

황련(*Coptis chinensis* Franch) 추출물의 항충치효과

장귀현 · 안병용* · 오석홍** · 최동성** · 권용주
전북대학교 식품공학과, *원광대학교 한의학 전문대학원, **우석대학교 생명공학부

Anticariogenic effects of *Coptis chinensis* Franch Extract

Gui-Hyun Jang, Byung-Young Ahn*, Suk-Heung Oh**,
Dong-Seong Choi** and Yong-Ju Kwon

Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University

*Professional Graduated School of Oriental Medicine, Wonkwang University

**Division of Bioscience and Biotechnology, Woosuk University

Abstract

The effects of *Coptis chinensis* Franch(CCF) extract on the growth, acid production, cell adherence and glucosyltransferase(GTase) activity of *Streptococcus mutans* JC-2 were investigated. Methanol extract from CCF showed a strong inhibitory effect on the growth of *S. mutans*. The minimal inhibition concentration(MIC) of the methanol extract was determined as 130 µg/mL, whereas MIC of water extract was 200 µg/mL. MICs of berberine and palmatine were 50 µg/mL and 110 µg/mL, respectively, showing stronger antimicrobial activities than the extracts of CCF. Antimicrobial activities of methanol extract, berberine and palmatine were not decreased by heating at 121°C for 15 min, suggesting that the antimicrobial components including berberine and palmatine are heat-stable. Acid production of *S. mutans* was decreased by methanol and water extracts, berberine and palmatine. The activity of GTase was inhibited by methanol extract, berberine and palmatine at 300 µg/mL with 23.2%, 46.1% and 17.1%, respectively, but was not inhibited by water extract. The water extract and palmatine at sub-MICs inhibited the adherence of *S. mutans* to glass surface by 59.2% and 41.7%, respectively. These results suggest that CCF extracts have anticariogenic effects and could be used as an anticariogenic food additive.

Key words : *Coptis chinensis* Franch, berberine, palmatine, anticariogenic, *Streptococcus mutans*

서 론

충치(치아우식증)는 인류와 오랫동안 함께 해온 구강 질환 중의 하나로 설탕이 감미료로 상용됨에 따라 그 발병률이 증가하게 되었으며, 세계적으로 널리 만연되고 있는 문화병의 하나로써 선진국은 물론 우리나라의 경우에도 발병률이 점진적으로 증가하고 있는 추세에 있다^(1,2). *Streptococcus mutans*은 인간과 실험동물에 있어서 초기 치아우식증과의 그 상관관계가 깊으며, 이 균이 분비하는 glucosyltransferase(GTase)에 의해 음식물중의 sucrose로부터 합성되는 세포외 불용성 glucan은 치아우식증을 증진시키는 원인으로 알려져 있

다⁽³⁾. GTase에 의해 sucrose로부터 합성되는 glucan은 치아표면을 비롯하여 다양한 고체표면에 높은 부착성을 가진다^(4,5). 이러한 생화학적인 과정으로 형성되는 glucan에 구강내 미생물이 부착하면서 치면세균막을 형성하고, 치면에 부착한 *S. mutans*는 당질 대사과정에서 젖산과 같은 유기산을 생성하며, 이와같은 plaque와 유기산은 치아의 에나멜질을 탈회시켜 충치를 유발하게 된다^(6,7). 따라서 구강내에서 *S. mutans*의 생장을 억제할 수만 있다면 충치는 크게 감소될 수 있으며, 최근 치아우식증 예방의 측면에서 항균^(8,9), GTase 활성저해^(1,4,10-12) 등 천연물로부터 항충치물질을 분리하고자 하는 연구와 설탕의 대체 감미료 검색^(13,14)에 관한 연구 등 많은 연구가 시도되어 왔다.

