
Streptococcus mutans ATCC 25175에 대한 황련과 고삼의 항균활성

음진성*

Antimicrobial Activity of *Coptis chinensis* and *Sophora flavescens*
against *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Jin-seong Eum*

요약

약용식물로부터 충치예방물질을 개발하기 위하여 우리나라에서 전통적으로 널리 사용되어 왔던 25종류의 약용식물로부터 에탄올 추출물을 분리하였다. 이를 대상으로 충치 원인균인 *Streptococcus mutans* ATCC 25175에 대한 항균활성을 나타내는 약용식물을 조사하였다. 황련, 고삼, 감초, 박하, 삼백초등이 *S. mutans*에 대해 항균활성을 나타냈다. 이 중 황련과 고삼의 에탄올 추출물들은 *S. mutans*에 대해 강한 항균활성을 나타냈다. 이 결과들을 근거로 하여 황련과 고삼의 추출물들은 *S. mutans* ATCC 25175에 대한 충치 예방물질로서 가능성이 있음을 나타낸다.

ABSTRACT

As part of our screening of anticariogenic agents from medicinal plants, the ethanol extracts of 25 herbs widely used in the folk medicine were tested for the antimicrobial activity against a cariogenic bacterium *Streptococcus mutans* ATCC 25175. The ethanol extracts of *Coptis chinensis*, *Sophora flavescens*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Mentha arvensis*, and *Saururus chinensis* showed antimicrobial activities against *S. mutans*. The extracts of *Coptis chinensis* and *Sophora flavescens* among these medicinal plants showed significant antimicrobial activity against *S. mutans*. These results suggested that the extracts of *Coptis chinensis* and *Sophora flavescens* could be the potential source of antimicrobial agent against *S. mutans* ATCC 25175.

키워드

Streptococcus mutans, 황련, 고삼

Key word

Streptococcus mutans, *Coptis chinensis*, *Sophora flavescens*

* 정희원 : 목원대학교(jseum@mokwon.ac.kr)

접수일자 : 2011. 08. 23

심사완료일자 : 2011. 12. 08

I. 서 론

치아우식증은 한국인의 80-90%가 일생에 한 번 이상 앓게 되는 대중병으로 치태내 세균, 음식물, 태액의 상호작용에 의해서 발생되는 질환으로서 치아 중 무기질이 탈회되고 상아질이 파괴되어 치아조직의 결손을 초래하는 세균성 치아 경조직의 일환으로 이는 구강내 세균중 특히 *Streptococcus mutans*가 주요 원인균으로 알려지고 있다[1, 2]. *S. mutans*는 glucosyltransferase 및 fructosyltransferase와 같은 당전이 효소를 생산하여 당류로 부터 불용성 glucan을 합성시키고 치아표면에 부착하며 부착된 불용성 glucan은 충치균등 혐기성 세균이 치아에 쉽게 부착하도록 하여 증식시켜서 유기산을 생산하고 이 유기산에 의해서 충치가 발생된다고 보고되고 있다[3]. 최근 현대인들의 식생활 형태가 점차 다양해짐에 따라 당류의 소비는 계속 증가하고 있고 stress 등의 원인으로 면역기능은 약화되어 구강 내 미생물들이 증가 추세에 있다[4].

치아우식증은 세균에 의한 질환이므로 *S. mutans*의 성장 억제나 glucosyltransferase 및 fructosyltransferase 활성 저해제를 찾는 것이 치아우식증을 예방하는 수단으로 인정되고 있다. 현재 주로 사용되고 있는 항균물질들은 chlorohexidine, penicillin, erythromycin, tetracycline 등이 있으나 치아 착색, 구강 점막상피의 손상, 궤양, 미각장애, 치아 석회 침착물 부착, 소화기 장애, 과민반응 및 내성균 발생 등의 다양한 부작용등이 알려지고 있다[5].

