

## 항균작용을 가진 수종 한약재의 구취억제 효과

김현경, 박재우, 윤성우, 류봉하, 김진성  
경희대학교 한의과대학 비계내과학교실

### Deodorizing Effect of Several Antibacterial Medicinal Herbs on Oral Malodor

Hyun-Kyung Kim, Jae-Woo Park, Seong-Woo Yoon, Bong-Ha Ryu, Jinsung Kim  
School of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University

**Objective:** We investigated the oral malodor inhibitory effect of *Scutellariae Radix* (SR), *Phellodendri Cortex* (PC), *Moutan Cortex* (MTC) and *Magnoliae Cortex* (MGC) for the development of a gargle solution.

**Methods:**

1. Against *P. gingivalis* and *Pr. intermedia*, the minimal bactericidal concentration (MBC) and the change of viable cells that were exposed to 1% each herbal extract were observed.
2. Deodorizing activity of 2% herbal extract and Garglin Mint<sup>®</sup> against methyl mercaptan were evaluated by gas chromatography (GC).
3. We used the salivary sediment system (SSS) as the malodor model.
4. The clinical examination was repeated 3 times by 2 subjects by Halimeter<sup>®</sup>. Baseline VSC of each subject was measured. Then, the control subject gargled with cysteine for 30 sec. After 4 min, subjects would gargle for 30 seconds with herbal extracts (2%) and Garglin Mint<sup>®</sup>. Subsequently, the concentration of VSC was measured at 0, 4, 8, 12, 16, 20, 40 and 60 minutes.

**Results:**

1. Against *P. gingivalis*, MBC of SR, PC and MTC was 0.1%, and MBC of MGC was 1%. Removal time of *P. gingivalis* was as follows; 5 hr in MGC, 24 hr in SR and PC, and 48 hr in MTC. Against *Pr. intermedia*, MBC of SR and PC was 0.5%, and MBC of MTC, MGC was 1%. Removal time of *Pr. intermedia* was as follows; 5 hr in MTC and 24 hr in SR, PC and MGC.
2. Deodorizing effect of herbal extracts against methyl mercaptan was as follows; MGC and MTC had 100%, SR had 82.22%, PC had 66.60%, Garglin Mint<sup>®</sup> had 40.54%.
3. In the experiment using SSS, PC and MTC had statistically significant malodor-inhibitory effects ( $p < .05$ ).
4. In the clinical examination, PC and MGC had statistically significant inhibitory effects at every elapsed time compared to the control subject. MTC had that until 40 min. SR had that at 0, 4, 8, 20, and 60 min.

**Conclusions:** SR, PC, MTC and MGC have an antibacterial effect and the chemical removable activity of the oral malodor caused by VSC. These four herbs could have potential as effective anti-malodor agents.

*Key Words* : oral malodor, anti bacterial effect, *Scutellariae Radix*, *Phellodendri Cortex*, *Moutan Cortex*, *Magnoliae Cortex*

서론

구취란 입안이나 인접기관에서 유래하는 냄새로, 자신이나 타인에게 불쾌감을 주는 냄새를 말한다<sup>1)</sup>. 구강 내 원인으로 발생하는 구취는 구강 내에 존재하는 혐기성 그람음성 세균에 의해, 음식물 찌꺼기, 탈락한 구강점막의 상피세포, 치주낭에서 유래된 백혈구 및 타액 등이 부패되면서 발생하는 methyl mercaptan (CH<sub>3</sub>SH), hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S)와 같은 휘발성 황 화합물 (volatile sulfur compound; VSC)에 의한 것으로 알려져 있다<sup>2)</sup>. 이에 따라 구강 내 구취를 감소시키기 위해 혀를 포함한 구강점막과 치아표면의 세균성 기질을 물리적으로 제거하는 방법<sup>3,4)</sup>과 구강 흡수제를 이용하여 VSC를 비롯한 냄새 성분을 제거하는 방법<sup>5)</sup>이 연구되어 왔다.

구취 제거용 흡수제에는 구취 발생 미생물의 성장과 증식을 화학적으로 억제할 수 있는 향균물질을 병용하는 것이 일반적이는데, 시판되는 구강 흡수제들은 구성성분이 화학합성제제로 장기간 사용에 따른 안전성과 부작용에 대한 우려가 높다<sup>6)</sup>. 이에 따라 천연물질을 사용한 흡수제 개발을 위한 연구들이 진행되었고<sup>7,8)</sup>, 한약재를 이용한 연구<sup>9-12)</sup>들도 발표되었으나, 구강 내 구취의 원인균들에 대한 향균작용에 관한 연구가 함께 이루어진 경우는 드물다.

본 연구에서는 구강 내 구취의 원인균들에 대한 향균작용이 있는 구강 흡수제의 개발을 위해, 임상에서 빈용 되는 한약재 중에 기존 연구에서 여러 병원성 미생물에 향균효과가 있음이 알려져 있고, 구취억제를 위한 내복 처방 혹은 흡수제에 이용된 바 있는 黄芩, 黄柏, 牡丹皮, 厚朴을 실험대상 약물로

선정하였다.

먼저 이들 한약재가 구취와 관련된 것으로 알려진 주요 구강 내 병원성 미생물인 *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Prevotella intermedia* (*Pr. intermedia*)<sup>13)</sup>에 대하여 향균효과가 있는지 확인하였고, 약재에 노출된 시간에 따른 균주의 변화를 관찰하였다. 또한 gas chromatography (GC)를 이용하여 구취와 관련된 주요 VSC 중 하나인 methyl mercaptan에 대한 한약재의 deodorizing activity를 측정하였으며, salivary sediment system을 이용해서 전타액에서 기인한 구취에 대한 억제 정도를 평가하였다. In vivo 연구로, cysteine 가글을 통해 구취를 유발한 후 무처치 시 시간 경과에 따른 VSC 농도 변화를 측정하였고, 한약재와 가그린 민트®를 가글하였을 때와 비교하였다.

이 과정을 통해 黄芩, 黄柏, 牡丹皮, 厚朴이 구취 제거용 구강 흡수제로써의 효능이 기대되는 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

방법

1. 시료 및 준비

경희의료원 한방병원 약제과에서 품질관리가 이루어진 黄芩, 黄柏, 牡丹皮, 厚朴을 구입하여 사용하였다(Table 1). 각 한약재 용량 500 g 당 2.5 L의 물을 넣어 水浴상에서 2시간 동안 환류 추출한 후 여과하였다. 그 여과액을 rotatory evaporator를 이용하여 감압 농축한 후 동결 건조하여 사용하였다. 각 한약재의 收率은 黄芩 44.6%, 黄柏 13.3%, 牡丹皮 30.2%, 厚朴 5.3%였으며, 실험 시 필요한 농도인

Table 1. List of Herbs for the Experiment

Common Name	Herbal Name	Scientific Name
黄芩	Scutellaria Radix	<i>Scutellaria bacicalensis</i> George
黄柏	Phellodendri Cortex	<i>Phellodendron amurense</i> Rupr
牡丹皮	Moutan Cortex	<i>Paeonia suffruticosa</i> Andr
厚朴	Magnoliae Cortex	<i>Magnolia officinale</i> Rehd. et Wilson

0.05, 0.1, 0.5, 1 및 2% 의 수용액 (v/v)으로 준비하여 사용하였다.