한편 황련(*Coptis chinensis* Franch)은 미나리아재비과(Ranunculaceae)에 속하는 다년생 초본식물인⁽¹⁵⁾ 생약재로서 그의 에탄올 추출물은 식품부패 및 병원성 미생물에 대하여 생육저해 효과가 뛰어나며 항진균 효

Corresponding author : Yong-Ju Kwon, Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Jeonju, Jeonbuk, 561-756, Korea
Tel : 82-63-270-2567
Fax : 82-63-270-2572
E-mail : yjkwon@moak.chonbuk.ac.kr

과가 있는 것으로 보고되고 있다⁽¹⁶⁾. 이러한 황련의 주요 활성 성분은 황색의 비염기성 ammonium alkaloid인 berberine으로 알려져 있다⁽¹⁵⁾. 본 연구에서는 오랫동안 생약재로 사용되어오고 있는 황련의 추출물 및 그의 주요 활성성분으로 알려진 berberine과 palmatine을 사용하여 mutans streptococci 중에서도 치아우식증에 크게 관련이 있는 *S. mutans*의 성장, 산생성, 균체 부착 및 GTase 활성 등의 억제에 대한 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 실험에 사용된 황련은 전주시내 건재상에서 구입하였다. 분쇄한 황련 20g에 증류수를 1:10(w/v)이 되도록 가하여 열탕 환류추출(100°C, 2 hr)하고 원심분리(4°C, 4000×g, 20 min)한 후 상정액을 여과(Whatman No. 2)하여 물추출물을 얻었다. 한편 95% 메탄올을 1:10(w/v)이 되도록 가하여 진탕추출(30°C, 110 rpm, 24 hr)하고 여과후 50°C에서 감압 농축하여 메탄올 추출물을 얻었다. 각각의 농축물을 동결건조하여 -20°C에 보관하면서 시료로 사용하였다. 물 추출물과 메탄올 추출물의 회수율은 각각 23.9%, 13.4%이었다. Brain heart infusion(BHI)은 Difco사 제품을, berberine chloride, palmatine chloride는 Sigma사 제품을 사용하였다.

사용균주 및 배지

S. mutans JC-2 균주는 원광대학교 치과대학 미생물학 교실로부터 분양 받아 사용하였다. *S. mutans*는 BHI broth에서 배양한 배양액에 글리세롤이 10%가 되도록 첨가하여 -70°C에서 보관하였으며, BHI broth에 15~16 시간 계대배양 후 실험에 사용하였다.

항균력 실험

시험관에 5 mL의 BHI broth를 넣고 N₂ 기체로 bubbling시켜 용존산소를 제거하였다. 20 µL 첨가시 각각의 최종농도(µg/mL)가 되도록 조제한 황련추출물과 berberine, palmatine의 용해액을 20 µL 첨가한 후 전배양액 10 µL(8.0×10⁵ cell)를 접종하고 N₂ 기체로 다시 bubbling한 다음, 37°C에서 24시간 정치배양하였다. 경시적인 균의 생육도는 Miniphoto 518(Taitec, Japan)을 이용하여 660 nm에서 O.D.를 측정하였다. 균의 생육여부가 관찰되지 않는 가장 낮은 농도를 최소저지농도(minimum inhibition concentration, MIC)로 하였다.

열안정성 및 산생성량 측정

5 mL의 BHI broth를 넣은 시험관에 20 µL 첨가시 각각의 최종농도(µg/mL)가 되도록 조제한 황련추출물과 berberine, palmatine의 용해액 20 µL를 각각 첨가한 다음, 121°C, 15분간 열처리를 하였다. 전배양한 균 8.0×10⁵ cell을 접종하고 N₂ 기체로 bubbling후 37°C에서 24시간 정치배양 하면서 경시적으로 660 nm에서의 O.D.를 측정하여 균의 성장상태를 측정하였다. 한편 시험관에 의해 형성되는 유기산의 생성량은 12시간과 24시간째에 산가적정을 실시하여 평가하였다. 즉, 균 배양액 10 mL에 증류수 40 mL를 가하고 0.1% phenolphthalein 용액을 2방울 떨어뜨린 다음 0.1 N NaOH로 중화적정하고 소비된 NaOH 양을 젖산으로 환산하여 산생성량을 측정하였다.

