

고삼의 *Streptococcus mutans*에 대한 항세균 효과

이현옥[†] · 이경희 · 박남규* · 정승일* · 백승화* · 한동민**
원광보건대학 치위생과 · 원광대학교 한의학전문대학원 천연물학교실* ·
자연과학 기술학부**

Antibacterial Effects of *Sophora flavescens* on *Streptococcus mutans*

Hyun-Ok Lee[†], Kyung-Hee Lee, Nang Kyu Park*, Seung-il Jeong*,
Seung-Hwa Baek* and Dong-Min Han**

Department of Dental Hygiene, Wonkwang Health Science College

*Department of Natural Products, Professional Graduate School of Oriental Medicine

**Division of Natural Science & Technology, Wonkwang University

Abstract

The purpose of this study is to investigate antibacterial activities of *Sophora flavescens* Ait. extracts for the prevention of dental caries caused by *Streptococcus mutans*. The fraction 5-4-3 of the ethyl acetate soluble extract of *Sophora flavescens* Ait. Showed strong growth inhibition activity against *Streptococcus mutans* (MIC, 3.13 μ g/ml). The glucosyltransferase activity inhibited the formation of glucan by the fraction 5-4-3 and showed 77% of the antiproliferative effect at 100 μ g/ml. This showed a significant activity ($p < 0.05$). These results suggest that the fraction 5-4-3 of the ethyl acetate soluble extract of *Sophora flavescens* Ait. may be a valuable material as the prevention of dental caries.

Key words : *Sophora flavescens* Ait., *Streptococcus mutans*, glucosyltransferase, antibacterial effects.

서 론

치아우식증은 전세계적으로 가장 널리 만연되고 있는 문화병의 하나로 선진국은 물론 우리나라의 경우도 발병율이 점진적으로 증가하고 있는 추세에 있다^{1~4}. 치아우식증은 구강내 미생물 중 특히 *Streptococcus mutans* (*S. mutans*)가 주요 원인이 되어, 치아 중 무기질이 탈회되고 상아질이 파괴되어 치아 조직의 결손을 초래하는 세균성 치아 경조직 질환이며^{5,6}, *S. mutans*는 평활면 우식이나 초기우식에 관여하는 것으로 알려져 있다. *S. mutans*는 균체의 또는 균체 표층에 glucosyltransferase (GTase)라는 효소를 분비하고, 이 GTase가 음식물 중 sucrose를 기질로 하여 치면에 불용성 glucan을 형성한다. 이 glucan이 구강내 다른 미생물들과 치면에 치면세균막 (dental plaque)을 생성하며⁷, 여기에 치아우식균 등의 혐기

성 세균이 증식하면서 생성시킨 유기산에 의해 치아의 표면이 파괴된다고 알려져 있다^{8~11}. 따라서 최근에는 세균의 부착이나 GTase 활성 저해제를 탐색하는 것이 치아우식증을 예방하는 수단으로 인정되고 있으며, 그 방법의 일환으로 천연물로부터 항우식 물질을 개발하고자 하는 노력이 시도되고 있다^{12~18}. 최근 현대인들의 식생활 형태가 다양해짐에 따라 당의 소비는 증가하고 있으며, 반면에 stress 등의 원인으로 면역기능은 오히려 약화되어 구강내 미생물이 증가하는 추세에 있다¹⁹. 치아우식증 예방법 중 가장 기본적인 방법은 칫솔질을 하며 치태를 제거하거나 식이조절, 불소이용, 구강물리요법기구 사용 등 다양하지만, 치면열구에 있는 세균을 제거하는데 한계가 있으므로 구강내에서 *S. mutans*의 성장을 억제할 수 있다면 치아우식증은 크게 감소시킬 수 있을 것이다. 따라서 치아우식증 예방에 대하여 부작용없이 사용할 수 있는

