

후박 및 은행엽 추출물의 항균, 항염 및 세포활성도에 미치는 영향

정종평¹ · 구 영¹ · 배기환²

¹서울대학교 치과대학 치주과학교실

²충남대학교 약학대학

I. 서 론

치주질환의 예방 및 치료제는 1920년대부터 많은 연구가 진행되어왔으며 그중 크게 나누어 항생제로서의 예방 및 치료제와 비항생물질인 화학요법제로서의 항균 및 항염 효과를 통한 예방 및 치료제가 있다. 이중 항생제로서의 치주질환 예방제는 사용범위의 제한과 후유증 때문에 현재로서는 제한된 범위내에서 사용되고 있는 형편이다. 한편, 화학요법제의 개발을 통한 치주질환 예방 및 치료제 개발은 과거 수세기에 걸쳐 많은 노력을 이루어 오고 있는바, 이중 phenolic compound 제제로서 Listerine^{®1}, Quaternary ammonium compound 제제인 Scope⁴, Bisbiguanides 제제로서 Peridex^{등3,4}이 사용되고 있다.

최근 이러한 제제 이외에 생약추출물제제로서 Sanguinaria extract⁵ 등이 치주질환 예방제로서 널리 이용되고 있다. 이러한 제제들 중에서 Listerine은 치태형성억제 효과 및 항균효과가 상당히 제한되게 나타나고 있으며 Scope등은 일시적인 효과를 나타낼 뿐 원하는 정도의 항균 및 치태억제 효과를 나타내고 있지 못하다³. 또한 Sanguinaria 추출물은 실험실 실험에서는 강력한 치태억제 및 항균효과를 나타내고 있지만 임상실험 결과는 실험실 실험결과와는

다르게 일정한 임상효과를 나타내지 못하고 있다⁵. 즉, 이 물질은 구강내 철분을 함유한 타액 및 체액과 결합시 치태억제 효과가 무력화되는 결과를 나타내고 있다.

한편, Chlorhexidine은 최근 30년 이상의 임상 실험을 통하여 가장 강력하고 안정된 치태억제 및 항균효과를 나타내는 화학요법제로서 임상에서 이용되고 있다. 그러나 이 제제는 장기간 사용시 치아의 표면착색, 치은상피의 박리성 치은염 유발, 10% 이하의 사용자에서 점막자극 과민증 유발 및 동물에서의 세포돌연변이 결과가 간혹 나타난다는 보고가 있다^{6,7}. 그러므로 이러한 각종의 화학요법제가 현재까지 수입된 상태에서 국내에서 이용되고 있으나 이로 인한 국내 개발의 필요성이 대두되고 있다.

1970년대 이후 후박(*Magnoliae cortex*)에서 추출한 물질을 이용한 충치 세균에 대한 항균 효과^{9,10} 치태 세균의 항균효과를 관찰한 결과 치주질환 병인균에 대하여 효과적인 항균효과를 나타내고 있으며 이 제제는 치은 섬유아세포에서 교원질 분해효소의 생산억제 효과를 보이고 있음이 연구되었다^{11,12}. 또한 은행엽 추출물은 모세혈관 강화제 및 혈류순환 개선제로서 Ginkgolavonglycoside, Ginkgolide, 유기산 및 프로안토시아니딘등의 성분을 함유하며

본 논문은 1994년도 보건복지부 신약개발연구지원에 의하여 이루어짐.

collagenase 억제효과를 가짐이 발표되고 있다. 또한 이 은행엽 추출물이 치은섬유아세포의 교원질 합성과 총단백질 합성에서 좋은 결과를 보이고 있음이 연구되었다^{13,14)}.

본 연구의 목적은 현재까지 개발된 기존의 치주질환 예방 및 치료제의 장점을 가지는 제제로서 치태세균 성장억제와 결손조직재생 및 치은조직의 재생과 관련된 새로운 제제의 개발을 위한 시도로서 개발된 생약제제의 단독 및 혼합물의 치주질환 예방 및 치료에의 생물학적 효과를 관찰하고자 하는데 있다.