즉 penicillin, erythromycin, tetracycline 같은 항생제는 항균효과 및 collagenase의 작용 차단등의 효과는 있지만 내성균의 발현, 소화기 장애 및 과민반응등의 부작용을 나타내고 있으며, chlorohexidine은 강력한 항균력 및 정균작용을 보이나 치아에 착색을 일으키고 구강점막상피 탈락이나 궤양 또는 미각장애등의 부작용으로 인해 장기간의 사용을 하지 못하고 있는 실정이다[2, 6].

또한 충치예방에는 불소혼입 치약 사용 등이 있으나 아직까지 효과적인 충치예방이나 치료법이 개발되어 있지 않다. 이와 같은 부작용을 극복할 수 있는 방법의 일환으로서 천연물질로부터 충치예방물질을 개발하고자 하는 노력이 시도되고 있다. 그 예로 Namba 등[7]은

한약추출물로부터 분리한 flavanone, flavanol성 물질이 glucosyltransferase 저해 효과가 우수하다고 보고하였다. 이 외에 *S. mutans*의 성장을 억제하는 물질로 뽕나무[2], 호장근[8], 계피[9]등이 보고되고 있으며, 이를 천연물질로 부터 항균물질을 분리하여 치아우식증 예방 및 치료제로 개발을 위한 연구가 진행되고 있다. 또한 광범위한 약용식물 추출물을 대상으로 다양한 병원균 및 식품위해균에 대한 항균물질에 대해서 선별실험을 진행하고 있다[10, 11].

최근에는 superbacteria로 알려져 있는 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA)같은 항생제 내성균에 치료 효과가 있는 천연 약용식물을 찾는 연구도 활발히 진행되고 있다. 음(2007)등은 *Glycyrrhiza uralensis*, *Sophora flavescens*, *Dryopteris crassirhizoma*, *Pinus densiflora*등의 약용식물 추출물들이 항생제 내성균인 MRSA에 항균활성을 나타내며 이들 추출물들이 여드름 등의 피부병 및 식중독 등 여러 감염성 질환의 치료 및 예방에 이용 될 수 있을 것이라고 보고 하였다[12]. 이러한 광범위한 천연물질들의 항균활성평가는 보다 효율적이며 독성으로부터 안정성이 확보된 천연항균물질을 개발하는데 기초자료로 사용될 수 있을 것이다.

본 연구는 충치예방 및 치료제 개발을 위한 전단계로서 우리나라에서 전통적으로 사용되고 있는 25종류의 약용식물로부터 에탄올을 이용하여 추출물을 분리하여 농축하였다. 이를 대상으로 충치원인균인 *S. mutans* ATCC 25175에 대한 항균활성을 나타내는 약용식물들을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

2.1. 세균 및 재료

본 연구에 사용된 *S. mutans* ATCC 25175는 한국생명공학연구원 생물자원센터에서 분양받았다. 생약재료는 경동한방솔루션 제약회사로부터 구입하였으며 실험에 사용된 약용식물들은 갈근(*Pueraria thunbergiana*), 감초(*Glycyrrhiza uralensis*), 고삼(*Sophora flavescens*), 금은화(*Lonicera japonica*), 대황(*Rheum officinale*), 박하(*Mentha arvensis*), 백선피(*Dictamnus albus*), 백작약(*Paeonia lactiflora*), 삼백초(*Saururus chinensis*), 시호(*Bupleurum*

falcatum), 신이화(*Magnolia kobus*), 우방자(*Arctium lappa*), 율피(*Castanea crenata*), 자완(*Aster tataricus*), 정향(*Syzygium aromaticum*), 지구자(*Hovenia dulcis*), 진피(*Citrus unshiu*), 토복령(*Smilax china*), 치자(*Gardenia jasminoides*), 현삼(*Scrophularia buergeriana*), 협개(*Schizonepeta tenuifolia*) 화피(*Prunus sargentii*), 토황금(*Scutellaria baicalensis*), 황기(*Astragalus membranaceus*), 황련(*Coptis chinensis*) 등 총 25종류이다.

