



Inhibitory effect of *n*-hexane extract from Korean red ginseng marc against *Streptococcus mutans* causing dental caries

Dong Chung Kim¹ · Man-Jin In¹

홍삼박 *n*-hexane 추출물의 충치를 유발하는 *Streptococcus mutans* 저해 효과

김동청¹ · 인만진¹

Received: 15 September 2021 / Accepted: 6 October 2021 / Published Online: 31 December 2021
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2021

Abstract In this study, to investigate the anticariogenic effect of red ginseng, the antibacterial effect, cell adherence and biofilm formation inhibitory effect of *n*-hexane extract of red ginseng marc (HERGM) against *Streptococcus mutans*, the causative bacteria of caries, were measured. The growth of *S. mutans* was inhibited in proportion to the concentration of HERGM, and was hardly observed at a concentration above 125 µg/mL (MIC = 125 µg/mL). It was found that HERGM acts on the cell membrane and the nucleic acid component of the cell was leaked. In addition, HERGM inhibited the adherence and biofilm formation of *S. mutans* by more than 90% at a concentration of 125 µg/mL. GTase activity was completely inhibited at a concentration of 50 µg/mL of HERGM. In conclusion, it was found that HERGM commonly inhibited the growth and biofilm formation of *S. mutans*.

Keywords Biofilm formation inhibition · Growth inhibition · *n*-hexane extract of red ginseng marc · *Streptococcus mutans*

서론

구강 내 대표적인 미생물 감염성 질환인 충치(dental caries)는 음식물, 세균, 침의 상호작용에 의하여 발생하는데 입안에 서식하는 세균이 음식물을 분해하면서 생성되는 산에 의하여 치아의 범랑질이 손상되어 치아의 파괴가 일어나는 질환이며, 세균 중에서 *Streptococcus mutans*가 대표적인 충치 원인균으로 보고되어 있다[1,2]. 치아 표면의 피막에 부착된 *S. mutans*가 생성하는 glucosyltransferase (GTase)에 의하여 sucrose로부터 합성된 접착력이 강한 불용성 글루칸(glucan)은 치아 표면에 미생물을 강하게 부착하여 정착시킴으로서 치면 생물막(biofilm)을 형성한다. 치면 생물막의 *S. mutans*는 당질 대사를 통하여 유기산을 생성하므로 biofilm 내부에 산이 축적되어 치아 범랑질의 탈회기 유발되고 충치가 발생된다[3,4]. 그러므로 충치의 예방을 위하여는 *S. mutans*의 증식을 저해하거나 불용성 glucan 생성에 관여하는 GTase 활성을 저해하는 것이 효과적이므로 천연물로부터 항충치 활성을 나타내는 소재에 대한 연구가 다수 보고되어 있다[4-6]. 특히 *S. mutans*에 대한 항균활성을 갖는 소재로는 뽕잎[7], 커피[8], 박테리옌[9], 박하[10] 등이, GTase 활성을 저해하여 생물막의 형성을 저해하는 소재로는 catechin과 flavonoids[11], 회향[12], 인도감나무 줄기[13], 솔잎[14] 등이 보고되어 있다. 그러나 현재 우리나라에서 치아 건강에 도움을 줄 수 있는 기능성 식품소재로 이용할 수 있는 것은 플라보노이드가 주성분인 프로폴리스 추출물과 자일리톨 정도로 매우 제한적이다[1].

인삼(*Panax ginseng*)은 사포닌으로 통칭되는 진세노사이드, 산성 다당체, 폴리아세틸렌, 알칼로이드, 페놀성 화합물 등이 함유되어 있으며[15], 항산화, 항암, 항염증, 항균, 항바이러스, 기억력 개선, 면역증진, 신경조절, 간 보호, 혈당 조절, 지방흡수

Man-Jin In (✉)
E-mail: manjin@chungwoon.ac.kr

¹Department of Chemical Engineering, Chungwoon University, Incheon 22100, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

조절 등의 생리활성이 보고되어[16,17] 있어 오랫동안 질병의 예방과 치료 및 신진대사의 개선 목적의 생약제와 건강기능식품으로 사용되고 있다. 인삼의 항균 작용은 미생물의 생육 환경을 고려하여 대부분 수용성 성분을 대상으로 연구되고 있으며, 진세노사이드 Rd성분의 항균활성[18]과 열처리로 극성이 감소된 화기삼(*Panax quinquefolius*) 진세노사이드의 항균활성 향상[19]이 보고되어 있다. 또한 압출성형 백삼과 홍삼의 에탄올 추출물은 *S. mutans*에 대하여 최소저해농도(MIC)는 백삼과 홍삼 공히 150 mg/mL이었으며, 압출성형 백삼의 추출물 300 mg/mL 농도에서 GTase 활성을 93% 저해하였다. 동시에 압출성형 백삼 에탄올 추출물의 *n*-butanol 분획에서 높은 저해효과가 관찰되어 항균활성은 사포닌의 영향일 것으로 보고되었다[20]. 즉, 충치 원인균에 대한 인삼의 항균 활성에 관한 기존의 연구[19-20]는 인삼의 수용성 성분을 활용한 것이며, 지용성 성분이 충치 원인균에 미치는 영향에 대한 연구는 매우 미미하다.