II. 실험재료 및 방법

1. 연구재료

1) 후박(*Magnoliae cortex*)의 용매분획에 의한 추출 후박(*Magnoliae cortex*) 500g을 70% 에타놀로 수욕상에서 3시간씩 2회 환류, 추출하였다. 추출되어진 에칠알콜용액을 여과하고 여액을 감압 농축하여 에칠알콜 추출액을 얻었다^{11,12)}.

2) 은행엽(*Ginkgo biloba extract*, G. B. E)의 용매분획에 따른 추출

본 실험에 사용된 은행엽(*Ginkgo biloba extract*)은 프랑스 부포-입센사에서 제조한 표준화된 은행엽엑스로 총 키크로프라본 배당체로서 24% 이상을 함유한 것을 원료로 사용한 것으로 (주)대웅제약으로부터 제공받아 사용하였다^{13,14)}.

2. 연구방법

후박 및 은행엽 추출물(GBE)의 항균, 항염 및 세포활성도에 미치는 영향을 연구하고자 후박추출물 0.4%, 0.3% 및 0.15% 농도를 단독으로 혹은 은행엽 추출물을 혼합하여 사용하였다.

항균효과 검정을 위하여 *B. cereus*의 성장억제 효과를 관찰하였고 항염 효과 검정으로는 시험관내에서 치은섬유아세포의 PGE₂ 생산억제효과 및 생체내 주입 *P. gingivalis* 381 세균독성에 의한 염증감소효과를 관찰하였고, 세포활성도 검정은 치은섬유아세포의 활성도

측정으로 관찰하였다.

1) 후박 및 은행엽 추출물(GBE)의 항균효과

Filter paper strip(Harco Med. Inc., 14 Morgan, Ca., U.S.A.)로 일정양의 후박 및 은행엽 추출물을 채취하여 사용하였다. 세균 성장억제 효과는 *Bacillus cereus* 배양 평판배지에서의 추출물 함유 strip주위의 세균성장억제대 형성크기로 결정하였다. 10ml nutrient broth(Difco Lab. Detroit, MI. U.S.A.)에 든 *Bacillus cereus* KCTC 1012(한국과학기술연구원 유전공학센터로부터 기증받음) 균주를 37°C 이산화탄소 배양기에서 배양하고 Spectrophotometer로 optical density 550nm에서 균의 혼탁도가 0.3 이 되도록 한후 1.5% agar 가 첨가된 Nutrient Agar(Difco Lab. Detroit, M.I. U.S.A.)를 멸균한 후 50°C로 식혀broth-agar 100ml당 Nutrient broth 2ml를 첨가하여 110mm-반경의 평판에 20ml씩 부어 굳힌 후, standard strip과 후박 및 은행엽추출물을 채취한 strip을 청선까지 잘라서 평판배지 위에 놓고 37°C 이산화탄소배양기에서 24시간 배양하였다. Standard strip 은 Tetracycline을 증류수로 연속 희석하여 1,000µg/ml에서부터 1µg/ml의 농도로 만들어 strip의 청선까지 용액을 흡수시켜 건조하였다. 배양 후 vernier calipers를 사용하여 장축과 단축에서 1mm 단위까지로 세균성장억제 부위의 직경을 측정하고 그 평균을 산출하였다.

2) 후박 및 은행엽 추출물(GBE)의 치은섬유아세포 활성화도 효과

치은섬유아세포 배양을 위하여 서울대학병원에 교정치료를 위하여 내원한 환자를 대상으로 제일 소구치의 치은부위를 채취하였다. 채취직전에 큐렛을 이용하여 치석 및 치태등을 제거하고 생리 식염수로 여러번 씻어 내었다. 국소마취를 실시하고 치간부위에 내사면 절제를 가한다는 정상치은조직을 채취하였다. 채취한 조직편을 100U/ml Penicillin과 100µg/ml Streptomycin 및 10% FBS가 첨가된 α-MEM을 이용하여 세포배양을 시행하였으며 3일 간격으로 배양액을 교환해 주면서 5세대 배양시켰다. 배양시 습도는 95%, 온도는 37°C를 유지

하면서 95% 공기와 5%의 CO₂를 계속 공급하였다.

