

백부자 에탄올 추출물의 *Streptococcus mutans*에 대한 성장, 산생성, 부착 및 비수용성 글루칸 합성억제에 미치는 영향

강선영^{1,2} · 안소연³ · 이민우² · 권심교² · 이동혁² · 전병훈⁴ · 김강주⁵ · 유용욱^{2,6*}

1 : 원광대학교 일반대학원 식품산업융복합학과, 2 : 치과대학 구강생화학교실, 3 : 치과대학 소아치과학교실,
4 : 한의과대학 병리학교실, 5 : 치과대학 구강미생물학교실, 6 : 원광식품산업연구원

Effects of *Aconitum Koreanum* Extract on the Growth, Acid Production, Adhesion and Insoluble Glucan Synthesis of *Streptococcus Mutans*

Sun Young Kang^{1,2}, So Youn An³, Min Woo Lee², Sim Kyo Kwon², Dong Hyuk Lee², Byung Hun Jeon⁴,
Kang Ju Kim⁵, Yong Ouk You^{2,6*}

1 : Department of Convergence Technology for Food Industry, School of Human Environmental Sciences,
2 : Department of Oral Biochemistry, School of Dentistry, 3 : Department of Pediatric dentistry, School of Dentistry,
4 : Department of Pathology, School of Korean Medicine, 5 : Department of Oral Microbiology, School of Dentistry, Wonkwang University
6 : Wonkwang Research Institute for Food Industry

Streptococcus mutans triggers dental caries establishment by two major factors. One is synthesis of organic acids which demineralize dental enamel and the other is synthesis of glucans which mediate the attachment of bacteria to the tooth surface. In the present study, we evaluated the effect of the ethanol extracts of *Aconitum koreanum* (*A. koreanum*) on the growth and acid production of *S. mutans*. Ethanol extracts of the *A. koreanum* showed concentration dependent inhibitory activity against the growth and acid production of *S. mutans*, and produced significant inhibition at the concentration of 0.016 mg/ml compared to the control groups ($p < 0.05$). The extracts inhibited *S. mutans* adherence to hydroxyapatite treated with saliva, and cell adherence was repressed by 50%, 54% at the concentration of 0.063, 0.125 mg/ml. On the study of activation of glucosyltransferase which synthesizes water insoluble glucan from sucrose, the ethanol extract of *A. koreanum* showed remarkable inhibition over the concentration of 0.016, 0.031, 0.063 and 0.125 mg/ml ($p < 0.05$). Especially on the concentration of 0.063, 0.125 mg/ml, the extracts suppressed the glucan synthesis by 100%. We analyzed the component of the extracts of *A. koreanum*. The results showed that the extract of *A. koreanum* had strong phenolic compound, glycosides and organic acids. These results suggest that *A. koreanum* may inhibit the caries-inducing properties of *S. mutans*, and which may be related with strong phenolic compound, glycosides and organic acids.

keywords : *aconitum koreanum*, dental caries, *Streptococcus mutans*

서 론

치아우식증은 현대사회에 만연하게 발병하는 만성질환으로, 치질 중의 무기물이 이탈되고 유기질이 파괴되어 발생하는 치아조직의 결손이 발생하는 질환이다. 최근 공중 구강보건사업과 각종 구강보건예방정책으로 인하여 선진국의 경우 치아우식증의 감소가 보고되고 있지만¹⁾ 여전히 대부분의 국가에서 치아우식증과 치주질환은 만성질환의 큰 비중을 차지하고 있으며²⁾, 우리나라 역시 가장 빈발하고 치아 발거의 원인이 되는 구강병이다³⁾. 의사 진단 만성 질병

유병률에서 치아우식증은 당뇨병 다음으로 전체 인구 1000명 중 55명에 해당하는 높은 수치를 보이고 있다⁴⁾.

