Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society
Vol. 24, No. 4 pp. 534-541, 2023

https://doi.org/10.5762/KAIS.2023.24.4.534
ISSN 1975-4701 / eISSN 2288-4688

구강질환 예방을 위한 식물추출물의 생리활성 평가

류영숙[1], 여명구[2*]
[1]남부대학교 일반대학원 대체의학과, [2]남부대학교 통합의료학과

Evaluation of physiological activity of plant extracts for the prevention of oral diseases

Young Suk Ryu[1], Myeong Gu Yeo[2*]
[1]Department of Alternative Medicine, Nambu University
[2]Department of Integrative Medical Sciences, Nambu University

요 약 본 연구는 6종류의 천연 추출물이 구강질환 예방 및 치료 소재로 활용 가능성을 평가 하였다. 치주질환에 효과적인 물질을 선별하기 위해 죽엽(BBL), 여주열매(BMF), 석류열매(POF), 옥수수수염(CSF), 우엉뿌리(BR), 민들레뿌리(DR) 추출물에 대한 일련의 검사를 실시했다. 항산화 활성은 2,2-디페닐-1-피릴하이드라질(DPPH), 슈퍼옥사이드 디스무타아제(SOD) 유사 활성에 의해 평가하였다. 구강질환 관연 미생물을 선정하여 한천배지확산법을 수행하였다. 세포독성 시험은 3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-2,5-디페닐-2H-테트라졸륨 브롬화물(MTT) 분석법을 사용하여 측정되었다. RAW 264.7 세포에서 지질 다당류(LPS)에 의해 산화질소(NO) 생성에 대한 억제율을 그리스(griess) 시약으로 조사하였다. 항산화능 결과에서 POF 추출물은 125 μg/mL 농도에서 68 %의 가장 높은 항산화 억제율을 보였다. SOD 효소활성은 POF 추출물이 높은 활성을 보였으며, BBL 추출물은 SOD 활성을 나타내지 않았다. POF 추출물은 구강점막 표면에 증식하는 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*)와 충치유발균 스트렙토코쿠스 뮤탄스(*Streptococcus mutans),* 스트렙토코쿠스 소브리누스(*Streptococcus sobrinus)* 의 감소에 효과적이었다. 세포생존률 측정 결과 POF 및 CSF 추출물은 25 ug/ml 미만의 농도에서 90 % 이상의 세포 생존율이 확인되었다. NO 실험 결과 POF 추출물 2.5 μg/mL 농도에서 58.2 %의 NO 억제 효과가 나타났다. 또한, DR 추출물은 L929 세포에 대한 세포독성을 보이지 않은 반면, DR 추출물이 FaDu세포(하인두 편평암세포)에 미치는 영향은 5-100 μg/mL 범위에서 세포성장 억제를 보이는 것으로 나타났다. 따라서, POF와 DR추출물은 구강질환 예방 또는 치료에 도움을 줄 수 있는 소재임을 확인할 수 있었다.

Abstract This study evaluated the effect of six natural extracts on oral disease prevention by screening effective materials for periodontal disease. Bamboo leaf (BBL), bitter melon fruit (BMF), pomegranate fruit (POF), corn silk flower (CSF), burdock root (BR), and dandelion root (DR) extracts were subjected to various assays. Antioxidant activities were determined through the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and superoxide dismutase (SOD)-like activity assays, whereas cytotoxicity was assessed using the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl −2H-tetrazolium bromide (MTT) assay. The anti-inflammatory activity was examined by subjecting RAW 264.7 cells to the lipopolysaccharide (LPS) inhibition assay and determining nitric oxide (NO) inhibition by Griess reagent. The POF extract showed highest DPPH inhibition (68%) at 125 μg/mL. In addition, high SOD enzyme activity was obtained with the POF extract, whereas the BBL extract showed no SOD activity. Treatment with POF extract was also effective in reducing the bacterial loads of *Candida albicans, Streptococcus mutans,* and *Streptococcus sobrinus*. Furthermore, over 90% cell viability was confirmed at concentrations less than 25 μg/mL of POF and CSF extracts. The result showed 58.2% inhibition of NO production at 2.5 μg/mL of the POF extract. Although the DR extract showed no cytotoxicity to L929 cells, the extract exerted toxicity on FaDu cells (head and neck carcinoma cells) in the range of 5-100 μg/mL. Our results indicate the potential application of POF and DR extracts for the prevention or treatment of oral diseases.

Keywords : Natursl Extract, Phytochemicals, Anti-oxidants, Anti-microbial, Anti-inflammatory Agents

본 논문은 과학기술정보통신부 연구과제 (NRF-2021R1F1A104557)와 남부대학교 2021년 연구비(일부) 지원으로 수행되었음.
*Corresponding Author : Myeong Gu Yeo(Nambu Univ.)
email: mgy11@nambu.ac.kr
Received February 28, 2023 Revised March 27, 2023
Accepted April 7, 2023 Published April 30, 2023