구취 억제 효과 관찰을 위한 양성 대조군으로 동아제약 주식회사의 가그린 민트®를 사용하였다.

## 2. 항균검사

### 1) 실험균주의 배양

실험균주인 *P. gingivalis* 2561과 *Pr. intermedia* ATCC 25611을 Half-strength brain heart infusion (BHI; BD)와 yeast extract (5 mg/ml ; Duchefa Biochemie, Netherlands), hemin (5 µl/ml), vitamin K (0.2 µg/ml)가 첨가된 액체배지에서 12시간동안 37°C의 조건으로 혐기적 (N<sub>2</sub> 85%, H<sub>2</sub> 10%, CO<sub>2</sub> 5%) 배양을 하였다.

### 2) 최소살균농도 측정

각각의 액체배지 10 ml에 黃芩, 黃柏, 牡丹皮, 厚朴의 농도가 0.05, 0.1, 0.5, 1 및 2%가 되도록 약제 건조 분말을 첨가한 후 121°C에서 15분간 멸균하였다. 혐기적으로 12시간 배양한 실험균주를 각각 한약재가 첨가되지 않은 대조군배지에 접종하여 분광광도계 (Ultraspec 2000, Pharmacia Biotech, USA)로 600 nm에서 흡광도가 0.1이 되도록 하였다. 대조군배지에서 흡광도 0.1이 되도록 접종 하였을 때와 같은 양의 균액을 한약재가 첨가되어 있는 실험배지에 접종하고, 혐기적으로 24시간동안 배양하였다.

균주 액의 100 µl를 tryptic soy broth에 yeast extract (1 mg/ml), hemin (5 µg/ml), vitamin K (0.2 µg/ml), micro agar (1.5%), 면양적혈구 (sheep blood)가 첨가된 고체배지에 무균적으로 도말하고 37°C 혐기 배양기에서 48시간 배양하여 colony의 형성 여부를 관찰하였다. Colony가 관찰 되지 않은 최소 농도를 MBC로 결정하였다.

### 3) 한약재 1% 농도에서의 시간에 따른 균주의 변화 측정

미리 준비해둔 멸균된 phosphate-buffered saline (PBS) 900 µl가 들어있는 micro tube에, 1% 농도의

한약재가 첨가된 액체배지에서 배양된 균액 100 µl를 넣고 1:10 단계 희석 하였다. 희석된 균액 100 µl를 고체배지에 고르게 퍼지도록 유리막대로 도말하여 혐기적으로 배양하면서, 0, 0.5, 5, 24 및 48 hr에 형성된 집락수를 관찰하여, 시간에 따른 생균수의 변화를 정량적으로 측정하였다.

## 3. 가스 분석기를 이용한 methyl mercaptan에 대한 냄새 제거 활성 측정

### 1) Methyl mercaptan 표준액 제조

methyl mercaptan 표준액 (1 µg/µl in benzene: Wako Pure Chem., Osaka, Japan) 2 ml를 198 ml 에탄올 용액에 용해시켜 4°C에 냉장 보관하여 사용하였다. 구취억제 활성측정 시 이 표준액을 증류수로 10배 희석 (1 µg/ml)하여 사용하였다.

### 2) 냄새 제거 활성 측정

Tokita14 등의 방법을 이용하여 냄새 제거 활성을 측정하였다.

黃芩, 黃柏, 牡丹皮, 厚朴의 2% 수용액 (v/v) 및 가그린 민트® 4 ml와 0.2 M potassium phosphate buffer (PPB) 1 ml를 내용량 50 ml의 vial에 넣고 pH를 7.5로 조절하였다. 여기에 methyl mercaptan 표준액 (1 µg/ml) 1 ml를 가하여 즉시 실리콘 캡으로 밀봉하여 vortex mixer로 5초간 교반하고 37°C에서 6분간 배양한 후, syringe를 이용하여 vial의 headspace에서 유리된 methyl mercaptan 200 µl를 취하여 불꽃광전감지기 (flame photometric detector; FPD)가 장착된 가스 분석기 (gas chromatography; GC)에 주입하여 methyl mercaptan 함량을 분석하였다.

이때 냄새 제거 활성 (deodorizing activity)은 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\text{냄새 제거 활성 (\%)} = \frac{C - S}{C} \times 100$$

C: control의 methyl mercaptan 피크 면적

S: 시료 첨가시의 methyl mercaptan 피크 면적

#### 4. 타액 침전물 모델을 이용한 냄새 제거 활성 측정

##### 1) 타액의 채취 및 준비

혼합된 박테리아로 구성된 타액 내 침전물을 사용하는 실험을 위하여 파라핀 왁스로 자극하여 전타액을 수집하였다. 실험은 경희의료원 임상시험 심사위원회의 심사를 거쳐 피험자로부터 동의를 얻은 후 실시되었고, 타액은 특별한 투약 경력이 없는 건강한 2인에게서 채취되어 모아졌다. 실험 참가자는 실험 전 12시간 정도의 음식물 섭취 및 양치질과 같은 일체의 구강위생을 제한하였다.

타액은 50 ml polyethylene test tube에 모아져 얼음으로 채워진 비이커 안에 보관하였고, 4°C에서 15분 동안 1740×g로 원심분리 하였다. 그 결과 얻어진 상청액을 따로 분리하여 얼음으로 채워진 비이커에 보관하였다. 타액 침전물은 25 ml의 무균의 증류수로 보텍스 교반기를 이용하여 혼합되었다. 이 과정은 타액 상청액이 포함되지 않은 순수의 침전물을 얻기 위해 3회 반복되었으며 무균의 증류수를 이용하여 50% 농도 (v/v)의 부유물로 제조되었다.

##### 2) 배양준비

배양혼합물은 각각 750 µl로 준비하였다. 먼저 각각의 시험관에 16.7%의 타액 침전물 250 µl을 넣은 후, 6 mM의 cysteine 및 무균의 증류수 250 µl를 분주하였다. 여기에 실험군은 각각 黄芩, 黄柏, 牡丹皮, 厚朴의 2% 수용액 (v/v) 250 µl와 가그린 민트® 250 µl를 넣었고, 대조군에는 무균의 증류수 250 µl를 넣었다.

##### 3) 냄새의 측정

배양 혼합물에서 발생하는 VSC를 측정하기 위해 Halimeter®(Model; RH-17, Interscan co., USA)를 이용하였다. Halimeter® 주입구에 10cm 정도의 튜브를 부착하여 각 배양 혼합물의 head space에 삽입한 후 측정하였다. 측정치는 배양시작점부터 0, 15, 30 min과 1, 2, 3, 4 및 24 hr에 측정하였다.

#### 5. Halimeter®를 이용한 임상실험

본 실험의 방법은 Kleinberg 등<sup>15)</sup>의 cysteine challenge test를 본 연구에 적합하게 수정하여 이용하였고, 실험은 경희의료원 임상시험 심사위원회의 심사를 거쳐 피험자로부터 동의를 얻은 후 실시되었다. 2명의 실험참가자는 최근 6개월 이내 특별한 투약 경력이 없는 건강한 사람으로 실험 전 3시간 동안 음식물 섭취 및 양치질과 같은 일체의 구강위생이 제한되었다. 각각의 실험에 앞서 먼저 5분 간격으로 3회의 기본적인 구취수준을 측정하였고, 이를 기저 구취 (baseline) 라고 하였다.

