에 항균 기능을 가진 성분으로 알려진 alkaloids 등 7가지 검출반응을 통해 오배자의 성분을 알아본 결과는 Table 2와 같다. 오배자 에탄올 추출물에는 phenolic compounds, glycosides, peptide, steroids, terpenoids, organic acids가 포함된 것으로

추정되며, 반면에 alkaloids, flavonoids는 포함되지 않은 것으로 나타났다. 그 중 phenolic compounds는 반응이 비교적 현저한 것으로 보아 상당량이 포함되었다고 볼 수 있다.

Table 2. Phytochemical analysis of *Galla Chinensis*

Plant constituent	Ethanol extract
Alkaloids	-
Phenolic compounds	+++
Glycosides	++
Peptide	+
Flavonoids	-
Steroids, terpenoids	++
Organic acids	+

+++ strong, ++ medium, + poor presence, - absence

## 고 찰

오배자는 옷나무과에 속하는 붉나무의 잎에 오배자진딧물의 충영으로 한방에서는 염폐강화(殲肺降火), 삼장지사(澀腸止瀉) 작용과 더불어 지한지혈(止汗止血) 작용이 있어서 체허다한(體虛多汗), 치혈(痔血), 변혈(便血), 탈장(脫腸) 등의 병증에 응용한다<sup>10)</sup>. 이번 연구에서는 오배자를 에탄올로 추출한 후 치아우식을 일으키는 주요 원인균인 *S. mutans*에 대한 성장과 산 생성 억제 효과를 각 농도별로 관찰하였다. 추출물의 농도가 증가할수록 *S. mutans*에 대한 성장 억제 효과가 증가하는 것으로 나타나 오배자 에탄올 추출물의 농도가 증가함에 따라 우식성 세균의 성장 억제 효과가 증가한다는 결과를 0.062 mg/ml 농도에서 확인하였고 특히 최소성장 억제농도 (MIC)는 0.25 mg/ml로 나타났다. 산 생성 억제 실험에서는 오배자 에탄올 추출물을 넣지 않은 대조군에서 pH는  $5.41 \pm 0.02$ 를 나타내었지만, 에탄올 추출물 0.031, 0.063, 0.125, 0.25 mg/ml 농도에서, 각각  $5.43 \pm 0.01$ ,  $5.48 \pm 0.04$ ,  $6.05 \pm 0.03$ ,  $7.19 \pm 0.01$ 의 pH로 농도가 증가함에 따라 pH가 높아지는 결과를 얻었으며 0.125 mg/ml 이상의 농도에서는 우식 임계 pH 5.5를 넘는 결과가 나타났다.

이는 오배자 추출물이 하<sup>18)</sup> 등의 결과에서 볼 수 있듯이 *S. mutans*에 의한 유기산 생성을 억제하여 치아우식증 억제에 효과를 나타낼 수 있음을 의미한다. 각 농도별 오배자 에탄올 추출물이 치아표면의 세균표면의 세균부착을 억제하는지 알아보기 위해 S-HA에 대한 부착억제 효과를 확인한 결과 대조군에서는  $677 \pm 130 (\times 10^4)$  CFU/ml이 부착한 반면, 에탄올 추출물 0.031 mg/ml 농도에서는  $385 \pm 59.3 (\times 10^4)$  CFU/ml, 0.062 mg/ml 농도에서는  $254 \pm 11.2 (\times 10^4)$  CFU/ml, 0.125 mg/ml 농도에서는  $208 \pm 6.1 (\times 10^4)$  CFU/ml, 0.25 mg/ml 농도에서는  $86 \pm 4.0 (\times 10^4)$  CFU/ml로 0.062 mg/ml 농도에서 대조군에 비하여 부착하는 균의 수가 유의하게 적어졌으며 ( $p < 0.05$ ), 대조군에 비해 각각 43.13%, 62.48%, 69.28%, 87.3%의 부착 억제율을 보였다. GTFase에 의한 불용성 글루칸 합성을 오배자가 억제하는지 알아본 결과 오배자 에탄올 추출물은 대조군에 비해 0.031, 0.062, 0.125, 0.25 mg/ml 각각의 농도에서  $-33.3\%$ ,  $-36.5\%$ ,  $-33.3\%$ ,  $-20.6\%$ 의 생성율을 보여, 오히려 대조군보다 불용성 글루칸 합성을 증진시키는 효과를 나타내었으며, 오배자 추출물이 비수용성 글루칸 합성 억제 효과가 없는 것으로 나