GTase 효소원의 제조 및 GTase 활성억제 효과의 측정

GTase 효소원의 제조는 Namba 등의 방법⁽¹⁷⁾에 따라 실시하였다. 2 L의 BHI broth에 전배양한 균 100 mL를 접종하여 혐기적 조건하에서 16시간 정치배양한 후 12,000×g로 20분간 원심분리하여 상등액을 회수하였다. 상등액을 0°C에서 황산 암모늄으로 50% 포화시킨 후 4°C에서 하룻밤 정치시킨 후 25,000×g로 30분간 원심분리하여 침전물을 회수하였다. 침전물을 50 mL의 10 mM phosphate buffer(pH 6.8)에 완전히 용해시킨 뒤 4°C에서 12시간 동안 동일 완충용액으로 투석하였다. 이 과정을 2회 반복하여 황산암모늄을 제거하였다. 투석액은 다시 25,000×g로 30분간 원심분리하고 그의 상등액을 조효소액으로 사용하였다. 회수된 조효소액의 단백질 농도는 Lowry 등⁽¹⁸⁾의 방법을 이용하여 측정하였으며, 표준 단백질로는 bovine serum albumin을 사용하였다.

GTase의 활성은 sucrose를 기질로 하여 생성된 불용성 glucan을 분광광도법으로 측정하였다⁽¹²⁾. 즉 시험관에 기질용액(sucrose 12.5 g, sodium azide 0.25 g을 1 L의 10 mM sodium phosphate buffer(pH 6.8)에 용해시켜 121°C에서 15분간 멸균) 0.8 mL, 조효소액 0.04 mL, 농도별 시료 0.02 mL, 멸균수 0.14 mL를 첨가하여 최종 부피를 1 mL가 되도록 조정하였다. 시험관을 30° 기울인 상태로 효소액을 37°C에서 24시간 동안 반응시키고, vortex하여 하여 glucan을 분산시킨 다음 550 nm에서의 O.D.를 측정(Shimadzu UV1601PC, Japan)하였다. 대조구의 경우 시료 대신에 멸균수를 첨가하였으며, O.D.를 측정하여 다음 식에 따라 저해율을 구하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(\frac{1 - \text{시료액의 O.D.}}{\text{대조액의 O.D.}} \right) \times 100$$

균체 부착 억제효과의 측정

균체부착 억제효과는 Ooshima 등⁽¹⁴⁾의 시험관 유리 부착법을 이용하여 측정하였다. 즉, BHI broth 4.5 mL, 10%(w/v) sucrose 0.5 mL를 함유한 시험관에 첨가시 각각의 최종농도가 되도록 조제한 황련 추출물, berberine, palmatine을 각각 20 µL 첨가하였다. 전배양한 균 8.0×10⁵ cell을 접종하고 N₂ 기체로 bubbling시켜 용존산소를 제거한 후 시험관을 30° 기울인 상태로 37°C에서 24시간 정치배양하였다. 배양후 시험관을 멸균수로 3회 세척하고 0.5 N NaOH 용액을 5 mL 가하여 벽면에 부착한 균체를 완전히 현탁시켰다. 현탁액을 1 mL을 취하여 550 nm에서 O.D.를 측정하였다. 대조구의 경우 시료 대신에 멸균수를 첨가하였으며, O.D.를 측정하여 균체부착 저해율을 구하였다.