따라서 본 연구에서는 인삼의 지용성 성분(*n*-hexane 추출물)이 암세포의 증식을 강하게 억제한다는 결과[21]를 참고하여 인삼 *n*-hexane 추출물이 충치 원인균 *S. mutans*의 생육에 미치는 영향을 확인함으로써 인삼의 항충치 활성에 대한 기초 자료를 확보하고자 하였다. 건강기능식품과 일반식품으로 소비가 증가한 홍삼제품의 제조 부산물인 홍삼박을 *n*-hexane으로 추출한 추출물이 *S. mutans*의 생육에 미치는 영향과 균체 부착 및 생물막 형성 저해효과를 조사하여 충치예방에 효과적인 것으로 알려진 불소와 비교하였다. 또한 글루칸 생성에 관여하는 GTase 활성 저해도 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

홍삼박은 홍삼 열수 추출물 제조 후 부산물로 얻어지는 것을 고려인삼제조(주)(평택, 경기)에서 제공받았다. *Streptococcus mutans* KCTC 3065는 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC, 대전)에서 분양받았으며, 배지는 Difco사(Detroit, MI, USA)의 Brain heart infusion (BHI) agar를 사용하였다. Sodium fluoride (NaF), catechin, dimethyl sulfoxide (DMSO)는 Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다.

홍삼박 *n*-hexane 추출물 제조

건조하여 분쇄한 홍삼박에 추출용매로 10배(w/w)의 *n*-hexane을 가한 후 4시간 동안 항온 진탕조에서 추출하였다. 추출액을 Whatman No. 2 여과지로 여과하고 50 °C에서 감압농축하여 *n*-hexane을 제거한 후 얻어진 추출물을 DMSO에 용해시켜 사용하였다[21].

*S. mutans*에 대한 항균력 측정

홍삼박 *n*-hexane 추출물의 항균력은 모든 실험군에서 DMSO의 농도가 일정하도록 *n*-hexane 추출물을 희석하여 다음과 같이 측정하였다. BHI broth 4.3 mL에 31.25-500 µg/mL 농도가 되도록 *n*-hexane 추출물 0.5 mL을 첨가하고 1×10⁵ CFU/mL로 균수를 조정된 균 현탁액 0.2 mL를 접종한 후 37 °C에서 20시간 배양한 다음 660 nm에서 흡광도를 측정하여 균의 증식 저해를

을 아래의 식으로 계산하였다[20]. 이때 균의 증식이 관찰되지 않은 최소 농도를 최소저해농도(minimum inhibition concentration, MIC)로 결정하였다. 양성 대조군으로 NaF를 사용하여 비교하였다.

Growth inhibition (%)

$$= \frac{[(\text{control}-\text{control blank})-(\text{sample}-\text{sample blank})]}{(\text{control}-\text{control blank})} \times 100$$

세포막 무결성(integrity) 측정

세포막 무결성은 세포 현탁액으로 세포 구성성분 중 핵산이 유출되는 것을 측정하여 평가하였다[19]. *S. mutans*를 BHI broth에서 24시간 배양하여 원심분리(3,000×g, 10 min, 4 °C)로 균체를 회수하고 멸균 phosphate-buffered saline (PBS; 0.01 M, pH 7.4)으로 세척한 다음 동일 부피의 PBS에 현탁하여 균체 현탁액을 준비하였다. PBS 4.3 mL에 125와 500 µg/mL 농도가 되도록 *n*-hexane 추출물 0.5 mL을 각각 혼합하고 1×10⁵ CFU/mL로 균수를 조정된 균체 현탁액 0.2 mL를 첨가하여 37 °C에서 반응시키면서 경시적으로 시료를 채취하여 원심분리 후 상등액의 흡광도를 260 nm에서 측정하였다. 대조군은 *n*-hexane 추출물 대신에 PBS와 DMSO를 각각 첨가하여 비교하였다.

균체 부착 및 생물막 형성 저해 측정

균체 부착 저해: 유리 시험관에 1% sucrose를 추가한 BHI broth 4.3 mL를 넣고 31.25-500 µg/mL 농도가 되도록 *n*-hexane 추출물 0.5 mL을 첨가하고 1×10⁵ CFU/mL로 균수를 조정된 균 현탁액 0.2 mL를 접종한 후 37 °C에서 20시간 배양하였다. 배양 후 broth를 제거하고 0.5 N NaOH 용액을 3 mL 가하여 부착된 균체를 현탁시킨 다음 660 nm에서 흡광도를 측정하였다[22]. 양성 대조군으로 NaF를 사용하여 비교하였다.

