

후박 및 은행엽 추출물을 함유한 치약의 임상 및 미생물학적 효과에 관한 연구

김태일¹ · 염혜리¹ · 류인철¹ · 배기환² · 정종평¹

1. 서울대학교 치과대학 치주과학교실
2. 충남대학교 약학대학

I. 서 론

치주질환은 성인에서 가장 빈발하는 감염성 구강질환으로 주요 병인균들은 대부분 치은연하 치태내에 존재하여 치은염의 상태에 있다가 치태가 제거되지 않은 상태로 염증이 지속되거나 숙주의 항균반응이 미약해지면 치주염으로 진행된다. 이와 같이 치은염이 계속 진행되면서 세균학적 구성에 있어 치은연하 치주낭내(*Streptococcus*)의 비율이 감소하고 혐기성 세균의 증가와 함께, Capnophilic bacteria, Black pigmented *bacteroides*^{1, 2)} 등의 비율이 증가하는 세균요인의 변화와 치은 열구액의 증가, 출혈, 산화환원 전위의 감소 등의 환경요소의 변화는 치주염의 상태로 진전되는 결과를 가져온다³⁾.

이러한 치은염과 치주염의 원인이 되는 치태의 조절방법으로 가장 일반적인 것은 칫솔질 등의 구강위생 유지방법⁴⁾이며 칫솔질의 기계적인 효과와 더불어 항균 및 항염효과를 얻고자 여러 가지 물질들이 첨가되어 왔다¹¹⁾. 이러한 항균 및 항염물질들에는 금속염, 양전하 유기물질, Phenolic compound, 효소, 과산화물, 당대체물, 계면활성제, 천연물추출물 등이 있다^{5~8)}. 이러한 물질들은 high intrinsic efficacy,

구강내 미생물에 대한 substantivity, 화학적 안정성, 치약내 타성분과의 compatibility 와 아울러 부작용이 없어야 치태관리를 위해 효과적으로 사용되어질 수 있다⁴⁾.

Ag⁺, Cu²⁺, Sn²⁺, Zn²⁺ 등의 금속염은 구강내 세균의 효소를 억제하여 항치태 효과를 지니고 있다고 보고되었으나 치아 및 주위조직의 변색과 불유쾌한 맛이라는 문제점을 안고 있다⁹⁾.

양전하 유기물질에는 Chlorhexidine, Alexidine, Octenidine 등의 Bisbiguanides, 그리고 Sanguinarine 등의 plant alkaloids 및 Cetylpyridinium chloride, Benzalkonium chloride 등의 Quaternary ammonium salt 가 있는데 대부분 구강내 세균에 우수한 항균효과를 지니고 있다¹⁰⁾. 그러나 Cetylpyridinium chloride는 구강내에서 오랫동안 농도를 유지할 수 없는 단점이, Sanguinarine 은 구강내 혈액에서 유래된 철성분 물질과 너무 강하게 결합하여 약효가 쉽게 떨어지는 단점이 있으며¹⁰⁾, Chlorhexidine 은 치약에 포함된 계면활성제에 의해 비활성화 되며, 그 결과 감소된 항치태 작용을 보이게 된다⁵⁾. 아울러 이들 제제들은 치약내 성분 중 연마제나 기포제 등과의 반응 때문에 함께 사용하기가 힘들며^{13, 14)}, 치약 속

의 Sodium lauryl sulfate 성분이 길항작용을 하여 항균효과를 떨어뜨린다는 보고도 있다¹⁵⁾.

Phenolic compound는 광범위한 항균제제로¹⁶⁾ 17) Triclosan 은 치약내 성분으로 함유시 유효농도의 유지와 임상적 효과를 유지한다고 보고되고 있으며⁸⁾ 18), copolymers 를 첨가한 경우 타액내 세균의 수가 유의성 있게 감소하였고⁴⁾, Zinc citrate 와 혼합시 임상적 효과가 증대되었다고 보고되고 있다⁵⁾ 20~24). 이들은 공통적으로 화학적으로 안정하며 부작용이 적다는 장점이 있으나¹⁹⁾ 적절한 용매의 선택이 필요한 경우가 많다¹⁴⁾.

Mutanase, Amyloglycosidase, Glucoseoxidase 등의 효소들이 항치태 효과를 얻기 위해 치약에 첨가되기도 하나⁷⁾ 25) 이들은 치약내의 이온성 계면활성제에 의해 효소작용이 변성되는 단점이 있다²⁷⁾.

과산화물은 oxygen radical 을 방출하여 구강내 세균에 대해 살균효과가 있으나²⁸⁾, 자체의 화학적 성질이 매우 불안정하므로 구강내에서의 효과가 의문시된다.

Xylitol 과 Mannitol 과 같은 당대체물은 Streptococcus 의 대사에 작용하여 치태의 pH 감소를 억제하는 효과를 가지고 있으나³⁾ 낮은 항치태효과와 높은 수용성 등의 문제로 유효농도를 유지하기가 힘든 단점이 있어 주로 chewing gum에 많이 사용되고 있다.

치약내에 포함되는 계면활성제는 실험실내의 검사상으로는 우수한 항균작용이 보고되었으나²⁹⁾ 유효농도유지가 어려워 항치태 작용은 단시간밖에 기대하기 힘들어 보조적인 역할만을 담당하고 있다.

이와 같이 많은 약품들은 장기간동안의 유효농도유지의 어려움과 치약구성요소와의 충돌 및 부작용 등으로 만족스러운 임상적 결과를 얻기 힘든 단점이 있다.

천연물질로서 이미 항치태효과가 검증되어진 Thymol 등의 정유는 유효농도유지효과가 낮기에 주로 구강양치용액으로 이용되고 있으

며 식물추출물인 Sanguinaria 는 일정종류의 그람 음성 및 양성세균의 성장을 in vitro 상에서 억제시킬 수 있다고 보고되었다⁹⁾. 또한, herbal extract 를 함유한 치약이 기존 치약에 상응하는 효과를 보임이 밝혀지는 등²⁶⁾ 최근 수년간 천연물에서 추출된 항균성 물질의 관심도가 높아지면서 이들 물질을 이용한 치주질환 예방 및 치료제의 개발의 필요성이 강조되어 오고 있는바 Theae folium, Myrrha, Moriradicis cortex, Cimicifugae rhizoma 등의 천연물추출물을 치약에 첨가하여 항균, 항염 작용을 효과적으로 얻을 수 있음이 보고되었다³⁰⁾.