먼저 대조군은 구취 유발을 위해 3 mM의 cysteine 용액 10 ml를 30초간 가글한 후, 다른 처치 없이 4분 30초간 안정한 후를 기준점 (0분)으로 체크하고, 4, 8, 12, 16, 20, 40 및 60분 경과 시간에 VSC의 농도를 측정하여, 구강내의 시간에 따른 자연적인 변화를 관찰하였다.

실험군은 cysteine 용액으로 가글하는 과정까지는 대조군과 동일하게 하고, 4분안정 뒤 黄芩 2% 수용액 (v/v) 10 ml로 30초간 가글하고, 이 때를 기준점 (0분)으로 하여 앞서와 동일한 경과시간에 구강내의 VSC 농도를 측정하였다. 나머지 黄柏, 牡丹皮, 厚朴 및 가그린 민트®도 동일한 방법으로 시행하였다.

모든 개별 실험은 2명의 실험참가자가 3회씩 반복 측정 하였고, 실험에서 얻어진 결과인 VSC의 농도를, 각 실험에 앞서 측정해둔 baseline으로 나누어 VSC relative ratio로 표시하였다. 즉 VSC relative ratio는 cysteine으로 구취 유발 후 한약재를 가글했을 때, 각 측정 시간에 baseline의 몇 배로 VSC가 증가되어 있는지를 측정한 값이다. 각 실험의 시간 대별로 대조군의 측정치와 비교하여 VSC 농도가 기저치의 몇 배로 상승하였는지 비교하였다(Fig. 1).

#### 6. 통계처리

수집된 자료는 SPSS 12.0 for Windows (SPSS Inc., USA)를 이용하여 분석, 처리하였다. Salivary sediment system은 Wilcoxon signed rank tests를 이

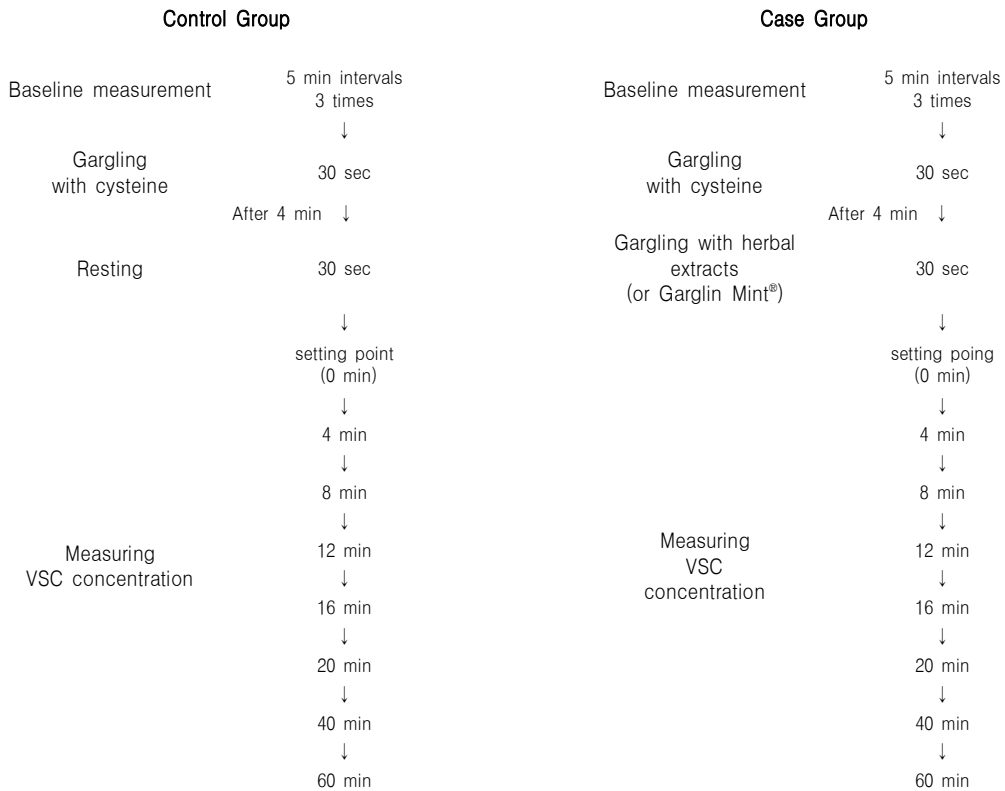


Fig. 1. Flow chart for the deodorizing assay in clinical examination

용하였고, Halimeter<sup>®</sup>를 이용한 임상실험은 Mann-Whitney test를 이용하였다. 모든 자료는 mean ± S.D로 표시 하였고, p<.05인 경우 유의성이 있다고 인정하였다.

## 결 과

### 1. 구강내 병원성 균주에 대한 항균검사 결과

- 1) *P. gingivalis* 2561에 대한 최소살균농도와 시간에 따른 균주의 변화
- P. gingivalis* 2561에 대한 黄芩, 黄柏, 牡丹皮의

Table 2. MBC of each Herbs in *P. gingivalis* 2561 and *Pr. intermedia* ATCC 25611

Herbs	MBC*	
	<i>P. gingivalis</i> 2561	<i>Pr. intermedia</i> ATCC 25611
Scutellaria Radix	<0.1%	<0.5%
Phellodendri Cortex	<0.1%	<0.5%
Moutan Cortex	<0.1%	<1%
Magnoliae Cortex	<1%	<1%

\* MBC: minimum bactericidal concentration

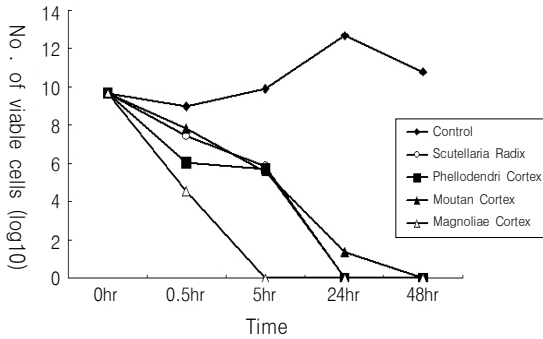


Fig. 2. Inhibitory effects of medicinal herbal extracts (1%) on *P. gingivalis* 2561

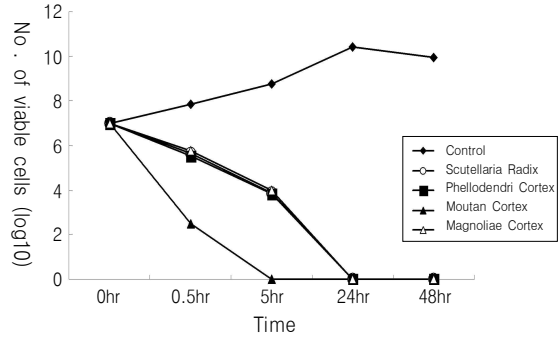


Fig. 3. Inhibitory effects of medicinal herbal extracts (1%) on *Pr. intermedia* ATCC 25611

최소 살균 농도는 0.1%, 厚朴은 0.5%였다. 한약재 1%를 첨가하여 배양시간에 따른 균주의 변화를 관찰한 결과 厚朴은 5시간 경과부터 colony가 관찰되지 않았고, 黄芩, 黄柏은 24시간에, 牡丹皮는 48시간에 모두 사멸하였다(Table 2, Fig. 2).