생물막 형성 저해: 생물막 형성은 Loo 등의 방법[23]을 부분적으로 수정하여 측정하였다. Microtube에 1% sucrose를 추가한 BHI broth 2.15 mL를 넣고 31.25-1,000 µg/mL 농도가 되도록 *n*-hexane 추출물 0.25 mL을 첨가하고 1×10⁵ CFU/mL로 균수를 조정된 균 현탁액 0.1 mL를 접종한 후 37 °C에서 20시간 배양하였다. 배양 후 broth를 제거하고 식염수로 2회 세척한 후 형성된 생물막을 0.2% crystal violet으로 15분간 염색한 다음 증류수로 세척하였다. 생물막에 흡착된 crystal violet을 95% 에탄올로 용해시킨 다음 575 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 양성 대조군으로 NaF를 사용하여 비교하였다.

GTase 활성 저해 측정

*S. mutans*를 BHI broth에서 24시간 배양하여 원심분리(3,000×g, 10 min, 4 °C)로 균체를 제거하고 상등액을 여과(Whatman No. 2 여과지)한 다음 여액의 pH를 7.0으로 조정된 후 0.02% sodium azide를 첨가하여 GTase 조효소액을 준비하였다. 기질(2% sucrose) 4.0 mL에 조효소액 0.3 mL를 첨가하고 3.125-50 µg/mL 농도가 되도록 *n*-hexane 추출물 0.5 mL을 혼합한 다음 37 °C에서 20시간 반응시켰다. 반응 후 생성된 글루칸을 vortex하여 분산시키고 660 nm에서 흡광도를 측정하였다[14]. 양성 대조군은 catechin을 사용하였다.

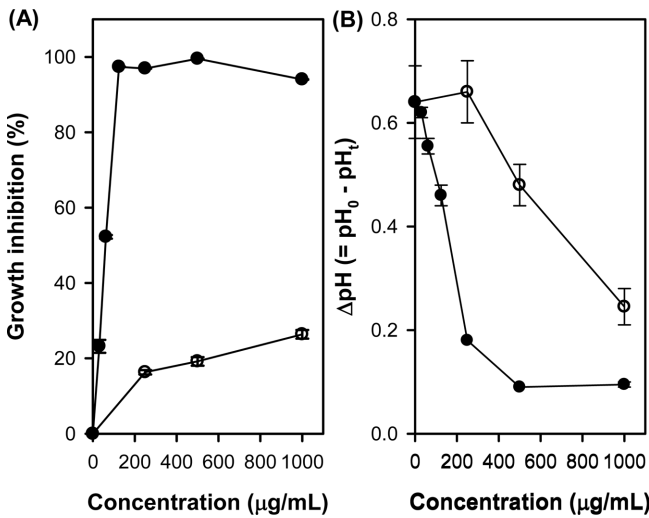


Fig. 1 Effects of *n*-hexane extract of red ginseng marc (●) and sodium fluoride (○) on cell growth (panel A) and acid production (panel B) of *Streptococcus mutans* KCTC 3065 after incubation with different levels of *n*-hexane extract of red ginseng marc and sodium fluoride at 37 °C for 20 h. Acid production was shown as pH change before and after incubation. All data were means ± SD (n = 3)

결과 및 고찰

*S. mutans*에 대한 항균 활성

홍삼 지용성 성분의 충치 원인균 *S. mutans*에 대한 항균 활성을 조사하기 위하여 홍삼박을 사용하여 *n*-hexane 추출물을 제조하였으며, 추출물의 수율은 0.633%로 기존의 홍삼박 *n*-hexane 추출물 수율과 대동소이 하였다[21,24]. 홍삼박 *n*-hexane 추출물을 DMSO에 희석하여 BHI broth에서 31.25-500 µg/mL 농도로 *S. mutans*에 대한 항균 활성을 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. *S. mutans*의 생육 정도를 DMSO만 첨가한 대조군과 비교한 결과(Fig. 1A), 31.25 및 62.5 µg/mL 처리농도에서 각각 23.20±1.73, 52.26±0.45% 생육이 저해되었으며, 125 µg/mL 이상의 농도에서는 생육이 거의 관찰되지 않았다. 따라서 *S. mutans* KCTC 3065에 대한 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 MIC는 125 µg/mL로 판단되었다. 불소 이온은 충치의 발생을 억제해 치약에 많이 사용되므로 양성 대조군으로 사용한 NaF는 1.0 mg/mL 농도에서 26.38±1.16%의 생육 저해 효과를 보여 홍삼박 *n*-hexane 추출물보다 생육 저해 활성이 낮았다. 본 연구에서 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 MIC는 뽕잎 95% 에탄올 추출물의 125 µg/mL [22] 및 뽕잎 메탄올 추출물의 부분 정제물의 64-128 µg/mL [7]과 매우 유사한 결과이며, 박하 70% 에탄올 추출물 1 mg/mL [10], 히비스커스 꽃 70% 에탄올 추출물 5 mg/mL [25] 및 솔잎 70% 에탄올 추출물의 *n*-hexane 분획 0.6 mg/mL [14] 보다 매우 우수하였다. 한편, 홍삼 80% 에탄올 추출물의 MIC가 150 mg/mL인 결과[20]와는 큰 차이를 보였으며, 충치균의 생육 억제는 극성보다는 비극성 성분이 효과적이라는 보고[5,13,14]를 고려하면 이러한 차이는 본 연구에서 80% 에탄올보다 소수성이 높은 *n*-hexane을 추출 용매로 사용함으로써 홍삼의 소수성 성분이 보다 많이 추출되었기 때문인 것으로 판단된다. 한편, 1% 포도당을 추가한 BHI broth에서 *S. mutans*