초기 치아우식증을 일으키는 미생물을 분리해 보면 *Streptococcus mutans*와 *Streptococcus sorbinus*의 2종이 각각 80%, 20% 수준으로 분리된다. 이들은 효율적인 에너지원인 Sucrose를 기질로 해서 glucan과 fructan을 생성한다. glucosyltransferase (GTFase)와 fructosyltransferase (FTFase)가 각각 효소로 사용되는데 이들 효소의 반응에 의해 불용성인 glucan이 치아의 표면에 부착되며 이렇게 형성된 미생물의 부착집

* Corresponding author

Yong Ouk You, Department of Oral Biochemistry, School of Dentistry, Wonkwang University, 344-2, Sinyong-dong, Iksan-si, Jeollabuk-do, Korea

E-mail : hope7788@wonkwang.ac.kr · Tel : +82-63-850-6926

Received : 2014/11/05 · Revised : 2014/12/24 · Accepted : 2015/01/14

© 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.2015.02.29.1.27>

Available online at http://society.kisti.re.kr/sv/SV_svjsj03L.do?method=list&poid=ksomp&kojic=DRSRDH&sVnc=v28n5&menuid=1&subid=13

단, plaque를 형성하게 된다. 부착된 glucan에 충치균 등의 혐기성 세균에 의해서 유기산을 생성하며 이들은 치아의 에나멜질의 화학 성분인 hydroxyapatite를 분해시켜 치아우식증을 유발하게 된다^{5,6}. 치아우식증의 주된 원인균은 *Streptococcus mutans* (*S. mutans*)로, 비운동의 Gram 양성 구균으로 통성혐기성균의 특성을 가지며, 이것은 치아우식증 및 치석 형성에 가장 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. *S. mutans*는 음식물과 타액과 상호 작용하여 무기질을 탈회시키고 상아질을 파괴하여 치아경조직의 결손을 초래한다⁷.

S. mutans 등 치아우식증의 주된 원인균들이 밝혀진 이후 이를 막기 위해 연구가 활발히 진행되어 왔다. 현재 치아우식증 예방 및 치료에 사용되고 있는 약물들은 효능이 충분치 않아 여전히 치아우식증을 완전히 근절하지 못하고, 구강점막손상, 장내세균총의 교란 등의 부작용을 일으켜 임상적 사용이 어렵게 되고 있다. 즉, penicillin, erythromycin, tetracycline과 같은 항생제는 항균효과 및 collagenase의 작용을 차단하는 등의 효과가 있지만 이러한 약제의 사용은 내성균의 발현, 소화기 장애 및 과민 반응 등의 부작용을 나타내고 있다⁸. 따라서 치아우식증의 원인균에 대한 새로운 항균활성물질을 보다 효과적이고, 실용적이며, 안정성이 있는 천연물질에서 찾는 연구가 활발히 진행되고 있다⁹.

동양에서는 고대로부터 특정 질병에 특정 천연물을 이용하여 질병을 다스려왔으며, 구강 내에서 치아우식증을 억제해주는 효과가 있는 천연물로는 현재까지 죽염, 녹차, propolis, chitosan, 으름덩굴, 패, 팽생이모자반, 계피 등의 항균효능이 규명되어 있다¹⁰⁻¹⁶.

백부자는 우리나라 전국 동북 지방에 분포하는 2년생 초본인 미나리아재비과의 여러해살이풀 노랑돌쩌귀풀(*Aconitum koreanum* *R. raymond*)의 덩이 줄기로, 중국에서는 편두통, 안면신경 마비, 경련 발작, 중풍, 파상풍 등의 증상에 사용된다^{17,18}. 또한, 우리나라에서는 진통제, 신경통, 편두통, 치통, 류마티스, 척수신경근염에 사용되어 왔다. 백부자의 성분 중 하나인 아코니틴(aconitine)은 타액 분비 항진 기능을 하는 것으로 알려져 있다¹⁹⁻²¹.

본 연구실에서는 보다 효과적인 치아우식예방제 개발을 위하여 여러 가지 후보물질을 예비 실험한 결과, 백부자 추출물이 *S. mutans*의 성장억제에 우수한 효과를 나타내었다. 따라서 본 연구는 백부자 에탄올 추출물의 *S. mutans*의 성장과 산생성, 부착 및 비수용성 글루칸 합성 억제에 미치는 효과를 관찰하고, 함유되어 있는 약리성분을 알아보고자 시행하였다.

재료 및 방법

1. 연구재료

1) 백부자 추출물 준비

백부자는 원광대학교 대학한약국에서 구입한 후 냉암소에 보관하여 사용하였다. 건조하여 세절한 백부자 3 kg을 에탄올 6 L로 상온에서 3일간 2회 추출하여 에탄올 추출물을 59.37 g (1.98%, 수율)을 얻었다.

2) 균주 및 분양

본 실험에 사용한 균주는 *Streptococcus 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 산생성 억제 실험

BHI 액체배지에 백부자 에탄올 추출물을 0.016, 0.031, 0.063, 0.125 mg/ml로 첨가한 후 균을 1×10^8 CFU/ml/well이 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 백부자 추출물을 넣지 않고 시행하였다.