2) *Pr. intermedia* ATCC 25611에 대한 최소살균 농도와 시간에 따른 균주의 변화

*Pr. intermedia* ATCC 25611에 대한 최소 살균 농도는, 黄芩 黄柏은 0.5%, 牡丹皮, 후박은 1%였다. 한약재 1%를 첨가하여 배양시간에 따른 균주의 변화를 관찰한 경우 牡丹皮는 5시간, 黄芩, 黄柏, 厚朴은 24시간에 모든 균이 사멸하였다(Table 2, Fig. 3).

2. 가스 분석기를 이용한 methyl mercaptan에 대한 냄새 제거 활성 측정 결과

methyl mercaptan에 대한 냄새 제거 활성은, 가그린 민트®는 40.54%인데 비하여, 厚朴과 牡丹皮는 각각 100%로 우수한 냄새 제거 활성을 나타내었고, 黄芩은 82.22%, 黄柏은 66.60% 였다(Fig. 4).

3. 타액 침전물 모델을 이용한 냄새 제거 활성 측정 결과

전타액의 원심 분리 후 얻어진 침전물 중의 세균과 첨가된 cysteine의 대사과정에서 발생하는 VSC에 대하여 黄柏과 牡丹皮는  $p < .05$ 의 유의한 억제효과를 나타내었고 (Fig. 6,7), 黄芩과 厚朴 및 가그린 민트®의 경우 유의한 차이가 없었다(Fig. 5,8,9).

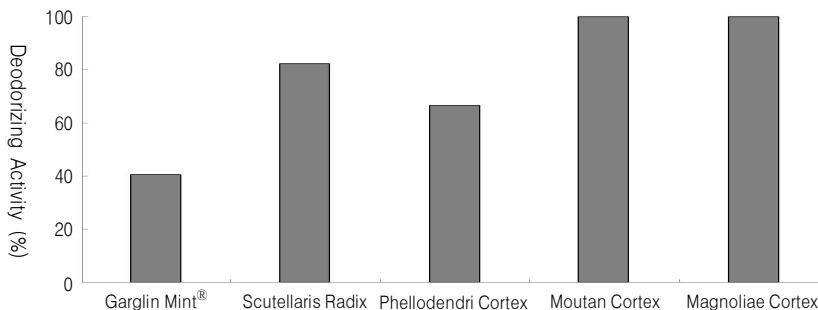


Fig. 4. Deodorizing activity of Garglin Mint® and medicinal herbal extracts

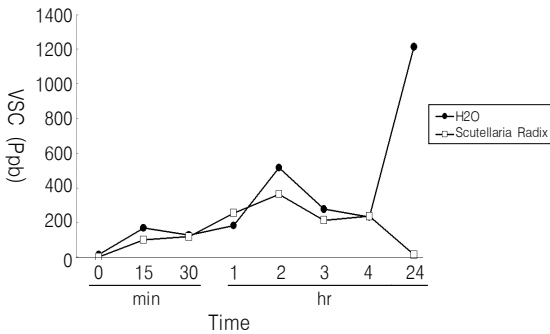


Fig. 5. Halimeter<sup>®</sup> measurement on inhibitory effect of Scutellaria Radix on VSC production by the oral mixed bacteria with cysteine ( $p=0.123$ , Wilcoxon signed rank tests)

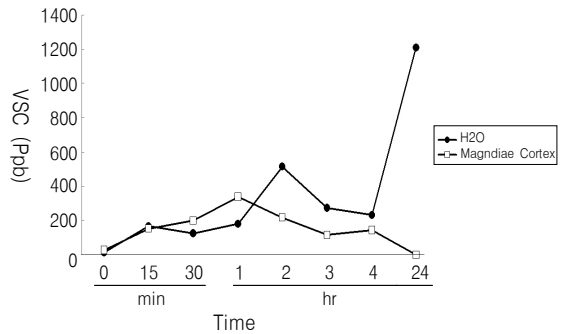


Fig. 8. Halimeter<sup>®</sup> measurement on inhibitory effect for Magnoliae Cortex on VSC production by the oral mixed bacteria with cysteine ( $p=0.327$ , Wilcoxon signed rank tests)

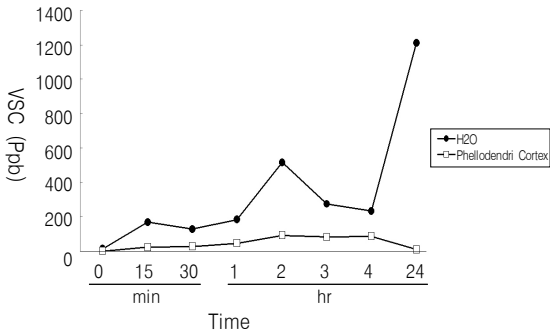


Fig. 6. Halimeter<sup>®</sup> measurement on inhibitory effect of Phellodendri Cortex on VSC production by the oral mixed bacteria with cysteine ( $p=0.012$ , Wilcoxon signed rank tests)

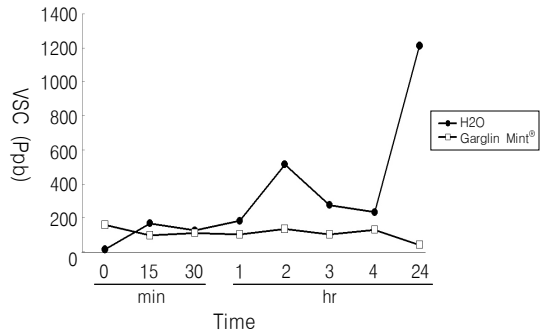


Fig. 9. Halimeter<sup>®</sup> measurement on inhibitory effect for Garglin Mint<sup>®</sup> on VSC production by the oral mixed bacteria with cysteine ( $p=0.069$ , Wilcoxon signed rank tests)

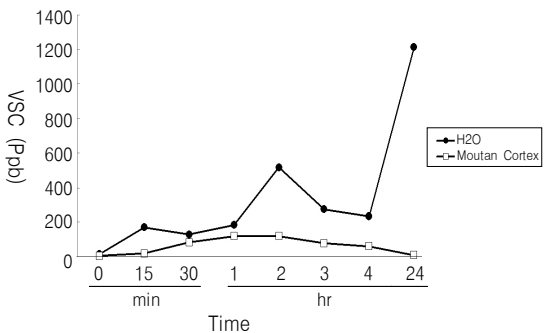


Fig. 7. Halimeter<sup>®</sup> measurement on inhibitory effect of Moutan Cortex on VSC production by the oral mixed bacteria with cysteine ( $p=0.012$ , Wilcoxon signed rank tests)

#### 4. Halimeter<sup>®</sup>를 이용한 임상실험 결과

cysteine을 가글하여 대사과정에서 발생하는 hydrogen sulfide에 대하여 2%농도의 黄柏과 厚朴을 가글한 경우에는 모든 시간대에서 대조군에 비해 유의한 구취억제 효과가 있었다. 黄芩을 가글한 경우에는 0, 4, 8, 20, 60분 경과 시점에서는 대조군에 비해 유의한 억제 효과가 있었고, 12, 16, 40분에서는 측정값이 대조군보다 낮았으나 유의한 차이는 없었다. 牡丹皮는 40분 경과 시점까지는 대조군에 비해 유의한 차이가 있었다.