[†] Corresponding author : Hyun-Ok Lee

자연산물에 대한 관심이 높아지고 있으며, *S. mutans*의 성장을 억제하는 물질로 보고된 천연물은 오롱차²⁰⁾, 죽염²¹⁾, flavonoid²²⁾, funoran^{23,24)}, 참쭈정유²⁵⁾, 알로에²⁶⁾, 후박^{27,28)} 등이 있으며, 이들 천연물로부터 항균성 물질을 분리하여 치아우식증 예방 및 치료제로 개발을 위한 연구를 해오고 있다²⁹⁻³²⁾. 천연 항균제로 이용되고 있는 약용식물은 기본대사에 관여하는 당, 지방산, 아미노산 같은 1차 대사산물과 중간산물로부터 합성되는 2차 대사산물을 함유하고 있는데, 후자의 경우 특정 식물에만 분포되어 있으며 다양한 생리활성을 나타낸다³³⁾. 항균물질의 경우 essential oil, flavonoid 및 tannin을 비롯하여 대부분이 terpenoid계와 phenolic 화합물로 알려져 있다³⁴⁾. 고삼 (*Sophora flavescens* Bit.)은 콩과에 속한 다년생 본초로 성질은 차고 무독하여 강한 쓴맛을 지니고 있으며³⁵⁾, 최근에는 고삼의 항균력에 관한 보고도 있다^{36,37)}.

본 연구는 고삼에서 항우식 효과가 있는 물질을 찾아내기 위한 연구로서, *S. mutans*에 대한 항세균효과와 GTase 활성 억제에 관하여 연구한 바 유의성이 있어, 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 고삼 (*Sophora flavescens* Ait.)은 원광대학교 한의과대학 한방병원에서 구입하여, 외부형태를 비교 조사하여 확인한 후 사용하였다.

2. 검액조제

1) 고삼의 용매추출

고삼의 뿌리를 잘게 썰어 20 g을 300 ml 등근 플라스크에 1차 증류수 100 ml 넣고, 75°C에서 3시간 동안 물 증탕하여 환류 추출하였다. 세번 반복 추출하여 얻은 추출물을 0.4 μ m 필터로 여과한 후, 여과액을 진공농축기로 35°C에 감압농축시킨 후, 냉동 건조된 양은 물 추출물 2,386 mg을 얻었다. hexan 추출물, 에틸 아세테이트 추출물, 클로로포름 추출물, 메탄올 추출물, 에탄올 추출물은 상온에서 24시간동안 위의 방법에 따라, 용매를 감압농축하여 hexan추출물 310 mg, 에틸 아세테이트 추출물 795 mg, 클로로포름 추출물 612 mg, 메탄올 추출물 2,641 mg, 에탄올 추출물 2,420 mg을 얻었다.

2) 고삼의 에틸 아세테이트 분획

항균효과가 강하고 수율이 높은 고삼 에틸 아세테이트 추출물을 silica gel이 충전된 컬럼 (1.5 cm×2.5 cm)을 사용하여 분획(Fr. fraction) 1~5를 얻었다. ethyl acetate : hexane(gradient) 용매로 hexane, ethyl acetate 및 methanol을 사용하였다. 각각의 분획은 short and long wavelength에서 TLC (spots)의 수로 분획을 나누었다. 분획 3은 이동상의 조건 10%, 40% ethyl acetate/hexane에서 항세균력 (12.5 μ g/ml)이 가장 강하였으나 수율(875 mg, 29.17%)이 낮게 나타나 2차 분획시에는 항세균력 (25 μ g/ml)은 다소 약하지만 수율(1,717 mg, %)이 높은 분획 5를 사용하였다. 분획 5를 C 18 reverse flash chromatography 방법으로 2차 분획하여 6종류의 소분획(5-1~5-5)를 얻었다. 2차 분획 6종의 항세균력을 평가하여 항세균력이 가장 강한 5-4를 선정한 후 다시 이를 3차 분획하여 4종류의 분획(5-4-1~5-4-4)를 얻었다.

이상의 분획과정에 사용된 용매와 추출된 양은 Fig. 1과 같다.