한방약제로 쓰이는 후박(Magnoliae cortex)에서 추출한 물질인 magnolol 및 honokiol은 항치아우식증 효과^{31, 32)} 및 치태세균의 항균효과는 물론 치주질환 병인균에 대해 효과적인 항균효과를 나타내고 있으며, 치은 섬유아세포에서 교원질 분해효소의 생산을 억제하는 효과를 보이고 있음이 연구되었다^{33, 34)}.

순환기 장애예방을 위해 사용되고 있는 은행엽추출물은 ginkgoflavonglycoside, ginkgolide, 유기산 등의 성분을 함유하여 collagenase 억제 효과를 가지며 치은 섬유아세포의 교원질 합성과 총 단백질 합성에서 좋은 결과를 보이고 있음이 보고되었다^{35, 36)}.

본 연구의 목적은 후박추출물 및 은행엽추출물이 첨가된 치약과 이들이 첨가되지 않은 대조군치약을 3주에 걸쳐 교차 사용하게 한 후 이들 천연물질이 첨가된 치약의 사용이 치은염증의 임상적 지수와 치은연하치태의 세균을 효과적으로 감소시켜주는지 여부를 알아 보기 위해 시행하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구대상

치주낭 깊이가 4mm 이하의 중등도 치은염을 가진 23~30세 사이의 환자 70명을 대상으

로 6개의 Ramfjord 치아(#3, 9, 12, 19, 25, 28)의 임상 및 미생물학적 연구를 시행하였다. 이때 급성감염자, 치주낭 깊이 5mm 이상의 중등도의 치주염에 이환된 자, 실험 대상치아가 우식중에 이환된 자, 교정치료중인 자, 최근 1개월 이내에 항생제나 항균제를 사용한 기록이 있는 자 및 치주치료를 받은 병력이 있는 자는 실험대상에서 제외하였다.

2. 재료

실험군용 치약과 대조군용 치약에는 공통적으로 인산 일수소 칼슘 40.0(w/w)%, SMFP 0.76(w/w)% 및 기포제, 습윤제, 결합제가 적당한 비율로 구성된 base를 사용하였으며, 실험군용 치약에는 후박 75% 에탄올 연조엑스(5:1) 0.15(w/w)%, 은행엽 엑스 0.05(w/w)%가 첨가되었다.

3. 연구방법

실험 2주전 실험 대상자들에게 치석제거 및 치근면 활택술을 실시하였으며 대상자 70명을 35명씩 실험군과 대조군의 두 군으로 나눈 뒤 baseline 에서의 임상 및 세균검사를 실시하였다. 그 후 실험군은 생약제제가 첨가된 치약을, 대조군은 생약제제가 첨가되지 않은 치약을 사용하여 Oral-B 치솔(Oral-B P-35, Oral B laboratories, Bucks, England)로 하루 3회 식후

한 번씩 Bass method³⁹⁾를 이용하여 3주간 사용하게 하였다. 3주 후 분배한 치약을 회수하여 다시 임상 및 세균검사를 실시하였다. 1차 실험기간이 지난 후 2주간의 공백기를 거쳐 2차 실험에서는 각 군의 사용치약을 바꾼 후 3주간 동일한 방법으로 사용하게 한 후 동일한 검사를 시행하였다.(그림 1)

4. 임상검사

실험 전 각 환자의 대상 치아에서 치태지수, 치은지수, 치주낭깊이, 치은열구액량을 측정하였다. 치태의 침착정도는 치태지수(Modified Quigley and Hein Plaque Index⁴⁰⁾)를 이용하여 실험대상 치아의 근심협면, 협면, 원심협면과 설면에서 측정하였다. 치은의 염증정도는 치은지수(Modified Löe and Silness Gingival Index⁴¹⁾)를 이용하여 실험치아의 근심협면, 협면, 원심협면, 설면에서 측정하였다. 치주낭 깊이의 측정은 Florida probe(Florida Probe Co. Florida, U.S.A.)를 이용하여 0.2mm 단위로 기록을 하였다. 치은열구액의 측정은 Periopaper strip(Pro Flow Inc, Amityville, New York, USA)를 실험대상 치아에서 가장 치주낭 깊이가 깊은 곳에 30초간 삽입 후 Periotron 6000(Pro Flow Inc, Amityville, New York, USA)을 이용하여 측정하였다.

그림 1. 실험계획표

군	week									
	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8
1군	구강위생술식		실험치약 사용			구강위생술식		대조치약 사용		
2군			대조치약 사용					실험치약 사용		

임상검사 및
세균검사

↑

↑

↑

↑

5. 세균검사

A. 위상차 현미경 검사를 이용한 세균형태 동정

Gracey curette 로 실험대상 치아중 치주낭 깊이가 가장 깊은 곳에서 치은 연하 치태를 채취한 후 0.2ml의 생리 식염수가 들어있는 용기에 넣고 vortex로 10초간 혼합하였다. 23 gauge 의 주사기로 흡입하여 slide에 한 방울 떨어뜨린 후, Olympus BH-2 현미경(Olympus Optical Co, Ltd, Tokyo, Japan)을 사용하여 400배의 배율로 cocci, nonmotile rod, motile rod, spirochetes 의 수를 관찰하여 분포를 백분율로 환산하였다.

B. 치은연하 치태 세균의 비선택적 배양에 의한 세균 동정

환자당 가장 깊은 치주낭에서 치은연상 치태를 조심스럽게 제거하고 방습한 후, #35 paper point(Diamond Dental Co. Ltd. Chon Ju, Korea) 3개를 저항감이 느껴질 때까지 치은연하로 삽입하고 30초 후 빼내어서 2ml의 VMGA III 용액이 들어있는 시험관에 넣고 vortex로 균일하게 혼합하였다. 그 후 80% N₂, 10% CO₂, 10% H₂가 들어있는 혐기성 배양기(Forma Scientific Inc. Ohio, USA)안에서 10배 단계로 희석하여 세균의 종류에 따라 다음과 같은 방법을 시행하였다.