2) 타액준비

타액은 건강한 성인 남자로부터 파라핀악스로 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.

3) S-HA(Saliva-coated hydroxyapatite beads)에 대한 *S. mutans* 부착 억제효능평가

Hydroxyapatite beads (Bio-Rad Lab., U.S.A.) 30 mg을 증류수로 5회 세척하여 작은 입자를 제거한 후 37°C에서 건조시켜 사용하였다. 건조된 hydroxyapatite bead 30mg을 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 백부자의 에탄올 추출물을 각각의 농도별(0.016, 0.031, 0.063, 0.125 mg/ml)로 넣고, *S. mutans*를 1×10^8 CFU/ml 이 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 희석하여 Mitis salivarius agar plate (Difco Laboratories, U.S.A.)에 도말하여 37°C 항온기에서 24시간 동안 배양시켜 집락수를 세었다. 대조군은 백부자 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 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(0.016, 0.031, 0.063, 0.125 mg/ml) 백부자 에탄올 추출물을 넣고, GTFase를 넣어 최종 1 ml이 되게 하였다. 37°C에서 18시간 배양한 후 증류수로 세척한 후 글루칸을 떼어내기 위하여 초음파장치 (40W, 4초)를 이용하였다. 그 후 5% phenol을 1 ml, 진한 H₂SO₄

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.

6) 정성 실험

백부자의 성분을 알아내기 위해 Alkaloid는 Mayer's 시약으로, Phenolics (flavonoid, tannin)는 Ferric chloride 시약으로, Glycosides (탄수화물 배당체)는 Molish 실험으로, Peptide는 Biuret 시약으로, Flavonoid는 Mg-HCl 시약으로, Steroid, terpenoid, saponin는 Liebermann-Burchard 시약으로, Organic acid는 silver nitrate 시약으로 정성분석을 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.

결 과

1. 백부자 추출물의 *S. mutans* 성장 억제에 미치는 효과

백부자 에탄올 추출물의 *S. mutans*에 대한 항균 활성을 관찰하기 위하여 BHI 액체배지에 백부자의 에탄올 추출물을 0.016, 0.031, 0.063, 0.125 mg/ml의 농도로 첨가한 후, *S. mutans*를 접종하여 37°C 항온기에서 24시간 배양한 후 흡광도를 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 백부자 추출물을 넣지 않은 대조군에서 0.161 ± 0.006 흡광도를 나타내었다. 그런데, 0.016 mg/ml 농도에서 에탄올 추출물은 0.126 ± 0.004 흡광도를 나타내고, 0.031 mg/ml 농도에서는 0.107 ± 0.005 , 0.063 mg/ml 농도에서는 0.082 ± 0.002 , 0.125 mg/ml 에서는 0.020 ± 0.003 을 나타내었다. 백부자 에탄올 추출물을 첨가한 실험군의 O.D. 값은 대조군의 O.D. 값에 비해 농도 의존적으로 유의한 차이를 보이며 낮아져 성장 억제 효과를 보였으며, 실험군은 각각의 농도에서 대조군에 비하여 각각 22%, 34%, 49%, 88%의 성장억제효과를 보였다.

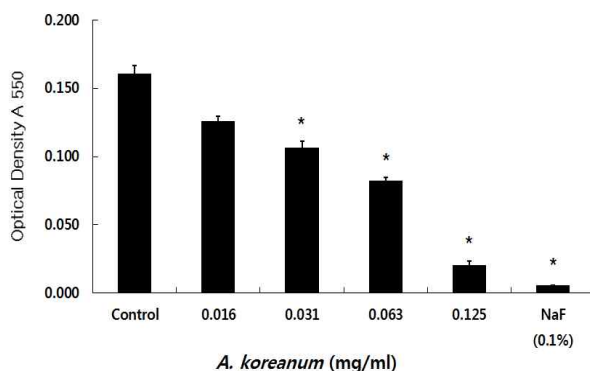


Fig. 1. Effect of ethanol extract of *A. koreanum* on the growth of *S. mutans*. *S. mutans* was inoculated into BHI broth with various concentrations of *A. koreanum* and incubated for 24 h at 37°C. The optical density (A550) was read using a spectrophotometer. Data are mean \pm standard deviation.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