결과 및 고찰

황련 추출물의 항균성

S. mutans JC-2의 항균에 미치는 황련 물추출물과 메탄올 추출물의 억제효과를 평가하기 위해 BHI broth

5 mL에 첨가했을 때 각각의 최종농도가 되도록 조제한 황련 추출물 20 µL를 첨가하고 전배양액 10 µL(8.0×10⁵ cell)를 접종하여 24시간 배양하면서 경시적인 균의 성장상태를 측정한 성장곡선은 Fig. 1(A), (B)와 같다. *S. mutans* JC-2에 대한 최소저지농도(MIC)는 물추출물의 경우 200 µg/mL 이었으며, 메탄올 추출물의 경우 130 µg/mL이었다. 메탄올 추출물이 물추출물보다 강한 항균활성을 나타내고 있음을 보여주고 있다. 이는 황련의 에탄올 추출물이 부패 및 병원성 세균에 대하여 높은 항균력을 가진다는 Oh 등⁽¹⁶⁾의 실험결과와 유사하였다. 황련의 주요 활성성분인 berberine은 황련 근경에 약 7~9% 함유되어 있는데⁽¹⁵⁾, 이러한 berberine의 용해도가 물보다 메탄올에 더 크기 때문에 메탄올 추출물에 더 많은 berberine이 용해되어져 높은 항균활성을 나타낸 것으로 생각된다. 따라서 황련의 주요 활성물질로 알려진 berberine과 palmatine의 MIC를 berberine chloride과 palmatine chloride를 사용하여 측정하였으며, 그 결과는 각각 Fig. 1(C), (D)에서와 같이 50 µg/mL, 110 µg/mL이었다. Berberine과 palmatine 모두 황련 추출물보다 높은 항균활성을 나타내었다. 특히 berberine은 메탄올 추출물과 palmatine에 비교할 때 2배 이상의 저해활성을 나타내었고, *S. mutans*에 대한 berberine의 MIC가 50 µg/mL이었다는 Chang 등⁽¹⁹⁾의

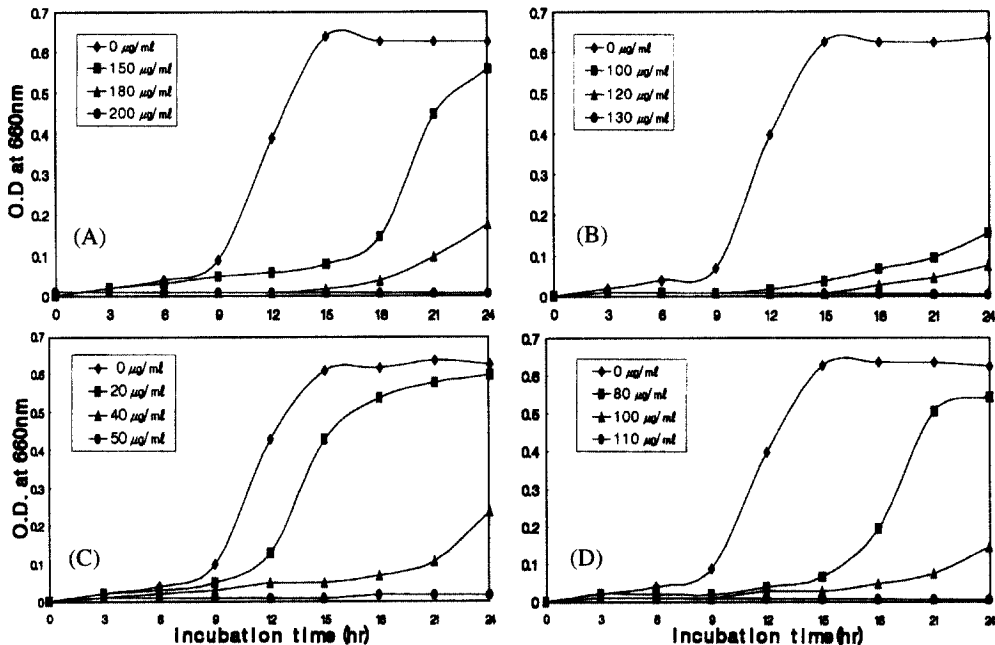


Fig. 1. Inhibitory effects of *Coptis chinensis* Franch extracts, berberine and palmatine on the growth of *Streptococcus mutans* JC-2. (A) Water extract, (B) Methanol extract, (C) Berberine chloride, (D) Palmatine chloride.

Table 1. Inhibitory effects of *Coptis chinensis* Franch extracts, berberine and palmatine on the acid production of *Streptococcus mutans* JC-2

Sample	Final conc. (µg/mL)	Acid production (%)	
		12 hr	24 hr
Control	0	0.09	0.21
Water extract	150	0	0.2
	200	0	0
Methanol extract	60	0	0.19
	130	0	0
Berberine chloride	20	0.01	0.2
	50	0	0
Palmatine chloride	60	0.01	0.2
	110	0	0

Table 2. Inhibitory effects of *Coptis chinensis* Franch extracts, berberine and palmatine on the activity of partilly purified GTase from *Streptococcus mutans* JC-2