cysteine 가글 후 가그린 민트<sup>®</sup>로 가글 한 군은 대

Table 3. VSC Relative Ratio of 2% Water Solution of Medicinal Herbal Extracts by Halimeter® with the Passage of Time

	N	0	4	8	12	16	20	40	60(min)
control group (Cysteine)	6	19.14±10.6 <sup>a)</sup>	12.34±8.46	9.01±5.50	4.91±2.69	2.90±1.35	2.43±1.01	2.17±0.82	2.02±0.73
Garglin Mint®	6	12.32±6.77	9.67±5.21	6.70±3.62	4.93±2.36	3.83±1.68	2.83±1.28	2.09±0.94	2.07±0.85
<i>p-value</i>		.310	.818	.699	.818	.394	.589	1.00	.589
Scutellaria Radix	6	3.97±2.18	3.28±1.71	2.74±1.58	2.13±1.31	1.77±1.10	1.26±0.59	1.23±0.41	1.18±0.52
<i>p-value</i>		.015*	.015*	.009*	.065	.180	.026*	.065	.041*
Phellodendri Cortex	6	4.01±2.07	3.36±1.59	2.41±1.09	1.92±0.78	1.30±0.52	1.35±0.73	0.95±0.39	1.00±0.27
<i>p-value</i>		.026*	.015*	.009*	.015*	.009*	.041*	.041*	.041*
Moutan Cortex	6	5.58±2.68	4.69±2.69	2.79±1.34	1.90±1.01	1.33±0.56	1.18±0.64	1.14±0.59	1.10±0.56
<i>p-value</i>		.041*	.041*	.009*	.026*	.026*	.026*	.026*	.065
Magnoliae Cortex	6	4.98±2.58	3.05±1.36	1.97±0.65	1.41±0.31	1.12±0.28	1.02±0.24	0.90±0.20	0.97±0.34
<i>p-value</i>		.015*	.009*	.002*	.002*	.002*	.002*	.041*	.041*

VSC relative ratio = VSC concentration / baseline

<sup>a)</sup> Mean±Std. Deviation

\*: Statistically significant by Mann-Whitney test (p<.05)

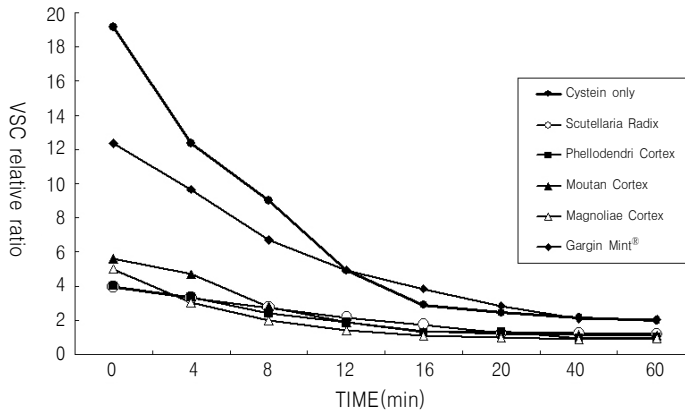


Fig. 10. The change of VSC relative ratio of gargling species with the passage of time  
VSC relative ratio = VSC concentration / baseline

조건에 비해 모든 시간대에서 구취를 감소시키는 유의한 효과가 없었다(Table 3, Fig. 10).

### 고찰

구취는 입이나 코를 통해 배출되는 호기의 냄새로 타인으로 하여금 불쾌감을 느끼게 하는 냄새를

말한다<sup>1)</sup>. 실제로 입을 통해서 냄새를 확인 할 수 있는 진성 구취는 유발 부위에 따라서 구강 내 원인과 구강 외 원인으로 분류할 수 있다. 이 가운데 구강 내 원인이 약 85% 내외를 차지하고<sup>16)</sup> 주로 구강 내 설태와 관련된 세균성 부패와 그 대사산물인 VSC가 주요 악취 물질이다<sup>2)</sup>. 이 VSC는 황을 함유한 아미노산, 펩타이드 및 단백질로 이루어지는 기질에



대한 그람음성 혐기성 세균의 부패 작용을 통해 발생하는 것으로 알려져 있다. 300여 구강 내 세균 중에 그람음성 세균인 *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Veillonella alcalescens*, 등이 구취의 주요 원인균으로 보고 되었다<sup>13)</sup>.

따라서 구강 내 구취를 감소시키기 위해서 혀를 포함한 구강점막과 치아표면의 세균성 기질을 물리적으로 제거하거나, VSC를 비롯한 냄새 성분을 화학적으로 제거할 수 있는 함유제를 사용하는 방법이 널리 이용되고 있다. 구취제거용 함유제에는 구취 발생 미생물의 성장과 증식을 화학적으로 억제할 수 있는 chlorohexidine, triclosan, cetylpyridinium chloride 등의 항균물질을 병용하는 것이 일반적이다. 그 중 chlorohexidine은 대표적인 치료용 항균 함유제로 널리 이용되어 왔으나, 장기간 사용 시 치아변색을 유발하고, 점막에 강한 자극을 주는 등 일부 부작용이 있다<sup>6)</sup>. 이러한 화학적 합성품의 안전성에 대한 문제가 제기되고 화학적 항생제의 장기 사용으로 인해 항생제에 내성을 가진 병원균이 점점 늘어나고 있는 현실에서, 보다 안전하게 사용될 수 있는 천연 항균물질을 이용하려는 시도들이 다양하게 이루어지고 있다.

기존에 천연물을 이용한 구취억제 효과에 대한 연구로써 국내에서 피톤치드<sup>7)</sup>, 해조류 추출액<sup>8)</sup>의 구취감소 효과에 관한 연구가 있었고, 升麻, 地骨皮, 甘草, 黄芩 및 玉池散을 이용하여 임상시험, 항균작용 및 gas chromatography를 통한 구취억제 연구 보고<sup>9)</sup>, 清口甘露水, 丁香丸 등 한약 처방을 이용한 구취억제 작용에 대한 연구<sup>10-12)</sup>가 있었다. 국외에서도 녹차의 구강 내 휘발성 황 화합물에 대한 효과<sup>17)</sup>, 차 폴리페놀과 黄芩이 구취에 미치는 효과 등<sup>18,19)</sup>의 연구가 발표되었다.

좋은 구강 함유제로 이용되기 위해서는 구강 내 병원성 미생물에 대한 일정한 항균효과를 가지면서, VSC를 비롯한 냄새 성분을 화학적으로 제거할 수 있고, 독성이 없고, 구강점막에 자극이 없어야 한다. 또한 맛과 향이 좋고, 입안을 상쾌하게 만들며 오랜

시간 향기가 머물 수 있으며, 구강 내 타액분비를 증가시킬 수 있다면 더욱 좋을 것이다<sup>11)</sup>.

본 연구는 구강 함유제 개발을 위해, 임상에서 이용 되는 한약재 중에 구강 함유제로서 효과가 있을 것으로 기대되는 약재를 탐색하여 구취억제의 효과와 그 기전을 확인하고자 하였다. 문헌 검색을 통해, 기존에 항균작용이 우수하다고 보고되고, 독성이 없으며, 임상에서 쉽게 이용이 가능한 한약재를 선별하였고<sup>20,21)</sup>, 구취억제를 위한 내복 처방 혹은 함유제에 다빈도로 이용되었거나<sup>22,23)</sup>, 초보적인 연구에서 구취억제 효과가 있을 것으로 보고된<sup>24)</sup> 黄芩, 黄柏, 牡丹皮, 厚朴을 실험 대상 약물로 선정하였다.