1. 서론

코로나 바이러스 감염증-19로 인한 마스크 착용으로 구강 건강의 중요성이 대두됨에 따라 입속 세균 관리에 대한 관심이 높아졌다[1]. 또한, 최근 건강보험심사평가원의 보건의료 빅데이터 2021년 외래 다빈도 상병 통계에서 구강질환이 3년 연속 1위를 차지한다고 보고하였다. 구강질환이 감기보다 흔한 대표적인 국민 질환으로 구강보건에 대한 관심은 높아지고 있다[2]. 구강내 박테리아나 바이러스에 의한 염증반응은 치아와 잇몸주변에 치은염(gingivitis), 치주염(periodontitis)과 같은 잇몸 염증질환을 일으킨다[3]. 특히, 치주염은 치주낭의 깊이가 깊어질수록 치주인대에 염증이 유발되며 점진적으로 치조골 소실이 일어나게 되는 연쇄적인 문제점이 발생된다[4]. 나아가, 당뇨병, 심혈관계 질환 등 전신질환과 연관성이 보고되고 있으며 치주질환은 예방과 조기 치료가 중요하다[5]. 국민들의 구강질환 예방 인식이 높아지면서 약용자원식물을 활용한 질병 예방과 치료에 관심이 높아지고 있다[6]. 특히, 식물소재를 부가가치가 높은 신약개발이나 기능성 식품 산업에 활용되어 국가발전에 원동력이 되는 중요한 자원으로 인식 되고 있다[7]. 현대화된 사회에서 자연으로 회귀하고자 하는 경향이 현실화됨에 따라, 수명연장에 따른 만성질환을 예방하고 치료하는 방법으로 천연물에 관심이 높아지고 있다[8].

치약제, 구중청량제, 치아 미백제와 같은 의약외품은 구강질환 개선에 도움을 준다. 구강환경 개선에 적용이 가능한 천연추출물은 에센셜오일, 키토산, 솔잎, 녹차, 프로폴리스 등이 구강 보건 제품에 적용되고 있다[9,10].

본 연구에서는 시중에서 음용차 소재로 활용되고 있는 6종류의 천연물을 선별하여 초음파 용매 추출공정을 적용하여 추출물의 약리적 효능을 평가하였다.

죽엽(bamboo leaf)은 플라보노이드, 페놀산, 쿠마린, 아미노산 등이 함유되어 있다[11]. 또한, 플라보노이드 성분이 많이 함유되어 있어 항산화, 항노화 및 항균 활성을 나타냄에 따라, 약제 보조제, 미용향장소재 및 식품첨가물 등으로 사용되고 있다.

여주열매(bitter melon fruit)는 단순포진과 폴리오 바이러스의 증식과 칸디다 알비칸스(Candida albicans)와 크립토코커스 네오포르만스(Cryptococcus neoformans)의 활성을 억제시키는 등 곰팡이와 바이러스에 대한 항균활성 및 항산화 효과를 보이는 것으로 보고되고 있다[12].

석류열매(pomegranate fruit)는 석류나무의 수피, 잎, 과피에는 탄닌화합물이 풍부하고, 잎에는 루테인등이 배당체로 함유되어 있다. 특히 국내에서 생산되고 있는 석류의 당도가 낮아 주로 약용으로 사용되고 있다[13].

옥수수수염(corn silk flower)에는 지방유, 지방, 쓴맛 글리코사이드, 사포닌, 알칼로이드, 메이신 외에 이노시톨, 크립토잔틴, 판토텐산, 비타민C, 말산, 타타릭산, 글루코스, 자일란 등이 함유되어있으며, 특히 다량의 비타민K가 포함되어 있다[14].

우엉뿌리(burdock root)에 함유되어 있는 폴리페놀 화합물들에 의한 자유라디컬 소거 활성이 중요하게 작용하는 것으로 알려져 있다[15].

민들레뿌리(dandelion root)는 고미성분인 타락신과 다당류의 일종인 이눌린이 많고, 카로티노이드 성분인 타라잔틴, 트리테르핀인 그리고 카페인산 등과 비타민A, 비타민C, 토코페롤, 칼슘, 철, 칼륨등이 풍부하다[16].

이러한 6종류의 추출물은 다양한 약리적 성분을 함유하고 있어 식의약품 소재로 이용가치가 증명되고 있다. 하지만, 추출물의 다양한 기능성은 구강질환과 관련한 연구는 미비한 실정이고 구강 보건 제품에 활용하지 못하고 있는 실정이다. 따라서, 6종류의 추출물을 구강질환에 관여하는 칸디다 알비칸스, 스트렙토코쿠스 뮤탄스, 스크렙토코쿠스 소브리누스 균주에서 항균 효능을 확인하고 항산화, 항염증, 세포독성 및 FaDu 세포에서 세포성장 억제 반응을 평가하여 구강 질환 예방 및 치료제로 활용 가능한 천연추출물의 기초자료로 활용하고 자 한다.

