

불소 또는 자일리톨을 함유한
Xanthorrhizol이 biofilm 형성
미생물의 성장에 미치는 효과

연세대학교 대학원

치 의 학 과

김 해 선

불소 또는 자일리톨을 함유한
Xanthorrhizol이 biofilm 형성
미생물의 성장에 미치는 효과

지도 김 백 일 교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2005년 12 월 일

연세대학교 대학원

치 의 학 과

김 해 선

김해선의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

연세대학교 대학원

2005년 12월 일

감사의 글

이 논문을 쓰면서 참 많은 분들의 도움과 희생을 필요로 했습니다. 많이 부족한 논문이지만 학위를 마칠 수 있도록 도와주신 여러분들께 머리 숙여 감사드립니다.

우선 예방치과에서 석사과정 하는 동안 늘 따뜻하게 대해주시고 격려해 주셨던 주임교수이신 권호근교수님, 논문이 완성되기까지 논문을 저보다 더 꼼꼼히 읽어보시고 지도해 주신 최충호교수님, 논문 시작부터 마무리할 때까지 부족한 저를 지도해 주시고 함께 고민해 주신 김백일교수님 감사합니다. 처음 논문의 방향을 잡아주셨던 박광균교수님과 정원윤교수님 감사합니다. 그리고 논문 쓰는 내내 마음써주고 걱정을 함께 해주었던 예방치과학교실원 선생님들께 감사합니다. 실험기간 내내 매번 불편을 끼쳐드렸던 구강생물학의 생화학교실원 선생님들과 항상 아끼는 마음으로 충고 말씀을 해주신 권순철원장님께 감사드립니다. 또한 언제나 자신의 일처럼 여기고 성심성의껏 도와준 아주대학교 생명분자공학부 친구들과 격려를 아끼지 않았던 친구들께 감사드립니다.

무엇보다 학위과정 내내 자식노릇 소홀히 한 저를 오히려 걱정해 주시고 도와주신 부모님과 가족들에게 감사드립니다.

한사람 한사람에게 감사의 말씀을 다 전하진 못했지만 주변의 모든 분들이 도와주시어 논문이 완성되었고 학위를 마칠 수 있었습니다. 앞으로도 성실한 모습을 보여드리는 것이 여러분의 사랑에 보답하는 길이라 생각하고 생활하겠습니다. 감사합니다.

2005년 12월

김해선 올림

차 례

| | |
|-------------------------------------|-----|
| 그림 차례 | ii |
| 표 차례 | iii |
| 국문 요약 | iv |
| I. 서론 | 1 |
| 1. 연구배경 및 의의 | 1 |
| 2. 연구목적 | 8 |
| II. 재료 및 방법 | 9 |
| 1. 항균물질 | 9 |
| 2. 균주의 배양 | 9 |
| 3. MIC 측정 | 9 |
| 4. 탁도 측정법 및 평판 계수법에 의한 생균수 측정 | 10 |
| III. 결과 | 11 |
| 1. 각 종 단일 항균물질의 최소억제농도 및 속효성 | 11 |
| 2. 각 종 혼합 물질의 최소억제농도 및 속효성 | 16 |
| 3. 특정 농도에서 각 종 항균물질의 항균력 비교 | 24 |
| IV. 고찰 | 26 |
| V. 결론 | 34 |
| 참고문헌 | 35 |
| 영문요약 | 46 |

그림 차례

| | |
|--|----|
| Figure 1. Structure of Xanthorrhizol | 5 |
| Figure 2. Bactericidal activity of antibacterial agents of 25ppm against <i>S. mutans</i> | 24 |
| Figure 3. Bactericidal activity of antibacterial agents of 50ppm against <i>A. viscosus</i> | 25 |
| Figure 4. Bactericidal activity of antibacterial agents of 100ppm against <i>F. nucleatum</i> | 25 |

표 차례

| | | |
|-----------|---|----|
| Table 1. | Minimum inhibitory concentration of antibacterial agents on the growth of <i>S. mutans</i> , <i>A. viscosus</i> , <i>F. nucleatum</i> | 11 |
| Table 2. | Bactericidal activity of Xanthorrhizol against <i>S. mutans</i> , <i>A. viscosus</i> , <i>F. nucleatum</i> (Log(CFU/ml)) | 12 |
| Table 3. | Bactericidal activity of stannous fluoride against <i>S. mutans</i> , <i>A. viscosus</i> , <i>F. nucleatum</i> (Log(CFU/ml)) | 13 |
| Table 4. | Bactericidal activity of sodium fluoride against <i>S. mutans</i> , <i>A. viscosus</i> , <i>F. nucleatum</i> (Log(CFU/ml)) | 14 |
| Table 5. | Bactericidal activity of Xylitol against <i>S. mutans</i> , <i>A. viscosus</i> , <i>F. nucleatum</i> (Log(CFU/ml)) | 15 |
| Table 6. | Minimum inhibitory concentration of mixed antibacterial agents on the growth of <i>S. mutans</i> , <i>A. viscosus</i> , <i>F. nucleatum</i> | 16 |
| Table 7. | Bactericidal activity of Xanthorrhizol containing stannous fluoride (1:1) against <i>S. mutans</i> , <i>A. viscosus</i> , <i>F. nucleatum</i> (Log(CFU/ml)) | 17 |
| Table 8. | Bactericidal activity of Xanthorrhizol containing stannous fluoride (1:2) against <i>S. mutans</i> , <i>A. viscosus</i> , <i>F. nucleatum</i> (Log(CFU/ml)) | 18 |
| Table 9. | Bactericidal activity of Xanthorrhizol containing sodium fluoride (1:1) against <i>S. mutans</i> , <i>A. viscosus</i> , <i>F. nucleatum</i> (Log(CFU/ml)) | 19 |
| Table 10. | Bactericidal activity of Xanthorrhizol containing sodium fluoride (1:2) against <i>S. mutans</i> , <i>A. viscosus</i> , <i>F. nucleatum</i> (Log(CFU/ml)) | 20 |
| Table 11. | Bactericidal activity of Xanthorrhizol containing Xylitol (1:1) against <i>S. mutans</i> , <i>A. viscosus</i> , <i>F. nucleatum</i> (Log(CFU/ml)) | 21 |
| Table 12. | Bactericidal activity of Xanthorrhizol containing Xylitol (1:2) against <i>S. mutans</i> , <i>A. viscosus</i> , <i>F. nucleatum</i> (Log(CFU/ml)) | 22 |

국문요약

불소 또는 자일리톨을 함유한 Xanthorrhizol이 biofilm 형성 미생물의 성장에 미치는 효과

본 연구에서는 구강내 biofilm을 형성하는 몇 가지 미생물에 대한 항균력을 평가하기 위해 Curcuma xanthorrhiza 추출물인 Xanthorrhizol과 불소 또는 자일리톨을 1:1과 1:2의 비율로 혼합하여 각 항균물질의 minimum inhibitory concentration (MIC)과 속효성에 대해 알아본 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Xanthorrhizol, stannous fluoride, sodium fluoride의 MIC 값은 각각 *S. mutans*에 대해 5ppm, 2500ppm, 5000ppm, *A. viscosus*에 대해 5ppm, 1000ppm, 1000ppm, *F. nucleatum*에 대해 5ppm, 1000ppm, 5000ppm으로 나타났으며 자일리톨은 실험에 이용된 농도에서는 MIC 값이 관찰되지 않았다.

2. Xanthorrhizol과 stannous fluoride, sodium fluoride, 또는 자일리톨이 1:1로 섞여있는 경우, MIC 값은 각각 *S. mutans*에 대해 1000ppm, 5000ppm, 10ppm, *A. viscosus*에 대해 500ppm, 250ppm, 5ppm, *F. nucleatum*에 대해 2500ppm, 1000ppm, 50ppm으로 나타났다.

3. Xanthorrhizol과 stannous fluoride, sodium fluoride, 또는 자일리톨이 1:2로 섞여있는 경우, MIC 값은 각각 *S. mutans*에 대해 1000ppm, 5000ppm, 100ppm, *A. viscosus*에 대해 500ppm, 500ppm, 50ppm, *F. nucleatum*에 대해 5000ppm, 2500ppm, 100ppm으로 나타났다.

4. 단일 항균물질의 속효성을 알아본 결과, Xanthorrhizol, stannous fluoride의 경우, 1분 안에 균을 사멸시킬 수 있는 농도는 *S. mutans*에 대해 25ppm, 2500ppm, *A. viscosus*에 대해 50ppm, 2500ppm, *F. nucleatum*에

대해 100ppm, 5000ppm으로 나타났으나 sodium fluoride, 자일리톨은 실험에 이용된 농도에서는 1분 안에 균을 사멸시키지 못했다.

5. 혼합 항균물질의 속효성을 알아본 결과, Xanthorrhizol과 stannous fluoride 또는 자일리톨이 1:1로 섞여있는 경우, 1분 안에 균을 사멸시킬 수 있는 농도는 각각 *S. mutans*에 대해 2500ppm, 100ppm, *A. viscosus*에 대해 2500ppm, 100ppm, *F. nucleatum*에 대해 2500ppm, 250ppm으로 나타났으며, Xanthorrhizol과 sodium fluoride가 1:1로 섞여있는 경우에는 2500ppm의 농도에서 *A. viscosus* 균주를 거의 모두 사멸시켰지만 *S. mutans*나 *F. nucleatum* 균주에 대해서는 1분 안에 균을 사멸시키지 못했다. Xanthorrhizol과 stannous fluoride, sodium fluoride, 또는 자일리톨이 1:2로 섞여있는 경우, 1분 안에 균을 사멸시킬 수 있는 농도는 각각 *S. mutans*에 대해 5000ppm, 5000ppm, 500ppm, *A. viscosus*에 대해 2500ppm, 1000ppm, 250ppm, *F. nucleatum*에 대해 5000ppm, 5000ppm, 500ppm으로 나타났다.

불소나 자일리톨의 경우 Xanthorrhizol을 섞었을 때 불소나 자일리톨을 단독으로 사용할 때 보다 항균력이 증가하였다. 하지만 Xanthorrhizol은 그 자체로서 항균력이 매우 뛰어났지만 불소 또는 자일리톨과 섞을 경우 Xanthorrhizol 자체의 항균력은 떨어졌다. 따라서 치약의 경우처럼 불소를 배제할 수 없는 경우 Xanthorrhizol을 첨가하면 불소의 치아 재광화 효과와 함께 항균력 효과까지도 기대해 볼 수 있을 것이다.

핵심되는 말: 불소, 속효성, 자일리톨, 항균물질, biofilm, minimum inhibitory concentration, Xanthorrhizol

불소 또는 자일리톨을 함유한 Xanthorrhizol이 biofilm 형성

미생물의 성장에 미치는 효과

〈지도교수 김백일〉

연세대학교 대학원 치의학과

김 해 선

I. 서론

1. 연구배경 및 의의

구강은 인체에서 생태학적으로 가장 다양한 미생물분포를 가지고 있는 곳 중 하나이다. 약 350여 종의 배양 가능한 종이 존재하며, 타액 내에는 ml당 약 1억 마리 이상의 미생물이 존재하고 치주낭에는 300여종 이상의 미생물 종이 존재한다 (Kroes 등, 1999). 구강 미생물들은 정상적으로 숙주와 함께 조화를 이루며 살고 있지만 숙주와 미생물군의 균형의 변화가 일어나면 치아우식증이나 치주질환과 같은 구강질환이 증가된다 (Marsh, 1994).