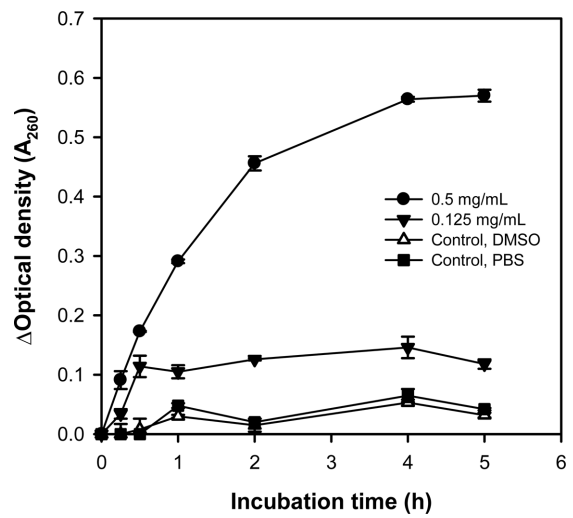


Fig. 2 Release of 260 nm absorbing material from *Streptococcus mutans* KCTC 3065 treated with *n*-hexane extract of red ginseng marc, dimethyl sulfoxide (DMSO) and phosphate-buffered saline (PBS) at 37 °C. All data were means ± SD (n = 3)

20시간 배양 후 broth의 pH를 배양 전과 비교한 결과(Fig. 1B), pH 변화는 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 농도가 증가할수록 감소하였으며, 500 µg/mL 이상에서 매우 미미하였다. 양성 대조군으로 사용한 NaF는 1.0 mg/mL 농도에서 홍삼박 *n*-hexane 추출물 250 µg/mL 농도와 유사한 효과를 보였다. 이상의 결과는 반대해(*Sterculia lychnophore*) 70% 에탄올 추출물 0.01-0.04 mg/mL 조건에서 농도에 비례하여 *S. mutans*의 산 생성을 억제한다는 보고[26]와 동일한 경향으로 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 산 생성 억제 효과를 나타내는 것이다. 치아 표면에 형성된 생물막 내부에서 *S. mutans*에 의한 산의 생성 및 축적은 치아 법랑질의 탈회 유발되어 충치에 이르게 되므로[3,4], 산 생성의 억제는 충치 발생을 감소시킬 수 있는 방법이다. 충치 예방에 효과가 있는 것으로 알려진 자일리톨이 *S. mutans*의 생육 억제 활성이 관찰되지 않은 점[27]을 고려하면 홍삼박 *n*-hexane 추출물은 충치 원인균인 *S. mutans*의 생육과 산의 생성을 저해하므로 자일리톨과는 다른 기작으로 충치 예방 효과를 나타내는 것으로 판단된다.

세포막 무결성(integrity)

홍삼박 *n*-hexane 추출물의 *S. mutans* 생육 억제 기작을 이해하기 위하여 홍삼박 *n*-hexane 추출물 처리가 세포막 무결성에 미치는 영향을 세포 구성성분 중 핵산이 세포 현탁액으로 유출되는 것으로 측정하였다. 홍삼박 *n*-hexane 추출물을 *S. mutans*의 MIC인 125 µg/mL와 MIC의 4배(4×MIC)인 500 µg/mL로 처리하고 대조군으로는 *S. mutans*의 현탁에 사용한 PBS와 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 희석에 사용한 DMSO를 각각 사용하여 비교하였다. 그 결과(Fig. 2), MIC 농도에서 30분 경과 후 260 nm 흡광도의 변화는 0.114±0.018를 나타내어 5시간까지 유지되었고 4×MIC에서는 4-5시간 동안 0.57±0.01까지 크게 증가하였으나 대조군은 PBS와 DMSO 공히 최대 0.053-0.065 수준까지 미미하게 증가하였다. 이는 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 처리 농