2. 연구방법

실험에 사용한 천연물은 일반적으로 침출차로 음용 가능한 소재로 선별하여 사용하였다(Table 1). 모든 천연물 소재는 국내자생 천연물을 구입하여 사용하였다. 천

Table 1. List of korean and scientific name of plants

No	Korean name	Plant parts	Scientific name	Abbreviations
1	Bamboo	Leaf	Bambusa bambos	BBL
2	Bitter melon	Fruit	Momordica charantia	BMF
3	Pomegranate	Fruit	Punica granatum	POF
4	Corn silk	Flower	Zea mays	CSF
5	Burdock	Root	Arctium lappa L.	BR
6	Dandelion	Root	Taraxacum platycarpum. Dahlst.	DR
7	Herbal complex	-	-	HERC

연물을 추출하기 전 전처리는 다음과 같은 과정을 수행하였다. 총 6종류의 식물 조직체를 수집하여 공통적으로 흐르는 물에 2~3차례 수세하여 음건 한 후 세절하였다. 건조된 식물 조직체는 각각 마쇄하여 100 메쉬 스텐레스 망에 통과시킨 후 사용하였다.

2.1 추출물 제조

각 식물체를 200 g당 95 % 주정(에탄올) 2 L에 3시간씩 4회로 총 12시간 동안 초음파분쇄기(Ultrasonic cleaner, BRANSON Ultrasonics corporation, USA)를 활용하여 추출하였다. 추출액은 Whatman 여과지(No.2, GE Heathcare, Buckinghamshire, UK)로 여과한 다음 50 ℃에서 감압 농축(EYELA N-1000, Tokyo Rikakikai Co. Tokyo, Japan)한 후 시료는 -70 ℃ 초저온 냉동고 (MDF-U52V, Sanyo, Osaka, Japan)에서 동결시킨 후 동결 건조기(FD 8512, Ilshin, Yangju, Korea)로 건조 시켰다. 동결건조된 시료는 -70℃에 보관하여 실험에 이용하였다. 복합물로 총 6가지 동결 건조된 추출물을 동량으로 혼합하여 실험에 활용하였다. 시료의 추출 수율은 추출 전 시료의 중량에 대한 각 추출물의 동결건조 후 중량 백분율(%)로 나타내었다. 각 추출물의 수율은 BBL 20 %, BMF 33 %, POF 35 %, CSF 25 %, BR 30 %, 및 DR 32 %로 확인되었다.

2.2 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 소거능 측정

DPPH 라디컬 소거능은 Blois[17]의 방법을 약간 변형하여 메탄올에 녹인 농도별 시료에 0.4 mM DPPH 메탄올 용액 100 ㎕를 넣고 실온에서 30분 동안 반응시켰다. 반응 완료 후 마이크로 플레이트 리더기로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 소거능은 시료 첨가군과 무첨가군 간의 차이를 시료 무첨가군에 의한 백분율(%)로 나타내었다.

2.3 Superoxide dismutase (SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성은 Marklund의 방법[18]을 변형하여 추출물 시료 0.2mL에 Tris-HCl buffer (pH8.5) 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 25 ℃에서 10분간 반응시킨 다음 1N HCl 1 mL로 반응을 정지시킨 후, 420 nm에서 흡광도를 측정하여 시료용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

2.4 항균력 평가

각 균주는 한국미생물보존센터와 한국생명공학연구원 생물자원센터에서 분양 받아 사용하였다. 치아우식증과 치주질환을 일으키는 대표적인 균주 *C. albicans*, *S. mutans*, 및 *S. sobrinus*은 각각의 배지에 배양하여 실험에 사용하였다.

*C. albicans*는 yeast malt(YM, Difco Laboratories Inc. MI. USA) 액체배지에 10^7 CFU/mL으로 희석한 균을 YM 고체배지에 100㎕ 떨어뜨리고 도말하였다. *S. mutans*와 *S. sobrinus*는 brain heart infusion(BHI, Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) 배지에 위와 같은 동일한 방법으로 수행하였다. 시료의 항균 활성은 한천배지확산법으로 측정하였다. 즉, 각 시료들을 지름이 8 mm 디스크에 45㎕씩 흡수시킨 후, 37℃의 배양기에서 24시간 동안 배양 후 디스크 주위에 생성된 생존 억제대의 직경(mm)을 자로 잰 후 사진으로 촬영하였다. 통계학적으로 유의성을 확인하기 위해 3회 독립적으로 반복 시행하였다.

2.5 세포배양

본 실험에서 이용한 섬유아세포 L929세포, 대식세포 RAW 264.7세포는 DMEM 배지를 사용하였고 하인두편평암 세포 FaDu세포는 MEM배지를 사용하여 각각 배지에 공통적으로 10% FBS와 1 % penicillin/streptomycin (100U/100 ug/mL)을 첨가하여 사용하였다. 각 세포는 37 °C, 5 % CO_2 배양기에 적응시켜 계대 배양하여 사용하였다.

2.6 세포생존율 측정

추출물의 세포 독성을 평가하기 위해 L929 세포를 96 well에 1×10^4 cell/mL의 수로 접종하여 24시간동안 배양하였다. 각 추출물을 2.5, 5, 10, 25, 50, 100 ㎍/mL의 적정 농도로 처리하고 37 ℃ 배양기에서 24 시간 동안 배양하였다. 배양 후, 각 well에 PBS 완충액에 녹인 MTT (5mg/mL) 용액을 10㎕ 씩 첨가하여 다시 1시간 동안 배양시킨다. Formazan 형성을 확인 후 100 ㎕의 DMSO를 첨가 한 후, 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 세포의 생존율을 구하였다.