2.2. 추출물 준비

건조된 약용식물 25g을 증류수로 3번 세척 한 후 증류수 500 ml에 30분간 보관하였다. 증류수에 보관된 생약 25g에 70% ethanol (MERK, Germany) 500 ml을 넣어 냉각장치가 설치된 heating mental에 넣어서 3시간 동안 환류 가열, 추출시켰다. 환류 가열된 추출액은 실온에서 3시간 식힌 후 filtration시키고, 여과액은 funnel에 넣어 Rotary evaporator (EYELA)를 이용하여 45°C에서 약 1시간 동안 가온 감압 농축시켰다. 농축된 추출액은 Freeze Dryer (EYELA)를 이용하여 동결 건조시키고, 여기에서 얻은 건조 분말은 무게를 측정 한 후 -70°C에서 보관하였다[12].

2.3. 항균활성 검사

각 약용식물 추출물들의 항균활성도 측정은 디스크 확산법 (disk diffusion)을 사용하였다. 건조분말 20 mg 을 dimethyl sulfoxide (DMSO) 1 ml에 녹여서 20 ug/ul 농도로 준비하였다. *S. mutans* ATCC 25175이 접종된 L-broth agar 배지 위에 생약 추출물이 침가된 paper disk (Advantec, Toyo Seisakusho Co., Ltd.)를 올려놓고 37°C에서 24시간 배양 한 뒤 생장억지대의 직경을 측정하였다.

III. 결과 및 고찰

충치 예방효과가 있는 천연물질을 탐색하기 위하여 25종류의 약용식물로부터 에탄올을 이용하여 추출물을 분리, 농축하여 *S. mutans* ATCC 25175에 대한 항균활성을 조사하였다(Table 1).

표 1. *Streptococcus mutans* ATCC 25175에 대한 약용식물 추출물들의 항균활성

Table. 1 Antimicrobial activity of medicinal plant extracts against *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Scientific Name	Ethanol Extract
<i>Pueraria thunbergiana</i>	-
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	+
<i>Sophora flavescens</i>	++
<i>Lonicera japonica</i>	-
<i>Rheum officinale</i>	-
<i>Mentha arvensis</i>	+
<i>Dictamnus albus</i>	-
<i>Paeonia lactiflora</i>	-
<i>Saururus chinensis</i>	+
<i>Bupleurum falcatum</i>	-
<i>Magnolia kobus</i>	-
<i>Arctium lappa</i>	-
<i>Castanea crenata</i>	-
<i>Aster tataricus</i>	-
<i>Syzygium aromaticum</i>	-
<i>Hovenia dulcis</i>	-
<i>Citrus unshiu</i>	-
<i>Smilax china</i>	-
<i>Gardenia jasminoides</i>	-
<i>Scrophularia buergeriana</i>	-
<i>Schizonepeta tenuifolia</i>	-
<i>Prunus sargentii</i>	-
<i>Scutellaria baicalensis</i>	-
<i>Astragalus membranaceus</i>	-
<i>Coptis chinensis</i>	+++

The antimicrobial activity was represented as followed; -, no inhibitory effect; +, 8.1-10mm; ++, 10.1-13.0mm; +++, 13.1-16.0mm

Table 1에서 보는 바와 같이 *S. mutans* ATCC 25175의 성장을 억제시키는 약용식물들은 황련, 고삼, 감초, 박하, 삼백초등 5종류이다. 이 중 황련은 매우 높은 항균활성이 나타냈으며 고삼은 중간활성을 나타내고 감초, 박하, 삼백초등은 약한 항균활성을 나타냈다.