① 혐기성 세균 및 Black pigmented Bacteroides 동정

100 μ l의 희석용액을 5% 가토혈액, Hemin, Vitamin K 가 함유된 Blood agar plate에 접종하여 혐기성 세균배양기(Anaerobic system 1024TM, Forma Scientific Inc. Ohio, USA)에서 37 $^{\circ}$ C 상태로 7일간 배양 후 혐기성 세균 및 Black pigmented bacteroides 수를 균집락 계수

기(AO scientific Inst. Buffalo, N.Y. USA)로 관찰하였다.

② 호기성 세균 동정

100 μ l의 희석용액을 5% sheep blood가 함유된 Blood agar plate에 접종하여 10% CO₂ incubator(VWR 1810TM, Sheldon Manufacturing Inc. Oregon, USA)에서 37 $^{\circ}$ C 상태로 3일간 배양 후 호기성 세균의 수를 균집락 계수기(AO scientific Inst. Buffalo, N.Y. USA)로 관찰하였다.

C. 간접 면역형광법에 의한 세균 동정

P.gingivalis (strain W50), *P.intermedia* (ATCC 25611), *A.actionomycetemcomitans* (strain Y4), *C.rectus* (ATCC 33238), *A.viscosus* (ATCC 15987), *S.sanguis*를 각각 가토에 면역감작시켜 특이항체를 생산하였다.

각각의 특이항체는 타균간의 항원, 항체 교차반응 검사를 실시하여 교차반응이 없음을 확인한 후 냉동 보관하였다. 환자당 가장 깊은 치주낭에서 치은연상 치태를 조심스럽게 제거하고 방습한 후, #35 paper point(Diamond Dental Co. Ltd. Chon Ju, Korea) 1개를 저항감이 느껴질 때까지 치은연하로 삽입하고 30초후 PBS 용액이 들어있는 시험관에 넣고 vortex로 균일하게 혼합하였다. 그 후 20 μ l 씩 슬라이드 상에 도말하여 공기 중에서 건조 후 20 μ l의 희석혈청액을 도말표본위에 떨어뜨리고 30분간 37 $^{\circ}$ C에서 배양하였다.

그 후 슬라이드를 PBS에서 15분간 세척하고, PBS-BSA로 희석시킨 FITC-conjugated anti-rabbit IgG(Cappel lab. Philadelphia, USA)와 함께 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 배양시킨 다음 PBS에서 1시간 동안 세척하였다. 간접면역형광법 관찰은 Olympus BH-2현미경(Olympus Optical Co, Ltd, Tokyo, Japan)을 이용하였고 HBO

200 mercury light source 와 적절한 excitation filters(BG 38,GB23, TK 495 dichroic mirror,KP 490 filters) 에서 나오는 incident light 를 사용하여 형광의 강도를 측정하였다. 세포 외형이 정확히 나타나고, 중등도 내지 현란한 형광을 나타낼 경우 양성반응으로 간주하여 그 수를 관찰하였다.

6. 통계분석

실험결과의 분석은 SPSS for Windows™ (SPSS Inc. Chicago, USA) 6.01 version 을 사용하였는 바, 검사시점에서의 각 실험군간의 차이검증은 t-test(치주낭 깊이, 치은열구액량, 세균동정 관측치)와, Mann-Whitney U test(치태지수, 치은지수) 방법을 이용하고, 각 실험군내에서 검사시점별 차이검증은 paired t-test(치주낭 깊이, 치은열구액량, 세균동정 관측치)와 Wilcoxon matched pairs signed rank sum test(치태지수, 치은지수)로 통계 처리하여 결과를 분석하였다. 통계분석시 신뢰도는 95%로 검증하였다.

III. 결과

1. 임상검사 결과

Baseline에서의 치태지수는 대조치약군이 1.40, 실험치약군이 1.39의 평균값을 나타냈고, Mann-Whitney U test결과 대조치약군의 평균 순위합과 실험치약군의 평균 순위합이 각각 67.85와 69.15를 나타내었으며 $p>0.05$ 로 두 군 사이의 유의할만한 차이는 없는 것으로 나타났다. 그러나, 각각의 치약을 3주간 사용한 후 치태지수의 통계치는 대조치약군이 0.41, 실험치약군은 0.29의 평균값으로 감소하였으며, 대조치약군의 평균 순위합이 76.94, 실험치약군의 평균 순위합은 60.06으로 $p<0.05$ 로 두 군 사이의 유의한 차이가 인정되었다.(표 1)

치은지수의 통계분석결과는 표 2에 나타난 바, Baseline에서 대조치약군, 실험치약군이 각각 평균 1.24, 1.20의 수치를 보였으며, 대조치약군 및 실험치약군에서의 평균 순위합은 각각 71.46, 65.54로 $p>0.05$ 를 보여 두 군간에 차이는 없었다.

표 1. 실험 및 대조치약군간의 치태지수 비교

Plaque Index	Baseline		3 weeks	
	mean±SD	Mean Rank	mean±SD	Mean Rank
Control	1.40±0.279	67.85	0.41±0.286	76.94
Test	1.39±0.315	69.15	0.29±0.185	60.06
P value		0.8462		0.0122

표 2. 실험 및 대조치약군간의 치은지수 비교

Gingival Index	Baseline		3 weeks	
	mean±SD	Mean Rank	mean±SD	Mean Rank
Control	1.24±0.231	71.46	0.47±0.280	85.55
Test	1.20±0.257	65.54	0.23±0.156	51.45
P value		0.3790		0.0000

3주간의 치약 사용후 대조치약군 및 실험치약군의 평균값은 각각 0.47, 0.23으로 감소하였고, 두 군의 치태지수 평균 순위합은 대조치약군이 85.55, 실험치약군이 51.45로 $p < 0.05$ 를 나타내어 두 군사이의 통계학적 유의성을 나타내었다.

치주낭 깊이측정치로 t-test를 시행한 결과 Baseline에서 대조치약군과 실험치약군은 평균 3.19, 3.15mm 로 $p > 0.05$ 를 나타내어 두 군간의 통계학적 유의성은 없는 것으로 나타났고, 3주간의 치약 사용후 대조치약군과 실험치약군의 평균 치주낭 깊이는 각각 2.51, 2.38mm였고 $p > 0.05$ 로 역시 두 군간의 유의성 있는 차이는 없는 것으로 밝혀졌다(표3).