2.7 Nitric oxide (NO) 활성 측정

RAW 264.7 세포에 생성된 NO의 양을 조사하기 위

해 RAW 264.7 세포를 96-well plate에 5×10^4 cells/well의 수로 접종하고 12시간 동안 배양하였다. 그 다음, 추출물을 적정 농도로 처리하고 추가적으로 NO 생성을 유도하기 위해 1 ㎍/mL 농도 지질다당체(LPS)를 처리하고 37 ℃ 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 세포 배양 상층액과 griess reagent (Sigma-aldrich)을 1:1 비율로 반응시켜 실온에서 15분 동안 반응한 후, 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과 분석은 시료를 처리하지 않은 LPS만 처리한 대조군의 흡광도를 100 %로 하고 LPS와 시료를 처리한 실험군의 흡광도를 대조군에 비교하여 백분율(%)로 표시하였다.

2.8 구강암 세포 생존율 평가

각 추출물에 대한 FaDu 세포의 생존억제 효과는 MTT assay를 통해 분석하였다. 12-well plate에 2×10^4 cells/well의 수로 접종하고 12시간 동안 배양하였다. 그 다음, 추출물을 적정 농도 (0.1, 1, 2.5, 5mg/mL)로 처리하고 24시간 후 추출물을 다양한 농도로 처리한 다음 37 ℃ 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 반응 후 배양액을 제거하고 인산 완충 용액으로 가볍게 세정한 다음, 450㎕ MEM 배양액과 5㎕ MTT (5 mg/mL) 용액을 첨가하 여 37 ℃의 5 % CO_2배양기에서 2시간 반응하였다. 2시간 후 배양액을 제거하고 살아있는 세포에 의해 형성된 formazan염을 DMSO 500㎕를 첨가하여 교반기에서 완전히 용해시키고 마이크로 플레이트 리더기를 사용하여 570 nm 흡광도에서 세포 생존율을 측정하였다. 결과 분석은 시료를 처리하지 않은 대조군의 흡광도를 생존율 100 %로 하고 시료를 처리한 실험군의 흡광도를 대조군에 비교하여 백분율(%)로 표시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 DPPH radical 소거활성

6 종류 시료의 DPPH radical 소거활성을 농도 별로 측정한 결과는 Table 2과 같다. 각 농도별로 측정한 결과 옥수수수염(CSF) 〈 여주열매(BMF) 〈 죽엽(BBL) 〈 우엉뿌리(BR) 〈 민들레뿌리(DR) 〈 석류열매(POF) 순으로 높은 소거활성이 나타났다. 특히, 석류열매(POF) 시료는 125 ㎍/mL에서 68.42 ± 1.2 %의 소거 활성이 확인되었다.

석류 과피를 에탄올로 추출한 추출물이 125 ㎍/mL 농도에서 항산화 활성이 60.8 %로 관찰된 Park 등의 연구 보고와 유사한 값이 산출되었다[19].

구강질환 예방과 밀접한 관련이 있는 식물의 항산화 추출물은 6종류의 식물 추출물중 석류열매(POF)추출물이 가장 높은 항산화 활성값이 가장 높게 나타났다.

Table 2. DPPH radical scavenging activity by natural extracts

	DPPH radical scavenging activity (%)				
	Extract concentration (㎍/mL)				
	125	500	1000	2000	4000
BBL	14.08±1.07	45.15±2.43	72.29±0.92	83.24±1.4	89.16±0.8
BMF	7.24±1.05	16.29±1.2	22.83±0.12	46.19±1.0	64.98±1.03
POF	68.42±1.2	95.13±2.42	95.24±0.14	95.39±1.23	95.21±1.02
CSF	0.25±1.03	6.74±2.14	21.77±0.02	30.20±1.12	44.98±1.2
BR	15.69±1.02	34.89±2.32	52.87±0.09	79.58±1.2	85.16±1.02
DR	21.82±1.05	53.95±2.14	85.23±0.92	90.47±1.12	93.66±1.4

3.2 SOD 유사활성

SOD 유사활성은 중성이나 알칼리 조건 하에서 superoxide에 의해 pyrogallol이 자동산화 되면서 갈색물질을 생성하는 원리를 이용하여 자동산화를 억제하는 정도로 활성을 측정하게 된다. 6종류 중 민들레뿌리(DR)〈 우엉뿌리(BR)〈 여주열매(BMF) 〈 석류열매(POF) 시료순으로 높은 활성을 관찰하였다. 가장 높은 활성을 나타낸 석류열매(POF) 시료는 4000 ㎍/mL 농도에서 42.73 ± 0.0.2 % 활성이 확인되었다(Table 3). 하지만, 죽엽, 옥수수수염 시료군에서는 활성이 나타나지 않았다. Hong등[20]은 과일 및 채소 착즙액 1,000 mg/mL 농도에서 케일농축액 26.7 %, 키위착즙액 27.6 %, 무착즙액 24.1 %의 SOD 유사 활성을 보고하였다. 또한, 산사자 에탄올 추출물은 1,000 ㎍/mL에서 12 % 미만의 SOD 유사활성이 보고되었다[21]. 본 연구에 사용된 6종

Table 3. SOD-like activities of natural extracts

	SOD-like activities (%)			
	Extract concentration (㎍/mL)			
	500	1000	2000	4000
BBL	-	-	-	-
BMF	-	0.71±0.1	9.95±0.7	18.78±0.0
POF	4.22±0.4	15.44±0.1	27.83±0.7	42.73±0.2
CSF	1.40	-	-	-
BR	6.21±0.4	8.57±0.1	10.92±0.7	15.91±0.0
DR	1.47±0.4	3.43±0.1	4.25±0.7	8.50±0.0

류의 천연물에서 석류열매(POF) 추출물외에 대부분은 낮은 수치를 나타내었다. 석류열매(POF) 추출물은 DPPH 라디컬 소거활성과 같이 비교적 높은 SOD 유사 활성을 갖는 것으로 확인되었다.