Biofilm은 박테리아나 효소와 같은 미생물이 표면위에서 성장하여 층을 형성하고 그들 스스로 polysaccharide나 glycoprotein을 분비하여 형성된 다세포성의 집합체를 말한다. Biofilm은 단지 미국에서만 한해에 100만 건의 원내 감염을 일으키고 급성중이염, 심내막염, 낭종 섬유증, Legionnaire's disease (acute respiratory infection)을 일으키기 때문에 중요하다 (www. biofilm.org). 구강 내에서는 치면세균막이 biofilm의 전형적인 형태이다. 구강 상재 세균총 중에서도 *Streptococcus mutans* (이하 *S. mutans*)는 치아우식증의 원인균으로 알려져 있고 (Loesche, 1986), *Actinomyces viscosus* (이하 *A. viscosus*)는 성인의 치근면 우식과 관련이 있고, 치주병을 일으키는 원인균으로 잘 알려져 있다 (Jordan 등, 1972). 또한 *Fusobacterium nucleatum* (이하 *F. nucleatum*)은 치주질환 (Shah와 Gharbia,

1989) 및 구취 (Kleinberg와 Codipilly, 1995)와 연관되어 있다. 이러한 세균은 무엇보다도 구강 내에서 biofilm 형성에 크게 관여함으로써 이러한 구강 질환을 일으키고 있는 것으로 여겨지고 있다 (Bowen 등, 1991; Froeliger와 Fives-Taylor, 2001; Oetjen 등, 2001; Biswas와 Biswas, 2005; Kolenbrander 등, 2002; Suzuki와 Delisle, 1984; Tang 등, 2004; Bolstad 등, 1996; Bradshaw 등, 1998; Sharma 등, 2005).

치아우식발생의 원인 가운데 세균적 병인에는 아직까지 논란의 여지가 있다. 즉 우식발생이 특정 세균의 작용으로 일어나는지, 아니면 여러 세균들의 복합적 작용에 의해 발생하는지는 의문이다. 그럼에도 불구하고 사람의 치아우식증은 주로 *S. mutans*가 관여하는 것으로 밝혀졌다. 또한 *S. mutans*는 다당류인 글루칸을 합성시켜 치주질환 원인 균인 *Actinomyces* 속의 결합을 증진시키는 부착인자로 작용함으로써 biofilm을 형성하여 치주질환에 잠재적인 역할을 한다 (Matee, 1993; Suzuki와 Delisle, 1984). 즉, *S. mutans*는 타액성 획득 피막 (acquired pellicle) 성분인 당단백질에 부착하는 대표적인 세균 중 하나로 glucosyl transferase (GTase)를 생성하여 글루칸을 합성한다. 이 균에 의해 합성된 글루칸은 점착성이 있어 세균이 치아 평활면에 잘 부착되게 하고 세균을 응집시킨다 (Sigmund와 Anne, 1992). 부착한 세균이 증식하면 치은염과 치아면의 소와 열구를 따라 치면세균막을 형성하여 치아우식증 및 치주질환을 발생시킨다. 따라서 많은 연구자들은 *S. mutans*의 형성을 억제할 수 있는 방법에 대해 연구해 왔다.

또한 biofilm 형성에 있어 *A. viscosus*는 치은연상 치면세균막의 경우 청결한 치아 표면에 부착하는 최초의 세균 중 하나이다 (Nyvad와 Kilian, 1987). *S. mutans*에 의해 생성된 글루칸에 부착함으로써 형성된다 (Matee, 1993). 햄스터와 무균 쥐에 *A. viscosus*와 *A. naeslundii*를 접종하면 치면세균막 개시, 골 손실을 동반한 치주조직의 파괴, 치근면 우식이 유발된다고 하였다 (김영권과 한만덕, 2003).

최근 biofilm 형성에 있어 주목을 받고 있는 균주가 *F. nucleatum*이다. *Fusobacterium* 속 중 구강에서 분리되는 대표적인 종이 *F. nucleatum*으로 이 균은 구강에서 뿐만 아니라 상기도와 흉강에서도 분리된다. 초기 치면세균막이 형성되

면 *Streptococcus*와 *Actinomyces*같은 특정 세균이 서로 응집하고, 여기에 *F. nucleatum*과 같은 그람 음성세균들이 부착한다. 이러한 그람 음성세균은 치아 표면이나 치은조직에 부착능력이 없으므로 그람 양성세균에 결합하는 방법으로 치은연하부위에서 집락화 함으로써 치주질환을 일으키는 치은연하 세균총 형성에 중요한 인자이다 (Bradshaw 등, 1998). *F. nucleatum*은 건강한 치주조직이나 모든 형태의 염증이 있는 치주질환부위에서 가장 우점종으로 존재하는 세균으로 성인성 치주염에서 가장 빈번하게 분리되는 세균이다. 성인성 치주염에서 증식하므로 *Spirochete*와 함께 급성 괴양성 치주염 원인균으로 여겨지고 있다 (Hase 등, 1977).

현재 치과 영역에 그 심각성이 부각되고 있는 구강내 대표적인 biofilm인 치면세균막 형성에 큰 기여를 하고 있는 *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum*을 조절함으로써 치면세균막 형성 유도를 막는다면 biofilm으로 인한 많은 구강 질환들을 예방할 수 있을 것이다. 그 일환으로 현재까지 수많은 화학적, 물리적인 방법들을 통해 구강미생물 성장을 억제하려는 시도가 이루어져왔다.

구강미생물 성장을 억제하는 방법으로는 크게 물리적인 방법과 화학적인 방법으로 나뉜다. 그동안 화학적 방법을 통해 병원성 미생물의 성장을 억제하는 방법들이 많이 연구되어 왔다. 치면세균막 형성억제 또는 제거시킬 수 있는 대표적인 물질로 Chlorhexidine이 가장 잘 알려져 있다 (Nuuja 등, 1993). 이 화합물은 치아 표면에 부착하는 특성과 항균활성을 통해 세균을 억제시킨다. 그 밖에 Triclosan (Greenman과 Nelson, 1996), Cetylpyridinium chloride (Mankodi, 2005) 등의 합성물질이 주로 사용되어 왔다. 이러한 합성물질들이 구강 내 미생물을 억제하기는 하지만 구강점막에 통증을 유발하거나 지속적으로 사용했을 때 치아변색과 같은 문제를 유발할 수 있는 가능성을 가지고 있다 (Ciancio, 1992). 또한 이들 물질들은 *S. mutans*와 같은 질병유발 원인균뿐만 아니라 구강내 정상 세균총을 파괴시켜 구강생태계의 균형을 깨뜨리고 저항성 균주 출현의 가능성을 가지고 있다 (McBain 등, 2003a, 2003b). 반코마이신 (Vancomycin), 카나마이신 (Kanamycin), 테트라사이클린 (Tetracycline) 및 미노사이클린 (Minocycline) 등의 항생물질은 치주질환을 억제할 뿐

만 아니라 치면세균막 형성을 감소시킨다. 지체부자유자들이나 스스로 구강청결 능력이 없는 자에게는 항생제가 유용할 수 있지만 항생물질의 상용은 알레르기 반응 또는 내성균주의 출현 가능성이 존재한다 (Montgomery와 Kroeger, 1984).

이러한 단점들을 보완하고자 국외뿐만 아니라 우리나라에서도 자연 추출물에 대한 연구가 증가되고 있다. 지금까지 알려진 자연 추출물로는 녹차와 우롱차 등의 주성분인 축합형 tannin계 Polyphenol (Oshima, 1993), Propolis (유영관 등, 1996), Flavonoids (정대인 등, 1996), Funoran (Saeki 등, 1996) 및 Sanguinarine (Jones 등, 1986) 등이 구강내 미생물에 효과적인 것으로 알려져 있다 (Otake 등, 1992; Saeki, 1994). 또한 토양에서 분리한 곰팡이인 *Aspergillus terreus*의 배양액으로부터 mutastein이라는 당단백질이 분리되어 GTase 저해제로서 상품화되기도 하였다 (Endo, 1983). 치면 세균막 형성 억제제를 위한 GTase 활성 저해제로써 cacao bean 및 감잎 등으로부터 분리된 수종의 tannin 화합물들이 효과를 나타내지만 이들 tannin계 화합물은 GTase뿐만 아니라 거의 모든 효소작용을 비특이적으로 저해한다는 보고도 있다 (Kwon, 1990).

한편 일반적으로 Temu lawak (또는 Javanese turmeric)으로 알려진 *Curcuma xanthorrhiza*는 생강과 (Zingiberaceae) 식물의 일종으로 인도네시아의 전통 약용 식물 (Lin 등, 1995)이다. *Curcuma xanthorrhiza*의 약리활성으로는 항암효과 (Piper와 Salameh, 1998), Triglyceride 감소효과 (Yasni 등, 1994), 간 보호효과 (Hepatoprotective effect) (Lin 등, 1995), 신독성 (Nephrotoxicity) 감소효과 (Kim 등, 2005), 항염작용 (Claeson 등, 1993), 항전이 (Anti-metastasis)작용 (Choi 등, 2005), 항균작용 (Hwang 등, 2000b), 콜레스테롤 감소효과 (Beynen, 1987), 상처 치유효과 (Sidhu 등, 1998) 등이 보고된 바 있다.

우리나라에서는 심 (1998)에 의해서 *Curcuma xanthorrhiza*의 뿌리 부분에 함유되어 있는 Xanthorrhizol (1,3,5,10-bisabolatetraen-3-ol)이 처음 분리되었고 이 물질은 sesquiterpenoid 계열의 화합물로써, 분자량 218의 저분자 화합물로써 무색, 무취하다.

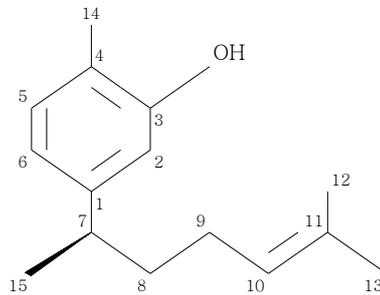


Figure 1. Structure of Xanthorrhizol

Hwang 등 (2000a, 2000b)은 *Curcuma xanthorrhiza*의 추출 성분 중에서 Xanthorrhizol이 구강균주에 탁월한 효능이 있다고 보고하였다. 구강균주 중에서도 특히 치아우식증 관련 균주인 *S. mutans*에 두드러진 항우식효과를 가진다고 하였고 *S. mutans*에 대한 minimum inhibitory concentration (이하 MIC)을 Xanthorrhizol과 Chlorhexidine간에 비교한 결과 각각 $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ 과 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 나타났음을 보고하였다. 또한 치주염 발생 원인균이자 구취발생에 깊이 관여 하는 *Porphyromonas gingivalis*에 대해서는 각각 $32 \mu\text{g}/\text{ml}$ 와 $8 \mu\text{g}/\text{ml}$ 이었고, *A. viscosus*에서는 각각 $16 \mu\text{g}/\text{ml}$ 과 $4 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로써 최소생육저해농도가 Chlorhexidine과 큰 차이가 나지 않는 것으로 보고하였다 (Hwang 등, 2000b). Xanthorrhizol의 효능은 대표적 천연물인 Polyphenol, Caracrol, Isoeugenol, Eucalyptol, Thymol 등과 비교해 볼 때도 월등히 우수한 것이었다. 특히, Xanthorrhizol은 5 ppm의 농도에서 1분 안에 치아우식증 유발 균주를 완전히 사멸시키는 강력한 항균활성이 보고 된 바 있다 (Hwang 등, 2000a). 그러나 Xanthorrhizol은 구강 내 다른 정상 상재균에 대해서는 특별히 강한 항균력을 나타내지 않아 치아우식증 유발균과 치주염균에 대해서만 선택적으로 높은 항균성을 갖는 물질인 것으로 밝혀졌다 (Hwang 등, 2000b). 이러한 속효성 (fast effectiveness)의 항균활성은 수분 이내에 항균활성을 요구하는 구강위생 제품에 적용하는데 매우 유효한 특성이라고 여겨진다.