표 3. 실험 및 대조치약군간의 치주낭 깊이 비교

Probing Depth (mm)	Baseline mean ± SD	3 weeks mean ± SD
Control	3.19 ± 0.396	2.51 ± 0.666
Test	3.15 ± 0.514	2.38 ± 0.649
P value	0.602	0.264

표 4. 실험 및 대조치약군간의 치은열구액량 비교

GCF rate	Baseline mean ± SD	3 weeks mean ± SD
Control	81.70 ± 22.282	72.92 ± 19.199
Test	78.74 ± 24.728	62.92 ± 18.712
P value	0.465	0.003

표 4는 치은열구액량의 두 군간 차이를 본 것으로 Baseline에서 대조치약군과 실험치약군은 각각 평균 81.70, 78.74의 수치를 보이고 $p > 0.05$ 보다 커서 두 군간의 유의성 있는 차이는 없는 것으로 나타났으나, 3주간의 치약 사용후 대조치약군과 실험치약군은 각각 72.92, 62.92을 나타내고 $p < 0.05$ 로 두 군간의 통계학적

인 차이가 인정되었다.

2. 세균검사 결과

A. 위상차 현미경 검사를 이용한 세균형태 동정결과

위상차 현미경을 이용하여 두 군간의 세균 형태를 확인하고 수를 계측하여 mean%로 T-test를 실시하여 그래프로 나타내어본 결과, Baseline에서 cocci는 대조치약군이 61.4%, 실험치약군이 60.5%로 $p > 0.05$ 를 보여 두 군간의 유의성 있는 차이는 없는 것으로 인정되었고, 3주간의 치약 사용후 cocci의 대조치약군과 실험치약군에서의 mean %는 각각 60.6%, 63.1%, $p > 0.05$ 로 두 군간 유의성 있는 차이는 없는 것으로 판단되었다.(그림 2)

non-motile rods는 그림 3에 나타난대로, Baseline에서 대조치약군은 20.1%, 실험치약군은 21.5%로 $p > 0.05$ 를 보여 두 군간의 차이는 없었으며, 3주후 두 군은 각각 26.0%, 26.6%, $p > 0.05$ 로 두 군간의 차이는 역시 없는 것으로 나타났다.

그림 4는 motile rods의 두 군간 실험시점별 mean %를 나타내고 있으며, Baseline에서 대조치약군은 10.1%, 실험치약군은 9.8%이고 $p > 0.05$ 로 초기상태에서 두 군간의 차이는 없었으나, 3주 후 실험치약군은 8.2% 감소하는데 지나지 않은 반면, 실험치약군은 5.1%로 큰 폭의 감소가 일어나 $p < 0.05$ 의 수치를 T-test상으로 나타내며 통계학적인 유의성을 나타내었다.

spirochetes의 두 군간 시간별 mean%는 그림 5에 나타나 있는데, Baseline에서 대조치약군은 8.3%, 실험치약군은 8.2%이고 $p > 0.05$ 로 두 군간 차이를 보이지 않았으나, 3주후 대조치약군은 5.2%, 실험치약군은 3.4%로 $p < 0.05$ 를 보이며 통계학적으로 유의성 있는 차이가 있음이 입증되었다.