3.3 항균활성

각 추출물의 농도에 따른 *C. albicans*, *S.mutans,* 및 *S. sobrinus*에 대한 항균활성 결과는 Table 4에 제시하였다. 각 추출물 100 mg/mL 농도에서 *C. abicans* 미생물에 대한 저해활성이 관찰되었다. 특히, 석류열매(POF) 시료의 각 농도에서 10~14 mm 범위의 항균 활성 저해환이 관찰되었다(Fig. 1).

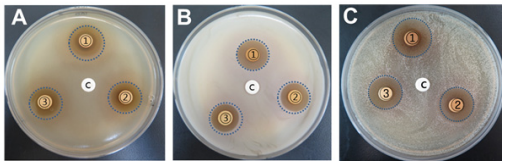

Fig. 1. Antimicrobial activity of natural extracts on several microorganisms. A, *C. albicans*; B, *S.mutans* ; C, *S. sobrinus*. ①100 mg/disc; ② 50 mg/disc; ③ 25 mg/disc

Kim등의 연구에서 석류과피의 에탄올 추출물에서 *S. epidermidis, S. aureus* 및 *P. acnes* 균에서 높은 활성이 확인되었다[22]. 구강질환을 유발시키는 균주에서 석류열매(POF) 추출물의 항균활성 결과는 천연물을 이용한 구강 보건 제품 개발 소재로 활용 가능성을 제시하였다.

Table 4. Antimicrobial activity of natural extracts on several microorganisms (unit:mm)

	Con. mg/mL	*C.albicans*	*S.mutans*	*S.sobrinus*
BBL	25	-	-	-
	50	9 ± 0.1	-	-
	100	10 ± 1.2	-	-
BMF	25	-	-	-
	50	8 ± 0.1	-	-
	100	10 ± 0.1	-	-
POF	25	10 ± 0.1	12 ± 1.2	12 ± 0.1
	50	11 ± 0.1	13 ± 1.2	13 ± 0.1
	100	12 ± 0.2	14 ± 1.2	14 ± 0.2
CSF	25	-	-	-
	50	-	-	-
	100	9.5	-	-
BR	25	-	-	-
	50	8.3	-	-
	100	10 ± 0.1	-	-
DR	25	-	-	-
	50	9 ± 0.2	-	-
	100	10 ± 0.1	-	-

disc diameter:8 mm

3.4 세포생존율

각 추출물 2.5, 5, 10, 25, 50, 100 ㎍/mL 농도에서 추출물을 ISO10993-5 규격에 맞춰 섬유아세포에 처리하여 생존율을 측정한 결과(Fig. 2), 석류열매(POF), 옥수수수염(CSF), 복합시료(HERC)의 시료는 25 ㎍/mL 이하에서 90 % 이상의 생존율을 확인하였다. 또한, 그 밖의 추출물 시료에서 80 % 이상의 생존율을 확인하였다. 이후에 실험은 옥수수수염(CSF), 석류열매(POF), 복합추출물(HERC)의 시료는 25 ㎍/mL 이하의 농도에서 실험을 수행하였다.

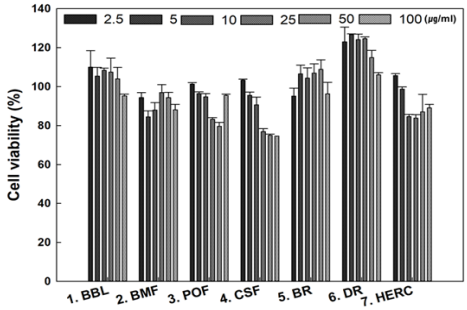

Fig. 2. Inhibitory effects of plants extracts on cytotoxicity in fibroblast L929 cells.

3.5 항염 활성

다양한 농도의 시료들을 처리하여 염증 반응의 지표인 NO 생성능을 측정하였다(Fig. 3). 그 결과, 죽엽(BBL), 우엉뿌리(BR), 민들레뿌리(DR) 시료의 25, 50 및 100㎍/mL의 모든 농도에서는 양성대조군인 LPS 단독 처리군에 비해 농도 의존적으로 NO 생성억제를 보였으며, 여주열매(BMF) 시료에서는 농도에 큰 차이 없이 NO생성억제에 관여하는 것을 알 수 있었다. 옥수수뿌리(CSF) 시료를 제외한 25㎍/mL 이하 농도의 석류열매(POF), 복합추출물(HERC)에서도 양성대조군인 LPS 단독 처리군에 비해 농도 의존적으로 NO생성이 억제됨을 확인하였다. 이와 같은 결과들은 죽엽(BBL), 우엉뿌리(BR), 민들레 뿌리 (DR), 석류열매(POF), 복합추출물(HERC)의 각각의 추출물은 세포 성장에 영향을 주지 않는 농도에서 LPS 단독 처리군에 비해 유의하게 낮은 NO 생성능을 보였다. 천연물 추출물에는 항염증 효과에 영향을 주는 다양한 단일물질이 포함되어 있다. 천연물의 종류에 따라 차이가 있으나 천연물의 폴리페놀 화합물은 항염증에 효과가 있었다[23,24]. 구강 환경 개선을 위한 식품 추출물은 대체적으로 항염 활성에 효과를 가지고 있었으며, 구

강보건 제품에 적용 가능성을 제시하는 긍정적인 결과로 사료된다.