또한 치과계에서 항균력이 뛰어난 물질로 먼저 알려져 현재 널리 이용되고 있는 대

표적인 물질이 불소와 자일리톨이다. 불소는 불소 함유치약의 우식예방효과가 여러 학자들에 의해 보고 (Hodge 등, 1980; Corpron 등, 1986; De Kloet 등, 1986; White와 Featherstone, 1987; Featherstone 등, 1988; Mellgerg, 1991)된 이래 최근 대부분의 치약에는 불소가 함유되어 있다 (김백일 등, 2005). 불소의 재석회화 촉진, 내산성 향상, 항균·항효소작용 중 항균·항효소작용은 불소가 *S. mutans*의 cell membrane을 통과하여 proton을 운반시키는 역할을 하는데 (Bender 등, 1986) 즉, 낮은 pH에서 다량의 불소가 세포내로 흡수되고 다량 흡수된 세포내 HF는 세포내 pH의 감소를 일으켜 결국 세포질 내부를 덜 우호적인 환경으로 만들어 세포 성장에 필요한 효소의 활성을 저해한다. 또한 불소는 세포 대사의 핵심인 ATP와 당흡수경로인 P-enolpyruvate (PEP)에도 영향을 준다 (Hamilton, 1977; Kanapka 등, 1971). Phan 등 (2002)의 연구에서 불소가 *S. mutans*의 해당과정을 억제시키는 효과가 있는지를 알아본 결과 pH가 4.0으로 낮은 환경에서 불소는 저농도에서도 가장 높은 해당과정 억제효과를 나타냈다고 보고하였다. 자일리톨은 치면세균막 성장을 억제시키고 법랑질의 재석회화 반응을 활성화 하며, 타액단백을 보호하는 역할을 한다. 자일리톨로 인한 치면세균막 성장 억제는 *S. mutans*류의 균주가 phosphotransperase system (PTS)을 통해 자일리톨을 섭취하는 것에서 부터 시작된다. 타액으로부터 수송도중에 용해된 자일리톨은 세균세포벽 내에서 인산화 반응을 거치게 된다. 일단 세포 내에 들어가면 형성된 대사산물 (자일리톨 5인산)은 축적을 계속하여 어떤 수준 (5 mmol/ℓ)에 달하면 세균의 세포에 대하여 독성을 끼치거나 유도가능한 당 phosphotase에 의한 가수분해를 통해 무기 인산염과 자일리톨로 분해된다. 반응의 산물 (자일리톨)은 타액 중으로 다시 방출된다. 세균의 세포는 이 과정에서 에너지를 획득하지 못하므로 그 사이클은 무익한 것이며 이런 사이클을 "무익한 대사 싸이클 (Futile Metabolic Cycle)"로 칭하고 이 싸이클은 세포에 저장되어 있는 열량을 소비시킬 뿐, 열량 생산에 도움을 주지는 않는다 (윤홍렬, 1998). 헝가리에서의 역학연구결과 자일리톨을 섭취한 아동군이 대조군 또는 불소 처치를 한 군보다도 치면세균막 중의 *S. mutans* 수가 극히 낮았다고 하였다 (Scheinin과 Banoczy, 1985; Schinin 등, 1985).

항균효과가 있는 자연추출물 및 합성 물질에 불소 및 자일리톨의 이러한 기능이 추가되면 더 효과적인 항균력을 가지는 물질을 만들 수 있다는 보고가 많이 있다. 최근 김

등 (2005)은 *Curcuma xanthorrhiza* 추출물 함유 치약을 개발하여 구취 억제 효과와 구강 유해균에 대한 선택적 항균 효과를 알아봄으로써 구강 위생제제로 개발되어 실질적인 제품으로의 응용 가능성에 대해 보고한 바 있다. 이때 이용된 치약에 불소가 함유되어 있었고 현재 이용되고 있는 대부분의 치약 역시 불소가 함유되어 있다. 그렇다면 불소가 함유되어 있는 치약에 *Curcuma xanthorrhiza* 추출물인 Xanthorrhizol을 첨가했을 때 더 효과적인 항균력을 나타내는지 알아볼 필요가 있다고 사료되었다.

2. 연구목적

본 연구에서는 Curcuma xanthorrhiza 추출물인 Xanthorrhizol에 기존의 알려진 항균물질인 불소 또는 자일리톨을 첨가함으로써 biofilm을 형성하는 몇 가지 미생물에 대한 항균력이 상승되는지를 알아보려고 하였다. 구체적인 목적은 아래와 같다.

1. 치면세균막 형성에 있어서 주된 역할을 한다고 알려진 *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum*에 대한 불소, 자일리톨, Xanthorrhizol의 항균력을 MIC를 통해서 평가하였다.
2. Xanthorrhizol과 불소 또는 자일리톨을 1:1 또는 1:2로 혼합했을 때 상기 균주에 대한 항균력을 MIC로 평가하였다.
3. 불소, 자일리톨, Xanthorrhizol의 상기 균주에 대한 속효성의 항균활성을 평가하였다.
4. Xanthorrhizol과 불소 또는 자일리톨이 1:1 또는 1:2로 혼합했을 때 상기 균주에 대한 속효성의 항균활성을 평가하였다.

II. 재료 및 방법

1. 항균물질

유럽 약전에 등재된 Javanese Turmeric (*Curcuma xanthorrhizae rhizoma*)인 *Curcuma xanthorrhiza*의 뿌리로부터 추출된 Xanthorrhizol을 연세대학교 식품생물공학교실로부터 함량이 100%인 것을 제공받아 4℃의 저온실에서 보관하면서 실험에 사용하였다. 불소와 자일리톨은 시중에 상용되고 있는 sodium fluoride powder (Shinyo pure chemicals Co., Ltd.), stannous fluoride (Mallinckrodt Chemical Works), 자일리톨 (Sigma)을 25℃ 실온보관하면서 실험에 이용하였다.

실제 실험에서 단일물질로는 Xanthorrhizol, stannous fluoride, sodium fluoride, 자일리톨을 이용하였고, 혼합물질로는 Xanthorrhizol과 stannous fluoride를 1:1과 1:2 배합으로 섞은 경우, Xanthorrhizol과 sodium fluoride를 1:1과 1:2 배합으로 섞은 경우, Xanthorrhizol과 자일리톨을 1:1과 1:2 배합으로 섞은 경우로 최소 5ppm에서 최대 5000ppm까지의 농도를 이용하였다.

2. 균주의 배양

구강미생물로는 *S. mutans* ATCC25175, *A. viscosus* ATCC15988, *F. nucleatum* ATCC10953 균주를 한국생명공학연구원 생물자원센터로부터 분양받아 사용하였으며, 이 균주를 BHI (Brain Heart Infusion, Difco Co.) 배지를 이용하여 37℃ incubator에서 20~24시간 배양하였다. 균체의 보존에는 BHI 배지에 1.5% agar를 첨가한 배지를 사용하여 4℃에서 보관하였고, 일주일 간격으로 계대 배양하였다.

3. MIC 측정

MIC는 탁도 측정법을 이용하여 수행하였다. 즉, 준비된 tube에 실험에 사용하게 될 항균물질을 순수한 xanthorrhizol의 경우 100% dimethyl sulfoxide (이하 DMSO)에 그리고 xanthorrhizol과 불소 또는 자일리톨을 혼합할 경우 10% DMSO에 녹여 항균물질을 제조하여 다양한 농도로 다시 100% DMSO 및 10% DMSO에

순차적으로 희석하여 만들었다. 또한 최종 농도가 성인의 타액을 호기적으로 배양할 경우 평균 4×10^7 CFU/ml개의 세균에 근접하게 하기 위해 37°C incubator에서 20~24시간 배양시킨 각 종 균주를 최종농도가 *S. mutans*의 경우 7.25×10^6 CFU/ml, *A. viscosus*는 7.8×10^5 CFU/ml, *F. nucleatum*은 4.3×10^6 CFU/ml로 희석하여 stock solution을 만들었다. 만들어 둔 항균물질을 96-well microtiter plate (Becton Dickinson, New York, USA)에 20 μ l를 넣은 다음 여기에 stock solution에서 균 180 μ l를 따서 시료에 첨가하여 37°C에서 24시간 배양한 후 ELISA reader (Bio-Rad)를 이용하여 655nm에서 균의 optical density (이하 OD)를 측정하여 MIC를 결정하였다.

4. 탁도 측정법 및 평판 계수법에 의한 생균수 측정

생균수 측정에 의한 속효성 (fast effectiveness)의 항균활성 검사는 탁도 측정법을 이용하여 수행하였고 실제로 살아있는 생균수를 확인하기 위하여 평판 계수법을 병행하였다. 즉, 성인의 타액을 호기적으로 배양할 경우 평균 4×10^7 CFU/ml개의 세균에 근접하게 하기 위해 37°C incubator에서 20~24시간 배양시킨 각 종 균주를 최종농도가 *S. mutans*의 경우 7.25×10^6 CFU/ml, *A. viscosus*는 7.8×10^5 CFU/ml, *F. nucleatum*은 4.3×10^6 CFU/ml로 희석하여 stock solution으로 만들었다. 또한 순수한 xanthorrhizol의 경우 100% DMSO에 그리고 xanthorrhizol과 불소 또는 자일리톨을 혼합할 경우 10% DMSO에 녹여 항균물질을 제조하였다. 만들어 놓은 항균물질 20 μ l와 균주 180 μ l를 혼합하여 96-well microtiter plates에 넣은 다음 37°C에서 각각 1, 2, 5, 10분 동안 처리한 후 ELISA reader를 이용하여 655nm에서 균의 OD를 측정한 뒤 평판 계수법을 실시하여 생균수를 확인하였다.

III. 결 과

1. 각종 단일 항균물질의 최소억제농도 및 속효성

각 종 단일 항균물질의 농도를 최저 농도 5ppm에서 최고 농도 5000ppm까지 하여 *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum*에 대한 항균활성 검사를 실시한 결과 *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum*에 대한 Xanthorrhizol의 MIC가 모두 5ppm으로 매우 낮게 나타난 반면 *S. mutans*와 *F. nucleatum*에 대한 MIC는 sodium fluoride는 두 균 모두 5000ppm, *A. viscosus*에 대해서는 1000ppm으로 나타났으며, stannous fluoride는 *S. mutans*에 대해서 2500ppm, *A. viscosus*와 *F. nucleatum*에 대해서는 두 균 모두 1000ppm으로 Xanthorrhizol의 MIC에 비해 높게 나타났다 (Table 1). 속효성의 항균활성에 대해서는 Xanthorrhizol의 농도가 25ppm일 때 *S. mutans*는 1분 안에 균이 거의 사멸하였고 *A. viscosus*는 50ppm의 농도에서 그리고 *F. nucleatum*은 100ppm의 농도에서 1분 안에 균이 거의 사멸하였다 (Table 2). Sodium fluoride, stannous fluoride, 자일리톨은 같은 농도에서 10분이 지난 후에도 균을 완전히 사멸 시키지 못했다 (Table 3, 4, 5).