黄芩은 性寒味苦하고 清热燥湿, 泻火解毒의 효능이 있는데<sup>20)</sup>, 기존 연구에서 黄芩과 黄柏이 *Shigella* sp.에 대해 항균력이 있음을 확인하였고<sup>25)</sup>, 조 등은 黄芩이 세포막 파괴를 통해 *B. cereus*, *E. coli*, *L. monocytogenes* 등에 항균작용이 있음을 보고하였다<sup>26)</sup>. 이 등<sup>9)</sup>은 黄芩 추출물이 구강내의 병원균에 대해 일정한 항균작용을 가지고 있음을 확인하였으나, *P. gingivalis* 및 *Pr. intermedia*에 대한 연구는 없었다.

黄柏은 性寒味苦하고 清热燥湿, 泻火解毒, 退虚热的 효능이 있다<sup>20)</sup>. 손 등<sup>27)</sup>은 黄柏 추출물이 *S. aureus* 와 *E. coli*를 비롯한 여러 식중독 균에 강한 항균작용이 있음을 확인하였고, 박 등<sup>28)</sup>은 黄柏이 Gram 양성균에 대해 증식억제효과가 있다고 보고하였다. ZHU 등<sup>24)</sup>의 연구에서 黄柏이 VSC 농도 감소에 효과가 있는 것으로 보고한 바 있다.

牡丹皮는 性微寒味辛苦하고 清热凉血, 活血散瘀의 효능이 있는데<sup>20)</sup>, 채 등<sup>29)</sup>은 牡丹皮 추출물이 *E. coli* O157:H7에 대해 우수한 생육저해 효과가 있음을 확인하였고, 권 등<sup>30)</sup>은 牡丹皮 추출물이 *S. aureus*, *S. epidermidis*에 대해 항균력이 우수하다고 보고하였다. 또한 ZHU 등<sup>24)</sup>의 연구에서 牡丹皮는 VSC 농도를 낮추는 효과가 우수하고, 항균작용도 우수하다고 하였다.

厚朴은 性温味辛苦하고, 燥湿消痰, 下气除满, 健胃, 消化作用등의 효능이 있다<sup>20)</sup>. 주요 성분으로 magnolol을 함유하고 있으며, 厚朴에서 추출한 물질

이 충치세균에 대한 항균효과가 있음이 보고되었고<sup>31)</sup>, 치주질환 병원균에 대해서도 우수한 항균효과를 보이는데 균 자체의 살균 뿐 아니라 균에 의해 생산되는 collagenase의 활동억제 능력이 우수하여, 세균 독성에 의한 조직괴사 및 염증을 감소시키는 것이 연구되었다<sup>32)</sup>. 최근에는 厚朴엑기스를 함유한 민트와 검류가 구취억제에 효과 있는 것으로 보고되었다<sup>33)</sup>.

구취를 진단하는 방법은 여러 가지가 있는데, 코로 냄새를 직접맡는 관능적 방법, 주요 냄새 물질로 알려진 VSC인 methyl mercaptan ( $\text{CH}_3\text{SH}$ ), hydrogen sulfide ( $\text{H}_2\text{S}$ ), dimethyl sulfide ( $(\text{CH}_3)_2\text{S}$ )의 농도를 10억분의 1단위 (ppb)로 측정할 수 있는 Halimeter<sup>®</sup>를 이용하는 방법, 호기속의 개개요소를 동정하고 정량화 할 수 있는 GC를 이용하는 방법이 있다<sup>34)</sup>. 관능적 검사 방법은 가장 빠르고 믿을만한 방법이나 주관적이며 질적인 평가만 가능하다는 한계가 있고, GC를 이용한 방법과 관능적 검사 방법사이에 상관관계를 밝히기 위한 연구<sup>35)</sup>에서는, 실험대상자가 실험과정에 익숙해졌을 경우, 두 방법이 모두 구취정도를 측정하는데 효과적이라는 것이 밝혀졌다. Halimeter<sup>®</sup>는 VSC에 대해서는 측정이 가능하지만, 만약 냄새의 원인물질이 VSC가 아니라, 질소 화합물이나 휘발성 지방산이라면 측정할 수 없게 된다. 장점은 진료실에서 사용이 간편하고, 재현성이 있으며, 임상연구 결과 관능적인 방법을 이용한 냄새평가와 Halimeter<sup>®</sup>를 이용한 황 화합물의 수치사이에 밀접한 상관성이 있는 것으로 밝혀져<sup>39)</sup>, 실제 진료실에서 치료경과를 평가하거나 구취정도를 측정하는데 널리 이용되고 있다.

또한 최근에는 구강 내 전타액 (whole saliva)을 이용하여 구강 내에서 세균의 부패 과정을 통해 생성되는 구취를 모델화하는 방법인 salivary sediment system이 구취연구에 이용되고 있다. 전타액은 타액선에서 유래된 타액 혼합물로, 여기에는 탈락된 세균과 상피세포가 혼재되어 있으며, 치주 염증에 따라서 치주 틈새와 치주낭에서 유래된 체액도 포함되어 있기도 한다. 이 가운데 구취 생성에 대한 핵심적인 역할은 타액에 혼합되어 있는 세균으로 구강

내에 존재하는 기질에 대한 세균의 부패과정에서 악취를 생성한다. 이들은 많은 수가 구강내연조직 표면으로부터 지속적으로 탈락되는 상피세포에 부착되어 있다. 그러므로 이러한 전타액을 채운과 같은 온도에서 다양한 시간대에 걸쳐 배양하면 구강에서 발생하는 것과 유사한 악취를 생성하게 된다<sup>40)</sup>.

먼저 黄芩, 黄柏, 牡丹皮, 厚朴의 구강 흡수제로서의 역할을 확인하기 위해 실험 대상 약물이 구취를 유발하는 것으로 알려진 미생물에 대해 항균효과가 있는지를 확인하였다. 약 300여종의 구강 내 미생물 중에 *P. gingivalis*와 *Pr. intermedia*는 혈청단백질로부터 주요 냄새물질인 methyl mercaptan과 hydrogen sulfide를 생성하여, 치주질환과 연관된 구취를 내는 균종 중에 대표적인 것으로 알려져 있다<sup>13,41)</sup>. *P. gingivalis*는 黄芩, 黄柏, 牡丹皮 0.1%, 厚朴 1% 농도에서 살균되었다. 또한 1% 농도의 약물에 노출되었을 때, 厚朴에서는 5시간, 黄芩 黄柏은 24시간, 牡丹皮는 48시간 경과 후 균이 모두 사멸되었다. *Pr. intermedia*는 黄芩, 黄柏 0.5%, 厚朴과 牡丹皮 1% 농도에서 살균되었다. 1% 농도의 약물에 노출되었을 때, 牡丹皮는 5시간, 黄芩, 黄柏, 厚朴은 24시간 경과 후 모든 균이 사멸되었다. 이 결과로 黄芩, 黄柏, 牡丹皮, 厚朴이 구취발생과 관련된 주요 균주에 대해 적절한 항균력을 담보하는 한약재 선택의 후보임을 알 수 있다.