계대배양한 치은섬유아세포를 0.25% Trypsin-EDTA용액으로 처리한 후 원심분리하여 배양액으로부터 세포부유액을 만들고 표준혈구 계산기로 well 당 1×10^5 개의 세포수가 되게하여 접종 후 배양하였다. 다음날 배양액을 교환하고 이틀째 되는 날 배양액을 제거한 후 HBSS로 세척하였다. 양성대조 실험제제인 혈소판 유도성장인자(PDGF-BB)는 증류수를 용매로 하고 후박추출물은 ETOH를 은행엽추출물은 DMSO를 용매로 하여 녹인다음 각 추출물과 배양액이 200 μ l가 되게 하였다. 이들은 습도는 95%, 온도는 37°C를 유지하면서 95% 공기와 5%의 CO₂를 계속 공급하면서 24시간 배양하고 배양이 끝난 후 생리식염수에 용해한 MTT (methyl thiazol-2-YL-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide, Sigma Co., St. Louis, M. O, U. S. A)용액 50 μ l를 각 well에 넣고 4시간 동안 배양한 후 MTT용액을 제거하고 formazon 결정을 용해시키기 위해 DMSO를 각 50 μ l씩 첨가하였다. Plate를 잘 흔든 후 ELISA reader (Thermo max, molecular devices, Menlo Park C. A. U. S. A)로 570nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로는 매 실험마다 실험용액이 들어있지 않은 α -MEM 배양액 well을 사용하였다. 모든 실험결과는 대조군에 대한 백분율로 계산하였다¹⁵⁾.

3) 후박 및 은행엽 추출물(GBE)의 치은섬유아세포 PGE₂ 생산차단 효과

5회 내지 7회 계대 배양된 치은섬유아세포를 24 well plate에 α -MEM 배지에서 10^5 cell/well (1/ml)로 분주한 후 rHuIL-1 β (Genzyme, Co., Cambridge, M. A., U. S. A) 1ng/ml을 첨가하여 PGE₂ 생성을 유도하였는데, 아무런 첨가제를 가하지 않은 well을 실험군으로 하여 48시간동안 무균적으로 배양하였다. 배양후 각 well의 배지를 수집하여 배지내의 PGE₂를 PGE₂ enzyme immunoassay system(Amersham, In. Buckinghamshire, U. K)을 이용하여 ELISA reader로 450nm에서 비색정량하였다.

4) 후박 및 은행엽 추출물(GBE)이 *P. gingivalis* 381 세균액의 생체내 조직 염증 감소 효과

후박 및 은행엽 추출물의 *P. gingivalis* 381 세균액의 생체내 조직염증 감소효과를 관찰하고자 Hamster(300g)의 협점막에 *P. gingivalis* 381 세균(1×10^5 /ml)액 0.1ml을 주입하여 염증을 유발시켰다. 염증유발후 4일후에 조직표본을 제작하여 현미경 관찰을 실시하였다. 음성대조군으로는 세균배양액인 Brain-Heart Infusion액 0.1ml를 사용하였고 양성대조군으로는 *P. gingivalis* 381 세균액 0.1ml만을 주입한 군을 사용하였다. 실험군으로는 ① 후박 0.4%, 0.3% 및 0.15%만을 *P. gingivalis* 381 균과 혼합한 군 ② 은행엽 0.1% 및 0.05%와 *P. gingivalis* 381 세균액 주입군 ③ 후박 0.4%, 0.3% 및 0.15%와 은행엽 추출물 0.1% 및 0.05%를 각각 혼합한 후 *P. gingivalis* 381 세균액을 주입한 군으로 나누어서 실험하였다. 실험 4주후 각군의 Hamster 협점막을 육안으로 관찰한 후 정상부위까지 포함하여 절제한 후 10% 중성 formalin에 고정하고 전처리후 paraffin 포매하여 Hematoxylin 과 Eosin 염색을 실시하고 Olympus BH2 현미경(Olympus Optical Co, Ltd, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다.

III. 연구결과

1. 후박 및 은행엽추출물(GBE)의 항균효과
후박 및 은행엽 추출물의 항균효과에 대한 연구관찰 결과 후박추출물은 tetracycline에 비하여는 약한 항균효과를 보이나 대조군에 비해서는 현저히 높은 항균효과를 보였다. 그러나 은행엽 추출물은 대조군에 비해서 약간의 항균효과를 보이나 유의성있는 차이를 보이지 않았다(표 1).