그림 2~5. 위상차 현미경 검사를 이용한 치은연하 치태세균 형태동정 결과

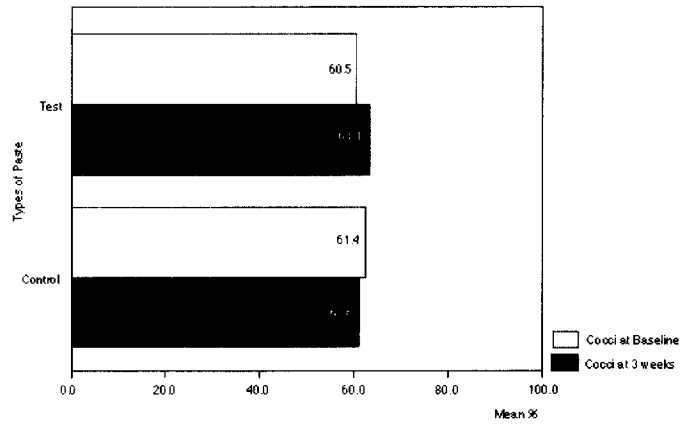


그림 2. 실험 및 대조치약군 간의 Cocci 의 비교

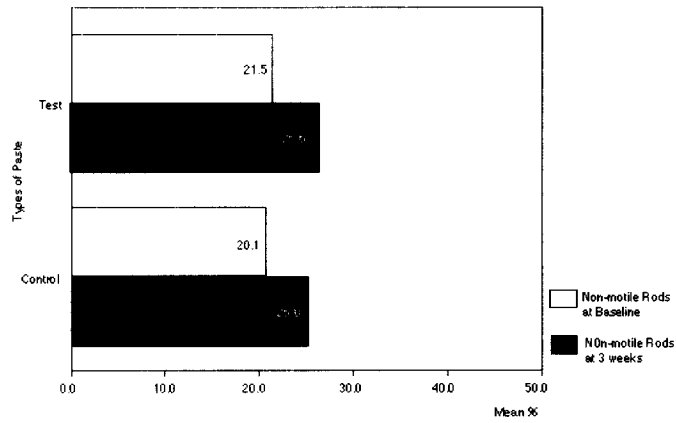


그림 3. 실험 및 대조치약군 간의 Non-motile rods 의 비교

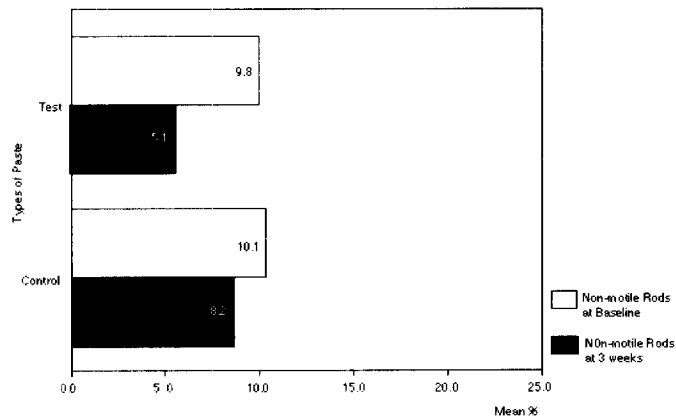


그림 4. 실험 및 대조치약군 간의 Motile rods 의 비교

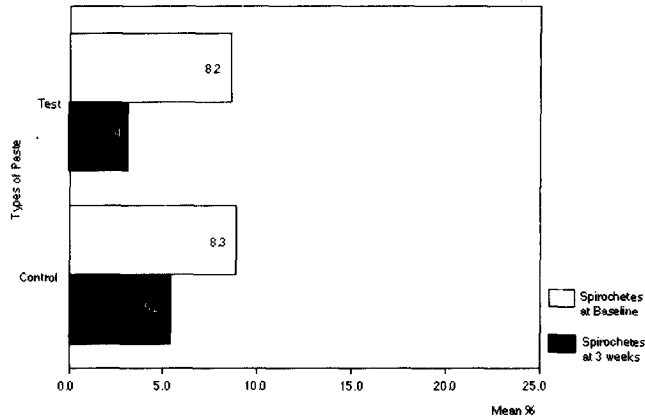


그림 5. 실험 및 대조치약군 간의 Spirochetes 의 비교

B. 치은연하 치태 세균의 비선택적 배지 배양에 의한 세균 동정결과

비선택적 배양에 의한 치은연하 치태세균의 mean CFU per sample은 표 5에 나타난대로 호기성균은 Baseline 에서 대조치약군과 실험치약군의 수치가 각각 43.48, 43.86로 $p > 0.05$ 의 수치를 보여 두 군간 초기상태에서의 차이는 없었고, 3주간 치약사용후 각 군은 34.31과 34.71을 보여 역시 $p > 0.05$ 로 두 군간의 유의성 있는 차이는 없었다.

혐기성균은 Baseline에서 대조치약군과 실험치약군이 각각 42.93, 44.82였고 $p > 0.05$ 로 두 군간의 차이는 없었으나, 3주후 각각의 CFU는 대조치약군에서 37.93, 실험치약군에서 28.99으로($p < 0.05$) 두 군간의 통계학적인 유의성이 존재함이 입증되었다.

한편, BPB는 Baseline에서 대조치약군과 실험치약군이 각각 1.324, 1.308로 두 군간의 통계학적인 차이는 존재하지 않았고($p > 0.05$), 3주간의 치약사용기간을 거쳐 세균동정을 한 결과 대조치약군과 실험치약군에서 각각 0.941, 0.441($p < 0.05$)로 통계학적 유의성 있는 차이를 나타내었다.

C. 간접 면역형광법에 의한 세균 동정결과

간접 면역형광법에 의한 치은연하 치태세균 동정결과는 표 6에 나타난 바대로, 각각의 mean CFU per sample을 계측하였다.

*A.actionomycetemcomitans*는 Baseline에서 대조치약군과 실험치약군이 각각 2.59, 2.11 ($p > 0.05$)로 군간의 통계학적 차이가 없었으며, 3주간의 치약 사용기간 후 대조치약군은 2.27,

표 5. 비선택 배지 배양을 통한 치은연하 치태세균 배양결과 비교

Micro organism (mean CFU per sample)	Baseline		3 weeks	
	control	test	control	test
Aerobes	43.48 ± 27.95	43.86 ± 27.45	34.31 ± 27.12	34.71 ± 21.63
Anaerobes	42.93 ± 24.28	44.82 ± 38.05	37.93 ± 27.11	28.99 ± 19.74*
BPB	1.324 ± 1.670	1.308 ± 1.557	0.941 ± 1.535	0.441 ± 1.013*

* Statistical significance exists between test and control toothpaste ($p < 0.05$)

실험치약군은 1.37,(p>0.05)로 유의성 있는 차이를 보이지 않았다.

*A.viscosus*는 Baseline에서 대조치약군은 2.44, 실험치약군은 2.05로 유의성 있는 차이가 발견되지 않았고(p>0.05), 3주후 각각 1.69,1.55로 각 군간 통계학적인 차이를 보이지 않았다.(p>0.05)

*C.rectus*는 Baseline에서 대조치약군,실험치약군 각각 평균 2.04,1.94의 수치를 보여 군간 유의성은 차이를 보이지 않았고(p>0.05), 3주후 대조치약군은 1.78, 실험치약군은 1.72를 나타내어 p>0.05로 통계학적인 차이를 보이지 않았다.

*P.gingivalis*는 대조치약군과 실험치약군이 Baseline에서 각각 2.6,2.4를 보여 p>0.05로 두 군간의 유의성 있는 차이가 없었으나, 3주후 각각 1.91,0.90을 보여 p<0.05로 두 군간의 현저한 차이를 나타내었다.

*P.intermedia*는 Baseline에서 대조치약군이 3.98, 실험치약군이 2.04로 두 군간의 별 차이가 없었으나(p>0.05), 3주후 대조치약군은 2.27, 실험치약군은 1.19로(p<0.05)로 군간 통계학적으로 유의성있는 차이를 나타내었다.

*S.sanguis*는 대조치약군과 실험치약군이 Baseline에서 각각 2.05와 2.27을 보여 두 군간

의 차이는 없었고(p>0.05), 3주간의 치약사용 후 시행한 세균동정시 대조치약군에서는 1.68, 실험치약군에서는 1.16 CFU per sample을 보여 두 군간에 통계학적으로 유의성 있는 차이는 없었다.(p>0.05)

IV. 총괄 및 고찰

본 실험은 항균,항염 작용을 지닌 것으로 알려진 후박 및 은행엽 추출물을 함유한 치약의 사용이 치은염증의 감소에 미치는 영향을 알아보기 위해 임상지수와 세균배양검사로 나누어 실시되었다.

zinc citrate를 함유한 치약^{42, 43, 44)}이나, Triclosan 을 함유한 치약^{45, 46)}이 함유량에 따라 별다른 반응의 차이를 나타내지 않는 것에서 알 수 있듯이, 한가지 성분만을 함유한 치약은 항균 및 항염효과에서 별 효능을 지니지 못하는 경우가 많아 최근에는 여러 성분을 혼합하여 치약에 함유하여 부가적인 효과나 상승효과를 얻고자 하는 시도가 행해지고 있다.⁴⁷⁾

한방제제 천연물인 후박(Magnoliae cortex)에서 추출 정제된 magnolol과 honokiol은 *streptococcus mutans*에 대한 강한 항균효과를