타났다. 안<sup>16)</sup> 등과 이<sup>17)</sup> 등은 오배자가 항균력 뿐만 아니라 총치생성에 관여하는 GTFase 활성 저해 효과를 갖는 것으로 보고했는데 이와는 사용한 균주나 추출물을 획득하는 용매에 차이가 있으므로 더 정확한 결과를 얻기 위해 추가 실험이 필요할 것으로 생각된다. 기존에 항균 기능을 가진 성분으로 알려진 alkaloids 등 7가지 검출 반응을 통해 오배자의 성분을 알아본 결과 오배자에는 phenolic compounds, glycosides, peptide, steroids, terpenoids, organic acids가 포함된 것으로 추정되며, alkaloids, flavonoids는 포함되지 않은 것으로 나타났다. 그중 phenolic compounds는 반응이 비교적 현저한 것으로 보아 상당량이 포함되어 있다고 볼 수 있다.

본 연구 결과를 통해서 오배자 에탄올 추출물은 비수용성 글루칸 합성 억제에는 효과가 없지만 위의 실험결과에 의하면 농도의존적으로 *S. mutans*의 성장억제, 유기산의 생성 억제, S-HA에 대한 부착억제에 효과가 있으므로, 치아우식 예방 효과를 기대할 수 있을 것으로 보인다. 또한 정성 실험의 결과로 밝혀진 오배자의 성분 중 어떠한 물질에 의해 치아우식 예방 효과를 나타내는지에 대한 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

## 결 론

치아우식 예방에 효과적인 예방제를 개발하기 위해 천연물 오배자를 에탄올로 추출하여 *S. mutans*의 성장과 산 생성 억제 효과, S-HA에 대한 부착 억제 효과와 비수용성 글루칸 합성 억제를 측정하고 다음과 같은 결과를 얻었다. *S. mutans*의 성장억제율이 오배자 에탄올 추출물을 넣지 않은 대조군에 비하여 오배자 에탄올 추출물은 0.031, 0.062, 0.125, 0.25 mg/ml 농도에서 각각 14.6%, 27.1%, 65.6%, 94.9%로 0.125 mg/ml 이상의 농도에서 대조군과 유의한 차이를 보여 *S. mutans* 성장억제 효과를 유의적으로 나타내었고( $p < 0.05$ ). *S. mutans*의 산 생성량은 대조군에서 pH 5.41±0.02이었고 오배자 에탄올 추출물은 0.031, 0.063, 0.125, 0.25 mg/ml 첨가군에서, 각각 5.43±0.01, 5.48±0.04, 6.05±0.03, 7.19±0.01로 특히 0.125 mg/ml 이상의 농도에서 우식 임계 pH 5.5보다 높아 산 생성 억제 효과를 보였다 ( $p < 0.05$ ). 또 S-HA에 *S. mutans* 부착율이 오배자의 에탄올 추출물 0.031, 0.063, 0.125, 0.25 mg/ml 농도에서 대조군에 비하여 각각 43.13%, 62.48%, 69.28%, 87.3%의 부착억제율을 보여 0.25 mg/ml 이상의 농도에서 음성대조군과 유의한 차이를 보였고 ( $p < 0.05$ ). GTFase에 의한 비수용성 글루칸 정량 실험을 한 결과 대조군에 비해 0.031, 0.063, 0.125, 0.25 mg/ml 농도에서 각각 -33.3%, -36.5%, -33.3%, -20.6%의 생성율을 보여, 오배자 추출물이 비수용성 글루칸 합성 저해 효과가 없는 것으로 나타났으며, 정성실험을 통해 오배자의 성분을 검사한 결과, 오배자에는 phenolic compounds, glycosides, peptide, steroids, terpenoids, organic acids가 포함된 것으로 추정되며, alkaloids, flavonoids는 포함되지 않은 것으로 나타났다. 그 중 phenolic compounds는 반응이 비교적 현저한 것으로 보아 상당량이 포함되어 있다고 볼 수 있다.