2. 후박 및 은행엽추출물(GBE)의 치은섬유아세포의 활성화 효과

후박 및 은행엽 추출물의 치은섬유아세포 활성화에 미치는 효과를 비교분석한 결과 후

표 1. 후박 및 은행엽 추출물의 항균효과(N=4)

sample	inhibition zone(mm)
control (10% ETOH)	9.3 ± 0.4
control (10% DMSO)	9.4 ± 0.2
Teracycline(5µg/ml)	24.6*± 0.2
Magnolia ext. (0.4%)	16.2*± 0.1
Magnolia ext. (0.3%)	15.2*± 0.1
Magnolia ext. (0.15%)	14.2*± 0.1
GBE (0.1%)	10.3 ± 0.1
GBE (0.05%)	10.4 ± 0.2
Magnolia ext. (0.4%)+GBE(0.1%)	15.9*± 0.3
Magnolia ext. (0.4%)+GBE(0.05%)	16.2*± 0.2
Magnolia ext. (0.3%)+GBE(0.1%)	15.0*± 0.1
Magnolia ext. (0.3%)+GBE(0.05%)	15.2*± 0.2
Magnolia ext. (0.15%)+GBE(0.1%)	13.9*± 0.1
Magnolia ext. (0.15%)+GBE(0.05%)	13.7*± 0.2

* P<0.05

표 2. 후박 및 은행엽 추출물의 치은섬유아세포 활성화도 효과(N=4)

sample	cellular activity (%)
ETOH (0.5%)	94.5 ± 9.5
DMSO (0.5%)	95.3 ± 9.7
PDGF-BB (1000ng/ml)	121.3*± 8.7
Magnolia ext.(0.4%)	93.7 ± 8.7
Magnolia ext.(0.3%)	115.3 ± 6.1
Magnolia ext.(0.15%)	101.3 ± 6.9
GBE (0.1%)	134.7*± 9.2
GBE (0.05%)	138.0*± 9.8
Magnolia ext.(0.4%)+(0.1%)	124.5*± 8.5
Magnolia ext.(0.4%)+(0.05%)	134.1*± 10.3
Magnolia ext.(0.3%)+GBE(0.1%)	145.3*± 11.7
Magnolia ext.(0.3%)+GBE(0.05%)	146.5*± 11.5
Magnolia ext.(0.15%)+GBE(0.1%)	128.9*± 9.4
Magnolia ext.(0.15%)+GBE(0.05%)	133.5*± 11.9

* P<0.05

박추출물은 0.4% 농도에서는 대조군과 동일한 정도로 치은섬유아세포 활성화에 영향을 주지 않으나 0.3% 농도에서는 치은섬유아세포의 활성도를 높이며 0.15% 농도에서는 비교적 유의성 있게 치은섬유아세포의 활성도를 높였다. 또한 은행엽 추출물은 0.1% 와 0.05%에서 각각

현저히 높은 세포활성도를 나타내고 있다. 또한 0.4% 나 0.3% 및 0.15% 의 후박추출물과 은행엽 추출물 각 농도를 혼합하여 세포활성도 정도를 측정 한 결과 은행엽 단독에서 나타나는 세포활성도와 동일한 정도의 높은 활성도를 보이고 있다(표 2).

3. 후박 및 은행엽추출물(GBE)의 치은섬유 아세포 PGE₂ 생산차단 효과

후박 및 은행엽 추출물이 IL-1 β 로 자극된 치은섬유 아세포의 PGE₂ 생산차단효과에 대한 연구에서 0.15%, 0.3% 및 0.4% Magnolia 추출물은 PGE₂ 생산차단효과가 대조군에 비하여 현저한 효과를 보이며 Indomethacin 투여 군에는 약간 못 미치는 효과를 보이고 있다. 그러나 은행엽 추출물에서의 PGE₂ 생산 차단 효과는 IL-1 β 자극군에서의 PGE₂ 생산양보다는 월등하게 적은 양으로 나타나지만 대조군과 비슷한 정도로 나타나서 은행엽 추출물이 PGE₂ 생산차단효과가 있음을 입증하고 있으며 후박 추출물에 비하여는 현저히 낮은 효과를 나타내고 있다.