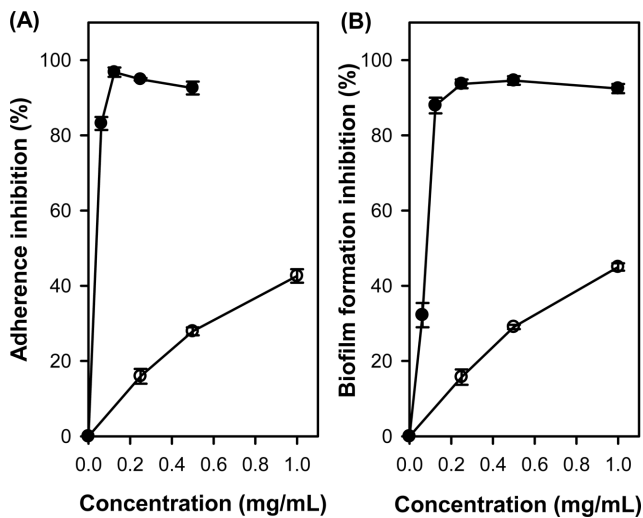


Fig. 3 Effects of *n*-hexane extract of red ginseng marc (●) and sodium fluoride (○) on cell adherence (panel A) and biofilm formation (panel B) of *Streptococcus mutans* KCTC 3065 after incubation with different levels of *n*-hexane extract of red ginseng marc and sodium fluoride at 37 °C for 20 h. All data were means \pm SD (n=3)

도에 비례하여 세포의 핵산 성분이 세포 현탁액으로 유출되는 것을 나타낸다. 세포막(cytoplasmic membrane)의 무결성은 세균의 생장에 매우 중요한 인자이므로 세포 구성성분의 유출을 분석하는 것은 항미생물 작용 기작에 대한 실마리가 될 수 있다. 핵산 성분의 유출로 세포막 무결성을 측정하여 항미생물 작용 기작을 설명하는 연구는 꾸지 뽕나무(*Cudrania tricuspidata*) 열매[28]와 죽자초(*Macleaya cordata*) 잎[29]의 essential oil 및 열처리로 극성이 감소된 화기삼(*Panax quinquefolius*)의 진세노사이드[19] 등에서 보고되어 있으며, 본 연구의 결과도 이와 동일한 경향이다. 따라서 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 처리에 의하여 유발되는 *S. mutans* 세포막 무결성의 부정적인 변화가 *S. mutans* 생육을 저해하는 중요한 요인일 것으로 판단된다.

S. mutans 균체 부착 및 생물막 생성 저해 활성

유리 시험관에서 1% 설탕을 추가한 BHI broth에 *S. mutans*를 홍삼박 *n*-hexane 추출물(31.25-500 μ g/mL)과 함께 배양한 후, *S. mutans*가 시험관에 부착된 정도를 조사하여 홍삼박 추출물이 *S. mutans*의 부착에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과(Fig. 3A), 홍삼박 *n*-hexane 추출물은 125 μ g/mL 이상의 농도에서 *S. mutans*의 부착을 90% 이상 저해하였고 양성 대조군인 NaF는 1 mg/mL 농도에서 42.6 \pm 1.8%를 저해하여 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 저해 효과가 NaF보다 매우 우수하였다. 충치는 치아 표면에 충치 유발균 중 하나인 *S. mutans*의 부착으로 시작되므로 [1,2] *S. mutans*의 부착을 저해하는 것은 충치를 예방하는 근본적인 방법이 될 수 있다. Chinese black tea (*Camellia sinensis*) 에탄올 추출물(3 mg/mL에서 50% 저해)[30], oleanolic acid (8 μ g/mL에서 80% 저해)[31], 키토산(1.25 mg/mL에서 100% 저해)[32] 등의 *S. mutans* 부착 저해에 관한 보고와 비교하면 홍삼박 *n*-hexane 추출물도 매우 효과적으로 *S. mutans*의 부착을 저해하는 것으로 판단된다. 또한, BHI broth에 1% 설탕을 추가하