Table 1. Minimum inhibitory concentration of antibacterial agents on the growth of *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum*

(unit: ppm)

| Antibacterial agents | Bacteria | | |
|-------------------------------|------------------|--------------------|---------------------|
| | <i>S. mutans</i> | <i>A. viscosus</i> | <i>F. nucleatum</i> |
| Xanthorrhizol | 5 | 5 | 5 |
| SnF ₂ [*] | 2500 | 1000 | 1000 |
| NaF ^{**} | 5000 | 1000 | 5000 |
| Xylitol | - | - | - |

- : under observation

* : stannous fluoride, ** : sodium fluoride

Table 2. Bactericidal activity of Xanthorrhizol against *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum* (Log(CFU/ml))

| Bacteria | Concentration (ppm) | Treatment Time (min) | | | |
|---------------------|---------------------|----------------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 1 | 2 | 5 | 10 |
| <i>S. mutans</i> | control | 6.59 (0.23) | 6.64 (0.22) | 6.61 (0.23) | 6.56 (0.23) |
| | 5 | 6.10 (0.59) | 5.99 (0.34) | 5.93 (0.27) | 5.92 (0.33) |
| | 10 | 5.69 (0.72) | 5.48 (0.14) | 5.45 (0.13) | 5.56 (0.14) |
| | 25 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 50 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 100 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 250 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 1000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 2500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| <i>A. viscosus</i> | control | 5.69 (0.07) | 5.45 (0.11) | 5.54 (0.18) | 5.87 (0.18) |
| | 5 | 5.45 (0.11) | 5.37 (0.17) | 5.45 (0.11) | 4.98 (0.16) |
| | 10 | 5.76 (0.40) | 5.72 (0.33) | 5.58 (0.13) | 5.68 (0.37) |
| | 25 | 5.68 (0.25) | 4.69 (0.26) | 4.49 (0.32) | 3.89 (0.12) |
| | 50 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 100 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 250 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 1000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 2500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| <i>F. nucleatum</i> | control | 6.61 (0.12) | 6.62 (0.00) | 6.61 (0.11) | 6.63 (0.10) |
| | 5 | 6.61 (0.05) | 6.59 (0.05) | 6.60 (0.07) | 6.51 (0.05) |
| | 10 | 6.62 (0.09) | 6.62 (0.17) | 6.60 (0.16) | 6.63 (0.04) |
| | 25 | 5.75 (0.05) | 4.90 (0.13) | 4.53 (0.05) | 3.52 (0.18) |
| | 50 | 2.90 (0.03) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 100 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 250 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 1000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 2500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |

All values are Mean (S.D.).

Table 3. Bactericidal activity of stannous fluoride against *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum* (Log(CFU/ml))

| Bacteria | Concentration (ppm) | Treatment Time (min) | | | |
|---------------------|---------------------|----------------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 1 | 2 | 5 | 10 |
| <i>S. mutans</i> | control | 6.49 (0.08) | 6.64 (0.01) | 6.57 (0.04) | 6.5 (0.28) |
| | 5 | 6.76 (0.30) | 6.75 (0.45) | 7.03 (0.90) | 6.69 (0.64) |
| | 10 | 6.80 (0.39) | 6.79 (0.84) | 6.82 (0.98) | 6.59 (0.43) |
| | 25 | 6.79 (0.43) | 6.83 (0.76) | 6.67 (0.77) | 6.66 (0.95) |
| | 50 | 6.82 (0.42) | 6.80 (0.93) | 6.82 (0.21) | 6.71 (0.86) |
| | 100 | 6.78 (0.74) | 6.78 (0.10) | 6.78 (0.95) | 6.65 (0.92) |
| | 250 | 6.74 (0.96) | 6.74 (0.15) | 6.78 (0.92) | 6.66 (0.76) |
| | 500 | 6.30 (0.34) | 6.35 (0.18) | 6.27 (0.98) | 6.22 (0.92) |
| | 1000 | 4.56 (0.83) | 5.04 (0.22) | 5.96 (0.99) | 5.65 (0.94) |
| | 2500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| <i>A. viscosus</i> | control | 5.61 (0.13) | 5.89 (0.07) | 5.61 (0.07) | 5.70 (0.07) |
| | 5 | 5.76 (0.12) | 5.92 (0.07) | 5.58 (0.07) | 5.63 (0.11) |
| | 10 | 5.68 (0.18) | 5.85 (0.00) | 5.85 (0.11) | 5.58 (0.24) |
| | 25 | 5.85 (0.65) | 5.63 (0.14) | 5.15 (1.57) | 5.06 (1.30) |
| | 50 | 5.88 (0.14) | 5.29 (0.49) | 5.82 (0.08) | 4.48 (0.25) |
| | 100 | 5.89 (1.37) | 5.67 (1.13) | 5.44 (0.51) | 4.14 (0.41) |
| | 250 | 5.89 (0.43) | 5.16 (1.31) | 5.49 (0.28) | 4.60 (1.55) |
| | 500 | 3.49 (0.67) | 3.69 (1.79) | 3.48 (1.49) | 3.26 (0.82) |
| | 1000 | 1.70 (1.32) | 1.70 (0.69) | 1.70 (0.57) | 1.70 (0.22) |
| | 2500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| <i>F. nucleatum</i> | control | 6.34 (0.07) | 6.46 (0.00) | 6.44 (0.05) | 6.44 (0.05) |
| | 5 | 6.41 (0.05) | 6.44 (0.21) | 6.34 (0.12) | 6.60 (0.37) |
| | 10 | 6.41 (0.05) | 6.49 (0.04) | 6.49 (0.04) | 6.62 (0.05) |
| | 25 | 6.50 (0.28) | 6.52 (0.31) | 6.59 (0.28) | 6.62 (0.20) |
| | 50 | 6.54 (0.22) | 6.51 (0.05) | 6.60 (0.12) | 6.63 (0.16) |
| | 100 | 6.57 (0.41) | 6.35 (0.19) | 6.39 (0.23) | 6.49 (0.10) |
| | 250 | 6.58 (0.40) | 5.85 (0.53) | 6.34 (0.81) | 6.33 (0.94) |
| | 500 | 6.49 (0.42) | 6.62 (0.54) | 6.63 (0.44) | 6.63 (0.76) |
| | 1000 | 6.55 (0.36) | 6.61 (0.80) | 6.44 (0.42) | 6.62 (0.89) |
| | 2500 | 2.78 (0.88) | 3.89 (0.68) | 2.00 (0.47) | 0.00 (0.00) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |

All values are Mean (S.D.).

Table 4. Bactericidal activity of sodium fluoride against *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum* (Log(CFU/ml))

| Bacteria | Concentration (ppm) | Treatment Time (min) | | | |
|---------------------|---------------------|----------------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 1 | 2 | 5 | 10 |
| <i>S. mutans</i> | control | 6.88 (0.34) | 6.92 (0.94) | 6.35 (0.63) | 6.35 (0.31) |
| | 5 | 6.83 (0.76) | 6.07 (0.59) | 5.87 (0.62) | 5.82 (0.70) |
| | 10 | 6.64 (0.93) | 6.78 (0.93) | 6.79 (0.43) | 6.38 (0.68) |
| | 25 | 6.72 (0.34) | 6.68 (0.95) | 6.19 (0.57) | 6.28 (0.69) |
| | 50 | 6.69 (0.49) | 6.70 (0.74) | 6.18 (0.50) | 6.19 (0.18) |
| | 100 | 6.84 (0.40) | 6.79 (0.94) | 6.29 (0.25) | 6.32 (0.22) |
| | 250 | 6.67 (0.18) | 6.73 (0.38) | 6.17 (0.43) | 6.21 (0.92) |
| | 500 | 6.67 (0.98) | 6.75 (0.92) | 6.34 (0.62) | 6.22 (0.98) |
| | 1000 | 6.69 (0.85) | 6.64 (0.92) | 6.39 (0.91) | 6.23 (0.92) |
| | 2500 | 6.61 (0.35) | 6.45 (0.97) | 5.60 (0.54) | 5.52 (0.28) |
| | 5000 | 6.69 (0.68) | 6.61 (0.27) | 5.81 (0.45) | 5.53 (0.31) |
| <i>A. viscosus</i> | control | 5.52 (0.07) | 5.68 (0.07) | 5.76 (0.30) | 5.82 (0.07) |
| | 5 | 5.82 (0.07) | 5.72 (0.13) | 5.82 (0.13) | 5.63 (0.00) |
| | 10 | 5.76 (0.31) | 5.79 (0.18) | 5.72 (0.13) | 5.82 (0.18) |
| | 25 | 5.68 (0.13) | 5.68 (0.29) | 5.58 (0.13) | 5.79 (0.27) |
| | 50 | 5.76 (0.12) | 5.68 (0.07) | 5.79 (0.27) | 5.79 (0.07) |
| | 100 | 5.63 (0.00) | 5.79 (0.13) | 5.68 (0.07) | 5.79 (0.07) |
| | 250 | 5.85 (0.20) | 5.76 (0.12) | 5.82 (0.29) | 5.68 (0.07) |
| | 500 | 5.76 (0.00) | 5.63 (0.11) | 5.82 (0.18) | 5.63 (0.00) |
| | 1000 | 5.58 (0.07) | 5.61 (0.25) | 5.61 (0.19) | 5.37 (0.07) |
| | 2500 | 5.86 (0.16) | 5.66 (0.49) | 5.71 (0.31) | 5.48 (0.23) |
| | 5000 | 5.73 (0.18) | 5.72 (0.18) | 5.58 (0.35) | 5.52 (0.24) |
| <i>F. nucleatum</i> | control | 6.62 (0.18) | 6.66 (0.04) | 6.56 (0.11) | 6.53 (0.09) |
| | 5 | 6.58 (0.05) | 6.62 (0.00) | 6.62 (0.00) | 6.39 (0.12) |
| | 10 | 6.63 (0.04) | 6.62 (0.13) | 6.62 (0.17) | 6.39 (0.08) |
| | 25 | 6.62 (0.00) | 6.56 (0.00) | 6.54 (0.05) | 6.23 (0.05) |
| | 50 | 6.62 (0.08) | 6.56 (0.17) | 6.58 (0.05) | 6.42 (0.15) |
| | 100 | 6.63 (0.12) | 6.60 (0.15) | 6.54 (0.12) | 6.50 (0.19) |
| | 250 | 6.58 (0.05) | 6.58 (0.05) | 6.49 (0.00) | 6.45 (0.14) |
| | 500 | 6.56 (0.11) | 6.46 (0.09) | 6.51 (0.07) | 6.13 (0.07) |
| | 1000 | 6.49 (0.14) | 6.36 (0.66) | 6.32 (0.15) | 5.99 (0.14) |
| | 2500 | 6.43 (0.09) | 6.36 (0.25) | 6.23 (0.61) | 5.79 (0.09) |
| | 5000 | 6.43 (0.05) | 6.36 (0.07) | 6.28 (0.00) | 5.64 (0.00) |

All values are Mean (S.D.).