2. 백부자 추출물의 *S. mutans* 산 생성 억제에 미치는 효과

백부자 에탄올 추출물 첨가에 따른 *S. mutans*에 의한 유기산 생성 억제 효과를 알아보기 위해 0.016, 0.031, 0.063, 0.125 mg/ml 농도의 시료에 *S. mutans*를 접종하여 24시간 배양 후에 pH meter로 pH를 측정한 결과는 Table 1과 같다. 백부자 추출물을 넣지 않은 대조군에서 pH는 5.32 ± 0.01 을 나타내었다. 백부자 추출물은 0.016 mg/ml 농도에서 5.47 ± 0.02 , 0.031 mg/ml 농도에서는 5.78 ± 0.06 , 0.063 mg/ml 농도에서는 6.37 ± 0.02 , 0.125 mg/ml 농도에서는 6.96 ± 0.02 를 나타내었다. 백부자의 에탄올 추출물의 pH값은 대조군의 pH 값에 비해 농도 의존적으로 유의한 차이를 보이며 높아졌으며 ($p < 0.05$), 특히 0.031 mg/ml 농도 이상에서는 치아우식증에서 무기질 재광화가 일어나는 임계 pH 5.5 이상을 나타냈다.

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

Conc.(mg/ml)	pH(before incubation)	pH(after incubation)
Control	7.40 \pm 0.00	5.32 \pm 0.01 ¹⁾
0.016	7.40 \pm 0.00	5.47 \pm 0.02
0.031	7.39 \pm 0.00	5.78 \pm 0.06*
0.063	7.40 \pm 0.00	6.37 \pm 0.02*
0.125	7.40 \pm 0.00	6.96 \pm 0.02*
0.1% NaF	7.40 \pm 0.00	7.10 \pm 0.00*

1) Data(pH) are represented as mean \pm standard deviation. * $p < 0.05$ when compared with the control group after incubation

3. 백부자 추출물의 S-HA 부착 억제에 미치는 효과

백부자 에탄올 추출물이 S-HA에 *S. mutans* 부착 억제 효과가 있는지 알아본 결과는 Fig. 2와 같다. 대조군은 $865 \pm 40 (\times 10^4)$ CFU/ml이었으며, 에탄올 추출물 0.016 mg/ml 농도에서는 $826 \pm 23 (\times 10^4)$ CFU/ml, 0.031 mg/ml 농도에서는 $639 \pm 35 (\times 10^4)$ CFU/ml, 0.063 mg/ml 농도에서는 $430 \pm 18 (\times 10^4)$ CFU/ml, 0.125 mg/ml 농도에서는 $395 \pm 27 (\times 10^4)$ CFU/ml로 0.063 mg/ml 이상 농도에서 대조군에 비하여 S-HA에 부착하는 균수가 농도 의존적으로 유의한 차이를 보이며 적어졌으며 ($p < 0.05$), 대조군에 비해 각각 5%, 26%, 50%, 54%의 부착 억제율을 보였다.

4. 백부자 추출물의 GTFase에 의한 비수용성 글루칸 합성 억제에 미치는 효과

백부자 추출물이 비수용성 글루칸 합성 저해 효과가 있는지 알아본 결과는 Fig. 3과 같다. 백부자 에탄올 추출물은 대조군에 비해 0.016, 0.031, 0.063, 0.125 mg/ml 각각의 농도에서 $28 \pm 5.7\%$, $24 \pm 3.9\%$, $0 \pm 4.8\%$, $0 \pm 16.75\%$ 의 생성율을 보여, 백부자 추출물이 비수용성 글루칸 합성 저해 효과가 있는 것으로 나타났다. 백부자 에탄올 추출물의 GTFase에 의한 비수용성 글루칸 합성 억제 효과는 0.016 mg/ml 이상 농도에서 농도 의존적으로 유의한 차이를 보이며 높아졌다 ($p < 0.05$). 즉, 실험군은 대조군과 비교해 봤을 때 각각의 농도에서 72%, 76%, 100%, 100%의 비수용성 글루칸 합성 억제율을 보였다.

5. 백부자 추출물의 정성 실험

기존에 항균 기능을 가진 성분으로 알려진 alkaloids 등 7가지 검출반응을 통해 백부자의 성분을 알아본 결과는 Table 2와 같다. 백부자에는 Alkaloids, Phenolic compound, Glycosides, Glycosides, Steroids, Terpenoids, Organic acids가 포함된 것으로 추정되며, 반면에 Flavonoids는 포함되지 않은 것으로 나타났다. 그 중 Phenolic compound, Glycosides, Organic acids는 반응이 비교적 현저한 것으로 보아 상당량이 포함되었다고 볼 수 있다.