Final conc.(µg/mL)	Inhibition rate (%)			
	Water extract	Methanol extract	Berberine chloride	Palmatine chloride
Control	-	-	-	-
50	-4	11	1.4	2
100	-6.6	11.6	10.6	5.9
150	-4	17.4	11.3	5.9
200	-5.3	21.9	19.9	9.9
250	-8	23.2	27.7	11.8
300	-8.6	23.2	46.1	17.1

결과, 화농성 연쇄상구균인 *S. pyogenes*에 대한 berberine sulfate의 MIC가 30 µg/mL이었다는 Sun 등⁽²⁰⁾의 결과와 유사하였다. Sun 등⁽²⁰⁾은 배지에서 berberine을 제거하자 균의 생장이 정상으로 회복됨을 관찰하고 berberine sulfate가 streptococci에 대해 살균효과가 아닌 정균효과를 가지며, berberine의 정균효과는 핵산과 상호반응할 수 있는 능력에 기인한다고 주장하였다. 황련내 주요성분인 berberine은 세균의 탄수화물 대사와 단백질 합성을 저해하여 세균의 성장을 저해하고⁽¹⁵⁾, DNA에 삽입되어 DNA 합성과 역전사효소의 활성을 저해하여 미생물과 바이러스의 성장을 저해함이 알려져 있다⁽²¹⁾. 한편 Amin 등⁽²²⁾은 *Staphylococcus aureus*에 있어서 berberine sulfate가 정균효과를 나타내는 농도에서 RNA와 단백질의 생합성을 빠르게 억제하였으나, DNA 생합성에 대해서는 거의 효과가 없었다고 보고하였다.

황련 추출물의 열안정성

황련 메탄을 추출물에 함유되어 있는 항균활성 물질의 열안정성을 조사하기 위하여 추출물을 121°C에서 15분간 열처리한 후 *S. mutans* JC-2의 생장에 미치는 영향을 조사하였다. 황련 메탄을 추출물은 열처리에 의해서도 *S. mutans*의 성장곡선의 패턴이나 MIC는

대조구인 Fig. 2와 비교하여 볼 때 전혀 항균활성이 감소하지 않았고, berberine chloride와 palmatine chloride 또한 대조구인 Fig. 1(C), (D)와 비교했을 때 열처리에 의해 항균 활성이 전혀 감소하지 않았다(data not shown). 이 결과는 황련의 에탄올 추출물이 열에 매우 안정하다는 Oh 등⁽¹⁶⁾의 연구결과와 일치하였으며, 이들 결과로부터 황련의 항균활성 물질이 열에 매우 안정함을 확인할 수 있었다.

산 생성량에 미치는 영향

*S. mutans*에 의해 생성되는 유기산은 치아우식증에 직접적인 영향을 미치는 중요한 요인이며 균의 생장과 밀접한 상관성을 나타낸다. 따라서 균 생장의 부분 및 완전저해를 나타낸 각각의 농도에서 산생성량을 측정하였으며, 그 결과를 Table 1에 나타내었다. 황련 추출물과 그 활성성분들의 첨가로 *S. mutans* JC-2의 산생성량이 감소되었다. 각 시료의 부분 저해 농도의 경우 12시간 째에는 균의 생육을 억제하여 산생성량이 감소하였으나, 24시간 째에는 균이 대조구와 동일하게 완전 성장함에 따라 대조구와 비슷한 경향을 보였다. 그러나 균의 생육을 완전 저해하는 농도에서는 24시간 째에도 산 생성량이 증가하지 않음을 알 수 있었다. 이러한 산 생성량 감소는 berberine, palmatine과 같

Table 3. Inhibitory effects of *Coptis chinensis* Franch extracts, berberine and palmatine on the adherence of *Streptococcus mutans* JC-2

Sample	Final conc.($\mu\text{g/mL}$)	O.D. at 550 nm	Inhibition rate (%)
Contol	0	1.20	-
Water extract	150	0.49	59.2
Methanol extract	60	1.04	13.3
Berberine chloride	20	1.15	4.2
Palmatine chloride	60	0.70	41.7

은 항균물질이 균의 생육을 억제함으로써 균의 당 대사과정에서 생성되는 산 생성량 또한 비례적으로 감소되는 것으로 생각된다.