Table 5. Bactericidal activity of Xylitol against *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum* (Log(CFU/ml))

| Bacteria | Concentration (ppm) | Treatment Time (min) | | | |
|---------------------|---------------------|----------------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 1 | 2 | 5 | 10 |
| <i>S. mutans</i> | control | 6.74 (0.26) | 6.62 (0.05) | 6.62 (0.52) | 6.76 (0.29) |
| | 5 | 5.75 (0.25) | 6.30 (0.33) | 6.18 (0.33) | 6.03 (0.20) |
| | 10 | 6.48 (0.10) | 6.37 (0.31) | 5.96 (0.31) | 6.10 (0.09) |
| | 25 | 6.59 (0.19) | 6.52 (0.31) | 6.40 (0.25) | 6.18 (0.35) |
| | 50 | 6.57 (0.18) | 6.36 (0.18) | 6.20 (0.43) | 6.76 (0.31) |
| | 100 | 6.60 (0.38) | 6.31 (0.31) | 6.19 (0.14) | 6.44 (0.10) |
| | 250 | 6.64 (0.09) | 6.53 (0.26) | 6.31 (0.27) | 6.34 (0.45) |
| | 500 | 6.53 (0.11) | 6.34 (0.14) | 6.41 (0.18) | 6.27 (0.21) |
| | 1000 | 6.64 (0.14) | 6.47 (0.13) | 6.63 (0.05) | 6.45 (0.17) |
| | 2500 | 6.73 (0.54) | 6.54 (0.14) | 6.45 (0.15) | 6.30 (0.43) |
| | 5000 | 6.50 (0.36) | 6.47 (0.35) | 6.37 (0.28) | 6.47 (0.23) |
| <i>A. viscosus</i> | control | 5.88 (0.13) | 5.88 (0.18) | 5.88 (0.07) | 5.90 (0.07) |
| | 5 | 5.72 (0.13) | 5.68 (0.13) | 5.68 (0.07) | 5.45 (0.00) |
| | 10 | 5.68 (0.18) | 5.85 (0.00) | 5.79 (0.13) | 5.68 (0.13) |
| | 25 | 5.45 (0.23) | 5.68 (0.07) | 5.58 (0.07) | 5.63 (0.00) |
| | 50 | 5.52 (0.13) | 5.82 (0.13) | 5.52 (0.07) | 5.63 (0.11) |
| | 100 | 5.90 (0.24) | 5.89 (0.08) | 5.90 (0.13) | 5.82 (0.07) |
| | 250 | 5.89 (0.08) | 5.58 (0.07) | 5.72 (0.07) | 5.63 (0.00) |
| | 500 | 5.28 (0.17) | 5.63 (0.41) | 5.79 (0.18) | 5.58 (0.13) |
| | 1000 | 5.76 (0.23) | 5.85 (0.20) | 5.85 (0.20) | 5.82 (0.07) |
| | 2500 | 5.85 (0.16) | 5.76 (0.12) | 5.82 (0.18) | 5.82 (0.13) |
| | 5000 | 5.37 (0.13) | 5.72 (0.29) | 5.72 (0.13) | 5.76 (0.00) |
| <i>F. nucleatum</i> | control | 6.59 (0.07) | 6.61 (0.08) | 6.50 (0.10) | 6.63 (0.04) |
| | 5 | 6.47 (0.05) | 6.50 (0.10) | 6.44 (0.00) | 6.55 (0.10) |
| | 10 | 6.61 (0.04) | 6.61 (0.04) | 6.50 (0.05) | 6.61 (0.04) |
| | 25 | 6.62 (0.08) | 6.63 (0.08) | 6.55 (0.04) | 6.54 (0.00) |
| | 50 | 6.63 (0.00) | 6.60 (0.00) | 6.49 (0.10) | 6.60 (0.00) |
| | 100 | 6.63 (0.04) | 6.54 (0.06) | 6.52 (0.00) | 6.58 (0.03) |
| | 250 | 6.44 (0.00) | 6.44 (0.11) | 6.47 (0.05) | 6.54 (0.00) |
| | 500 | 6.47 (0.05) | 6.44 (0.11) | 6.47 (0.05) | 6.49 (0.04) |
| | 1000 | 6.41 (0.12) | 6.34 (0.00) | 6.38 (0.07) | 6.29 (0.05) |
| | 2500 | 6.47 (0.24) | 6.41 (0.19) | 6.26 (0.27) | 6.29 (0.14) |
| | 5000 | 6.47 (0.05) | 6.50 (0.05) | 6.47 (0.29) | 6.20 (0.07) |

All values are Mean (S.D.).

2. 각종 혼합 물질의 최소억제농도 및 속효성

다른 혼합물질에 비해 Xanthorrhizol과 자일리톨을 1:1로 섞었을 때 MIC가 비교적 낮게 나타났다. Xanthorrhizol과 자일리톨을 1:1과 1:2로 혼합하였을 때 MIC는 *S. mutans*의 경우 각각 10ppm, 100ppm, *A. viscosus*는 5ppm, 50ppm, *F. nucleatum*은 50ppm, 100ppm로 Xanthorrhizol을 단독 사용했을 때의 MIC 농도와 큰 차이가 나지 않는 것으로 나타났지만 Xanthorrhizol과 불소를 혼합하였을 때는 Xanthorrhizol을 단독 사용했을 때 보다 현저하게 높게 나타났다 (Table 6). 또한 Xanthorrhizol과 구강내 미생물에 항균력을 가지고 있는 불소 또는 자일리톨을 1:1과 1:2 비율로 혼합하여 항균력의 속효성을 살펴본 결과 Xanthorrhizol과 자일리톨을 1:1, 1:2의 비율로 혼합하였을 때 *S. mutans*의 경우 농도가 각각 100ppm, 500ppm에서 1분 안에 거의 모든 균을 사멸하였다. *A. viscosus*의 경우는 각각 100ppm, 250ppm에서 1분 안에 거의 모든 균이 사멸하였고 *F. nucleatum*의 경우 각각 250ppm과 500ppm에서 1분 안에 거의 모든 균이 사멸하였다 (Table 11, 12). 반면 Xanthorrhizol과 불소를 혼합하였을 때는 같은 농도에서 10분이 지난 후에도 균을 완전히 사멸 시키지 못했다 (Table 7, 8, 9, 10).

Table 6. Minimum inhibitory concentration of mixed antibacterial agents on the growth of *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum*

| Antibacterial agents* | Bacteria | | |
|-----------------------|------------------|--------------------|---------------------|
| | <i>S. mutans</i> | <i>A. viscosus</i> | <i>F. nucleatum</i> |
| X+S | 1000 | 500 | 2500 |
| X+2S | 1000 | 500 | 5000 |
| X+N | 5000 | 250 | 1000 |
| X+2N | 5000 | 500 | 2500 |
| X+Xyl | 10 | 5 | 50 |
| X+2Xyl | 100 | 50 | 100 |

(unit: ppm)

* : X+S: xanthorrhizol + stannous fluoride (1:1), X+2S: xanthorrhizol + stannous fluoride (1:2), X+N: xanthorrhizol + sodium fluoride (1:1), X+2N: xanthorrhizol + sodium fluoride (1:2), X+Xyl: xanthorrhizol + xylitol (1:1), X+2Xyl: xanthorrhizol + xylitol (1:2)

Table 7. Bactericidal activity of Xanthorrhizol containing stannous fluoride (1:1) against *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum* (Log(CFU/ml))

| Bacteria | Concentration (ppm) | Treatment Time(min) | | | |
|---------------------|---------------------|---------------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 1 | 2 | 5 | 10 |
| <i>S. mutans</i> | control | 6.59 (0.05) | 6.64 (0.18) | 6.61 (0.50) | 6.56 (0.25) |
| | 5 | 6.75 (0.26) | 6.75 (0.12) | 6.82 (0.41) | 6.78 (0.12) |
| | 10 | 6.75 (0.15) | 6.75 (0.31) | 6.82 (0.11) | 6.78 (0.24) |
| | 25 | 6.67 (0.07) | 6.80 (0.33) | 6.70 (0.23) | 6.86 (0.11) |
| | 50 | 6.77 (0.12) | 6.79 (0.41) | 6.65 (0.08) | 6.79 (0.15) |
| | 100 | 6.70 (0.40) | 6.75 (0.40) | 6.78 (0.51) | 6.88 (0.61) |
| | 250 | 6.81 (1.16) | 6.82 (0.13) | 6.76 (0.52) | 6.86 (0.23) |
| | 500 | 6.81 (0.58) | 6.75 (1.33) | 6.76 (0.34) | 6.78 (0.27) |
| | 1000 | 6.54 (0.29) | 6.57 (0.42) | 6.69 (0.15) | 6.68 (0.12) |
| | 2500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | <i>A. viscosus</i> | control | 5.68 (0.07) | 5.72 (0.07) | 5.58 (0.19) |
| 5 | | 5.82 (0.07) | 5.76 (0.00) | 5.76 (0.12) | 5.90 (0.46) |
| 10 | | 5.88 (0.19) | 5.79 (0.19) | 5.76 (0.12) | 5.76 (0.12) |
| 25 | | 5.68 (0.07) | 5.68 (0.07) | 5.63 (0.12) | 5.68 (0.19) |
| 50 | | 5.63 (0.21) | 5.68 (0.28) | 5.28 (0.18) | 5.45 (0.00) |
| 100 | | 5.85 (1.24) | 5.85 (0.24) | 5.76 (1.70) | 5.48 (1.06) |
| 250 | | 5.45 (2.64) | 5.39 (0.34) | 5.63 (1.09) | 5.29 (0.47) |
| 500 | | 5.73 (1.09) | 5.74 (0.77) | 5.87 (0.78) | 5.51 (1.30) |
| 1000 | | 4.33 (0.47) | 3.29 (0.10) | 2.81 (0.09) | 2.81 (0.29) |
| 2500 | | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| 5000 | | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| <i>F. nucleatum</i> | | control | 6.34 (0.07) | 6.46 (0.08) | 6.63 (0.07) |
| | 5 | 6.37 (0.00) | 6.44 (0.10) | 6.56 (0.04) | 6.52 (0.04) |
| | 10 | 6.44 (0.05) | 6.49 (0.08) | 6.68 (0.09) | 6.56 (0.06) |
| | 25 | 6.41 (0.05) | 6.37 (0.00) | 6.56 (0.08) | 6.54 (0.13) |
| | 50 | 6.37 (0.12) | 6.23 (0.06) | 6.23 (0.12) | 6.43 (0.30) |
| | 100 | 6.62 (0.73) | 6.52 (0.45) | 6.42 (0.20) | 6.29 (0.21) |
| | 250 | 6.53 (0.51) | 6.31 (0.86) | 6.20 (0.65) | 5.45 (0.40) |
| | 500 | 6.51 (0.88) | 6.40 (0.31) | 6.34 (0.87) | 6.07 (0.15) |
| | 1000 | 6.44 (0.16) | 6.48 (0.54) | 6.49 (0.88) | 5.73 (0.61) |
| | 2500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |

All values are Mean (S.D.).

Table 8. Bactericidal activity of Xanthorrhizol containing stannous fluoride (1:2) against *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum* (Log(CFU/ml))

| Bacteria | Concentration (ppm) | Treatment Time (min) | | | |
|---------------------|---------------------|----------------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 1 | 2 | 5 | 10 |
| <i>S. mutans</i> | control | 6.59 (0.28) | 6.64 (0.11) | 6.61 (0.10) | 6.56 (0.22) |
| | 5 | 6.76 (0.21) | 6.77 (0.07) | 6.78 (0.09) | 7.18 (0.11) |
| | 10 | 6.88 (0.15) | 6.76 (0.52) | 6.69 (0.15) | 7.01 (0.16) |
| | 25 | 6.73 (0.25) | 6.57 (0.45) | 6.73 (0.44) | 6.82 (0.27) |
| | 50 | 6.86 (0.26) | 6.84 (0.29) | 6.81 (0.22) | 6.91 (0.52) |
| | 100 | 6.92 (0.60) | 6.70 (0.41) | 6.89 (0.15) | 6.90 (0.42) |
| | 250 | 6.79 (0.34) | 6.79 (0.11) | 6.87 (0.72) | 6.88 (0.35) |
| | 500 | 6.75 (0.23) | 6.77 (0.28) | 6.71 (0.49) | 6.84 (0.15) |
| | 1000 | 6.63 (0.49) | 6.61 (0.89) | 6.59 (0.23) | 6.60 (0.74) |
| | 2500 | 5.96 (0.37) | 5.48 (0.08) | 5.69 (0.11) | 5.72 (0.81) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| <i>A. viscosus</i> | control | 5.70 (0.09) | 5.85 (0.12) | 5.85 (0.12) | 5.79 (0.07) |
| | 5 | 5.85 (0.12) | 5.63 (0.00) | 5.76 (0.00) | 5.63 (0.00) |
| | 10 | 5.85 (0.12) | 5.82 (0.07) | 5.79 (0.07) | 5.72 (0.07) |
| | 25 | 5.88 (0.39) | 5.88 (0.14) | 5.88 (0.14) | 5.79 (0.14) |
| | 50 | 5.94 (0.21) | 5.90 (0.19) | 5.52 (0.07) | 5.58 (0.07) |
| | 100 | 5.91 (0.90) | 5.15 (0.23) | 5.19 (1.29) | 5.52 (0.67) |
| | 250 | 6.06 (1.99) | 5.88 (0.92) | 4.98 (0.38) | 4.83 (0.68) |
| | 500 | 5.82 (0.33) | 5.75 (0.61) | 5.69 (1.24) | 5.47 (0.51) |
| | 1000 | 4.29 (0.70) | 3.99 (0.33) | 4.01 (0.53) | 3.84 (0.20) |
| | 2500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| <i>F. nucleatum</i> | control | 6.46 (0.28) | 6.54 (0.00) | 6.63 (0.13) | 6.51 (0.13) |
| | 5 | 6.51 (0.07) | 6.51 (0.00) | 6.58 (0.05) | 6.43 (0.04) |
| | 10 | 6.51 (0.11) | 6.58 (0.07) | 6.63 (0.24) | 6.57 (0.31) |
| | 25 | 6.51 (0.20) | 6.63 (0.07) | 6.57 (0.13) | 6.63 (0.07) |
| | 50 | 6.61 (0.08) | 6.62 (0.20) | 6.56 (0.03) | 6.56 (0.13) |
| | 100 | 6.44 (0.42) | 6.60 (0.86) | 6.44 (0.20) | 5.51 (0.41) |
| | 250 | 6.57 (0.31) | 6.05 (0.25) | 6.63 (0.25) | 6.54 (0.22) |
| | 500 | 6.62 (0.93) | 6.59 (0.32) | 6.25 (0.97) | 6.13 (0.96) |
| | 1000 | 6.55 (0.75) | 6.54 (0.95) | 6.49 (0.91) | 6.41 (0.87) |
| | 2500 | 6.63 (0.41) | 6.61 (0.75) | 6.31 (0.76) | 6.07 (0.78) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |

All values are Mean (S.D.).

Table 9. Bactericidal activity of Xanthorrhizol containing sodium fluoride (1:1) against *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum* (Log(CFU/ml))

| Bacteria | Concentration (ppm) | Treatment Time (min) | | | |
|---------------------|---------------------|----------------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 1 | 2 | 5 | 10 |
| <i>S. mutans</i> | control | 6.58 (0.46) | 6.70 (0.57) | 6.79 (0.54) | 6.55 (0.14) |
| | 5 | 6.53 (0.59) | 6.53 (0.59) | 6.90 (0.27) | 6.53 (0.26) |
| | 10 | 6.57 (0.39) | 6.57 (0.55) | 7.04 (0.25) | 6.56 (0.40) |
| | 25 | 6.52 (0.58) | 6.55 (0.32) | 6.90 (0.57) | 6.54 (0.06) |
| | 50 | 6.57 (0.38) | 6.57 (0.16) | 6.77 (0.40) | 6.55 (0.04) |
| | 100 | 6.55 (0.24) | 6.68 (0.12) | 6.56 (1.98) | 6.56 (2.02) |
| | 250 | 6.56 (1.93) | 6.53 (2.65) | 6.53 (0.68) | 6.52 (1.99) |
| | 500 | 6.53 (0.52) | 6.45 (0.36) | 6.75 (0.14) | 6.55 (0.38) |
| | 1000 | 6.54 (0.10) | 6.23 (0.16) | 6.54 (0.24) | 6.37 (0.53) |
| | 2500 | 6.40 (0.17) | 6.10 (0.16) | 6.52 (0.08) | 6.35 (0.17) |
| | 5000 | 6.50 (0.12) | 5.64 (0.42) | 6.50 (0.37) | 5.93 (0.06) |
| <i>A. viscosus</i> | control | 5.68 (0.18) | 5.37 (0.13) | 5.37 (0.17) | 5.63 (0.20) |
| | 5 | 5.63 (0.23) | 5.58 (0.07) | 5.37 (0.07) | 5.58 (0.07) |
| | 10 | 5.85 (0.30) | 5.76 (0.12) | 5.63 (0.30) | 5.63 (0.11) |
| | 25 | 5.85 (0.00) | 5.68 (0.07) | 5.52 (0.13) | 5.58 (0.07) |
| | 50 | 5.79 (0.37) | 5.72 (0.07) | 5.72 (0.07) | 5.63 (0.00) |
| | 100 | 2.78 (0.14) | 2.78 (0.03) | 2.30 (0.02) | 2.85 (0.01) |
| | 250 | 2.40 (0.08) | 2.40 (0.00) | 2.00 (0.02) | 2.00 (0.00) |
| | 500 | 2.78 (0.03) | 2.78 (0.00) | 2.30 (0.03) | 2.85 (0.03) |
| | 1000 | 2.40 (0.06) | 2.40 (0.06) | 2.00 (0.02) | 2.00 (0.04) |
| | 2500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| <i>F. nucleatum</i> | control | 6.62 (0.10) | 6.51 (0.07) | 6.56 (0.04) | 6.53 (0.19) |
| | 5 | 6.39 (0.05) | 6.36 (0.05) | 6.32 (0.11) | 6.39 (0.05) |
| | 10 | 6.51 (0.13) | 6.51 (0.13) | 6.45 (0.04) | 6.36 (0.05) |
| | 25 | 6.51 (0.07) | 6.43 (0.00) | 6.39 (0.05) | 6.07 (0.09) |
| | 50 | 6.39 (0.29) | 6.43 (0.08) | 6.43 (0.08) | 6.39 (0.17) |
| | 100 | 6.45 (0.28) | 6.45 (0.14) | 6.32 (0.11) | 6.48 (0.19) |
| | 250 | 6.39 (0.15) | 6.13 (0.09) | 6.13 (0.09) | 6.19 (0.14) |
| | 500 | 6.36 (0.05) | 6.36 (0.12) | 6.24 (0.07) | 6.39 (0.10) |
| | 1000 | 6.48 (0.15) | 6.39 (0.25) | 6.28 (0.12) | 6.17 (0.05) |
| | 2500 | 6.56 (0.08) | 6.39 (0.30) | 6.32 (0.18) | 5.39 (0.15) |
| | 5000 | 3.11 (0.06) | 2.30 (0.11) | 2.48 (0.07) | 2.88 (0.03) |

All values are Mean (S.D.).

Table 10. Bactericidal activity of Xanthorrhizol containing sodium fluoride (1:2) against *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum* (Log(CFU/ml))

| Bacteria | Concentration (ppm) | Treatment Time (min) | | | |
|---------------------|---------------------|----------------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 1 | 2 | 5 | 10 |
| <i>S. mutans</i> | control | 6.40 (0.14) | 6.51 (0.11) | 6.87 (0.13) | 6.70 (0.17) |
| | 5 | 6.66 (0.04) | 6.66 (0.21) | 6.77 (0.16) | 6.80 (0.29) |
| | 10 | 6.56 (0.69) | 6.57 (0.40) | 6.83 (0.69) | 6.66 (0.54) |
| | 25 | 6.45 (0.22) | 6.42 (0.08) | 6.83 (0.51) | 6.64 (0.54) |
| | 50 | 6.34 (0.41) | 6.14 (0.24) | 6.46 (0.29) | 6.39 (0.28) |
| | 100 | 6.02 (0.46) | 6.52 (0.53) | 6.79 (0.15) | 6.27 (0.58) |
| | 250 | 6.41 (0.13) | 6.64 (0.25) | 6.73 (0.35) | 6.84 (0.20) |
| | 500 | 6.59 (0.35) | 6.41 (0.08) | 6.69 (0.33) | 6.39 (0.10) |
| | 1000 | 6.22 (0.43) | 6.22 (0.49) | 6.35 (0.21) | 6.20 (0.61) |
| | 2500 | 6.19 (0.13) | 6.07 (0.48) | 6.18 (0.34) | 5.74 (0.21) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| <i>A. viscosus</i> | control | 5.88 (0.29) | 5.58 (0.07) | 5.63 (0.11) | 5.37 (0.07) |
| | 5 | 5.72 (0.07) | 5.58 (0.07) | 5.58 (0.18) | 5.45 (0.11) |
| | 10 | 5.91 (0.07) | 5.79 (0.12) | 5.52 (0.13) | 5.63 (0.00) |
| | 25 | 6.07 (0.56) | 5.86 (0.27) | 5.68 (0.13) | 5.79 (0.24) |
| | 50 | 6.00 (0.23) | 5.88 (0.12) | 5.76 (0.12) | 5.82 (0.07) |
| | 100 | 5.76 (0.12) | 5.68 (0.07) | 5.58 (0.07) | 5.63 (0.00) |
| | 250 | 5.85 (0.00) | 5.45 (0.11) | 5.45 (0.23) | 5.58 (0.07) |
| | 500 | 4.09 (0.09) | 3.99 (0.05) | 3.11 (0.00) | 3.04 (0.04) |
| | 1000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 2500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| <i>F. nucleatum</i> | control | 6.51 (0.07) | 6.48 (0.04) | 6.45 (0.04) | 6.36 (0.14) |
| | 5 | 6.48 (0.08) | 6.43 (0.00) | 6.32 (0.00) | 6.28 (0.07) |
| | 10 | 6.65 (0.03) | 6.53 (0.10) | 6.43 (0.08) | 6.62 (0.29) |
| | 25 | 6.40 (0.29) | 5.83 (0.09) | 6.60 (0.06) | 6.48 (0.08) |
| | 50 | 6.57 (0.30) | 6.53 (0.17) | 6.53 (0.08) | 6.48 (0.12) |
| | 100 | 6.56 (0.08) | 6.43 (0.08) | 6.16 (0.14) | 6.26 (0.07) |
| | 250 | 6.48 (0.08) | 6.32 (0.11) | 6.32 (0.00) | 6.36 (0.12) |
| | 500 | 6.43 (0.00) | 6.39 (0.10) | 6.28 (0.00) | 6.36 (0.12) |
| | 1000 | 6.48 (0.00) | 6.13 (0.10) | 6.13 (0.07) | 5.96 (0.05) |
| | 2500 | 6.32 (0.08) | 6.07 (0.12) | 6.13 (0.09) | 5.74 (0.05) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |

All values are Mean (S.D.).

Table 11. Bactericidal activity of Xanthorrhizol containing Xylitol (1:1) against *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum* (Log(CFU/ml))

| Bacteria | Concentration (ppm) | Treatment Time (min) | | | |
|---------------------|---------------------|----------------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 1 | 2 | 5 | 10 |
| <i>S. mutans</i> | control | 6.53 (0.30) | 6.70 (0.30) | 6.72 (0.57) | 6.70 (0.10) |
| | 5 | 6.54 (0.23) | 6.04 (0.29) | 5.98 (0.05) | 6.04 (0.15) |
| | 10 | 6.07 (0.27) | 6.03 (0.16) | 6.14 (0.18) | 5.98 (0.10) |
| | 25 | 5.36 (0.37) | 5.60 (0.14) | 5.12 (0.19) | 4.94 (0.34) |
| | 50 | 4.94 (0.08) | 5.04 (0.31) | 4.56 (0.12) | 4.56 (0.30) |
| | 100 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 250 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 1000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 2500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | <i>A. viscosus</i> | control | 5.85 (0.26) | 5.74 (0.15) | 5.95 (0.12) |
| 5 | | 5.84 (0.07) | 5.77 (0.13) | 5.59 (0.07) | 5.84 (0.15) |
| 10 | | 5.93 (0.07) | 5.85 (0.24) | 5.82 (0.24) | 5.68 (0.29) |
| 25 | | 4.36 (0.13) | 3.79 (0.05) | 3.27 (0.04) | 3.50 (0.05) |
| 50 | | 3.68 (0.66) | 3.16 (0.30) | 2.48 (0.24) | 2.48 (0.32) |
| 100 | | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| 250 | | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| 500 | | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| 1000 | | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| 2500 | | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| 5000 | | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| <i>F. nucleatum</i> | | control | 6.53 (0.07) | 6.55 (0.05) | 6.61 (0.08) |
| | 5 | 6.51 (0.07) | 6.57 (0.14) | 6.51 (0.12) | 6.55 (0.11) |
| | 10 | 6.55 (0.19) | 6.46 (0.27) | 6.43 (0.09) | 6.48 (0.07) |
| | 25 | 6.43 (0.01) | 6.27 (0.02) | 6.13 (0.02) | 6.34 (0.01) |
| | 50 | 6.62 (0.04) | 6.51 (0.07) | 6.18 (0.12) | 6.31 (0.03) |
| | 100 | 1.70 (0.02) | 1.70 (0.04) | 2.18 (0.09) | 2.98 (0.09) |
| | 250 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 1000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 2500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |

All values are Mean (S.D.).