3. 사용균주 및 배지

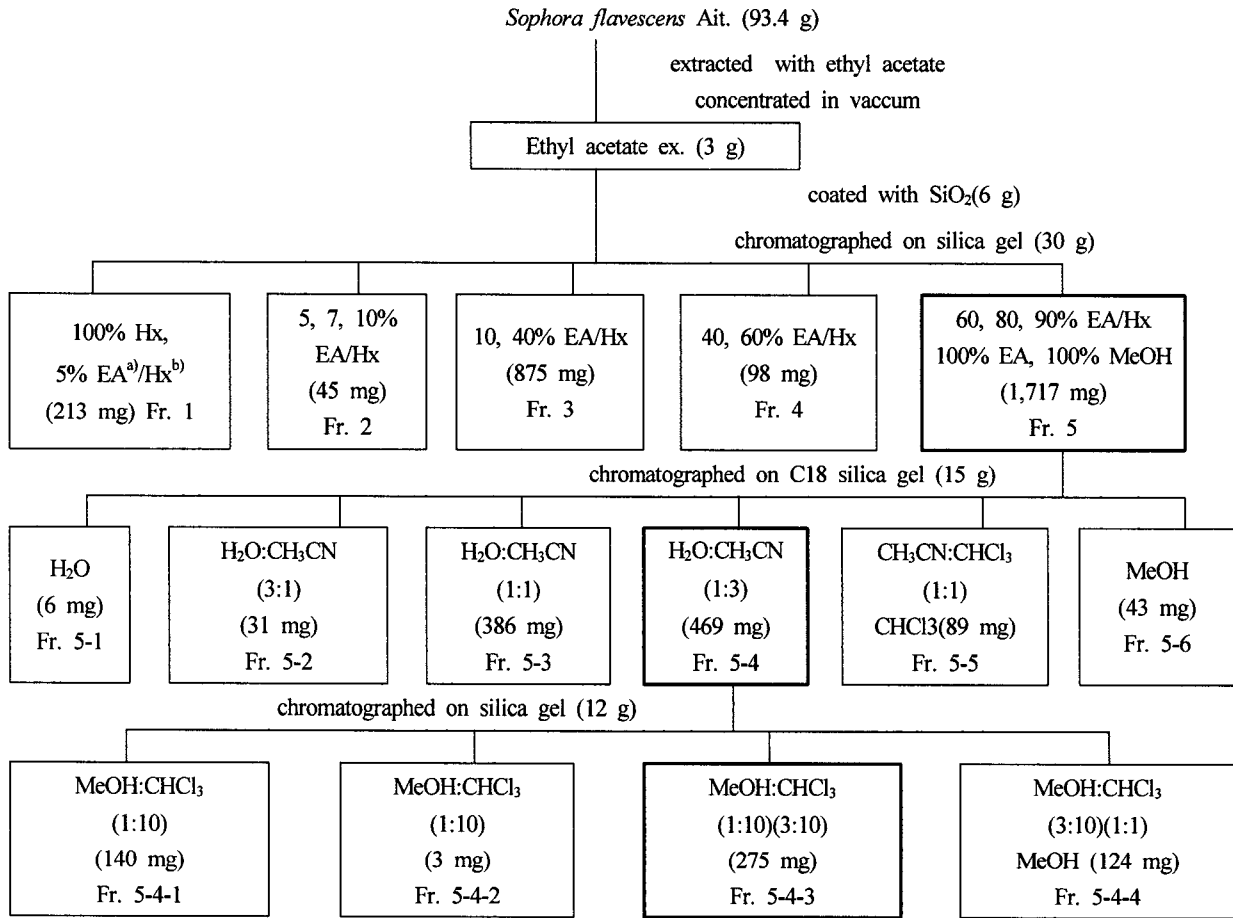
본 실험에 사용한 균주는 원광대학교 치과대학 구강미생물실험실에 보관 중인 *S. mutans* JC-2를 분양받아 사용하였으며, 배지는 BHI (brain heart infusion, Difco, USA)를 이용하였다.

4. 시료의 처리

조제한 시료는 즉시 4°C 냉장고에 저장하였고, 사용 직전에 10% DMSO에 희석하여 실험에 사용하였다.

5. 고삼의 용매추출과 에틸 아세테이트추출물의 *S. mutans*에 대한 항세균효과

*S. mutans*에 대한 항세균효과를 파악하기 위하여 최소억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 측정하였다. 액체배지 희석법을 이용하였으며, 96-microwell plate (Nunc, Denmark)에 각 추출물의 농도를 최고 200 μ g/ml에서 최저농도 3.13 μ g/ml까지 2배씩 연속적으로 희석하였다. *S. mutans*는 단일콜로니를 액체배지에 접종하고 다시 37°C 배양기에서 18시간동안 배양하여 균주의 활력을 높인 후 접종하였다. *S. mutans*가 접종된 각 배지를 37°C 배양기에서 24시간 배양한 후 ELISA (Spectra Max 250, Molecular Devices)에 의한 흡광도(optical density, OD) 600 nm에서 배지의 탁도를 확인하였고, 순수 배양액의 흡광도 값과 같은 결과를 얻은 것을 MIC로 결정하였으며, MIC의 수치가 낮은 것을 항세



^{a)} ethyl acetate, ^{b)} hexane

Fig. 1. Extraction and fractionations of *Sophora flavescens* Ait.