오배자를 에탄올로 추출하여 항치아우식활성을 알아본 결과 오

배자의 에탄올 추출물이 *S. mutans*의 성장 억제와 유기산의 생성 억제, S-HA에 대한 부착억제에 효과를 보여 항치아우식 효과를 기대할 수 있을 것으로 생각된다. 하지만 실험결과 중에 비수용성 글루칸 합성 억제에는 효과가 없었으며 이 부분에 대한 추가적인 연구가 필요한 상태이다. 이상의 결과를 토대로 오배자 추출물이 비교적 광범위하면서도 높은 항균성을 가지고 있는 것으로 판단되며 향후 단계적으로 물질을 분리 동정하여 각각 어떤 효과를 나타내는지에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

## 감사의 글

이 논문은 2013학년도 원광대학교의 교비지원에 의해서 수행 됨.

## References

1. Marsh, P.D. Microbiologic aspects of dental plaque and dental caries. Dent Clin North Am. 43: 599-614, 1999.
2. Drucker, D.B. The role of sugar in the aetiology of dental caries: 4. The microbiological evidence. J Dent. 11(3):205-207, 1983.
3. Holloway, P.J., Moore, W.J. The role of sugar in the aetiology of dental caries: 1. Sugar and the antiquity of dental caries. J Dent. 11(3):189-190, 1983.
4. Mikkelsen, L., Jensen, S.B., Jakobsen, J. Microbial studies on plaque from carious and caries-free proximal tooth surfaces in a population with high caries experience. Caries Res. 15: 428-435, 1981.
5. Ahn, S.T., Park, J.H., Lee, K.H. Prevalence of Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus in children under 0 years of age. J Korean Acad Pediatr Dent. 32(2):207-216, 2005.
6. Loe, H. Oral hygiene in the prevention of caries and periodontal disease. Int Dent J. 50: 129-139, 2000.
7. Smith, D.J. Dental caries vaccines: prospects and concerns. Crit Rev Oral Biol Med. 13: 335-349, 2002.
8. Park, J.h., Park, H., Lee, S.Y. Enhancement of Erythrosine Photodynamic Therapy against Streptococcus mutans by Chlorhexidine. J Korean Acad Pediatr Dent. 40(4):241-246, 2013.
9. Goncalves, M.O., Coutinho-Filho, W.P., Pimenta, F.P., et al. Periodontal disease as reservoir for multi-resistant and hydrolytic enterobacterial species. Lett Appl Microbiol. 44: 488-494, 2007.
10. Walker, C.B. The acquisition of antibiotic resistance in the periodontal microflora. Periodontol. 10: 79-88, 1996.
11. Shin, M.K. Clinical Traditional Herbalogy. Seoul, Younglim Inc. pp 828-829, 2000.

12. Huh, J. Donguibogam seoul, Bubin Publishers. p 1983, 1999.
13. Kim, C.J., Ahn, Y.M, Ahn, S.Y., Doo, H.K. The Effects of Palmijihwang-hwan (Baweidehuang-wan) and Obaeja (Galla Rhois) on Proliferation Activity of Alkaline Phosphatase . J Korean Oriental Med. 24(3):35-44, 2003.
14. Xie, Q., Li, J.Y., Zuo, Y.L., Zhou, X.D. The effect of galla chinensis on the growth of cariogenic bacteria in vitro. West china journal of stumatology. 23(1):82-84, 2005.
15. Huang, Z.W., Zhou, X.D., Xiao, Y., Liu, T.J., Li, J.Y. In vitro study of the effect of 11 kinds of natural drugs on the growth and acid production of Lactobacillus. Shanghai journal of stomatology. 14(1):67-70, 2005.
16. An, B.J., Son, A.R., Lee, J.T. Studies on the Antimicrobial Activity of Extracts of Korean Medicinal Plants. J Life Resources & Industry. 4(1):46-58, 1999.
17. Lee, M.C., Kim, G.P., Kim, S.H., Choung, N.H., Yim, M.H. Antimicrobial Activity of Extract from Gall-nut and Red-grape Husk . Korean J Food& Nutr. 10(2):174-179, 1997.
18. Ha, J.Y., Kim, T.H. Antibacterial Effect of Extrace from Korean Medical Plants. Korean Journal of Oriental Physiology & Pathology. 10(1):99-104, 1996.
19. Woo, W.S. natural product chemistry research, Seoul National university press, pp 11-14, 1996.
20. Rabin, G., Salam, A.I. Natural products as antimicrobial agents. Food control. 46: 412-429, 2014.