표 6. 간접 면역형광현미경법을 이용한 치은연하 치태세균 동정결과

Micro organism (mean CFU per sample)	Baseline		3 weeks	
	control	test	control	test
A.aactinomycetemcomitans.	2.588±2.388	2.112±2.701	2.274±2.941	1.374±1.782
A.viscosus	2.435±3.421	2.047±2.144	1.688±1.777	1.553±1.943
C.rectus	2.044±1.963	1.938±1.650	1.779±1.542	1.721±1.624
P.gingivalis	2.606±3.845	2.412±2.387	1.912±2.033	0.897±1.143*
P.internedia	3.982±8.899	2.044±2.324	2.273±2.225	1.188±1.206*
S.sanguis	2.047±3.088	2.271±2.206	1.682±2.112	1.165±1.737

* Statistical significance exists between test and control toothpaste (p<0.05)

가지고 있다는 보고된 바 있으며^{31, 32)}, *P.gingivalis*에 대한 in vitro 실험에서 상당한 항균효과가 있다고 입증되었다.³⁵⁾ 이들 honokiol과 magnolol은 또한 rapid colorimetric assay³⁷⁾를 이용한 세포 활성정도 측정에서 chlorhexidine 및 sanguinarine보다 높은 세포활성을 보였다는 보고도 있다³⁶⁾. 이들의 항균효과는 chlorhexidine보다는 약하지만 Listerine보다는 강한 것으로 알려져 있다³³⁾.

혈류순환개선제 및 모세혈관 강화제로서의 작용을 가지는 은행엽 추출물은 자체로서는 약간의 항균효과만 나타내고 있으나, 후박추출물과 혼합시 후박의 높은 항균효과를 그대로 유지하면서, 은행엽 추출물 단독에서 나타나는 세포활성도와 동일한 정도의 높은 활성도를 보인다고 보고되었다³⁵⁾. 따라서, 이러한 항균·항염작용을 지니는 후박과 은행엽 추출물이 치주염의 원인이 되는 치태세균에 대해 항균 및 항염작용을 지니는지를 알아보기 위한 과정의 일환에서 치약의 성분으로 포함시켜보았다.

치은염증에 대한 임상지수변화는 실험군 및 대조군 치약모두에서 치태지수, 치은지수, 치은열구액량, 치주낭깊이에서 모두 Baseline때보다는 3주후가 더 통계학적으로 유의성있는 차이를 보였으며, 이는 기본적으로 치솔의 기계적인 치태제거의 효과에 기인한다고 보여진다.

3주간의 치약사용 기간후 군별 임상지수의 변화는 치주낭 깊이를 제외한 치태지수, 치은지수, 치은열구액량에서 모두 실험치약군이 대조치약군보다 더 큰 감소를 보여 유의성 있는 차이를 보였다.

이것은 치은열구출혈이 치은염의 전구증상이 되며²⁸⁾, 치은열구액이 염증시 증가한다는³⁸⁾ 사실에 비추어 볼 때, 초기 치은염의 감소에 있어 실험치약의 3주간 사용이 대조치약에 비해 더 큰 효과를 가진다고 할 수 있겠다.

위상차현미경에 의한 세균동정의 결과 cocci

와 non-motile rods의 경우 두 치약군 모두 Baseline때보다는 3주간의 사용후 mean%가 대체적으로 증가한 것으로 보이며, 이때 두 군간의 유의성 있는 차이는 발견되지 않았다. 한편, motile rods와 spirochetes의 경우 두 치약군 모두 Baseline때보다는 3주 사용후가 전반적인 mean %의 감소가 일어났으나 특히, 실험치약의 경우 큰 폭의 감소가 일어나 실험치약이 motile rods 및 spirochetes에 훨씬 효율적인 항균작용을 가진다고 볼 수 있겠다.

비선택적 배양에 의한 치은연하 치태세균 동정의 결과 호기성균과 혐기성균, 그리고 BPB 모두 치약의 종류에 관계없이 치약사용 후 개선된 수치를 보였는데, 혐기성균과 BPB의 경우 실험치약을 사용한 군의 감소폭이 통계학적 유의성을 나타낼 만큼 큰 수치를 나타내었고, 간접 면역형광법을 이용한 세균동정의 경우 *P.gingivalis*와 *P.intermedia*에서 역시 실험치약의 3주간 사용이 유의성 있는 세균 mean CFU의 감소를 보였다.

상기한 여러 변화들은 후박 및 은행엽 천연물 추출물의 혼합물을 이용한 in vitro 실험의 결과와 일맥상통하며³⁵⁾, 이와 같은 임상지수변화와 다양한 세균동정법을 이용한 세균변화의 관찰결과로 보아 후박 및 은행엽 추출물이 함유된 치약이 in vivo상에서 초기 치은염증의 감소에 효과적임을 알 수 있었다. 그러나, *A.actionomycetemcomitans*, *A.viscosus*, *C.rectus*, *S.sanguis* 등에서는 치약의 종류에 따른 차이를 보이지 않아 치약의 성분 조정 및 이들 세균들의 억제에 효과적인 기타 생약제제의 첨가에 대한 연구가 필요하다고 보여진다.

V. 결론

후박 및 은행엽 추출물을 함유한 치약의 사용이 초기 치은염 상태의 임상지수와 세균분포의 변화에 어떠한 영향을 주는가에 대한 연구결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 후박 및 은행엽 추출물이 함유된 치약과 대조치약을 3주간 사용한 결과 치주낭 깊이를 제외한 치태지수, 치은지수, 치은열구액량에 있어 실험치약이 대조치약보다 더 유의성 있는 감소가 관찰되었다. (p<0.05)
 2. 실험치약을 3주간 사용하고 난 후 혐기성균 및 Black pigmented *bacteroides*의 분포가 대조치약에서 보다 유의성 있는 감소폭을 보였다. (p<0.05)
 3. 실험치약의 3주간 사용후 *P.gingivalis*와 *P.intermedia*의 분포가 대조치약에서 보다 유의성 있는 감소폭을 보였다.(p<0.05)
- 상기의 연구를 통하여 후박 및 은행엽 추출물이 첨가된 치약이 치주병인세균의 감소효과를 보이며, 초기 치은염증의 예방 및 증상의 개선에 효과적임을 알 수 있었다.