균효과가 높은 것으로 판정하였다.

6. Glucosyltransferase 활성 저해효과

GTase의 활성은 이 등¹⁵⁾의 방법을 사용하여 측정하였다. *S. mutans*를 37°C에서 24시간 동안 정지 배양한 것을 종배양액으로 하여 동일한 조건으로 BHI 배지 4.5 L에 2% 접종하여 배양하였다. 실온에서 6,000 rpm으로 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 조효소로 사용하였으며, 조효소에 의해 sucrose로부터 생성된 불용성 glucan을 spectrophotometer로 측정하였다. 즉, 시험관에 0.065 M potassium phosphate buffer (pH 6.5) 1 L에 sucrose 12.5 g, sodium azide 0.25 g을 함유한 기질용액 0.8 ml에 GTase 0.025 ml 및 고삼의 에틸 아세테이트 소분획 5-4-3 (대조군은 증류수)을 0.175 ml 첨가하여 최종용량이 1 ml이 되도록 조정하였다. 시험관을 수평에 대해 약 30° 각도로 세워 경사를 이루게 한 후, 37°C에서 24시간 반응시켰다. 반응

후 상층액을 버리고 3 ml의 증류수를 가하여 5초간 초음파처리(Ultrasonic Generator US-300, Nissei, Japan)를 한 후 형성되어 있는 glucan을 분산시켰다. 분산 직후 spectrophotometer(Hitachi, U 1100, Tokyo, Japan) 600 nm에서 흡광도 측정하였으며, 다음 식에 따라 저해율을 구하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{실험군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

7. 고삼 에틸 아세테이트 추출물 분획의 항균활성에 미치는 pH 및 온도의 영향측정

pH 또는 온도의 변화가 고삼 에틸 아세테이트 추출물 분획의 항균활성 안정화에 미치는 영향을 측정하였다. pH에 대한 안정성은 BHI 액체배지에 pH를 각

각 5.0~9.0 까지 조정한 후, 항세균효과가 나타난 고삼 에틸 아세테이트추출물의 소분획 5-4-3을 첨가하고 *S. mutans*를 접종하여 37°C 배양기에서 24시간 동안 배양한 후 ELISA (Spectra Max 250, Molecula Devecas) 630 nm에서 흡광도를 측정하여 평가하였다. 열에 대한 안정성은 고삼 에틸 아세테이트추출물의 소분획 5-4-3을 120°C에서 15분간 열 처리하여 각 농도의 시료를 첨가하고, *S. mutans*를 접종하여 37°C 배양기에서 24시간 동안 배양한 후, ELISA (Spectra Max 250, Molecula Devecas) 630 nm에서 흡광도로 평가하였다.

8. 통계처리

실험결과의 통계처리는 시료의 농도별 차이를 규명하기 위하여 일원분산분석 (one-way ANOVA)을 시행하였고, 유의한 차이가 있을 때 Duncan 다중범위 검정으로 사후검정을 하였으며, 유의수준은 0.05로 하였다. 모든 통계분석은 SPSS Win을 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 고삼 용매추출물의 *S. mutans*에 대한 항세균효과

고삼을 물과 유기용매인 클로르포름, 메탄올, 에틸 아세테이트, 헥산과 에탄올을 사용하여 추출한 물질로 *S. mutans*에 대하여 최소억제농도를 측정한 결과는 Table 1과 같다. 클로르포름, 메탄올과 에틸 아세테이트 추출물에 대한 최소억제농도는 각각 25 µg/ml, 에탄올 추출물은 50 µg/ml, 헥산 추출물은 200 µg/ml로 나타났다. 그러나 물추출물에서는 항세균효과가 200 µg/ml 이상으로 효과가 가장 낮았다.

2. 고삼 에틸 아세테이트 추출물 분획의 *S. mutans*에 대한 항세균효과

고삼의 에틸 아세테이트 추출물은 *S. mutans*에 대

하여 항세균효과가 25 µg/ml로 강하면서도 추출수율이 높기 때문에 이를 다음 분획과정의 시료로 하였다. 고삼 에틸 아세테이트 추출물을 silica gel이 충전된 컬럼 (1.5 cm×2.5 cm)으로, ethyl acetate : hexane (gradient)을 용매로 1차 분획하여 5 종류의 분획을 얻었다. 각각의 분획은 short and long wavelength에서 TLC (spots)의 수로 나누었다. 고삼 에틸 아세테이트 추출물의 1차 분획 5종류로 *S. mutans*에 대하여 최소억제농도를 측정한 결과는 Table 2와 같다. 분획 3에 대하여 12.5 µg/ml 농도에서 항세균효과가 나타났고, 분획 4는 50 µg/ml 농도에서, 분획 5는 25 µg/ml 농도에서 항세균효과가 나타났으나, 분획 1과 2에서는 항세균효과가 200 µg/ml농도 이상이었다. 따라서 *S. mutans*에 대한 항세균효과는 분획 3에서 가장 효과가 높은 것으로 나타났다.