이러한 PGE₂ 생산차단효과는 0.4%, 0.3%, 0.15%의 후박추출물과 0.1% 및 0.05% 은행엽 추출물을 혼합하여 실험한 군에서 후박추출물 자체의 PGE₂ 생산차단효과와 동일한 결과를 나타내고 있다(표 3).

4. 후박 및 은행엽추출물(GBE)이 *P. gingivalis* 381 세균액의 생체내 조직염증 감소효과

후박 및 은행엽 추출물이 *P. gingivalis* 381 세균액의 생체내 조직염증 유발시의 염증감소 효과를 관찰한 결과 0.15%, 0.3% 및 0.4% 후박추출물과 *P. gingivalis* 381 세균액 동시 주입군에서는 조직괴사 및 염증반응이 보이지 않음으로서 후박의 현저한 염증 차단효과를 알 수 있으며 0.1% 및 0.05%의 은행엽 추출물과 *P. gingivalis* 381 세균액 동시 주입군에서는 *P. gingivalis* 381 단독주입군 보다는 감소된 상태이나 약간의 조직괴사와 양성염증반응이 나타나고 있다. 그러나 0.15%, 0.3% 및 0.4% 후박추출물과 0.1% 및 0.05% 은행엽 추출을 혼합하여 *P. gingivalis* 381 세균액과 동시 주입시 약간의 조직괴사와 미약한 염증상태를 나타내고 있다. 따라서 후박 추출물의 현저한 염증차단 및 조직괴사 방지효과를 관찰할 수 있다(표 4).

표 3. 후박 및 은행엽 추출물의 치은섬유아세포 PGE₂ 생산 차단효과(N=4)

sample	Mean OD-NSB	% B/BO	PGE ₂ Product(pg)
control	0.2288	27.7	12
IL-1 β	0.0485	5.9	60
IL-1 β +Indomethacin	1.0695	94	2
IL-1 β +Magnolia ext.(0.4%)	0.3391	55.1	3.5
IL-1 β +Magnolia ext.(0.3%)	0.2865	41.7	6.4
IL-1 β +Magnolia ext.(0.15%)	0.2517	37.4	8.7
IL-1 β +GBE(0.1%)	0.1565	18.9	15
IL-1 β +GBE(0.05%)	0.1192	14.4	20
IL-1 β +Magnolia ext.(0.4%)+GBE(0.1%)	0.4182	50.6	4.2
IL-1 β +Magnolia ext.(0.3%)+GBE(0.05%)	0.5488	60.4	3.1
IL-1 β +Magnolia ext.(0.3%)+GBE(0.1%)	0.3835	46.4	5.8
IL-1 β +Magnolia ext.(0.3%)+GBE(0.05%)	0.3452	41.2	6.6
IL-1 β +Magnolia ext.(0.15%)+GBE(0.1%)	0.2714	31.2	7.8
IL-1 β +Magnolia ext.(0.15%)+GBE(0.05%)	0.2638	27.6	8.5

표 4. 후박 및 은행엽 추출물이 *P. gingivalis* 381 세균액의 생체내 조직염증 유발 차단효과(N=4)

sample	염증세포 침윤	조직괴사
음성대조군(배양액 주입군)	-	-
양성대조군(<i>P. gingivalis</i> 세균액 주입군)	+++	+++
Magnolia ext.(0.4%)+ <i>P.g</i> 주입군	-	-
Magnolia ext.(0.3%)+ <i>P.g</i> 주입군	-	-
Magnolia ext.(0.15%)+ <i>P.g</i> 주입군	-	-
GBE(0.1%)+ <i>P.g</i> 주입군	++	+
GBE(0.05%)+ <i>P.g</i> 주입군	++	+
Magnolia ext.(0.4%)+GBE(0.1%)+ <i>P.g</i> 381 주입군	+	+
Magnolia ext.(0.4%)+GBE(0.05%)+ <i>P.g</i> 381 주입군	+	+
Magnolia ext.(0.3%)+GBE(0.1%)+ <i>P.g</i> 381 주입군	+	+
Magnolia ext.(0.3%)+GBE(0.05%)+ <i>P.g</i> 381 주입군	+	+
Magnolia ext.(0.15%)+GBE(0.1%)+ <i>P.g</i> 381 주입군	+	+
Magnolia ext.(0.15%)+GBE(0.05%)+ <i>P.g</i> 381 주입군	+	+