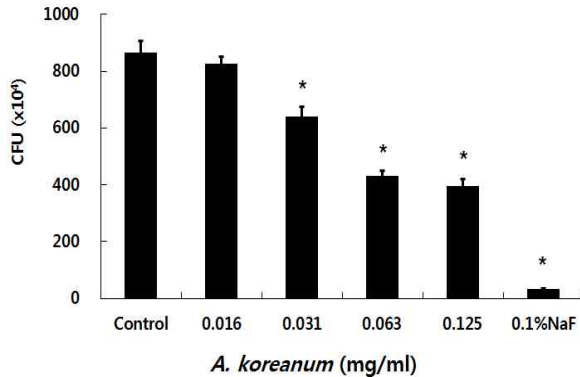


Fig. 2. Effect of *A. koreanum* on *Streptococcus mutans* growth and adherence to saliva coated hydroxyapatite beads. The bacteria was inoculated into BHI broth with various concentration of *A. koreanum* and cultured for 24 h at 37°C. Inhibitory activity is shown in the presence of *A. koreanum* at concentrations ranging from 0.016-0.125 mg/mL. Each value is expressed as a mean \pm standard deviation. Significance was determined at *P < 0.05 when compared with the control. NaF was used as a positive control.

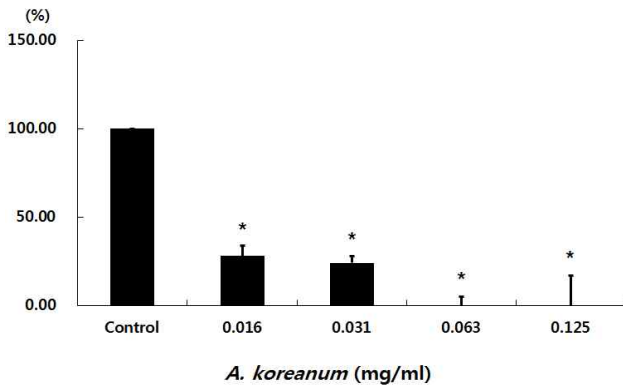


Fig. 3. Rate of insoluble glucan synthesis of *S. mutans* by the various concentration of ethanol extract of *A. koreanum*. *p<0.05 was statistically significant as determined by independent sample t-test for the mean values different from the control group

Table 2. phytochemical analysis of *A. koreanum*

Plant, constituent	Ethanol extract
Alkaloids	+
Phenolic compounds	++++
Glycosides	+++
Peptides	+
Flavonoids	-
Steroids, Terpenoids	+
Organic acids	+++

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

고찰

백부자는 우리나라 동북 지방에 분포하는 미나리아제비과의 2년생 초본인 여러해살이풀인 노랑돌쩌귀풀(*Aconitum Koreanum R. raymond*)의 덩이 줄기이다¹⁷⁾.

노랑돌쩌귀 뿌리를 건조한 백부자의 성분으로는 β -sitosterol(C₂₉H₅₀O), inositol(C₆H₁₂O₆), β -sitosterol-d-glucoside와 hypaconitine A(C₂₄H₃₁O₆N), B(C₂₂H₂₉O₂N), C(C₂₂H₃₃O₂N), D(C₂₄H₃₅O₃N), E(C₂₉H₄₃O₇N) 6종의 alkaloid를 포함하여 맹독성을 나타내지만, 검화 또는 가열 가수분해 등에 의하여 deacetylation, debenzoylation, oxidation 등의 반응이 일어나 독성이 낮은 benzoylaconine계, aconine계, pyroaconine계 등으로 변화됨이 보고되어 있다^{22,23)}. 그러므로 *Aconitum*속 식물의 근경은 자연건조하여 그대로 약용으로 사용하기 보다는 장시간 염수에 침적하거나, 가열처리하는 등의 수침 과정을 거쳐 독성을 감소시킨 후 사용한다²⁴⁾.

본 연구에서는 백부자를 에탄올로 추출하여 *S. mutans*에 대한 성장과 산 생성 억제효과를 관찰하였으며, hydroxyapatite bead에의 부착억제 효과, 비수용성 글루칸 형성 억제 효과를 측정하였다.