고삼의 에틸 아세테이트 추출물 분획 3이 5보다 항세균력은 다소 높게 나타났으나, 분획 5가 가장 수율이 높게 나타나, 분획 5를 C 18 실리카 관 reverse flash chromatography방법으로 분리하여 6가지의 소분획을 얻었다. 고삼 에틸 아세테이트 추출물의 2차 소분획의 *S. mutans*에 대한 최소억제농도를 측정한 결과는 Table 3과 같다. 소분획 5-4는 12.5 µg/ml의 농도에서 소분획인 5-1, 5-2, 5-3, 5-5와 5-6에서는 항세균효과가 200 µg/ml농도 이상에서 관찰되었다.

2차 분획에서 *S. mutans*에 대하여 항세균효과 높게 나타난 소분획 5~4를 사용하여, 실리카 관 flash chromatography방법으로 분리하여 4종류의 3차 소분획을 얻었으며, *S. mutans*에 대한 최소억제농도를 측정한 결과는 Table 4와 같다. 분획 5-4-1의 *S. mutans*에 대한 항세균효과는 25 µg/ml농도로 나타났으며, 소분획 5-4-2는 12.5 µg/ml농도, 소분획 5-4-3은 3.13 µg/ml농도로 나타나, 가장 높은 항세균효과를 관찰할 수 있었다. 그러나 소분획 5-4-4은 항세균효과가 200 µg/ml농도 이상으로 관찰되었다. Namba 등¹¹⁾은 생약제 60 종류의 추출물을 이용하여 치아우식 원인

Table 1. Minimum inhibitory concentrations (MIC, µg/ml) of the extracts from *Sophora flavescens* Ait. using the various solvents against *Streptococcus mutans*

Strains	Fraction	MIC (µg/ml) ^{a)}					
		WSF ¹⁾	CFSF ²⁾	MTSF ³⁾	EASF ⁴⁾	HXSF ⁵⁾	ETSF ⁶⁾
<i>S. mutans</i>		>200	25	25	25	200	50

¹⁾WSF : Water extract, ²⁾CFSF : Chloroform extract, ³⁾MTSF : Methanol extract ⁴⁾EASF : Ethyl acetate extract, ⁵⁾HXSF : Hexane extract, ⁶⁾ETSF : Ethanol extract.

^{a)}Each extract was examined in triplicate experiments.

Table 2. Minimum inhibitory concentrations (MIC) of the 1st separated fractions which were extracted from *Sophora flavescens* Ait. on the TLC system

Strain	Fraction		MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}			
	Fr. 1	Fr. 2	Fr. 3	Fr. 4	Fr. 5	
<i>S. mutans</i>	>200	>200	12.5	50	25	

^{a)} All values are the mean of at least three determinations.

Table 3. Minimum inhibitory concentrations (MIC) of the 2nd separated fractions from the 1st fraction No. 5 with the silica gel column(C18)

Strain	Fraction		MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}			
	Fr. 5-1	Fr. 5-2	Fr. 5-3	Fr. 5-4	Fr. 5-5	Fr. 5-6
<i>S. mutans</i>	>200	>200	>200	12.5	>200	>200

^{a)} All values are the mean of at least three determinations.

Table 4. Minimum inhibitory concentrations (MIC) of the 3rd separated fractions the 2nd fraction No. 5-4 with the silica gel column(C18)

Strain	Fraction		MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}		
	Fr. 5-4-1	Fr. 5-4-2	Fr. 5-4-3	Fr. 5-4-4	
<i>S. mutans</i>	25	12.5	3.13	>200	

^{a)} All values are the mean of at least three determinations.

균의 생육억제 실험 결과, *Magnolia cortices*의 성분인 magnolol과 hinokiol에서 MIC가 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 농도로 나타났으며, 목 등³⁶⁾은 *S. mutans*에 대한 단삼 추출물의 MIC가 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 농도로 보고한 바 있다. 이와 비교할 때 고삼 추출물의 항세균력이 더 우수한 것으로 나타났다.