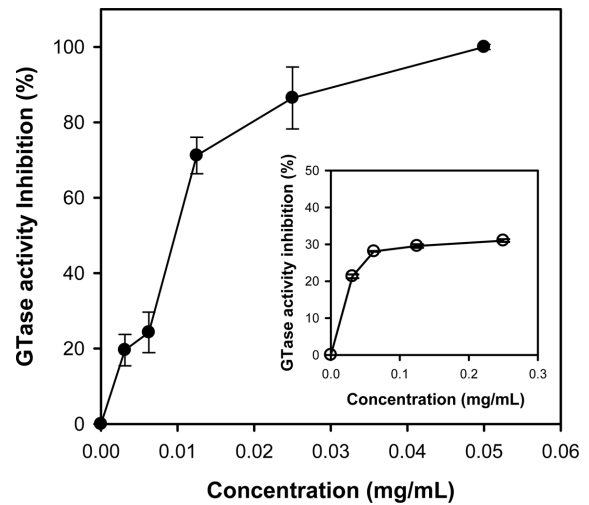


Fig. 4 Inhibitory effects of *n*-hexane extract of red ginseng marc on the activity of glucosyltransferase (GTase) from *Streptococcus mutans* KCTC 3065. Inset: Inhibitory effects of catechin on the activity of GTase from *Streptococcus mutans* KCTC 3065

고 *S. mutans*를 홍삼박 *n*-hexane 추출물(31.25-1000 μ g/mL)과 함께 배양한 후, 홍삼박 *n*-hexane 추출물이 *S. mutans*에 의한 생물막 형성에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과(Fig. 3B), 균체 부착 저해와 유사하게 홍삼박 *n*-hexane 추출물은 125 μ g/mL 농도에서 생물막 형성을 87.9 \pm 2.1%, 그 이상의 농도에서는 90% 이상 저해하였고, 양성 대조군인 NaF는 1 mg/mL 농도에서 45.0 \pm 1.0%를 저해하여 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 저해 효과가 NaF보다 매우 우수하였다. 치아 표면에 부착된 *S. mutans*는 설탕을 기질로 점착성의 비수용성 글루칸의 합성 반응을 촉매하는 GTase를 분비함으로써 생물막이 형성될 수 있도록 한다. 형성된 생물막은 다른 미생물의 부착과 증식을 가능하게 하므로 충치 발생 초기에 생물막의 형성을 효과적으로 제어하는 것이 중요하다[3,33]. 다양한 식물 추출물이 *S. mutans*의 생물막 생성을 저해하는 결과가 보고[33,34]되어 있으나, 홍삼 수용성 추출물에 대한 연구는 미미하였다. 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 생물막 저해 활성이 Thomson seedless raisin에서 분리된 oleanolic acid의 결과(4 μ g/mL에서 90% 저해)[31]보다 낮았으나 본 연구에서 사용한 홍삼박 *n*-hexane 추출물이 혼합물인 것을 고려하면 우수한 *S. mutans*의 생물막 생성 저해활성을 갖는 것으로 판단된다.

GTase 활성 저해

치아 표면에 *S. mutans*의 부착과 생물막 생성은 설탕을 기질로 불용성 글루칸의 생합성을 촉매하는 *S. mutans*가 분비하는 GTase가 중요한 역할을 하므로[3,11,35], 홍삼박 *n*-hexane 추출물이 *S. mutans*가 생산하는 GTase 활성에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과(Fig. 4), 홍삼박 *n*-hexane 추출물은 12.5 μ g/mL 농도에서 71.2 \pm 4.84%, 50 μ g/mL 농도에서 100% 저해하여 기존의 솔잎 70% 에탄올 추출물(10 mg/mL에서 99% 저해)[14]과 압출성형 백삼 60% 에탄올 추출물(300 mg/mL에서 93% 저해)[20]보다 매우 뛰어난 저해활성을 보였다. GTase 활성 저해가

보고되어[3,36] 양성 대조군으로 사용한 catechin은 62.5 µg/mL 이상의 농도에서 약 30%를 저해하여 홍삼박 *n*-hexane 추출물이 catechin보다 높은 활성을 나타내었다. 따라서, 홍삼박 *n*-hexane 추출물에 의한 *S. mutans*의 GTase 활성 저해가 *S. mutans*의 부착과 생물막 형성을 저해하는 중요한 요인일 것으로 판단된다. Catechin 등의 폴리페놀 화합물의 충치 예방 효과는 구강 세균의 생육에 직접 작용하기보다는 주로 GTase의 저해 효과에 기인하는 것으로[11], 폴리페놀을 함유한 풋사과 열수 추출물은 *S. mutans*에 대하여 항균 효과는 관찰되지 않았으나 GTase의 저해 효과는 관찰되었다[36]. 반대로 계피 95% 에탄올 추출물은 *S. mutans*에 대한 항균 효과는 뛰어났으나 GTase 저해 효과는 없었다[6]. 즉, *S. mutans*에 대한 항균 효과와 GTase 활성 저해 효과가 일치하지 않는 경우도 있으나, 홍삼박 *n*-hexane 추출물은 *S. mutans*의 생육과 GTase 활성에 공통적으로 저해 효과가 있어 충치 예방의 소재로 활용이 예상된다. 향후 저해 활성을 보이는 성분을 동정하는 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