VI. 참고문헌

1. Moore, L.V.H., Moore, W.E.C., Cato, E.P., Smibert, R.M., Burmeister, J.A., Best, A.M., and Ranney, R.R.: "Bacteriology of human gingivitis", J.Dent.Res., 66 : 989-995, 1987.
2. Savitt, E.D., and Socransky, S.S., : "Distribution of certain subgingival microbial species in selected periodontal conditions" J.Periodont.Res. 19 : 111-123, 1984.
3. Assev, S., Scheie, A.AA., and Rolla, G. : "Potential of xylitol, mannitol, and sorbose to inhibit metabolism in streptococcus sobrinus OMZ 176", J.Dent.Res., 68 : 1729-1731, 1989.
4. Svatun, B. "Effect on plaque formation and gingival conditions of self performed toothbrushing with a stannous fluoride/stannous pyrophosphate dentifrice" In : Tooth surface Interactions and Preventive Dentistry. JRL Press, London.UK, 1981.
5. Gjeramo, P., and Rolla, G. : "The Plaque inhibition effect of chlorhexidine containing dentifrice" Scan.J.Dent.Res. 79 : 126, 1971.
6. Greenfield, W., and Cuchel, S.J. : "The use of an oral rinse and dentifrice as a system for reducing dental plaque" Compend. contin. Educ. Dent., Supplement 5 : 582-586, 1984.
7. Rotgans, J., and Hoogendoorn, H. : "The Effect of toothbrushing with a toothpaste containing amyloglucosidase and glucose oxidase on plaque accumulation and gingivitis" Caries Research 13 : 144-149, 1979.
8. Saxton, C.A. : "The effect of dentifrice containing zinc citrate and 2, 4, 4' trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether" J.Periodontol. 9 : 555-561, 1986.
9. Scheie, A.AA. : "Modes of action of currently known chemical antiplaque agents other than chlorhexidine", J.Dent.Res. 68 : 1609-1616, 1989.
10. Goodson, J.M. : "Pharmacokinetic principles controlling efficacy of oral therapy", J.Dent.Res. 68 : 1625-1632, 1989.
11. Mandel, I.D. : "Chemotherapeutic agents for controlling plaque and gingivitis." J.Clin.Periodontol. 15 : 488-498, 1988.
12. Axelsson, P. and Lindhe, J. : "The significance of maintenance care in the treatment of periodontal disease" J.Clin.Periodontol. 8 : 281-294, 1981.
13. Johnson, J.R., Gjeramo, P., and Eriksen, H.M. : "Effect of 2 years' use of chlorhexidine containing dentifrices on plaque, gingivitis and caries" Scan.J.Dent.Res. 83 : 88, 1975.
14. Van der Ouderaa, F.J., and Cummins, D. : "Delivery systems for agents in supra- and sub-gingival plaque control" J.Dent.Res. 68

- : 1617-1624,1989.
15. Barkvoll, P., Rolla, G., and Svendsen, A.K. : "Chlorhexidine interactions with sodium lauryl sulfate in vivo", *J.Dent.Res.* 68 : 1772-1773,1989.
 16. Jones, C.L., Ritchie J.A., March, P.D., and Van der Ouderaa F. : "The effect of long-term use of a dentifrice containing zinc citrate and a non-ionic agent on the oral flora", *J.Dent.Res.*, 67 : 46-50, 1988.
 17. Minah, G.E., De Paola, L.G.,Overholser, C.D.,Meiller, T.F.,Niehaus, C.,Lamm, R.A.,Ross, N.M., and Dills, S.S. : "Effects of 6-months use of an antiseptic mouthrinse on supragingival dental plaque microflora.", *J.Clin.Periodontol.* 16 : 347-352, 1989.
 18. Waerhaug,J. : "Healing of the dento-epithelial junction following subgingival plaque control-I. As observed in human biopsy material" *J.Peiodontol.* 49 : 1-8 : 1978.
 19. Jenkins, S. , Addy, M., and Newcombe, R. : "The effects of 0.5% chlorhexidine and 0.2% triclosan containing toothpastes on salivary bacterial counts" *J.Clin.Periodontol.* 17 : 85-89, 1990
 20. Saxton, C.A., and van der Ouderaa, F.J. : "The effect of a dentifrice containing zinc citrate and triclosan on developing gingivitis" *J.Periodont.Res.*, 24 : 75-80, 1989.
 21. Jones, C.L., Saxton, C.A.,and Ritchie, J.A. : "Microbiological and clinical effects of a dentifrice containing zinc citrate and triclosan in the human experimental gingivitis model" *J.Clin.Periodontol.*, 17 : 570-574, 1990.
 22. Cummins, D. : "Zinc citrate/Triclosan : a new anti-plaque system for the control of plaque and the prevention of gingivitis : short term clinical and mode of action studies" *J.Clin.Periodontol.* 18 : 455-461, 1991.
 23. Svatun, B., Saxton, C.A., van der Ouderaa, F.J., and Rolla, G. : "The influence of a dentifrice containing a zinc salt and a nonionic antimicrobial agent on the maintenance of gingival health" *J.Clin.Periodontol.* 14 : 457-461,1987.
 24. Svatun, B., Saxton, C.A., and Rolla, G. : "6-month study of the effect of a dentifrice containing zinc citrate and triclosan on plaque,gingival health and calculus" *Scan.J.Dent.Res.*, 98 : 301-304, 1990.
 25. Kelstrup, J., Holm-Pedersen, P., and Poulsen, S. : "Reduction of the formation of dental plaque and gingivitis in humans by crude mutanase" *Scan.J.Dent.Res.* 86 : 93-102, 1978.
 26. Mullally, B.H., James, J.A.,Coulter, W.a., and Linden, G.J. : "The efficacy of a herbal-based toothpaste on the control of plaque and gingivitis" *J.Clin.Periodontol.* 22 : 686-689, 1995.
 27. Marsh, P.D., "Dentifrices containing new agents for the control of plaque and gingivitis : microbiological aspects", *J.Clin.Periodontol.* 18 : 462-467, 1991
 28. M hlemann, H.R., and Son, S. : " Gingival sulcus bleeding-a leading symptom in initial gingivitis" *Hev.Odontol.Acta.* 15 : 107, 1971.
 29. Glantz, P.O., and Attstrom, R. : " Dental plaque control measures and oral hygiene practice" H.Loe & D.V.Kleinmann. IRL Press, Oxford, UK, 1986.
 30. Gang, I.G.,Lee, S.C.,Chung, C.P., and Son,S.H. : "Studies on the clinical and