백부자 추출물 0.016, 0.031, 0.063, 0.125 mg/ml의 농도별 시료를 사용하여 *S. mutans*에 대한 성장억제효과를 관찰한 결과 *S. mutans*의 성장률이 대조군에 비하여 에탄올 추출물 0.016, 0.031, 0.063, 0.125 mg/ml 농도에서 각기 22%, 34%, 49%, 88%의 성장억제 효과를 나타내었다. 또한 백부자 에탄올 추출물을 넣지 않은 대조군에서 pH는 5.32 \pm 0.01을 나타내었지만, 백부자 에탄올 추출물 0.016, 0.031, 0.063, 0.125 mg/ml 농도에서, 각각 5.47 \pm 0.02, 5.78 \pm 0.06, 6.37 \pm 0.02, 6.96 \pm 0.02의 값으로서, 0.016 ml 농도에서 임계값에 조금 미치지 못하며 나머지 모든 농도에서는 우식임계 pH 5.5에 넘어선 효과를 나타내었다. 백부자의 농도가 증가함에 따라 pH가 증가하는 것으로 보아 백부자 에탄올 추출물이 *S. mutans*에 의한 유기산 생성을 억제하여 치아우식증에 효과를 나타낼 수 있음을 의미한다.

각 농도별 백부자 에탄올 추출물이 치아표면의 세균부착을 억제하는지 알아보기 위해 S-HA에 대한 부착억제 효과를 확인한 결과 대조군에서는 865 \pm 40($\times 10^4$) CFU/ml이 부착한 반면, 0.016, 0.031, 0.063, 0.125 mg/ml 의 각 농도에서는 826 \pm 23($\times 10^4$) CFU/ml, 639 \pm 35($\times 10^4$) CFU/ml, 430 \pm 18($\times 10^4$) CFU/ml, 395 \pm 27($\times 10^4$) CFU/ml의 부착을 보여, 대조군에 비해 각각 5%, 26%, 50%, 54%의 부착억제율을 보여 0.031 mg/ml 농도 이상으로 첨가한 군에서 유의할만한 차이를 볼 수 있었다.

GTFase에 의한 불용성 글루칸 형성을 백부자가 억제하는지 탐구해 본 결과 백부자 에탄올 추출물 0.016, 0.031, 0.063, 0.125 mg/ml 농도로 첨가한 군은 대조군에 비해 각각 28 \pm 5.7%, 24 \pm 3.9%, 0 \pm 4.8%, 0 \pm 16.75%의 생성율을 보였다. 즉, 실험군은 대조군과 비교해 봤을 때 각각의 농도에서 72%, 76%, 100%, 100%의 비수용성 글루칸 합성 억제율을 보였다. 이러한 결과를 고찰해보면 백부자 추출물의 농도를 증가시킬수록 글루칸 합성을 억제한다는 사실을 알 수 있고 따라서 백부자는 불용성 글루칸 형성을 억제한다고 할 수 있다.

정성실험을 통해 백부자의 성분을 검사한 결과, 백부자에는 Alkaloids, Phenolic compounds, Glycosides, Peptides,

Steroids, Terpenoids, Organic acids 등이 포함되었으며, Flavonoids는 포함되지 않은 것으로 나타났다. 성분 물질 중에서 Glycosides, Phenolic compounds와 Organic acids는 그 반응이 상대적으로 현저한 결과를 나타내었으므로 백부자 에탄올 추출물 가운데 그 성분이 상당히 포함되었다고 볼 수 있다.

이상의 결과를 토대로 하여 볼 때, 백부자 에탄올 추출물은 *S. mutans*의 성장 억제, 유기산의 생성 억제, S-HA에 대한 부착억제, 비수용성 글루칸 합성 억제에 효과가 있으므로, 항치아우식 효과를 기대할 수 있을 것으로 보인다. 특히, 백부자의 에탄올 추출물이 0.063 mg/ml이상의 농도에서 *S. mutans*의 성장억제, 유기산의 생성억제, S-HA에 대한 부착억제에 모두 효과적인 농도임을 알게 되었다 ($p < 0.05$). 이러한 효과는 백부자의 에탄올 추출물 성분 중 포함량이 phenolic compound 및 glycoside와 organic acid에 의한 것으로 추측된다. 여기서 우리는 백부자의 *S. mutans* 균 성장억제를 phenolic compound²⁵⁻²⁷⁾, organic acid²⁷⁾, glycoside²⁸⁾가 항균 효과를 보인다는 여러 연구결과와 결부지어 생각해 볼 수 있겠으며, 백부자의 성분 중 어느 것이 어떠한 기전을 통해 *S. mutans* 균의 성장과 산 생성을 억제하는지에 관하여는 추후에 추가적인 연구가 필요할 것이다.