Table 12. Bactericidal activity of Xanthorrhizol containing Xylitol (1:2) against *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum* (Log(CFU/ml))

| Bacteria | Concentration (ppm) | Treatment Time (min) | | | |
|---------------------|---------------------|----------------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 1 | 2 | 5 | 10 |
| <i>S. mutans</i> | control | 6.74 (0.10) | 6.72 (0.15) | 6.75 (0.15) | 6.77 (0.15) |
| | 5 | 6.56 (0.18) | 6.61 (0.20) | 6.57 (0.12) | 6.61 (0.10) |
| | 10 | 6.70 (0.15) | 6.79 (0.20) | 6.80 (0.39) | 6.74 (0.30) |
| | 25 | 6.77 (0.11) | 6.83 (0.09) | 6.68 (0.00) | 6.70 (0.05) |
| | 50 | 6.75 (0.30) | 6.80 (0.06) | 6.72 (0.21) | 6.70 (0.35) |
| | 100 | 6.62 (0.16) | 6.57 (0.25) | 6.62 (0.33) | 6.55 (0.36) |
| | 250 | 6.54 (0.11) | 5.70 (0.36) | 5.70 (0.09) | 0.00 (0.00) |
| | 500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 1000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 2500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| <i>A. viscosus</i> | control | 5.85 (0.12) | 5.82 (0.07) | 5.81 (0.00) | 5.91 (0.11) |
| | 5 | 5.75 (0.00) | 5.67 (0.07) | 5.67 (0.00) | 5.76 (0.22) |
| | 10 | 5.75 (0.12) | 5.67 (0.07) | 5.79 (0.19) | 5.83 (0.58) |
| | 25 | 5.82 (0.08) | 6.08 (0.24) | 5.95 (0.08) | 5.95 (0.94) |
| | 50 | 5.83 (0.19) | 5.69 (0.12) | 5.61 (0.13) | 5.72 (0.28) |
| | 100 | 5.40 (0.07) | 4.53 (0.15) | 4.81 (0.15) | 4.54 (0.14) |
| | 250 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 1000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 2500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| <i>F. nucleatum</i> | control | 6.51 (0.12) | 6.63 (0.03) | 6.55 (0.03) | 6.63 (0.12) |
| | 5 | 6.46 (0.09) | 6.43 (0.09) | 6.48 (0.10) | 6.55 (0.11) |
| | 10 | 6.07 (0.03) | 5.93 (0.03) | 4.87 (0.05) | 4.20 (0.07) |
| | 25 | 6.31 (0.08) | 6.20 (0.08) | 5.99 (0.04) | 5.91 (0.10) |
| | 50 | 6.53 (0.07) | 6.62 (0.04) | 6.53 (0.14) | 6.59 (0.14) |
| | 100 | 6.40 (0.05) | 6.51 (0.06) | 6.57 (0.19) | 6.61 (0.16) |
| | 250 | 2.00 (0.00) | 1.70 (0.08) | 2.74 (0.06) | 2.81 (0.07) |
| | 500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 1000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 2500 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |
| | 5000 | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) |

All values are Mean (S.D.).

Xanthorrhizol과 stannous fluoride를 혼합 할 경우 MIC는 *S. mutans*와 *F. nucleatum*의 경우 1:1, 1:2비율 일 때 각각 1000ppm과 500ppm으로 나타났으며, *F. nucleatum*의 경우 1:1 비율일 때 2500ppm, 1:2비율일 때 5000ppm으로 나타났다. 또한 sodium fluoride와 1:1로 혼합했을 때 MIC는 *S. mutans*의 경우 1:1 비율이나 1:2 비율 모두에서 5000ppm으로 나타났다. *A. viscosus*의 경우는 1:1, 1:2 비율에서 각각 250ppm, 500ppm으로 나타났으며 *F. nucleatum*의 경우는 1:1에서 1000ppm, 1:2에서 2500ppm으로 나타났다 (Table 6).

Xanthorrhizol과 불소를 혼합 할 경우 세 균주 모두에 대한 항균력의 속효성은 stannous fluoride와 1:1로 혼합했을 때는 2500ppm의 농도에서 균이 1분 안에 거의 사멸하였고 (Table 7), 1:2로 혼합했을 때 *S. mutans*, *F. nucleatum*에 대해 5000ppm, *A. viscosus*에 대해서는 2500ppm의 농도에서 균이 1분 안에 거의 사멸하였다 (Table 8). 또한 sodium fluoride와 1:1로 혼합했을 때 *S. mutans*와 *F. nucleatum*의 경우 실험농도에서는 1분 안에 어떠한 항균력도 나타내지 않았으며 *A. viscosus*는 2500ppm에서 1분 안에 균을 거의 모두 사멸시켰다 (Table 9). 1:2로 혼합했을 때는 *S. mutans*와 *F. nucleatum*의 경우 5000ppm에서 균이 1분 안에 거의 사멸하였고 *A. viscosus*는 1000ppm에서 균을 1분 안에 거의 모두 사멸시켰다 (Table 10).

3. 특정 농도에서 각 종 항균물질의 항균력 비교

각 종 균을 거의 사멸시키는 물질은 Xanthorrhizol로 항균효과가 나머지 물질들에 비해 매우 뛰어났다. *S. mutans*의 경우 25ppm 농도의 Xanthorrhizol이 1분 안에 거의 모든 균을 사멸시켰다. 반면 다른 항균물질들은 균을 거의 사멸시키지 못했다 (Figure 2). *A. viscosus*의 경우는 50ppm 농도의 Xanthorrhizol에서 1분 안에 거의 모든 균이 사멸하였고 그 다음으로 stannous fluoride와 자일리톨이 Xanthorrhizol과 1:1로 함유된 경우에 비교적 많은 균을 사멸시켰다 (Figure 3). 반면 다른 항균물질들은 10분이 지난 후에도 균을 사멸시키지 못했다. *F. nucleatum*은 100ppm 농도의 Xanthorrhizol에서 1분 안에 거의 모든 균을 사멸시켰고 그 다음으로 자일리톨과 Xanthorrhizol이 1:1 비율로 혼합된 경우 비교적 많은 균을 사멸시켰다 (Figure 4).

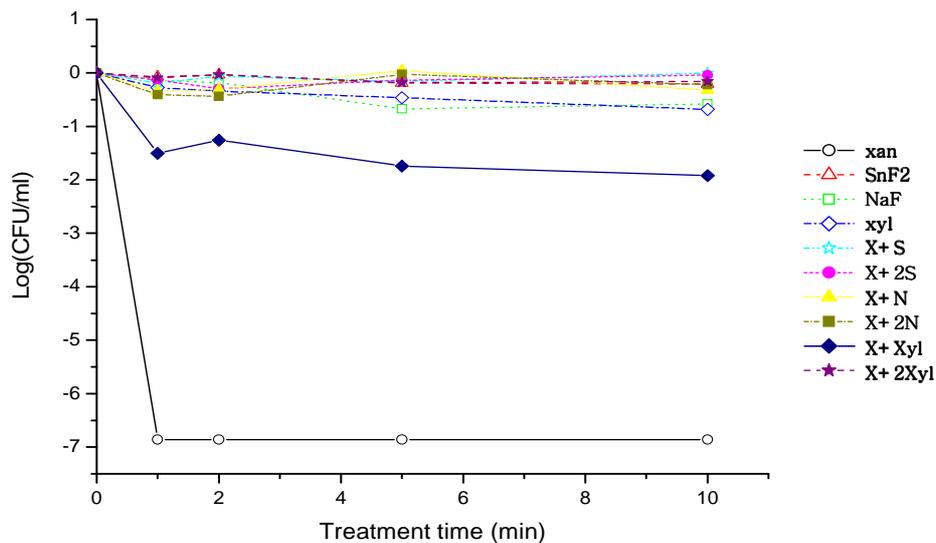


Figure 2. Bactericidal activity of antibacterial agents of 25ppm against *S. mutans* (xan: Xanthorrhizol, SnF2: stannous fluoride, NaF: sodium fluoride, xyl: Xylitol, X+S: Xanthorrhizol + stannous fluoride (1:1), X+2S: Xanthorrhizol + stannous fluoride (1:2), X+N: Xanthorrhizol + sodium fluoride (1:1), X+2N: Xanthorrhizol + sodium fluoride (1:2), X+Xyl: Xanthorrhizol + Xylitol (1:1), X+2Xyl: Xanthorrhizol + Xylitol (1:2))

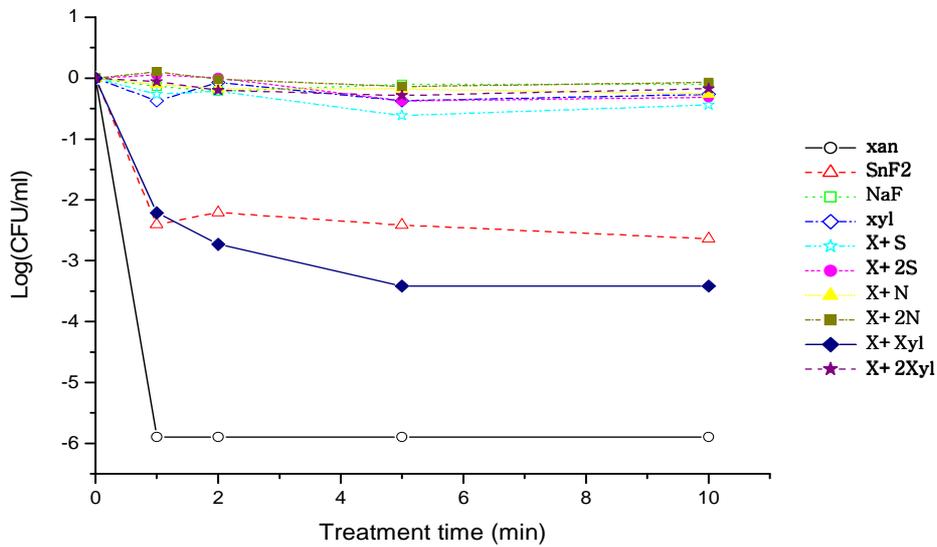


Figure 3. Bactericidal activity of antibacterial agents of 50ppm against *A. viscosus* (xan: Xanthorrhizol, SnF2: stannous fluoride, NaF: sodium fluoride, xyl: Xylitol, X+S: Xanthorrhizol + stannous fluoride (1:1), X+2S: Xanthorrhizol + stannous fluoride (1:2), X+N: Xanthorrhizol + sodium fluoride (1:1), X+2N: Xanthorrhizol + sodium fluoride (1:2), X+Xyl: Xanthorrhizol + Xylitol (1:1), X+2Xyl: Xanthorrhizol + Xylitol (1:2))