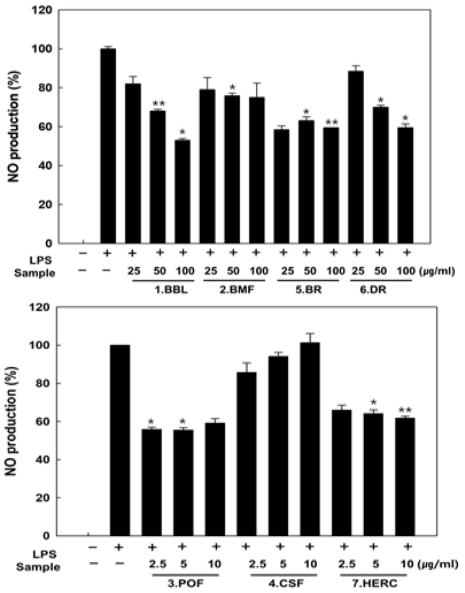

Fig. 3. Inhibitory effects of plants extracts on nitric oxide (NO) production in murine RAW 264.7 cells. The data are expressed as mean ± SD (n = 3). *indicates p 〈 0.05 and **indicates p 〈 0.01.

3.6 항암활성

각 추출물이 FaDu세포의 생존 억제 효과에 영향을 알아보기 위해 MTT assay를 수행하였다. 죽엽(BBL), 여주열매(POF), 우엉뿌리(BR), 민들레뿌리(DR) 외에 석류열매(POF), 옥수수수염(CSF), 복합추출물(HERC)은 정상세포에서 독성이 나타나지 않은 농도에서 암세포 억제능을 관찰하였다(Fig. 4). 죽엽(BBL), 옥수수수염(CSF) 시료는 농도에 상관없이 암세포 억제능을 보이지 않았다. 하지만, 여주열매(POF)의 최대 농도인 100 ㎍/mL에서 약 20 %의 증식 억제력을 보였다. 석류열매(POF)은 시료 농도 10㎍/mL 에서 10 % 이하의 증식 억제능이 확인되었다. 민들레뿌리(DR) 시료 농도 5, 10, 25, 50, 100 ㎍/mL에서 농도 의존적으로 20 %에서 50 % 이상에 억제능이 확인되었다. 복합(HERC) 추출물은 모든 시료 농도 2.5, 5, 10 ㎍/mL에서 유의할 만한 20~30 % 세포 증식 억제를 보였다.

Heo등의 연구에서 메탄올로 추출한 민들레 뿌리의 추출물 300 ㎍/mL은 결장암세포와 위암세포를 80 % 이상 세포 성장을 억제한다고 보고하였다[25]. 하인두 편평암세포의 경우 외과적 수술로 접근성의 어려움과 수술치료 후 재건 및 흉터와 같은 외적인 요인에 의한 우울감 상승 그리고 화학요법실시에 따른 수많은 부작용으로 인해 치료의 어려움을 겪는다[26]. 암세포주에서 세포증식 억제를 나타내는 민들레뿌리(DR) 추출물 25㎍/mL 이상의 농도는 향후 하인두 편평암세포 치료 시 좋은 대안이 될 수 있을 것으로 사료된다. 또한, 민들레 뿌리의 약리적 성질은 중증 구강질환에 합성의약품 치료제 대체재로 활용이 가능할 것으로 사료된다.

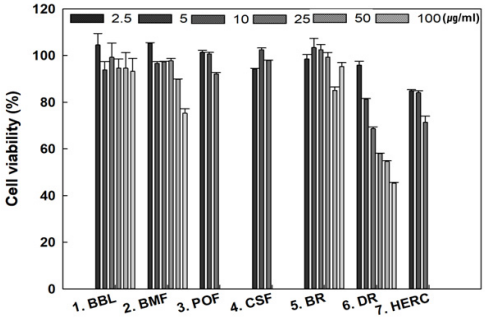

Fig. 4. Inhibitory effects of plants extracts on cytotoxicity in carcinoma FaDu cells.

4. 결론

본 연구에서는 구강질환 예방 및 치료에 적용 가능한 천연물을 선별하여 식물화학물질의 항산화, 항균, 항염 및 항암 관련 연구를 수행하였다. 죽엽(BL), 여주열매(BMF), 석류열매(POF), 옥수수수염(CSF), 우엉뿌리(BR), 민들레뿌리(DR)를 초음파 용매 추출공정으로 추출하여 생리활성을 관찰하였다. 석류열매(POF) 시료는 저농도에서 높은 항산화 및 항균 활성을 나타냈다. 특히, 구강질환에 관여하는 *C. albicans*, *S.mutans,* 및 *S. sobrinus*에 대한 항균활성은 6종류의 추출물 100 mg/mL에서 *C. abicans*의 저해활성이 모두 관찰되었다.