결 론

치아우식예방제를 개발하기 위해 천연물인 백부자를 에탄올로 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 백부자 추출물은 넣지 않은 대조군에 비해 에탄올 추출물은 0.016, 0.031, 0.063, 0.125 mg/ml 농도에서 대조군에 비하여 각각 22%, 34%, 49%, 88%로 농도 의존으로 유의적인 차이를 보이며 낮아졌다 ($p < 0.05$),

*S. mutans*의 산 생성량은 대조군에서 pH는 5.33 ± 0.02 이었고, 백부자 에탄올 추출물 0.016, 0.031, 0.063, 0.125 mg/ml 첨가군에서, 각각 5.46 ± 0.06 , 5.75 ± 0.07 , 6.32 ± 0.06 , 6.99 ± 0.04 로 대조군에 비해 농도 의존적으로 유의한 차이를 보이며 높아졌으며 ($p < 0.05$), 특히 0.031 mg/ml 농도이상에서는 치아우식증에서 무기질 재광화가 일어나는 임계 pH 5.5 이상을 나타냈다 ($p < 0.05$).

S-HA에 *S. mutans* 부착율이 백부자의 에탄올 추출물 0.016, 0.031, 0.063, 0.125 mg/ml 농도에서 대조군에 비해 각각 5%, 26%, 50%, 54%의 부착억제율을 보이며 통계적으로 대조군과 유의적 차이를 보이며 농도 의존적으로 높아졌다($p < 0.05$).

GTFase에 의한 비수용성 글루칸 정량 실험을 한 결과 대조군에 비해 0.016, 0.031, 0.063, 0.125 mg/ml 농도에서 각각 $28 \pm 5.7\%$, $24 \pm 3.9\%$, $0 \pm 4.8\%$, $0 \pm 16.75\%$ 로 농도 의존적으로 유의한 차이를 보이며 낮아졌으며 즉, 각각의 농도에서 72%, 76%, 100%, 100%의 비수용성 글루칸 합성 억제율을 보였다($p < 0.05$).

이상의 결과를 토대로 하여 볼 때, 백부자 에탄올 *S. mutans*의 성장억제, 유기산의 생성 억제, S-HA에 대한 부착억제, 비수용성 글루칸 합성 억제에 효과가 있어, 항치아우식 예방제로서의 효과

를 기대할 수 있을 것으로 보인다.

감사의 글

이 논문은 2012학년도 원광대학교의 교비지원에 의해서 수행됨.

References

1. U.S. Department of Health and Human Services(DHHS). Oral health in America : a report of the surgeon general. Rockville, MD : U.S. Department of Health and Human Service. 2002.
2. Crall, J.J. Rethinking prevention. *Pediatr Dent.* 28: 96-101, 2006.
3. Lee, S.K., Lee, K.W., Chang, K.W. Reasons for extracted permanent teeth in Korean population. *J. Korean Acad Dent Health.* 25: 139-163, 2001.
4. 2001 National Health and Nutritional Survey. Chronic Disease. Seoul : Ministry of Health & Welfare. 2002.
5. Choi, I.W., Jung, C.H., Park, Y.K. Anticariogenic Activities of Various Plant Extracts. *Korean J. Food Sci Technol.* 35(6):1221-1225, 2003.
6. Lee, H.O., Han, D.M., Baek, S.H. Isolation and Identification of Anticariotic Compound from *Sophora flavescens* Ait. *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology.* 30(4):420-424, 2002.
7. Kim, Y.K., Bai, D.H. Production and Characteristics of Lytic Enzyme against *Streptococcus mutans* Cell Wall from Alkalophilic *Bacillus* sp. 4830. *Korean J. Food Sci Technol.* 43(6):1143-1149, 2003.
8. Tsuneno, N., Masa, T., Masao, H. Dental caries prevention by traditional chinese medicines. *Planta medica.* 44: 100-106, 1982.
9. Do, D.S., Lee, S.M., Na, M.K., Bae, K.H. Antimicrobial Activity of Medicinal Plant Extracts against a Cariogenic Bacterium, *Streptococcus mutans* OMZ 176. *Kor. J. Pharmacogn.* 33(4):319-323, 2003.
10. Sohn, W.S., Yoo, Y.C., Kim, C.Y. The effect of NaCl and BAMBOO SALT on the growth of various oral bacteria. *Journal of Academy of Oral Health.* 15(2):255-269, 1991.
11. Sakanaka, S., Kim, M., Taniguchi, M. and Yamamoto, T. Antibacterial substances in Japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*, a cariogenic bacterium. *Agric Biol Chem* 53: 2307-2311, 1989.
12. Steinberg, D., Kaine, G., Gedalia, I. Antibacterial effect of propolis and honey on oral bacteria. *Am J Dent* 9: 236-239, 1996.