IV. 총괄 및 고찰

치주질환 예방 및 치료제의 성격은 대별하여 항균제와 조직재생제로 구분할 수 있겠다. 이중 항균제로서는 치주병인세균 및 치태세균의 성장억제 및 살균효과를 나타내는 것이 있고 조직재생제로는 치주조직 중 치조골 및 치주인대 재생에 효과가 있는 제제로 구분된다. 항균제로서 개발된 상품들은 생약제제에서부터 시작하여 합성된 물질들이 주류를 이루고 있고, 치주조직 재생제는 극소수이기는 하지만 생약제제로서 상품화된 것이다. 그러나 이러한 두 종류의 치료제가 각기 다른 특이기능을 보유하고 있음으로서 치주질환 치료에 많은 어려움을 가지게 되었다¹⁶⁾. 본 연구에서 사용된 후박추출물은 항균효과에서는 다른 생약추출물보다는 월등한 항균효과를 나타내고 있으나 항생제인 tetracycline 보다는 약한 효과를 보인다. 또한 Chlorhexidine 보다는 약하나 Listerine 보다는 강한 항균효과를 나타내고 있다^{11,12)}.

한편, 은행엽 추출물은 항균효과에 대한 실험에서 약간의 항균효과만 나타내고 있으나 후박추출물과 혼합하여 실험한 결과 포함된 후박의 항균효과에는 커다란 영향을 끼치지

않았다. 이로서 이 두물질의 혼합물은 치태 항균효과의 우수성이 입증되었다(Table 1). 이러한 정도의 항균효과는 현재까지 상품화된 치약 및 구강청결액에 비하여 우수한 결과라고 보겠다¹²⁾. 또한 이 두 생약 추출물의 치은섬유 아세포 활성화에서는 후박추출물은 일반적인 농도에서 전혀 세포독성 및 세포활동억제효과가 없으며 또한 은행엽 추출물은 상당히 높은 정도의 세포활동을 촉진시키는 효과를 보였다¹³⁾. 또한 이 두 혼합물의 효과는 은행엽 단일 투여군에서의 동일한 효과를 나타냈다. 실제 후박추출물을 고농도로 투여시 세포독성이 나타나는 것은 이미 실험을 통하여 보고된 바 있다^{14,12)}. 그러나 이 추출물의 세포독성은 고농도일 경우에도 Chlorhexidine의 세포독성에 비하면 현저히 낮은 것으로서 비교적 안정된 생약제제라고 보겠다^{1,12,17)}. 따라서 두 물질의 혼합물로서의 세포활성화 기능은 실험관내 실험을 통하여 실제 생체조직 재생능력의 가능성을 보여주고 있다. 이 두물질의 항염작용과 관련되어 세포의 PGE₂ 생산차단 실험에서는 후박추출물이 아주 강력한 PGE₂ 생산차단 능력을 보이는 반면, 은행엽 추출물은 중등도의 효과를 보이고 있고 두물질 혼합군에서는 후박추출물의

PGE₂ 생산차단효과와 비슷한 수준으로 나타나므로서 서로의 상승작용은 보이지 않지만 길항작용도 보이지 않았다. 이 중 후박추출물의 PGE₂ 생산차단효과는 이 물질이 IL-1β의 생산차단효과와 collagenase 활동차단 효과를 가지므로서 IL-1β 생산차단을 통한 PGE₂ 및 collagenase 활동차단을 동시에 나타낸다고 보겠다^{18, 19, 20, 21, 22}).