초 록

본 연구에서는 홍삼의 항충치 효과를 조사하기 위하여 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 충치 원인균 *Streptococcus mutans*에 대한 항균 효과, 균체 부착과 생물막 생성 저해 효과를 측정하였다. 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 농도에 비례하여 *S. mutans*의 생육이 저해되었으며, 125 µg/mL 이상의 농도에서는 거의 관찰되지 않았다(MIC=125 µg/mL). 홍삼박 *n*-hexane 추출물이 세포막에 작용하여 세포의 핵산 성분이 유출시키는 것으로 나타났다. 그리고, 홍삼박 *n*-hexane 추출물은 125 µg/mL 이상의 농도에서 *S. mutans*의 부착과 생물막 형성을 90% 이상 저해하였다. GTase 활성은 50 µg/mL 농도에서 완전히 저해되었다. 결론적으로 홍삼박 *n*-hexane 추출물은 *S. mutans*의 생육과 생물막 형성을 공통적으로 저해하는 것으로 나타났다.

Keywords 생물막 형성 저해 · 생육 저해 · 홍삼박 *n*-hexane 추출물 · *Streptococcus mutans*

감사의 글 본 연구는 2021년 청운대학교 학술연구조성비의 지원으로 수행되었습니다.

References

- Lee HJ, Jang HD, Lee KW, Lee HJ, Kang NJ, Kim SY, Yang H (2019) Functional food. Soohaksa, Seoul
- Loesche WJ (1986) Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. Microbiol Rev 50: 353–380
- Bowen WH, Koo H (2011) Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferase: Role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. Caries Res 45: 69–86. doi: 10.1159/000324598
- Jeon JG (2012) Natural product research in dental caries prevention. J Kor Dent Assoc 50: 544–551
- Choi IW, Jung CH, Park YK (2003) Anticariogenic activities of various plant extracts. Korean J Food Sci Technol 35: 1221–1225
- Park YM, Kim SJ, Jo KH, Yang EJ, Jung ST (2006) Anticariogenic and antioxidant activities from medicinal herbs. J Korean Soc Food Sci Nutr 35: 284–293. doi: 10.3746/jkfn.2006.35.3.284
- Park SN, Lim YK, Cho E, Jo E, Park PS, Kook JK (2014) Antimicrobial activity of mulberry leaf against mutans Streptococci and periodontopathogens. Int J Oral Biol 39: 201–206. doi: 10.11620/IJOB.2014.39.4.201
- Yoon HS, Jee YJ (2015) Inhibitory effects of coffee beans on dental caries causing *Streptococcus mutans* activity. Int J Clin Prev Dent 11: 159–164. doi: 10.15236/ijcpd.2015.11.3.159
- Moon JS, Ahn JE, Han AR, Heo JS, Eom HJ, Shin CS, Choi HS, Han NS (2011) Anticariogenic activities of *Lactobacillus sakei* K-7 isolated from Kimchi. KSBB J 26: 513–516. doi: 10.7841/ksbbj.2011.26.6.513
- Choi BBR, Yun SE, Park SR, Kim GC (2020) Effectiveness of mentha extracts against oral microorganisms: an *in vitro* study. J Korean Acad Oral Health 44: 67–72. doi: 10.11149/jkaoh.2020.44.2.67
- Ren Z, Chen L, Li J, Li Y (2016) Inhibition of *Streptococcus mutans* polysaccharide synthesis by molecules targeting glycosyltransferase activity. J Oral Microbiol 8: 31095. doi: 10.3402/jom.v8.31095
- Kim SM, Choi CH, Kim JW, Won SR, Rhee HI (2008) The anticaries activity of hot water extracts from *Foeniculum vulgare*. J Korean Soc Appl Biol Chem 51: 84–87
- Kim HS, Lee SW, Sydara K, Cho SJ (2019) Antibacterial and antibiofilm activities of *Diospyros malabarica* stem extract against *Streptococcus mutans*. J Lif Sci 29: 90–96
- Choi HD, Koh YJ, Choi IW, Kim YS, Park YK (2007) Anticariogenic activity and glucosyltransferase inhibitory effects of extracts from pine needle and twig. Korean J Food Sci Technol 39: 336–341
- Anel AS, Wu JA, Yuan CS (1999) Ginseng pharmacology: Multiple constituents and multiple actions. Biochem Pharmacol 58: 1685–1693. doi: 10.1016/s0006-2952(99)00212-9
- Kwak YS, Park JD, Yang JW (2003) Present and its prospect of red ginseng efficacy research. Food Ind Nutr 8: 30–37
- Kim YR, Yang CS (2018) Protective roles of ginseng against bacterial infection. Microbial Cell 5: 472–481. doi: 10.15698/mic2018.11.654
- Kim AR, Lee MS (2011) Screening of antimicrobial activity compounds from Korea ginseng fine root. J Life Sci 21: 1244–1250. doi: 10.5352/JLS.2011.21.9.1244
- Xue P, Yao Y, Yang XS, Feng J, Ren GX (2017) Improved antimicrobial effect of ginseng extract by heat transformation. J Ginseng Res 41: 180–187. doi: 10.1016/j.jgr.2016.03.002
- Son HJ, Han MS, Ryu GH (2009) Antibacterial activities of Et-OH extract from extruded white ginseng on tooth decay bacteria. J Korean Soc Food Sci Nutr 38: 951–957. doi: 10.3746/jkfn.2009.38.7.951
- Yun J, Kim BG, Kang JS, Park SK, Lee K, Hyun DH, Kim HM, In MJ, Kim DC (2015) Lipid-soluble ginseng extract inhibits invasion and metastasis of B16F10 melanoma cells. J Med Food 18: 102–108
- Islam B, Khan SN, Haque I, Alam M, Mushfig M, Khan AU (2008) Novel anti-adherence activity of mulberry leaves: inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm by 1-deoxyojirimycin isolated from *Morus alba*. J Antimicrob Chemother 62: 751–757. doi: 10.1093/jac/dkn253
- Loo CY, Corliss DA, Ganeshkumar N (2000) *Streptococcus gordonii* biofilm formation: identification of genes that code for biofilm phenotypes. J Bacteriol 182: 1374–1382. doi: 10.1128/JB.182.5.1374-1382.2000
- In MJ, Chae HJ, Kim DC (2014) *In vitro* antioxidant and anticancer potential of n-hexane extract from ginseng marc. J Appl Biol Chem 57: 247–250. doi: 10.3839/jabc.2014.039
- Lee J, Kim Y, Kim DC, Chae HJ (2020) Antimicrobial activities of edible plant extracts against oral bacteria. J Appl Biol Chem 63, 61–67. doi: 10.3839/jabc.2020.008
- Yang Y, Park BI, Hwang EH, You YO (2016) Composition analysis and inhibitory effect of *Sterculia lychnophore* against biofilm formation by *Streptococcus mutans*. Evid Based Complement Alternat Med 2016, Article ID 8163150, 9. doi: 10.1155/2016/8163150
- Eskandarian T, Motamedifar M, Arasteh P, Eghbali SS, Adib A, Abdoli