Figure 1. 은 황련의 에탄올 추출물을 0 ug, 100 ug, 200 ug, 300 ug 등 농도에 따른 *S. mutans* ATCC 25175의 항균 활성을 나타냈다. 이 그림에서 보는바와 같이 황련 추출물의 농도가 증가 할수록 비례해서 성장억지대 범위는 넓어지는 것을 나타냈으며 특히 황련 추출물 200 ug만 첨가하여도 성장억지대 범위가 넓은 것으로 보아 항균 능력이 상당히 우수한 것을 알 수 있다.

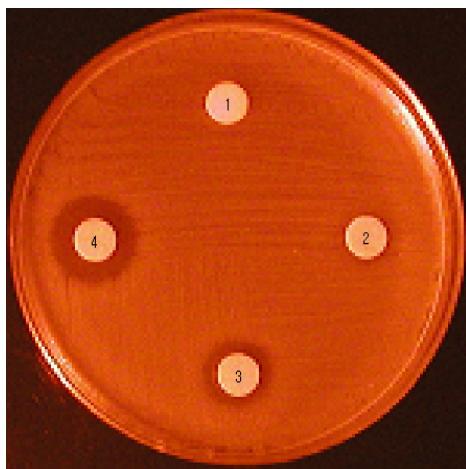


그림 1. *S. mutans* ATCC 25175에 대한 황련 추출물의 농도에 따른 항균 활성(1, 0 ug; 2, 100 ug; 3, 200 ug; 4, 300 ug).

Fig. 1 Assay of antimicrobial activity by different concentrations Coptis chinensis against *S. mutans* ATCC 25175.

Fig. 2는 고삼의 에탄올 추출물의 농도에 따른 *S. mutans* ATCC 25175의 항균활성의 결과이다.

고삼에서도 추출물의 농도가 증가 할수록 성장억지대 범위가 넓어졌으나 추출물의 농도가 300 ug 정도 첨가하여야 성장억지대 범위가 넓어지는 것으로 보아 항균능력이 황련보다는 조금 약한 것을 알 수 있다.

기원 전부터 감염질환의 치료에 식물성 약재들이 사용되어 왔으며 현재 식물에서 항균활성물질을 추출하는 연구는 전 세계적으로 활발히 진행되고 있다[13, 14]. 가장 오래된 약용식물은 마늘로서 기원전부터 감염질환의 치료에 사용되어 왔으며 현재에도 이에 대한 연구가 계속 발표되고 있다[15, 16].

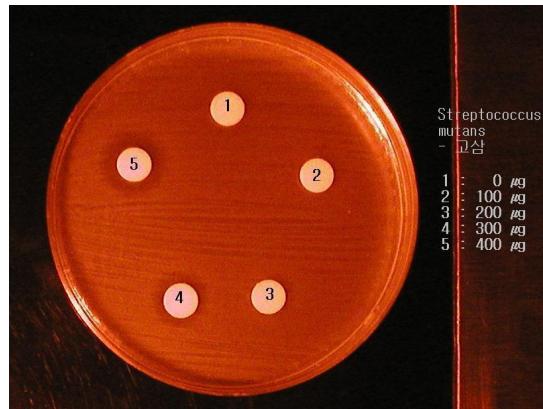


표 2. *S. mutans* ATCC 25175에 대한 고삼 추출물의 농도에 따른 항균 활성(1, 0 ug; 2, 100 ug; 3, 200 ug; 4, 300 ug; 5, 400 ug).

Fig. 2 Assay of antimicrobial activity by different concentrations *Sophora flavescens* against *S. mutans* ATCC 25175.