특히, 석류열매(POF)추출물은 각 농도에서 세 종류의 균주에서 항균 활성이 10~14 mm범위의 저해환을 나타냈다. LPS 단독 처리군에 비해 석류열매(POF), 복합추출물(HERC)은 농도 의존적으로 NO생성이 억제됨을 확인하였다. 또한, FaDu 세포에서 관찰한 세포증식 억제는 민들레뿌리(DR) 추출물 25㎍/mL 이상의 농도에서 50% 이상의 높은 활성이 관찰되었다.

따라서, 석류열매(POF)와 민들레뿌리(DR) 추출물은 구강질환 예방 및 치료 소재로 활용이 가능할 것으로 사료된다.

References

[1] J. H. Park, J. E. Jang, Y. H. Choi, "The impact of the COVID-19 pandemic on oral health behavior and oral symptoms in young adults", *Journal of Korean Academy of Oral Health,* Vol.45, No.4, pp.192-197, Dec. 2021.
DOI: https://doi.org/10.11149/jkaoh.2021.45.4.192

[2] H. W. Jung, J. Y. Yang, H. J. Park, "Research trend of health life expectancy using oral health indicators (2010-2020)", *The Journal of Korean Society for School & Community Health Education*, Vol.22, No.2, pp.75-91, May. 2021.
DOI: https://doi.org/10.35133/kssche.20210531.07

[3] J. Ahn, S. Segers, R. B. Hayes, "Periodontal disease, Porphyromonas gingivalis serum antibody levels and orodigestive cancer mortality", *Carcinogenesis*. Vol.33, No.5, pp.1055-1058, Feb. 2012.
DOI: https://doi.org/10.1093/carcin/bgs112

[4] J. Mysak, S. Podzimek, P. Sommerova, Y. Lyuya-Mi, J. Bartova, T. Janatova, "Porphyromonas gingivalis: Major Periodontopathic Pathogen Overview", *Journal of Immunology Research,* 476068. 2014.
DOI: https://doi.org/10.1155/2014/476068

[5] T. Honda, H. Domon, T. Okui, K. Kajita, R. Amanum, K. Yamaza, "Balance of inflammatory response in stable gingivitis and progressive periodontitis lesions", *Clinical and Experimental Immunology*, Vol.144, No.1, pp.35-40, Apr. 2006.
DOI: https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03028.x

[6] S.Y. Lee, S. H. Park, J.Y. Kang, J.H. Byeon, E.S. Jang, J. S. Son, S. G. Kim, "The establishment of natural materials library for the oral disease", *Oral Biology Research,* Vol.35, No.1, pp.47-54, Mar. 2011.
DOI: https://doi.org/10.21851/obr.35.1.201103.47

[7] S.G. Brooker, R.C. Cooper, R.C. Cambie, New Zealand medicinal plants. Heineman Publishers, Auckland, New Zealand, 1981.

[8] G. M. Wassel, S.M. Abd El-Wahab, E. A. Aboutabl, "Phytochemical examination and biological studies of Acacia nilotica(L.) Del. and Acacia farne- siana(L.) Willd. growing in Egypt", *Egyptian Journal of Pharmaceutical Sciences,* Vol.33, No.1-2, pp.327-340, Jan. 1992.

[9] K. H. Bea, B. J. Lee, Y. K. Jang, B. R. Lee, W. J. Lee, D. S. Chang, H. S. Moon, D. I. Paik, J. B. Kim, "The effect of mouthrinse products containing sodium fluoride, cetylpyridinium chloride(CPC), pine leaf extracts and green tea extracts on the plaque, gingivitis, dental caries and halitosis", *Journal of Korean Academy of Oral Health*, Vol. 25, No.1, pp.51-59, Mar. 2001.

[10] S. A. Kim, H. J. Jung, "Antimicrobial effects of propolis against oral microorganisms", *Korean Journal of Food Science and Technology,* Vol.45, No.3, pp.370-375, Jun. 2013.
DOI: https://doi.org/10.9721/KJFST.2013.45.3.370

[11] Y. Liu, D. Meng, L. Li, X. Zhang, J. Hu, Z. Lv, "Preparation of bamboo leaf hydrosols by the steam-distillation extraction process", *BioResources,*Vol.13, No.3, pp.6922-6935. Aug. 2018.

[12] G. Schmourlo, R.R.Mendonca-Filho, C.S.Alviano , S.S. Costa, "Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants", *Journal of Ethnopharmacology*, Vol.96, No.3, pp. 563-568, Jan. 2005.

[13] S. M. Shim, S.W.Choi, S.J.Bae, "Effects of Punica granatum L. fractions on quinone reductase induction and growth inhibition on several cancer cells", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition,* Vol.30, No.1, pp. 80-85, Jan. 2001.