주된 악취 유발원인은 hydrogen sulfide와 methyl mercaptan이라고 알려져 있고, 이를 측정하는 방법의 하나로 1970년 이후로부터 연구와 임상실험에서 GC-FPD 기기가 이용되었다. 이 기기는 냄새의 masking effect가 분석을 방해하지 못하기 때문에 냄새방지 기능을 판단하는데 효과적으로 이용될 수 있다<sup>42)</sup>. Tokita 등<sup>16)</sup>의 방법으로, GC-FPD를 이용하여, methyl mercaptan에 대한 억제 작용을 측정한 결과, 牡丹皮와 厚朴은 100% 억제하는 효과를 보였다. 이<sup>9)</sup> 등의 연구에서 黄芩이 60% 정도의 deodorizing activity를 나타낸 바 있으나, 본 연구에서는 黄芩은 82.22%였고, 黄柏도 66.60%의 억제작용으로 가그린 민트<sup>®</sup> 40.54%에 비해 우수한 deodorizing activity

를 나타내었다.

Salivary sediment system의 방법으로 타액에 혼합되어 있는 세균이, 탈락된 상피세포나 cysteine 등을 분해하는 과정에서 생성된 악취에 대한 한약재의 억제작용을 살펴 본 결과, 黃柏과 牧丹皮가 유의한 억제작용을 보였고, 黃芩과 厚朴은 유의성이 없었다. 다만 24시간이 경과한 시점에서는 모든 약재에서 대조군에 비해 크게 구취가 감소된 결과를 보였다.

임상연구에서 구취 유발을 위해 이용한 cysteine은 미생물에 의해 분해되어 hydrogen sulfide를 생성한다. cysteine을 가글하여 구취를 유발한 다음 黃柏, 厚朴을 가글한 경우, 동일하게 구취를 유발하고 별다른 처치를 하지 않은 경우 보다 유의하게 구취가 억제되었고 이 감소 효과는 60분 경과시점에서도 유의하였다. 牧丹皮는 40분 경과시점까지 대조군에 비해 유의한 차이가 있었으나 60분에서는 유의한 차이가 없었다. 黃芩을 가글한 경우에는 0, 4, 8, 20, 60분에 측정할 경우 대조군에 비해 유의한 억제 효과가 있었고, 12, 16, 40분에 측정할 값에서는 유의한 차이는 없었으나, 그 값은 대조군에 비해 낮은 수준으로 유지되었다. cysteine 가글 후 가그린 민트<sup>®</sup>로 가글한 군은 대조군에 비해 모든 시간대에서 구취를 감소시키는 유의한 효과가 없었으며, 12, 16, 20분 측정시점에서는 오히려 대조군 보다 더 높게 측정되는 결과를 보였다.

실험에 이용한 한약재인 黃芩, 黃柏, 牧丹皮, 厚朴은 주요 구취유발 원인균인 *P. gingivalis*와 *Pr. intermedia*에 대해 우수한 항균효과를 보였으며, 이는 이들 한약재가 적절한 항균력을 가진 구강 함수제로 개발가능성이 있음을 보여준다. 牧丹皮는 methyl mercaptan에 대해서 100% 억제하였고, 전타액에서 활성화된 구취에 대해서도 유의한 억제효과가 있었으며, 임상실험에서는 40분 정도까지 유의한 억제효과를 보였다. 牧丹皮와 같은 100% 억제력을 보인 厚朴은 전타액에서 활성화된 구취에 대해서는 유의한 억제효과를 보이지 못했으나, 임상실험에서는 1시간까지 구취억제효과가 유지되었다. methyl mercaptan에 대해, 다른 세 가지 약재에 비해 상대

적으로 낮은 66%정도의 억제력을 나타낸 黃柏은 전타액에서 기인한 구취에 대해서는 유의한 억제효과를 보였고 임상실험에서도 1시간까지 유지되는 특징을 보였다. 마지막으로 methyl mercaptan에 대해서 82% 정도 억제효과를 보인 黃芩은 전타액에서 유래된 구취에 대해서 유의한 효과가 없었고, 임상실험에서 구취억제효과가 1시간에서도 유지되었지만, 중간 과정의 측정 시간대에서 유의한 차이를 보이지 않는 경우도 있었다. 즉 구취의 원인이 methyl mercaptan인 경우 牧丹皮와 厚朴이 다소 우위의 억제력을 가지고, 黃柏은 methyl mercaptan에 대해서는 다른 세 약재보다 억제효과가 덜하지만, 전타액에서 유래된 구취 및 임상실험에서 유의한 억제효과가 보인 것으로 보아, hydrogen sulfide나 다른 요인에 의한 구취에 대해 억제 효과가 있을 것으로 생각된다.

이와 같이 실험에 이용된 한약재들은 모두 일정 정도의 항균력이 있으면서, VSC를 비롯한 냄새성분을 화학적으로 제거하는 능력이 있음이 확인되었고, 약간의 차이가 있지만 40분~1시간 정도에서 억제 효과가 지속되는 결과를 보였다.

향후 추가적인 실험을 통해 농도별 구취억제효과에 대한 연구, 복합처방과 개별약제 사용 시의 구취억제효과에 대한 비교연구가 필요할 것을 생각된다. 또한 항균실험과 salivary sediment system의 결과를 볼 때 약재에 노출되는 시간이 길수록, 구취억제효과도 클 것으로 생각된다. 그러나 실제 함수제의 경우 30초~1분 정도 노출되는 것이므로, 적절한 함수 시간 및 함수제의 이용 간격에 따른 효과에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## 결 론

구강내 구취 유발 원인균에 대해 항균작용이 있는 구강 함수제 개발을 위해 黃芩, 黃柏, 牧丹皮, 厚朴의 항균효과를 확인하였고, gas chromatography (GC)를 이용한 실험과 타액 침전물 모델을 이용해 구취억제효과를 확인하였으며, 임상실험을 통해

cysteine으로 구취를 유발한 후 이에 대한 억제 효과를 확인하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 구강내 병원성 균주인 *P. gingivalis*와 *Pr. intermedia*에 대해 黄芩, 黄柏, 牡丹皮, 厚朴 모두 일정한 항균효과가 있었다.
2. methyl mercaptan의 활성 억제를 통한 구취감소 효과는 牡丹皮와 厚朴이 100%, 黄芩 82.22%, 黄柏 66.60%로 가그린 민트® 40.54%에 비해 우수하였다.
3. 타액 침전물 모델을 이용한 실험에서는 黄柏, 牡丹皮만 유의한 억제효과가 있었고, 黄芩, 厚朴, 가그린 민트®에서는 유의성이 없었다.
4. 임상실험에서는 목단피는 40분까지, 黄柏과 厚朴은 60분까지 모든 측정시간에서 대조군에 비해 유의한 구취억제 효과가 있었다. 黄芩은 0, 4, 8, 20, 60분에 측정한 경우 유의한 억제 효과가 있었다.

黄芩, 黄柏, 牡丹皮, 厚朴 추출물은 구강내 구취 유발 원인균에 대해 일정한 항균력을 담보하면서 화학합성 함유액보다 우수한 구취억제작용을 보였으므로 임상에서 활용가능 할 것으로 판단된다.