3. Glucosyltransferase (GTase) 활성 저해효과

GTase 활성을 저해하는 것이 치아우식증을 예방하는 방법이 될 수 있으므로, 고삼 에틸 아세테이트추출물의 소분획 5-4-3을 *S. mutans*에서 얻은 GTase에 적용하여 활성 저해도를 측정하였으며 그 결과는 Table 5와 같다. 소분획 5-4-3의 농도가 증가될수록 GTase 활성이 저해되어 불용성 glucan의 합성량이 감소되는 것으로 나타났다. 즉, 고삼 에틸 아세테이트 소분획 5-4-3의 첨가량이 0.0, 20, 40, 60, 80과 100 $\mu\text{g/ml}$ 일 때, 흡광도는 각각 0.532, 0.426, 0.263, 0.199, 0.142와 0.119로 나타났다. 불용성 glucan의 저해율은 농도에 따라 각각 0.0, 18, 48, 62, 73과 77%로 통계학적으로 유의하게 증가하였다 ($p < 0.05$). 이 등¹⁵⁾은 후박과 추출물이 대조군에 비해 불용성 부착성 glucan의 생성을 74% 억제하였으나, 박²⁶⁾은 Aloe vera peel

Table 5. Inhibitory effects of the final fractions No. 5-4-3 selected among the 3rd fractions on glucosyltransferase secreted by *Streptococcus mutans*

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	GTase activity (O.D. 600 nm)	Inhibition rate (%)
Control	0.532 \pm 0.011	0
20	0.426 \pm 0.064 ^a	18
40	0.263 \pm 0.050 ^b	48
60	0.199 \pm 0.063 ^b	62
80	0.142 \pm 0.100 ^c	73
100	0.119 \pm 0.004 ^d	77
F	55.731	
p	0.000	

^a The GTase activity was significantly lower than the concentration of control ($p < 0.05$).

^b The GTase activity was significantly lower than the concentrations of 20 and control ($p < 0.05$).

^c The GTase activity was significantly lower than the concentrations of control 20 and 40 ($p < 0.05$).

^d The GTase activity was significantly lower than the concentrations of control 20, 40, and 60 ($p < 0.05$).

에서 분리, 정제한 aloe-emodin과 barbaloin의 농도가 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 GTase 활성 저해율은 각각 99.8, 99.4%라고 하였다. GTase에 대한 활성 저해효과는 후박피 추출물보다 고삼 추출물의 효과가 더 우수하였지만, aloe-emodin과 barbaloin보다는 낮은 저해활성이 나타났다.

4. 고삼 에틸 아세테이트 추출물 분획의 항균활성에 미치는 pH 및 온도의 영향

고삼의 에틸 아세테이트 추출 분획은 천연물로서 pH 및 열에 안정해야 치아우식증예방제로 산업적 적용 가능성이 높아질 것이다. 먼저, *S. mutans*에 대하여 항세균력이 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타난 고삼의 에틸 아세테이트추출물 소분획 5-4-3에 대한 pH 안정성을 측정하기 위하여, BHI 액체배지의 pH를 5.0~9.0까지 조정된 후, 소분획 5-4-3를 첨가하고 항세균력을 측정된 결과는 Table 6과 같다. *S. mutans*에 대하여 항세균력이 나타난 농도는 각 실험시 공히 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 로서 고삼 에틸 아세테이트소분획은 pH의 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

온도에 대한 안전성을 측정하기 위하여 고삼의 에틸 아세테이트추출물의 소분획 5-4-3을 120°C에서 15분간 열처리를 한 후, *S. mutans*에 대하여 항세균력을 측정된 결과는 Table 7과 같다. 고삼의 에틸 아세테이트추출물 소분획 5-4-3을 첨가하여 항세균력을 측정된 결과 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 항세균효과가 관찰되어 열에 대하여 약간 불안정한 것으로 나타나 산업

Table 6. Effects of pH change on the antibacterial activities(MIC) of the final fraction No. 5-4-3

Strain	pH				
	5	6	7	8	9
<i>S. mutans</i>	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13

^{a)} All values are the mean of at least three determinations.

Table 7. Effects of heat treatment(120 °C, 15 min) on the antibacterial activity of the final fraction No. 5-4-3

Strain	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}
<i>S. mutans</i>	6.25

^{a)} All values are the mean of at least three determinations.