GTase 저해 효과

치면 세균막 형성저해제 즉, *S. mutans*의 GTase 활성 저해제가 가장 유효한 충치 예방수단으로 인정되고⁽¹²⁾ 있으므로 균의 생장저해 효과를 나타낸 황련 추출물과 그의 활성물질이 GTase의 활성에 미치는 영향을 조사하였다. *S. mutans* JC-2 배양액에서 정제한 GTase 조효소의 단백질량은 10 mg/mL이었으며, 반응액 당 400 μg 의 GTase 조효소를 사용하여 효소활성에 황련 추출물, berberine, palmatine의 농도별 억제효과는 Table 2와 같다. 황련 물추출물은 농도가 증가하여도 GTase의 저해활성에 어떠한 영향도 끼치지 않았으나, 황련 메탄올 추출물은 농도가 증가할수록 저해활성도 증가하였다. 300 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 메탄올 추출물, berberine, palmatine의 GTase 활성 저해율은 각각 23.2, 42.1, 17.1%로써 berberine이 매우 우수한 GTase 활성 저해물질임을 보여주고 있다. 황련에 있어서 주요활성성분인 berberine과 palmatine이 물보다는 메탄올에 용해성이 크고, 물추출물의 경우 GTase에 기질로 사용될 수 있는 당 성분들이 같이 추출되어져 저해효과가 거의 없었던 것으로 생각된다.

균체 부착 억제효과

충치는 충치균이 생성하는 GTase에 의해 sucrose로부터 점착성이고 불용성인 glucan이 형성되어 치아 표면에 부착되고, 부착된 glucan에 충치균 등의 혐기성 세균이 증식하면서 생성시킨 유기산에 의해 치아표면이 파괴되어 발생한다. 따라서 *S. mutans*가 생성한 water-insoluble glucan에 의해 치면에 정착하는 것을 방지하는 것도 충치를 예방하는 방법중의 하나이다⁽²³⁾. 유도기를 지연시키나 24시간 후에는 대조구와 비슷한 흡광도를 나타내는 농도(생장 부분 저해농도, Table 1 참조)에서 각각의 시료가 *S. mutans* 균체 부착을 억제

하는지를 확인하였다. 시료별 균체부착 저해율은 Table 3과 같다. 물 추출물과 palmatine의 경우, 150 $\mu\text{g/mL}$ 와 60 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 각각 59.2%, 41.7%의 저해율을 보였으나, 메탄올 추출물과 berberine의 경우, 60 $\mu\text{g/mL}$ 와 20 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 각각 13.3%, 4.2%의 낮은 저해율을 보였다. 이러한 결과는 각 시료의 GTase 활성 억제효과(Table 2)와는 대조적인 결과로써, GTase 활성을 거의 저해하지 않았던 물추출물 중에는 충치균의 GTase 생합성을 강하게 억제시키는 미지의 활성성분이 함유되어 있을 것으로 추정되며, palmatine은 50 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 GTase 활성을 거의 억제하지 않았으나 생장 부분 저해농도인 60 $\mu\text{g/mL}$ 에서 GTase 생합성을 강하게 억제하여 water-insoluble glucan의 생성을 저하시킴으로써 시험관 유리표면에서의 *S. mutans* 균체 부착이 억제되었을 가능성이 시사된다. 한편 Sun 등⁽²⁰⁾은 berberine이 *S. pyogenes*의 세포표층으로부터 lipoteichoic acid의 유출을 증가시키고, lipoteichoic acid-fibronectin 복합체의 형성을 방해하여 상피세포에 균체가 부착되는 것을 차단한다고 하였으나, 본 연구에서 berberine은 MIC 농도인 50 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 *S. mutans* GTase의 활성을 거의 억제하지 않았고, 부분 생장저해농도인 20 $\mu\text{g/mL}$ 에서는 시험관 유리표면에서의 균체부착 억제효과가 거의 나타나지 않아 berberine의 항충치효과는 1차적으로 항균효과에 기인하는 것으로 생각되었다.