### 참고문헌

1. Tonzetich J. Production and origin of oral malodor: a review of mechanisms and methods of analysis. J Periodontol. 1977;48(1):13-20.
2. Feller L, Blignaut E. Halitosis: a review. SADJ. 2005;60(1):17-9.
3. Yang SJ, Moon HS, Kim JB. A study on the effect of toothbrushing and tongue-brushing in reduction of oral malodor. J Korean Acad Dent Health. 1993;17(2):268-278.
4. Kang EH, Lim HS, Kim DK, Seong JH. Effectiveness of toothpick method on the reduction of oral malodor. J Korean Acad Dent Health. 2004;8(1):127-138.
5. Park JH, Han KS, Kim MK. Effect of tongue scraping, ZnCl<sub>2</sub> mouth rinse, and periodontal treatment on the reduction of oral malodor. Kor J Oral Med. 2000;25(1):41-51.
6. Flotra L. Side effects of chlorohexidine mouth washes. Scan J Dent Res. 1971;79:119-25.
7. Park JB, Auh QS, Chun YH, Lee JY, Hong JP. The effect of the Phytoncide in Decreasing the Mouth Odor. J Kor Acad Oral Med. 2007;32(2): 151-156.
8. Lee DS, Kim SB, Kim TJ, Kim JH, Ji CI, Park JH. Deodorant effect of marine algae extracts on halitosis. Bull Nat'l Fish Res Dev Inst Korea. 1999;57:195-201.
9. Lee JH, Kim ME, Kim SB. Study on the development of gargle solution containing medicinal herb extract for oral malodor. Kor J Oral Med. 2003;28(1):1-10.
10. Eom GH, Kim JS. Deodorizing effect of Cheonggugamrosu. Kor J Orient Int Med. 2007;28(2): 354-62.
11. Kim JS, Park JW, Yoon SW, Ryu BH. Inhibitory effect of respective herbs in Cheonggugamrosu on oral malodor using modeling of the Salivary Sediment System. J Korean Oriental Med. 2009;30(2):79-87.
12. Park SK, Hong SS, Lim JH, Han SY, Ryu JM, Jang SY et al. Effect of Junghyanghwan on reducing halitosis and the comparison with GARGLIN and Normal Saline. Kor J Orient Int Med. 2003;spr(1):154-68.
13. De Boever EH, Loesche WJ. Assessing the contribution of anaerobic microflora of the tongue to oral malodor. JADA. 1995;126:1384-93.
14. Tokita F, Ishikawa M, Shibuya K, Koshimizu M, Abe R. Deodorizing activity of some plant extracts against methyl mercaptan. Nippon Nogeikagaku Kaishi. 1984;58(6):585-9.
15. Kleinberg I, Codipilly D. H<sub>2</sub>S generation and Eh reduction in cysteine challenge testing as a means of determining the potential of test products and treatment for inhibiting oral malodor. J Breath

- Res. 2008; 2(1):1-9.
16. Delanghe G, Ghyselen J, Van Steenberghe D, Feenstra L. Multidisciplinary breath-odour clinic. *Lancet*. 1997;350(9072):187.
  17. Parth L, Ken Y, Ali K, Toshio I, Tsutomu S, Tomoko T et al. Effect of Green Tea on Volatile Sulfur Compounds in Mouth Air. *J Nutr Sci Vitaminol*. 2008;54:89-94.
  18. Wang L. The effect of radix scutellariae and Tea Polyphenol on halitosis-correlated bacteria and substrate. 四川大學化西口腔醫學院碩士學位論文. 2005.
  19. Wang L, Yang XZ, HU DY. Anti-halitosis effect of radix scutellariae and tea polyphenol. *Chin J Conserv Dent*. 2006;16(3):149-52.
  20. 전국한의과대학 공동교재편찬위원회 공저. 본초학. 서울: 영림사; 2006, 218-20, 223-5, 237-8, 336-7.
  21. 김호철. 한약약리학. 서울: 집문당; 2001, 129-33, 138-40, 147-50, 211-3.
  22. 謝龍. 中藥治療口臭臨床觀察. 實用中西醫結合雜誌. 1997;10(17):1723.
  23. 曾海 付燦嶽. 甘露飲加味治療구취 80例. 實用中醫內科雜誌. 2005;19(5):467.
  24. ZHU CL, LIM IY. Screenig of chinese herbs for anit-halitosis activity. *Acad J Shanghai Sec Med Univ*. 2005;25(4):345-348.
  25. Chung YG, Kwon OJ. Anibacterial action of water extracts of Korean medicinal herbs. *J Kor Env Hygi Sci*. 1993;3(1):233-239.
  26. Cho SH, Kim YR. Antimicrobial Characteristics of Scutellariae Radix Extract. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2001;30(5):964-968.
  27. Son DH, Lee SI, Chung YG. Antioxidative of medicinal plants on pathogenic bacteria. *J Kor Soc Hygi Sci*. 2001;7(2):103-108.
  28. Park UY, Chang DS, Cho HR. Screening of Antimicrobial activity for medicinal herb extracts. *J Kor Sco Food Nutr*. 1992;21(1):91-96.
  29. Cai H, Choi SI, Lee YM, Hoe TR. Antimicrobial effects of herbal medicine extracts on Staphylococcus aureus and Escherichia coli O157:H7. *Kor J Biotechnol Bioeng*. 2002;17(6):537-542.
  30. Kweon OG, Son JC, Kim SC, Chung SK, Park SW. antimicrobial and antioxidative activities from Moutan Cortex Extract. *Kor J Postharvest Sci Technol*. 1998;5(3):281-285.
  31. Bae KH, Oh HR. Synergistic effect of lysozyme on bacterical activity of magnolol and honokiol against a cariogenic bacterium, Streptococcus mutans OMZ 176. *Arch Pharm Res*. 1990;13: 117-119.
  32. Chung CP, Ku Y, Bae KH. Biological effect of magnolia and Gingo Biloba extract to the antimicrobial antiinflammatory and cellular activity. *J Kor Acad Periodontol*. 1995;25(3): 478-486.
  33. Greenberg M, Umezis P, Tian M. Compressed mints and chewing gum containing magnolia bark extract are effective against bacteria responsible for oral malodor. *J Agric Food Chem*. 2007;55(23):9465-9.
  34. 홍정표. 구취. 경희의학. 2000;16(1):4-7.
  35. Hunter CM, Niles HP, Vazquez J, Kloos C, Subramanyam R, Williams MI et al. Breath odor evaluation by detection of volatile sulfur compounds- correlation with organoleptic odor ratings. *Oral Dis*. 2005;11 Suppl 1:48-50.
  36. Baharvand M, Maleki Z, Mohammadi S, Alavi K, Moghaddam EJ. Assessment of oral malodor: a comparison of the organoleptic method with sulfide monitoring. *J Contemp Dent Pract*. 2008 Jul 1;9(5):76-83.
  37. Kleinberg I, Codipilly M. Modeling of the oral malodor system and methods of analysis. *Quintessence Int*. 1999;30:357-69.
  38. Nakano Y, Yoshimura M, Koga T. Correlation between oral malodor and periodontal bacteria. *Microbes Infect*. 2002;4:679-683.
  39. Mel Rogenberg. 구취: 진단 및 연구방법. 서울: 신홍인터내셔널; 1998.