적으로 응용될 경우 높은 온도변화에 대한 추가 실험이 필요하다고 사료된다.

요 약

고삼에서 치아우식원인세균인 *S. mutans*에 대한 항세균효과와 GTase의 활성을 저해하는 물질을 탐색, 개발하여 식품 또는 치아우식예방제로 응용하기 위하여 연구를 수행하였다.

고삼 에틸 아세테이트추출물의 3차 분획의 소분획에서 *S. mutans*에 대한 최소억제농도가 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 으로 나타나, 높은 항세균효과를 관찰할 수 있었다. GTase 활성은 고삼의 에틸 아세테이트 추출물에 의하여 glucan의 형성을 저해하였으며, 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 77%의 저해율이 나타났고, 통계학적으로 유의한 효과가 나타났다 ($p < 0.05$). 이상의 결과로 고삼은 치아우식예방제로 개발 가능성이 있다고 기대된다.

감사의 말

본 연구는 2000년도 원광보건대학 연구비 지원에 의하여 수행된 결과로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Newbrun, E. : Cariology, The Williams and Wilkins Co., Baltimore, p. 34 (1978).
2. Menaker, L. : The Biologic Basis of Dental Caries, Harper and Row, Hagerstown, p. 68(1980)
3. Silverstone, L. M., Johnson, N. W., Haride J. M. and Williams, R. A. D. : Dental caries, The Macmillan Press, London, p. 6 (1981).
4. Hamada, S. and Slade, H. D. : Biology, immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol. Rev.*, 44, 331~384 (1980).
5. Inoue, M. and Koga, T. : Properties of glucans produced by *Streptococcus mutans*. *Infect. Immunity*, 25, 922~929 (1979).
6. Ellwood, D. C., Baird, J. K., Hunter J. R. and Longyear, V. M. C. : Variations in surface polymers of *Streptococcus mutans*. *J. Dent. Res.*, 55, 42 (1976).
7. Hanada, N. and Takehara, T. : (1-3)-alpha-D-glucan synthase from *Streptococcus mutans* AHT (serotype g) does not synthesise glucan without primer. *Carbohydr Res.*, 15, 168(1), 120~124 (1987).
8. Degar, M. D. and Walker, G. J. : Metabolism of the polysaccharides of human plaque. *Caries Res.*, 9, 21~27