황련은 오랫동안 한방 생약제로 사용되어져 그 안정성이 이미 입증되어 있으며, 황련의 메탄올 추출성분 및 그의 주요 활성성분인 berberine이 충치 원인균인 *S. mutans* JC-2의 생장과 산생성을 억제하고, glucan 합성효소인 GTase의 활성을 저해하며, 열에 매우 안정하다는 결과 및 특히 물 추출물과 palmatine이 균체부착을 억제한다는 결과로부터 황련의 충치예방 천연소재로서의 개발 가능성이 있다고 사료된다. 한편 Oh 등⁽¹⁶⁾은 황련의 에탄올 추출물이 식품부패 및 병원성 미생물에 대한 강한 항균력을 나타내어 새로운 천연 항균소재의 식품보존제로서의 개발 가능성을 제시한 바 있다.

요 약

황련 추출물의 충치 예방효과 가능성을 확인하고자 *S. mutans* JC-2에 대하여 황련 추출물 및 그의 주요 활성성분의 항균효과, 산생성 억제효과, GTase 활성 억제효과, 균체부착 억제효과를 조사하였다. 메탄올 추출물은 물추출물에 비하여 *S. mutans*에 대해 강한 항균효과를 나타내었으며, 이들 추출물의 *S. mutans*에 대한 최소저지농도(MIC)는 각각 130 µg/mL, 200 µg/mL이었다. 황련의 주요 활성성분인 berberine과 palmatine의 MIC는 각각 50 µg/mL, 110 µg/mL로 황련 추출물에 비하여 강한 항균활성을 나타내었다. 메탄올 추출물, berberine, palmatine을 121°C, 15분간 열처리했을 때 항균효과가 전혀 감소하지 않아, 열에 매우 안정함이 확인되었다. *S. mutans*의 산생성에 대해서도 MIC 농도에서 메탄올 추출물, berberine, palmatine 모두 배양 24시간 째에 산생성을 완전하게 억제하였다. GTase 활성 억제효과는 300 µg/mL 농도에서 메탄올 추출물, berberine, palmatine이 각각 23.2, 46.1, 17.1%의 억제율을 보였고, 물 추출물은 억제효과가 없었다. 반면에 *S. mutans*의 부착에 대해서는 생장 부분저해농도에서 물 추출물과 메탄올 추출물, berberine, palmatine의 경우 저해율이 각각 59.2%, 13.3%, 4.2%, 41.7%로써 물 추출물과 palmatine이 높은 저해율을 나타내었다. 이상의 결과로부터 황련 추출물의 충치억제효과는 주요 활성성분인 berberine과 palmatine의 *S. mutans*에 대한 항균효과, GTase 활성억제와 균체 부착 억제효과 등에 기인한 것이라 여겨지며, 황련 추출물이 충치예방을 위한 기능성 천연소재로서 매우 우수한 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 연구의 일부는 2000년도 우석대학교 교내연구비로 이루어졌으며, 이에 감사를 드립니다. 또한 연구에 사용된 *S. mutans* JC-2를 분양해 준 원광대학교 치과대학 미생물학교실 김강주 교수에게 감사 드립니다.