- microbiological effect of toothpaste containing theae folium, myrrha, mori radice and cimicifugae rhizoma extract" *J.Korean Acad.Periodont.* 21 : 1-16, 1991.
31. Namba, T., Tsunozuka, M., Bae, K., and Hattori, M. : "Studies on dental caries prevention by traditional chinese medicine(part I). Screening of crude drug for antibacterial action against streptococcus mutans" *Shoyakugaku Zasshi* 35, 1981.
 32. Bae, K., and Oh, H. : "Synergistic effect of lysozyme on bactericidal activity of magnolol and honokiol against a cariogenic bacterium, *Streptococcus mutans* OMZ 176" *Arch. Pharmacies.* 13 : 117, 1990.
 33. 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.
 34. 이승렬, 정종평, 최상목, 배기환 : "천연물 추출물의 치주병인균에 대한 항균효과 및 세포독성에 관한 연구" 대한치주과학회지 제22권(3호) : 515-526, 1992.
 35. 정종평, 구영, 배기환 : "은행엽 추출물이 치은섬유아세포에 미치는 생물학적 영향" 대한치주과학회지 제25권(3호) : 469-477, 1995.
 36. 강삼식, 김주선, 광의중, 김기협 : "은행잎의 flavonoid 성분에 관한 연구" 생물학회지 21권 : 111-120, 1990.
 37. Mosmann, T. : "Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays" *J.Immun.methods* 65 : 55, 1983.
 38. Shapiro, L., Goldman, H., and Bloom, A. : "Sulcular exudate flow in gingival inflammation" *J.Periodontol.* 50 : 301-304, 1979.
 39. Bass, C.C. : "The necessary personal oral hygiene for the prevention of caries and periodontoclasia" *New Orleans Med. Surg. J.* 101 : 52, 1948.
 40. Turesky, S., Gilmore, N.D., and Glickman, I. : "Reduced plaque formation by the chloromethyl analogue of vitamin C" *J. Periodontol.* 41 : 41-43, 1970
 41. Talbott, K., Mandel, I., and Chilton, N. : "Reduction of baseline gingivitis scores in repeated prophylaxis" *J. Prev. Dent.* 4 : 28-29, 1977.
 42. Pretara-Spanedda, P., Birenz, S., Harder, R., Cancro, L.P., and Pader, M. : "Influence of zinc citrate on plaque control" *J.Dent.Res.* 64 : abstract 235, 1985
 43. Giertsen, E., Cheie, A.A., and Rolla, G. : "Dose-related effects of ZnCl₂ on dental plaque formation and plaque acidogenicity in vivo" *Caries Res.* 23 : 272-277, 1989.
 44. Saxton, C.A., and Cummins, D. : "The effect of zinc citrate dentifrices on the development of gingivitis" *J.Dent.Res.*, 68 : abstract 971, 1989.
 45. Saxton, C.A., Lane, R.M., and van der Ouderaa, F.J. : "The effects of a dentifrice containing a zinc salt and a non-cationic anti-microbial agent on plaque and gingivitis" *J.Clin. Periodontol.* 14 : 144-148, 1987.
 46. Jenkins, S., Addy, M., and Newcombe, R. : "Toothpaste containing 0.3% and 0.5% Triclosan. I Effects on four-day plaque regrowth" *Am.J.Dent.* 2 : 211-214, 1989.
 47. Sanz, M., Fabregues, S., Vallcorba, N., and Newman, M.G. : "A six-month clinical trial to evaluate the clinical effects of a chlorhexidine-zinc based toothpaste on

gingivitis" J.Dent.Res. 69 : abstract 1112,
1990.

48. van der Ouderaa,F.J.: "Anti plaque agents-

rationale and prospects for prevention of
gingivitis and periodontal disease"
J.Clin.Periodontol. 18 : 447-454,1991.

Clinical And Microbiological Study On The Effect Of Magnoliae cortex And Ginkgo Biloba Extracts Containing Dentifrice In Gingivitis

Tae-II Kim¹, Hey-Ri Yeom¹, In-Chul Ryu¹, Ki-Hwan Bae², Chong-Pyoung Chung¹

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

2. College of Pharmacy, Chung-Nam University

Previous studies have shown that Magnoliae cortex and Ginkgo biloba extracts were showed on the antimicrobial and anti-inflammatory action, in vitro. The purpose of this study was to evaluate on the effect of antimicrobial and anti-inflammatory activity of Magnoliae cortex and Ginkgo biloba extracts containing dentifrice in gingivitis. 70 subjects with gingivitis were divided into an experimental group which performed normal oral hygiene procedure with Magnoliae cortex and Ginkgo biloba extracts containing dentifrice and a control group which also performed normal oral hygiene procedure with the same dentifrice without the natural extracts and completed a double-blind, cross-over study. At baseline and 3 weeks, subjects were assayed for clinical study by plaque index, gingival index, pocket depth, GCF rate, and microbiological study by subgingival dental plaque bacterial morphotypes by phase contrast microscopy, total anaerobes, total aerobes, Black pigmented bacteroides, *A.actionomycetemcomitans*, *A.viscosus*, *C.rectus*, *S.sanguis*, *P.gingivalis*, *P.intermedia* by bacterial culture and immunofluorescence microscopy. After 3 weeks using their respective dentifrices, reductions in the clinical indices of subjects were similar between the experimental dentifrice group and a control dentifrice group except for statistically significant much reductions in PI, GI, and GCF rate in the experimental dentifrice group as compared to control dentifrice group. Also statistically significant reductions in the motile rods and Spirochetes were found in both experimental group to compare with control group, however statistically much reduction in total anaerobes, Black pigmented bacteroides, and *P.gingivalis*, *P.intermedia* were found in the experimental dentifrice group as compared to control dentifrice group. This results indicates that Magnoliae cortex and Ginkgo biloba extracts containing dentifrice might be useful for elimination of gingival inflammation.

Key words : dentifrice, gingivitis, magnoliae cortex, ginkgo biloba, plaque