- Z (2017) Comparison of antimicrobial effects of titanium tetrafluoride, chlorhexidine, xylitol and sodium fluoride on *Streptococcus mutans*: An in-vitro study. *Electron Physician* 9: 4042–4047. doi: 10.19082/4042
28. Bajpai VK, Sharma A, Baek KH (2013) Antibacterial mode of action of *Cudrania tricuspidata* fruit essential oil, affecting membrane permeability and surface characteristics of food-borne pathogens. *Food Control* 32: 582–590. doi: 10.1016/j.foodcont.2013.01.032
29. Li CM, Yu JP (2014) Chemical composition, antimicrobial activity and mechanism of action of essential oil from the leaves of *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br. *J Food Safety* 35: 227–236. doi: 10.1111/jfs.12175
30. Limsong J, Benjavongkulchai S, Kuvatanasuchati J (2004) Inhibitory effect of some herbal extracts on adherence of *Streptococcus mutans*. *J Ethnopharmacol* 92: 281–289. doi: 10.1016/j.jep.2004.03.008
31. Yoon Y, Choi KH (2010) Identification of inhibitory effect on *Streptococcus mutans* by oleanolic acid. *J Life Sci* 20: 321–325. doi: 10.5352/JLS.2010.20.3.321
32. Abedian Z, Jenabian N, Moghadamnia AA, Zabihi E, Tashakorian H, Rajabnia M, Sadighian F, Bijani A (2019) Antibacterial activity of high-molecular-weight and low-molecular-weight chitosan upon oral pathogens. *J Conserv Dent* 22: 169–174
33. Chen X, Baliri EBM, Kim N, Kim JR, Yoo D, Oh DH (2020) Microbial etiology and prevention of dental caries: Exploiting natural products to inhibit cariogenic biofilms. *Pathogens* 9, 569. doi:10.3390/pathogens 9070569
34. Moon KH, Lee YC, Kim JN (2019) Effects of foreign plant extracts on cell growth and biofilm formation of *Streptococcus mutans*. *J Life Sci* 29: 712–723. doi: 10.5352/JLS.2019.29.6.712
35. Ooshima T, Matsumura M, Hoshino T, Kawabata S, Sobue S, Fujiwara T (2001) Contributions of three glycosyltransferase to sucrose-dependent adherence of *Streptococcus mutans*. *J Dent Res* 80: 1672–1677
36. Yoon SY, Kim SH, Chung HL, Lee JJ, Huh CS, Baek YJ (2000) Anticariogenic effects of unripe apple extract. *Korean J Food Sci Technol* 32, 168–173