또한 생체내 조직에 대해 주입된 *P. gingivalis* 381 생균에 대한 조직독성 억제효과 결과 후박추출물균은 월등한 조직괴사 및 염증 제어능력이 있으나 은행엽추출물은 염증 제어능력을 전혀 가지지 못함을 보이고 있다. 이러한 후박추출물의 조직괴사 및 염증제어 능력은 이 물질의 콜라겐나제 활동차단 효과가 우수한데 기인하며 또한 강한 항균효과 때문이라 보겠다. 지금까지의 연구결과는 후박추출물의 항균효과가 균자체에 대한 살균효과 뿐이 아니고 균에 의하여 생산되는 collagenase의 활동억제 능력이 뛰어나며 균의 내독소의 자극에 의해서 치은섬유아세포에서 생산되는 염증산물인 IL-1β 및 PGE₂ 생산차단과 관련때문이라고 보겠다²¹. 또한 은행엽 추출물의 세포활성 촉진능력은 이 물질내에 포함된 각종 flavonoid의 교원질 및 단백질 합성능력이 우수함으로서 이러한 기능이 나타나고 있다고 보겠다¹³. 현재 은행엽 추출물은 순환기 장애 예방과 기타 여러 작용이 보고되고 있으나¹⁴ 이 물질의 세포활성 특히 단백질 및 교원질 합성 촉진능력 향상에 관한 연구는 없었다. 따라서 이러한 두가지 생물학적 특성을 각기 가지고 있는 두 생약추출물의 혼합물에서 얻은 연구결과는 이 두물질을 생체내에서 사용시 고유기능이 변질되지 않고서 본연의 기능으로서 치태세균 억제 및 치주조직 재생에 대하여 효과를 나타낼 수 있다는 가능성을 확신하는 것으로 보겠다. 현재까지의 연구에서는 이러한 복합제제의 치주질환 예방 및 치료에 대한 연구가 미진하였으나 이 연구를 통하여 보다 광범위한 사용 가능성을 제시하고 있다. 향후 이 혼합물 제제의 생체내 사용 실험이 요망되며 이에 따른 상품화 가능성이 추진되어야 하겠다.

1. Gordon J.M., Lamster I.B., Seiger M.C. : Efficacy of Listerine antiseptic in inhibiting the development of plaque and gingivitis. J. Clin Periodont. 12 : 697-704, 1985.
2. Fine DH., Letizia J. and Mandel ID. : The effect of rinsing with Listerine antiseptic on the properties of developing dental plaque. J. Clin. Periodontol. 12 : 660-666, 1985.
3. Loe H., Schiott CR. : The effect of month-rinses and topical application of Chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. J. Periodont. Res. 5 : 79-83, 1970.
4. Smith RN., Andersen RN. and Kolenbrander PE. : Inhibition of intergeneric coaggregation among oral bacteria by cetylpyridium chloride, chlorhexidine digluconate and octenidine dihydrochloride. J. Periodont. Res. 26 : 422-428, 1991.
5. Dzik JL. and Socransky SS. : Comparative in vitro activity of sanguinarine against oral microbial isolates. Antimicrob. Agents Chemother. 27 : 663-665, 1985.
6. Helgeland K, Heyden G, Rolla G. : Effect of chlorhexidine on animal cells in vitro. Scand J. Dent. Res. 79 : 209-215, 1971.
7. Pucher JJ. and Daniel JC. : The effects of chlorhexidine digluconate on human fibroblasts in vitro. J. Periodontol. 62 : 526-532, 1993.
8. Bioassay of P-Chloroaniline for possible carcinogenicity, U.S. Department of Health, Education and welfare. Public Health Service. National Institutes of Health. DHEW publication No.(NIH) 79-1745, 1979.
9. Namba T., Tsunozuka M., Bae, K.H. and Hattori M. : Studies on dental caries prevention by traditional chinese medicines.