본 연구에 사용된 황련(*Coptis japonica*)은 산악지대에 자생하는 다년초로서 성분으로는 뿌리에 alkaloid가 함유되어 있으며 berberine, coptisine, jateorrhizine, palmatine 등이 함유되어 있다. 약효로는 소염성 고미건위약으로서 위염, 위통, 안면, 두부, 오관의 염증에 사용하며 항균작용이 있어 화상에도 사용한다고 알려져 있다[17]. 고삼(*Sophora flavescens*)은 우리나라, 시베리아, 중국 그리고 일본의 산과 들에 자생하는 콩과에 속한 다년생 초본으로 성질은 차고 무독하며 생약으로는 뿌리를 사용하고 성분으로는 alkaloid, flavonoid, saponos 등을 함유하고 있으며 약효로는 고미건위, 해열, 지사약, 가려움이 있는 피부질환에 사용된다고 알려져 있다[17]. 감초(*Glycyrrhiza uralensis*)는 세계에서 가장 오래 사용된 약용식물의 하나로서 고대 그리스나 중국에서도 알려져 있는 다년생 초본으로 지하경을 사용하였으며 성분으로는 glycyrrhizin, glycyrrhetic acid, glycyrrhizic acid 등 triterpene saponin이 함유되어 있고 한방에서는 진통, 진경, 진해, 거담과 감미료등의 목적으로 많이 사용되고 있는 것으로 보고되고 있다[17].

최근에는 병원성 세균에 의한 감염성 질환을 치료하는데 있어서 항생제 남용으로 인하여 항생제에 내성을 갖는 항생제내성균인 superbacteria가 생성되어 항생제치료를 무력화시키고 있는 실정이다. 이러한 항생제 내성균인 superbacteria에 대한 항균활성을 나타

내는 약용식물도 연구 중에 있다. 음(2007)등은 세계적으로 항생제 내성균으로 알려져 있는 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)에 대해서 항균 활성을 나타내는 약용식물들은 고삼, 송절, 관중, 감초 등이 있으며 특히 관중은 강한 항균활성을 나타내며 이는 병원성 세균에 의해서 발생되는 심각한 감염성 질환의 치료제 및 예방물질로 사용가능성이 있음을 보고 하였다[12].

본 연구에서는 황련, 고삼, 감초, 박하, 삼백초등 5종류의 추출물들은 *S. mutans* ATCC 25175의 성장에 항균 활성을 나타냈으며 이 중 황련은 매우 강한 항균 활성을 나타냈으며 충치예방물질로서의 가능성이 있음을 알 수 있다. 또한 고삼은 Superbacteria의 일종인 MRSA에 대해서도 항균활성을 나타내는 결과를 근거로 하여 병원성세균에 의한 감염성질환의 치료 물질로서의 가능성이 있음을 알 수 있다.

이와 같이 황련, 고삼, 송절, 관중 등의 약용식물들의 추출물들이 충치 원인균인 *S. mutans* 및 항생제 내성균 (Superbacteria)으로 알려져 있는 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)에 대해서 항균활성을 나타내는 것을 근거로 하여 앞으로 이를 추출물들에 대한 인체 독성여부의 안전성실험이 밝혀진다면 치아우식증 예방 및 치료는 물론, 항생제 내성균인 MRSA와 *Staphylococcus aureus*에 의해서 유발되는 치료하기 어려운 여러 감염성 질환, 피부병 및 식중독 등의 치료 와 예방에 이용 될 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