- (1975).
9. Miyoshi, M., Imoto, T. and Kasagi, T. : Antieurodontic effect of various fractions extracted from the leaves of *Gymnema sylvestre* Yonago, *J. Med. Ass.*, 38, 127~137 (1987).
 10. Kozai, K., Miyake, Y., Kohds, H., Kamataka, S., Yamasaki, K., Suginaka, H. and Nagasaka, K. : Inhibition of glucosyltransferase from *Streptococcus mutans* by oleanolic acid and urosonic acid. *Caries Res.*, 21, 104~108(1987).
 11. Namba, T., Tsunozuka, M., Hattori, M., Kadota, S. and Kikuchi, T. : Studies on dental caries prevention by traditional chinese medicines-Screening of crude drugs for inhibitory action on plaque formation. *Proc. Symp. wakan-yaku* 15, 179~186 (1982).
 12. Fukui, K., Moriyama, T., Miyake, Y., Mizutani, K. and Tanaka, O. : Purification and properties of glucosyltransferase responsible for water-insoluble glucan synthesis from *Streptococcus mutans*. *Infect. Immun.*, 37, 1~9(1982).
 13. Yamashita, Y., Hanada, N., Itoh-Andoh, M. and Takehara, T. : Evidence for the presence of two distinct sites of sucrose hydrolysis and glucosyltransferase activities on 1,3-alpha-D-glucan synthase of *Streptococcus mutans*. *FEBS Lett.*, 30:243(2), 343~346(1989).
 14. 안봉진, 최장윤, 권익부, 니시오카 이트슈, 최청 : Jack Fruit 잎으로부터 Glucosyltransferase Inhibitor 물질의 분리 및 구조. *한국생약학회지*, 25, 347~353(1992).
 15. 이윤수, 박현주, 유재선, 박형환, 권익부, 이현용 : 후박피(*Magnoliae bark*)로부터 항충치 활성을 갖는 물질의 분리. *한국식품과학회지*, 30, : 230~236(1998).
 16. Uezono, Y., Tsumori, H., Shimamura, A. and Mukasa, H. : Purification and properties of extracellular glucosyltransferase from *Streptococcus bovis*. *Oral Microbiol. Immunol.*, 11, 115~120(1996).
 17. Smith, D. J. and Taubman, M. : Antigenicity and immunogenicity of a synthetic peptide derived from a glucanbinding domain of mutans streptococcal glucosyltransferase. *Infect. Immunol.*, 61, 2899~2905(1993).
 18. Spatafora, G., Rohrer, K. and Barnard, D. : A *Streptococcus mutans* mutant that synthesizes elevated levels of intracellular polysaccharide is hypercariogenic *in vivo*. *Infect. Immunol.*, 63: 2556~2563(1995).
 19. Houte, J. Van. : Bacterial specificity in the etiology of dental caries. *Int. Den. J.*, 30, 305~308(1980).
 20. Hughes, M., MacHardy, S. M., Sheppard, A. J. and Woods, N. C. : Evidence for an immunological relationship between *Streptococcus mutans* and human cardiac tissue. *Infect Immunol.*, 27, 576~588(1980).
 21. Shon, W. S., Yoo, Y. C. and Kim, C. Y. : The effect of NaCl and Bamboo salt on the growth of various oral bacteria. *J. Korean Academy of Dental Health.*, 15, 252~265(1991).
 22. 정대인, 노재승, 장기완 : 수종 flavonoids의 우식원인균에 대한 항세균 효과. *대한구강보존학회지*, 20, 189~202 (1996).
 23. Saeki, Y. : Effect of seaweed extracts on *Streptococcus sobrinus* adsorption to saliva-coated hydroxyapatite. *Bull. Tokyo Dent. Coll.* 35: 9~15(1994).
 24. Saeki, Y., Kato, T., Naito, Y., Takazoe, I. and Okuda, K. : Inhibitory effects of funoran on the adherence and colonization of mutans streptococci. *Caries Res.*, 30, 119~125(1996).
 25. 이현옥, 한규용, 한동민 : 참죽 정유의 항세균 및 항진균 효과. *한국식품영양학회지*, 12, 559~563(1999).
 26. 박정순 : Aloe vera 껍질 추출물의 항우식 및 항염증 활성에 관한 연구. 원광대학교 대학원 박사학위 논문 (1998).
 27. Bae K. H. Proc. : 2nd International Symposium on Recent Advances in Natural Products Research. p. 221(1990).
 28. Bae, K. H., Seo, W. J. and Park, T. J. : The antibacterial activities of phenylphenol derivatives against a cariogenic bacterium *Streptococcus mutans*. *Yakhak Hoeji*. 35, 7~10(1991).
 29. Bae, K. and Byun, J. : Screening of higher plants for antibacterial action. *J. Kor. Pharmacogn.* 18, 1(1987).
 30. Seo, W. S. and Bae, K. : Antimicrobial activities of hydroxybiphenyl allylhydroxy- biphenyl compounds against a cariogenic bacterium *Streptococcus mutans* OMZ 176. *Arch. Pharm. Res.* 9, 127(1986).
 31. 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. Pharm. Res.* 13, (1990).
 32. 배기환, 김봉희, 명평근, 변재화 : 충치균에 대한 생리활성 생약 성분의 분리 및 약효 평가(1). *약학회지*, 34, 106~111(1990). 39. 이종범, 천연물화학, 자유아카데미, 서울, p. 1(1997).
 33. 이종범, 천연물화학, 자유아카데미, 서울, p. 1(1997).
 34. Seoul National University Natural Products Research Institute: Traditional oriental medicines database. Seoul systems Co., Ltd.(1996).
 35. 신민교 : 임상본초학, 남산당, p. 314~316(1986).
 36. 조 훈, 원성란, 양은영, 김종수, 유일수, 류도근, 이정호, 강길웅, 백승화 : 고삼추출물의 항균효과(I). *약학회지*, 43, 419~422(1999).
 37. 안은영, 신동화, 백남인, 오진아 : 고삼으로부터 항균활성 물질의 분리 및 구조 동정. *한국식품영양학회지*, 30,

672~679(1998).

38. 목종수, 박옥연, 김영목, 장동석 : 용매와 추출조건에 따른 단삼(*Salvia miltiorrhiza*) 추출물의 항균력. *한국식품*

영양학회지, 23, 1001~1007(1994).

(2000년 10월 25일 접수)