13. Chang, K.W., Oh, I.S., Lee, J.H. Effect of dietary erythritol supplemented with chitosan, extracts of Akebia and extracts of Ishige on the growth of mutans streptococci. *Journal of Academy of Oral Health*. 21(3):545-552, 1997.
14. Chang, K.W., Kan, D.O., Kim, H.G. Antibacterial effect and adsorption inhibition of oral streptococci to saliva - coated hydroxyapatite beads with Akebia quinata extract. *Journal of Academy of Oral Health*. 21(4):675-684, 1997.
15. Chang, K.W., Kim, H.G., Cho, C.H. Antibacterial effects of Sargassum horneri extract to the Streptococcus mutans and Streptococcus. *Journal of Academy of Oral Health*. 21(2):379-388, 1997.
16. Yang, J.Y., Han, J.H., Kang, H.R., Hwang, M.G., Lee, J.W. Antimicrobial Effect of Mustard, Cinnamon, Japanese Pepper and Horseradish. *Journal of Food Hygiene and Safety*. 16(1):37-41, 2001.
17. Im, R.J. In *Flora medica coreana: Part traditional medicine (3rd ed.)*. Pyongyang. seoul, pp 171-172, 1998.
18. Ann, D.G. In *Illustrated book of korean medicinal herbs*. Kyohak Publishing Co., LTD., Seoul. pp 598-599, 1998.
19. Jang, I.S. *East pharmacist reference set*. seoul: YeoGang Publisher. pp 320-321, 1993.
20. Moon, G.S. *Comprehensive Dictionary of Scientific Encyclopedia Publishing collection. Components and use of herbs*. seoul. ilwolbooks. pp 223-225, 1991.
21. Cha, J.H. *Comprehensive Dictionary of Scientific Encyclopedia Publishing collection. (Practical use) Consent pharmacy*. seoul. ilwolbooks. pp 459-460, 1990.
22. Yang, C.Y. In *Poisonous drug medical herb, chinese public opinion crane publishing company*. Beijing. pp 191-197, 1995.
23. Park, S.Y., Chung, B.S., Lee, H.K., Lee, H.S., Ryu, J.H. Studies on the preparation of processed Aconiti tubers. *Kor. J. Pharmacogn* 20: 25-31, 1989.
24. Yoon, S.J., Kim, J.H., Lee, K.H., Kwon, H.J., Chun, S.S., Cho, Y.J. Antimicrobial Effects and Antioxidative Activity of Baek-bu-ja (Aconiti koreani Rhizoma) by Extraction Solvent Ratio. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 48(3):258-262 2005.
25. Jones, C.L., Ritichie, J.A., March, P.D. and Van der Ouderaa, F. The effect of longterm use of a dentifrice containing zinc citrate and a non-ionic agent on the oral flora. *J Dent* 67: 46-50, 1988.
26. Min, T.J., Bae, K.G. *Organic and Biochemistry. The Structure of Phenolic Compounds and Their Antibiotic Activities in Umbilicaria vellea*, *Journal of the Korean Chemical Society*. 40(9):623-630, 1996.
27. Chuyen, N.V., Kurata, T., Kato, H., Fujimaka, M. Antimicrobial activity of kumazasa (Susa albomarinata). *Agric biology chemistry*. 46: 971-978, 1982.
28. Lee, D.K., Choi, M.S., Shin, K., Kwon, O.W., Son, S.H. The Stability and Mutagenicity of β -Sitosterol Glycoside, Antimicrobial Compound from Schima wallichii sp. liukiensis. *The Journal of Applied Pharmacology*. 7(3):250-209, 1999.