- [1] Inoue, M. and T. koga, "Fractionation and properties of glucans produced by *Streptococcus mutans*," *Inject. Immunity*, Vol. 25, pp.922-929, 1979.
- [2] Park, K.M., J.S. You, H.Y. Lee, N. I. Beak, and J.K. Hwang, "Kuwanon G: antibacterial agents from the root bark of *Morus alba* against oral pathogens", *J. Ethnopharmac*, Vol. 84, pp. 181-185, 2003.
- [3] You, Y.S., K.M. Park, and Y.B. Kim, " Antimicrobial activity of some medical herbs and spices against *Streptococcus mutans*" *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 21, pp.187-191, 1993.
- [4] Hang, J.K., J.Y. Chung, N.I. Baek, J.H. Park, "Isopanduratin A from *Kaempferia pandurata* as an active antibacterial agent against cariogenic *Streptococcus mutans*", *Int. J. Antimicrob.*, Vol 23, pp. 377-381, 2004.
- [5] Katsura, H.R. I. Tsukiyama, A. Suzuki, and M. Kobayashi. "In vitro antimicrobial activities of bakuchiol against oral microorganism". *Antimicro. Agents Ch.*, vol. 45, pp. 3009-3013, 2001.
- [6] Lander, P.E., G.M. Newcomb, G.J. Seymour and R.N. Powell. "The antimicrobial and clinical effects of a single subgingival irrigation of chlorhexidine in advanced periodontal lesion." *J. Clin. Periodont.* vol. 13, pp. 74-80, 1986.
- [7] Namba, T., M. Tsuneyzuka, M. Hattori, and S. Koda, "Dental aries prevention by traditional Chinese medicines," *Planta Medica*. vol. 44, pp. 100-103, 1982.
- [8] Bae, K.H., B.H. Kim, P.K. Myung, K.S. Chung, and J.H. Baek, "The isolation and evaliation of bioactive compounds from crude drugs aginst a cariogenic bacterium, *Streptococcus mutans* OMZ 176", *Yakhak Hoeji* vol. 34, pp. 277-281, 2990
- [9] Bae, K.H., J.M. Ji, and K.L. Park, "The anticariogenic component from *Cinnamoni cortex* against a cariogenic bacterium, *Streptococcus mutans* OMZ 176", *Arch. Pharm. Res.* vol. 15, pp. 239-241, 1992.
- [10] Sohn, H.Y., E.J. Kum, Y.S. Kwon, I. Jin, H.Y. Kwon, C.S. Kwon, and K.H. Son, "Screening of anticandidosis agent from medicinal and wild plants", *Kor. J. Life. Sci.* vol. 13, pp. 604-617, 2003.
- [11] Lee, H.O., D.M. Han, and S.H. Baek, " Isolation and Identification of Anticariotic compound from *Sophora flavescens* Ait." *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 30, pp.420-424, 2002.
- [12] Eum, J.S. and Y.D. Park, "Antimicrobial activity of Medicinal plant extracts against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*", *J. Exp. Biomed. Sci.*, Vol. 13, pp. 189-195, 2007.
- [13] Sohn H.Y, Y.S. Kwon, Y.S. Kim, H.Y. Kwon, G.S. Kwon, K.J. Kim, C.S. Kwon, and K.H. Son,

- "Screening of thrombin inhibitors from medicinal and wild plants", *Kor. J. Pharmacog.*, Vol. 35, pp. 52-61, 2004.
- [14] Suk K.D, Lee S.J. and Bae J.M., "Inhibitory effects of *Cuscuta japonica* extract and *C. australis* extract on Mushroom tyrosinase activity", *Kor. J. Pharmacog.*, Vol. 35, pp. 380-383, 2004..
- [15] Aydin A, G. Ersoz, O. Tekesin, E. Akcicek, and M. Tuncyurek, "Garlic oil and *Helicobacter pylori* infection", *Am J. Gastroenterol*, Vol. 94, pp. 1200-1202, 2000.
- [16] Ross Z.M, E.A. OGara, D.J. Hill, H.V. Sleighholme, and D.J. Maslin, "Antimicrobial properties of garlic oil against human enteric bacteria evalution of methodologies and comparisons with garlic oil sulfides and garlic powder", *Appl. Environ. Microbiol*, vol. 67, pp. 475-480, 2001.
- [17] 한국약용식물학 연구회, " 종합 약용식물학", 학창사, 서울, 2005.

저자소개



음진성(Jin-Seong Eum)

1983: 고려대학교 생물학과 학사
1985: 고려대학교대학원 생물학과 석사
1991: 고려대학교대학원 생물학과 박사

1992-현재: 목원대학교 바이오건강학부 교수
2001-2002: 미국 플로리다 의과대학 초빙교수