- Shoyakugaku Zasshi. 35 : 295-302, 1981.
10. Bae, K.H., and Oh, H.R. : Synergistic effect of lysozyme on bacterial activity of magnolol and honokiol against a cariogenic bacterium, *Streptococcus mutans* OMZ 176. Arch. Pharm. Res. 13 : 117-119, 1990.
 11. Chang, B.S., Son, S.H., Chung, C.P. and Bae, K.H. : The effects of honokiol and magnolol on the antimicrobial, bacterial collagenase activity, cytotoxicity and cytokine production. J. Korean Acad. Periodont. 23 : 145-158, 1993.
 12. 이승렬, 정종평, 최상묵, 배기환 : 천연물 추출물의 치주병인균에 대한 항균효과 및 세포독성에 관한 연구. 대한치주과학회지 22 : 515-526, 1992.
 13. 정종평, 구영, 배기환 : 은행엽 추출물이 치은섬유아세포에 미치는 생물학적 영향. 대한치주과학회지 25 : 3.(발간예정), 1995.
 14. 강삼식, 김주선, 박의중, 김기협 : 은행잎의 flavonoid 성분에 관한 연구. 생물학회지, 21 : 111-120, 1990.
 15. Mosmann T. : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : Application to proliferation and cytotoxicity assays. J. Immun. Methods. 65 : 55-63, 1983.
 16. March, P.D. : Dentifrices containing new agents for the control of plaque and gingivitis : microbiological aspects. J. Clin. Periodontol 18 : 462-467, 1991.
 17. Goldschmidt P, Cogen R, Taubman S. : Cytopathologic effects of chlorhexidine on human cells. J. Periodontol. 48 : 212-215, 1977.
 18. Robert C, Newton G, Convington M. : The activation of human fibroblast prostaglandin E Production by interleukin 1. Cellular Immunology 110 : 338, 1987.
 19. Richards D, Rutherford RB. : The effects of interleukin-1 on collagenolytic activity and prostaglandin-E secretion by human periodontal ligament and gingival fibroblast. Archs Oral Bio. 33 : 237, 1988.
 20. Dayer J.M, Beutler B and Cerami A. : Cachectin/tumor necrosis factor stimulates collagenase and prostaglandin E2 production by human synovial cells and dermal fibroblasts. J Exp. Med. 162 : 2163-2168, 1985.
 21. Osawa K, Matsumoto T, Yasuda H, Kato T, Naito Y, Okuda K. : The inhibitory effect of plant extracts on the collagenolytic activity and cytotoxicity of human gingival fibroblasts by *Porphyromonas gingivalis* crude enzyme. The bulletin of Tokyo Dental College 32 : 1-7, 1991.
 22. 양창호, 이용무, 조기영, 배기환, 정종평 : 대조추출물이 치은섬유아세포의 생물학적 활성화에 미치는 영향. 대한치주과학회지 24 : 144-154, 1994.

BIOLOGICAL EFFECT OF MAGNOLIA AND GINKGO BILOBA EXTRACT TO THE ANTIMICROBIAL, ANTIINFLAMMATORY AND CELLULAR ACTIVITY

Chong-Pyoung Chung¹, Young Ku¹ and Ki-Hwan Bae²

¹*Department of Periodontology, College of Dentistry, Seoul National University*

²*College of Pharmacy, Chung-Nam National University*

Periodontal therapy for treatment of periodontitis involves the elimination of bacterial plaque and elimination of the anatomic defects by regenerative procedure.

The purpose of this study was to evaluate on the biological effect of magnolia and *Ginkgo biloba* extract to the antimicrobial, antiinflammatory and cellular activity. Antimicrobial assay was performed with the diffusion method of the extract by measuring of growth inhibitory zone of *B. cereus* from blood agar plate. Effect of the extract to cellular activity of gingival fibroblast were examined using MTT method and measured the result with optical density on 570nm by ELISA reader. Inhibitory effects of PGE₂ production from gingival fibroblast was performed with the addition of IL-1 β and the extract to the well and examined to the product of PGE₂ from cell by ELISA reader. *In vivo* anti-inflammatory effect was performed with injection examined with clinically and histologically for their extent of necrosis and inflammation. Antimicrobial activity of Magnolia extract showed significantly higher activity than that of control. However, GBE did not showed significant activity to compare with control, and mixture of Magnolia and GBE extract showed significantly higher activity than that of control. The effect of cellular activity to gingival fibroblast showed no significant differences of between control and Magnolia extract. However, GBE showed significantly higher rate of cellular activity to compare with control and even to PDGF-BB, and also showed same degree of cellular activity even though mixed with Magnolia extract. The inhibitory effect of PGE₂ production showed significantly reduction of PGE₂ production to compare with control, but its inhibitory effect was not much strong to compare with Indomethacin. *In vivo*, antiinflammatory effect of Magnolia extract to *P. gingivalis* injection of Hamster buccal check showed significantly reduction of inflammatory cell infiltration and tissue necrosis, but GBE showed no effect on the inhibition of inflammatory process.

These results suggested that Magnolia and GBE extract possessed different kind of biological activity and also can be compensated on their activity with each other for elimination of bacterial plaque and anatomical defect.