[14] S. M. Cha, B.Y Son, J. S. Lee, S.B. Baek, S.L. Kim, J.H. Ku, J.J. Hwang, B. H. Song, S. H. Woo, Y. U. Kwon, J.T. Kim, "Effect of particle size on physico-chemical properties and antioxidant activity of corn silk powder", *The Korean Society of Crop Science*, Vol.57, No.1, pp.41-50, Mar. 2012.
DOI: https://doi.org/10.7740/kjcs.2012.57.1.041

[15] Y. J. Kim, S. C. Kang, S. Namkoong, M. G. Choung, E. H. Sohn, "Anti-inflammatory effects by Arctium lappa L. root extracts through the regulation of ICAM-1 and nitric oxide", *The Plant Resources Society of Korea,* Vol.25, No.1, pp.1-6, Feb. 2012.
DOI: https://doi.org/10.7732/kjpr.2012.25.1.001

[16] M.J. Kang, Y.H. Seo, J.B. Kim, S.R.Shin, K.S.Kim, "The chemical composition of Taraxacum officinale consumed in Korea", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.16, No.2, pp.182-187, May. 2000.

[17] M.S. Blois, "Antioxidant determination by the use of a stable free radical", *Nature*. Vol.181, No. 4617, pp.1199-1200, Apr. 1958.
DOI: http://dx.doi.org/10.1038/1811199a0

[18] S. Marklund, G. Marklund, "Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase", *European journal of biochemistry*, Vol. 47, No. 3, pp. 468-474, Sep. 1974.
DOI: https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x

[19] K. T. Park, D.W. Kim, T.S. Sin, S. Y. Shim, M. Y. Kim, S.S. Chun, "The effects of pomegranate extracts on the growth inhibition against Hep G-2 liver cancer cells and antioxidant activities", *Culinary science and hospitality research,* Vol.15, No. 1, pp. 120-132, Mar. 2009.

[20] H. D. Hong, N. K. Kang, S.S. Kim, "Superoxide dismutase like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetables", *Korean Journal of Food Science and Technology,* Vol.30, No.6, pp.1484-1487, Oct. 1998.

[21] B. J. An, J.T. Lee, "Studies on biological activity from extract of Crataegi Fructus", *The Korea Journal of Herbology,* Vol.17, No.2, pp. 29-38, Dec. 2002.

[22] W. I. Kim, J.E. Kim, S.H. Lee, Y.S. Moon, S. H. Lee, S. Y. Park, C.S. Na, "Antioxidative and antimicrobial activities of water- and ethanol-extracts from Betula platyphylla var. japonica, Punica granatum and Rhus javanica", *The Korea Journal of Herbology*, Vol.28, No.3, pp.45-51, May. 2013.
DOI: http://dx.doi.org/10.6116/kjh.2013.28.3.45

[23] A. V. Delgado, A, T. McManus, J, P. Chambers, "Production of tumor necrosis factor-alpha, interleukin 1-beta, interleukin 2, and interleukin 6 by rat leukocyte subpopulations after exposure to substance P", *Neuropeptides.* Vol.37, No.6, pp. 355-361, Dec. 2003.
DOI: https://doi.org/10.1016/j.npep.2003.09.005

[24] O. Zitka, J. Sochor, O. Rop, S. Skalickova, P. Sobrova, J. Zehnalek, M. Beklova, B. Krska, V. Adam & R. Kizek, "Comparison of various easy-to-use procedures for extraction of phenols from apricot fruits", *Molecules.* Vol.16, No.4, pp. 2914-2936. Mar. 2011.
DOI: https://doi.org/10.3390/molecules16042914

[25] S.I.Heo, M.H.Wang, "Antioxidant Activity and Cytotoxicity Effect of Extracts from Taraxacum mongolicum H", *Korean Journal of Pharmacognosy*, Vol.39, No.3, pp. 255-259, Sep. 2008.

[26] C. Xiao, A. Hanlon, Q. Zhang, K. Ang, D.I. Rosenthal, P. F. Nguyen-Tan, "Symptom clusters in patients with head and neck cancer receiving concurrent chemoradiotherapy", *Oral Oncology.* Vol. 49, No. 17, pp. 360-366, Nov. 2013.
DOI: https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2012.10.004

류 영 숙(Young-Suk Ryu) [정회원]

- 2012년 2월 : 남부대학교 일반대학원 한방제약개발학과 (이학석사)
- 2011년 2월 ~ 2013년 8월 : 전남과학대학교 대체의학과 겸임교수
- 2022년 11월 ~ 2022년 12월 : 조선대학교 산학협력단 연구원
- 2023년 3월 ~ 현재 : 조선대학교 산학협력단 전임교수

〈관심분야〉
발효차, 발효미생물학, 항암식이요법

여 명 구(Myeong Gu Yeo) [정회원]

- 1995년 2월 : 조선대학교 일반대학원 유전자과학과 (이학석사)
- 1995년 2월 : 조선대학교 일반대학원 유전자과학과 (이학박사)
- 2000년 5월 ~ 2004년 4월 : 미국 콜럼비아대학교 의과대학 연구원
- 2005년 5월 ~ 2011년 2월 : 광주과학기술원 생명과학부 연구교수
- 2011년 3월 ~ 현재 : 남부대학교 통합의료학과 교수

〈관심분야〉
세포신호전달, 세포부착 및 이동