문 헌

- Lee, Y.S., Park, H.J., You, J.S., Park, H.H., Kwon, I.B. and Lee, H.Y. Isolation of an anticariogenic compound from *Magnoliae* Bark. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 230-236 (1998)
- Hamada, S. and Slade, H.D. Immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbial. Rev. 44: 331-384 (1980)
- Hamada, S., Koga, T. and Ooshima, T. Virulence factors of *Streptococcus mutans* and dental caries prevention. J. Dent. Res. 63: 407-411 (1984)
- Nakamura, K., Kawabata, S., Ono, H., Ogura, K., Tanaka, T., Ooshima T. and Hamada, S. Inhibitory effect of Oolong Tea polyphenol on glucosyltransferase of *Mutans Streptococci*. Appl. Environ. Microbiol. 59: 968-973 (1993)
- Wu-Yuan, C.D., Chen, C.Y. and Wu, R.T. Gallotannins inhibit growth, water-insoluble glucan synthesis and aggregation of mutans streptococci. J. Dent. Res. 67: 51-58 (1998)
- Gibbon, R.J. and Van Houte, J. On the formation of dental plaque. J. Periodontol. 44: 347-360 (1973)
- McGhee, J.R. and Michalek, S.M. Immunology of dental caries., microbial aspects and local immunity. Ann. Rev. Microbiol. 135: 595-638 (1981)
- Wu-Yuan, C.D., Green, L. and Birch, W.X. In vitro screening of chinese medicine toothpastes: Their effects on growth and plaque formation of *Mutans Streptococci*. Caries Res. 24: 198-202 (1990)
- You, Y.S., Park, K.M. and Kim, Y.B. Antimicrobial activities of some medicinal herbs and spices against *Streptococcus mutans*. Kor. J. Microbiol. Biotechnol. 21: 187-191 (1993)
- Fukushima, K., Izawa, K., Masada, M., Oogu, K., Namiki, Y., Okada, T., Ozaki, J., Tamura, G. and Ikeda, T. Inhibitory effects of a fermented "Makomo" leaf extract on insoluble-glucan synthesis by serotype c *Streptococcus mutans* glucosyltransferase. Biosci. Biotech. Biochem. 57: 672-673 (1993)
- An, B.J., Bae, M.J. and Choi, C. Chemical structure and isolation of glucosyltransferase inhibitor from the leaves of Korean persimmon. Food Sci. Biotechnol. 7: 23-27 (1998)
- Kwon, I.B., Lee, Y.W., An, B.J. and Lee, S.Y. Inhibitory effect of Cacao bean husk extract on Glicosyltransferase from *Streptococcus mutans* B13. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 8: 75-82 (1993)
- Imai, S., Takeguchi, K., Shibata, K., Yoshigawa, S., Kitagwa, S., okada, S., Araya, S. and Nisizawa, T. Screening of sugars inhibitory against sucrose-dependent synthesis and adherence of insoluble glucan and acid production by *Streptococcus mutans*. J. Dent. Res. 63: 1293-1297 (1984)
- Ooshima, T., Fujiwara, T., Takei, T., Izumitani, A., Sobue, S. and Hamada, S. The caries inhibitory effects of GOS-sugar in vitro and rat experiments. Microbiol. Immunol. 32: 1093-1105 (1988)
- The pharmacology of Chinese herbs. Huang, K.C. (ed). pp. 287-288. CRC Press, Inc., Boca Ranton, USA (1993)
- Oh, D.H., Ham, S.S., Park, B.K., Ahn, C. and Yu, J.Y. Antimicrobial activity of natural medicine herbs on the food spoilage or foodborn disease microorganism. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 857-963 (1998)
- Namba, T., Tsunozuka, M., Takehana, Y., Nunome, S., Takeda, R., Sue, Y., Kakiuchi, N., Takagi, S. and Hattori, M. Studies on dental caries prevention by tradi-

- tional chinese medicines. *Shoyakugaku Zasshi*. 38: 153-263 (1984)
18. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275 (1951)
19. Chang, K.W., Koh, K.J. and Yoo, Y.G. Antibacterial effects of berberine to the *mutans streptococci*. *J. Korean Acad. Dent. Health* 21: 537-544 (1997)
20. Sun, D., Courtney, H.S. and Beachey, E.D. Berberine sulfate blocks of *Streptococcus pyogenes* to epithelial cells, fibronectin, and hexadecane. *Antimicrob. Agents Chemother.* 32: 1370-1374 (1988)
21. Schmeller, T., Latz-Bruning, B. and Wink, M. Biochemical activities of berberine, palmatine and sanguinarine mediating chemical defence against micro-organism and herbivores. *Phytochemistry* 44: 257-266 (1997)
22. Amin, A.H., Subbaiah, T.V. and Abbasi, K.M. Berberine sulfate: antimicrobial activity, bioassay, and mode of action. *Can. J. Microbiol.* 15: 1067-1076 (1969)
23. Yoon, S.Y., Kim, S.H., Chung, H.L., Lee, J.J., Huh, C.S. and Baek, Y.J. Anticaryogenic effects of unripe apple extract. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 168-173 (2000)

(2000년 4월 21일 접수)