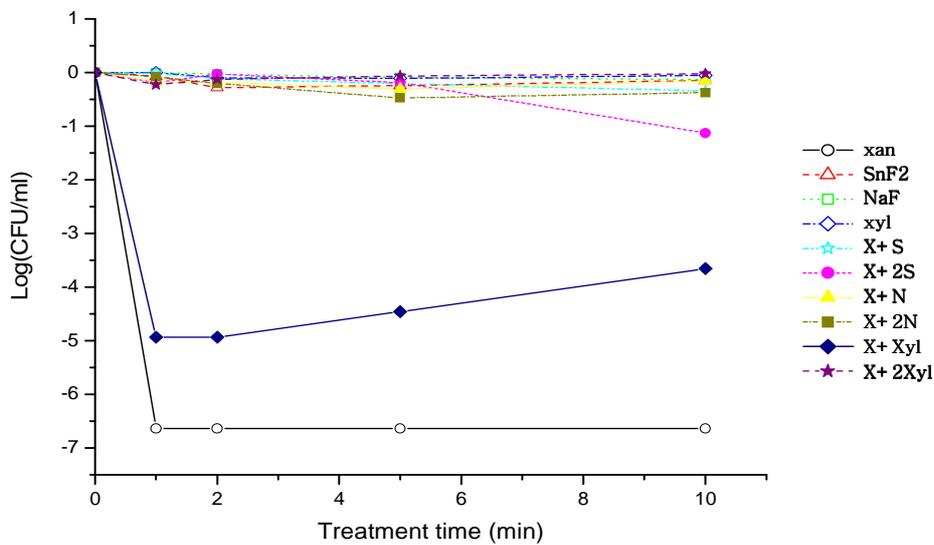


Figure 4. Bactericidal activity of antibacterial agents of 100ppm against *F. nucleatum* (xan: Xanthorrhizol, SnF2: stannous fluoride, NaF: sodium fluoride, xyl: Xylitol, X+S: Xanthorrhizol + stannous fluoride (1:1), X+2S: Xanthorrhizol + stannous fluoride (1:2), X+N: Xanthorrhizol + sodium fluoride (1:1), X+2N: Xanthorrhizol + sodium fluoride (1:2), X+Xyl: Xanthorrhizol + Xylitol (1:1), X+2Xyl: Xanthorrhizol + Xylitol (1:2))

IV. 고찰

치아 표면위의 biofilm인 치면세균막은 구강의 양대 질환인 치아우식증과 치주질환을 일으키는 것으로 알려져 있다 (Kolenbrander, 2000). 치면세균막 형성 초기에 관여하는 대표적인 균으로 *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum*을 들 수 있다 (Kolenbrander, 2000). *Streptococci*는 구강내 미생물 중 대표적인 균주일 뿐만 아니라 균혈증과 감염성 심내막염을 일으키는 것으로도 알려져 있다 (Douglas 등, 1993). *Oral streptococci* 중에서도 치아우식증의 원인균인 *S. mutans* (Hamada와 Slade, 1980)는 감염성 심내막염 환자의 혈액에서도 발견된다 (Gauduchon 등, 2001). 뿐만 아니라 *S. mutans*는 biofilm 개시와 성숙에 관련되어 있음을 보여주는 연구가 이루어져 왔다 (Biswas와 Biswas, 2005). 또한 *Actinomyces* 종은 초기 치면세균막 형성에 가장 중요한 역할을 할뿐만 (Nyvad와 Kilian, 1987) 아니라 다른 구강내 미생물과 집락을 형성하는 능력이 굉장히 뛰어난 것으로 잘 알려져 있다 (Gibbons와 Hay, 1988; Gibbons, 1989). 즉, *Actinomyces* 종은 구강표면에 부착할 수 있는 능력뿐만 아니라 다른 세균이나 같은 종의 세균과 집락을 형성할 수 있는 능력을 가지기 때문에 biofilm 형성에 필수적인 균이라고 할 수 있다 (Kolenbrander 등, 2002; Suzuki와 Delisle, 1984). *Actinomyces* 종 중에서도 *A. viscosus*와 같은 균은 그들의 독특한 표면구조인 섬모를 이용하여 표면에 굉장히 잘 부착하는 능력을 가지고 있다 (Gibbons와 Hay, 1988; Gibbons, 1989; Whittaker 등, 1996). ‘Bridge bacterium’으로 불리는 *F. nucleatum*은 단독으로 biofilm을 형성하지는 않지만 초기 부착균들에 의해 형성된 biofilm을 집락화할 수 있는 능력을 가지고 있다. 즉, 처음에 관여하는 균과 이차 집락균들 사이에 다리역할을 해줌으로써 집락을 형성시킨다 (Bolstad 등, 1996). 따라서 이러한 미생물의 성장을 억제시킬 수 있다면 biofilm 형성을 초기에 막을 수 있고 그로 인한 치아우식증이나 치주질환을 예방할 수 있을 것이다.

그 노력의 일환으로 합성물질 및 천연물질을 이용한 구강내 미생물에 대한

항균력을 알아보기 위한 평가가 수많은 연구자들에 의해 이루어지고 있다. Nuuja 등 (1993)의 연구에서 Chlorhexidine과 자일리톨, 불소를 함유한 구강양치액 (XYLIHEX), Chlorhexidine, sodium fluoride를 함유한 구강양치액 사용에 대한 효과를 알아본 결과 불소에 비해 XYLIHEX와 Chlorhexidine으로 양치했을 때 *S. mutans*가 유의하게 감소함을 보여주었다. Thorild 등 (2004)의 연구에서는 불소와 자일리톨, Sorbitol이 함유된 껌에서 *mutans streptococci*의 수가 가장 낮았음을 보고하였다. 치주치료 시행 후 우식성 미생물 증가에 대한 De Soete 등 (2005)의 연구에서 Chlorhexidine 0.2%와 AmF/SnF₂가 혼합되어 있는 물질이 가장 오랫동안 가장 큰 항균력을 나타냈다고 보고했으며 불소와 Sanguinaria를 이용하여 임상적, 미생물학적 효과를 평가한 Kopczyk 등 (1991)의 연구에서도 불소가 들어있는 Sanguinaria 함유 치약을 사용한 그룹의 치면세균막지수가 위약을 이용한 대조군에 비해 17.4% 더 낮았고, 치면세균막심각도지수는 41%, 치은염지수 18.1%가 더 낮은 것에 비해 불소가 들어있지 않은 Sanguinaria 함유 치약을 사용한 그룹의 치면세균막지수는 위약을 이용한 대조군에 비해 13.1% 더 낮았으며 치면세균막심각도지수는 33%, 치은염지수 16.7%가 더 낮게 나타난 것으로 보아 불소가 들어 있는 천연 치약이 치면세균막지수, 치면세균막심각도지수, 치은염지수를 더 낮출 수 있다고 보고하였다. 국내의 경우 정 등 (1998)은 자몽종자 및 차 추출물을 이용하여 구내 분무액의 항균효과와 구취감소효과 및 치은염완화효과를 시험한 결과 연쇄구균수에 대한 항균효과뿐만 아니라 구취를 감소시키며 치은염을 완화시키는 효과가 있다고 보고하였고, 배 등 (2001)은 녹차 및 솔잎추출액에 불소와 CPC를 병용한 구강양치액의 구취감소효과에 대해 보고하였다. 홍 등 (2001)은 금은화와 포공영추출물이 첨가된 치약이 치면세균막 및 치은염을 감소시킨다고 보고하였고, 조 등 (2005)은 오배자, 파고지 추출물 함유치약이 치면세균막형성을 억제시키는지에 대해 연구한 결과 오배자가 인공치면세균막의 무게를 가장 많이 감소시켰다고 보고한 바 있다.

본 연구에서 이용한 인도네시아 천연 약용식물인 *Curcumma xanthorrhiza*의 추출물인 Xanthorrhizol은 이미 Hwang 등 (2000a, 2000b)에 의해 그 항균력이 뛰어난이 잘 알려졌다. 따라서 최근 김 등 (2005)은 항균력이 뛰어난 천연물

질을 구강위생용품에 적용시키기 위해 치약에 Xanthorrhizol을 첨가하여 항균력 및 구취감소 효과를 평가하였다. 하지만 치약에 Xanthorrhizol을 첨가했을 때 치약의 여러 구성 성분이 Xanthorrhizol에 어떠한 영향을 미칠 가능성도 존재한다. 즉, 구강내 미생물에 항균력을 갖는 천연물질이나 합성물질을 산업화하기 위해서는 다른 물질들과 혼합하는 것은 피할 수 없는 문제이고 그 중에서 치약의 경우 치약의 구성성분 중에는 치아의 재광화 효과나 내산성 증가와 같은 이점을 고려하였을 때 빠질 수 없는 것이 불소이다. 또한 최근 들어 뛰어난 설탕대체물로 알려진 자일리톨이 산업화 되어 널리 사용되고 있고 치약에도 첨가되어 이용되고 있다. 따라서 Xanthorrhizol 함유치약을 산업화시키기 이전에 항균력이 높은 Xanthorrhizol을 불소나 자일리톨과 혼합하였을 때 항균력이 특히 biofilm 형성 균주의 성장에 어떠한 효과를 미치는지 알아보았다.

연구 결과 Xanthorrhizol에 불소나 자일리톨을 섞었을 경우 세 가지 균주 모두에서 Xanthorrhizol 자체의 항균력이 현저하게 떨어졌다. Xanthorrhizol의 MIC는 5ppm인 것에 비해 Xanthorrhizol에 자일리톨을 비율을 달리하여 섞었을 때 MIC가 1:1 비율에서는 *S. mutans*의 경우 10ppm, 1:2 비율에서는 100ppm까지 높아졌다. *A. viscosus*의 경우에는 1:1, 1:2 비율에서 각각 5ppm, 50ppm, *F. nucleatum*의 경우에는 50ppm, 100ppm까지 높아졌다 (Table 1, 6). 또한 Xanthorrhizol에 불소를 섞었을 때는 항균력이 현저하게 떨어졌는데 Xanthorrhizol에 stannous fluoride를 1:1, 1:2 비율로 섞었을 때 *S. mutans*에 대한 MIC가 1000ppm까지 높아졌고, sodium fluoride와 1:1과 1:2 비율로 섞었을 때는 5000ppm까지 높아졌다. *A. viscosus*에 대한 MIC는 Xanthorrhizol과 stannous fluoride를 1:1, 1:2 비율로 섞었을 때 500ppm이었으며 *F. nucleatum*의 경우에는 각각 2500ppm, 5000ppm이었다. Sodium fluoride와 1:1, 1:2 비율로 섞었을 때 *A. viscosus*에 대한 MIC는 각각 250ppm, 500ppm이었으며 *F. nucleatum*의 경우에는 각각 1000ppm, 2500ppm으로 나타나 Xanthorrhizol을 단독으로 사용했을 때 보다 MIC는 현저하게 높아졌다 (Table 6). 하지만 Xanthorrhizol과 불소 또는 자일리톨을 섞었을 때 Xanthorrhizol의 항균력 자체는 떨어졌지만 불소만 처리한 경우에 비해서는 항균력이 높았다. 즉, sodium

fluoride만 처리한 경우 *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum*에 대한 MIC는 각각 5000ppm, 1000ppm, 5000ppm이었고 이를 1:1로 혼합 하였을 때 MIC는 각각 5000ppm, 250ppm, 1000ppm으로 *S. mutans*를 제외한 다른 균에서는 혼합하였을 때 더 낮은 농도로 항균력을 나타내었다. *S. mutans*의 경우 비록 MIC가 단일 물질이나 1:1 혼합물질에서 5000ppm으로 동일했지만 1:1 혼합물질 중 불소 순수 농도만을 고려해 보면 불소농도 2500ppm일 때 5000ppm의 sodium fluoride를 단독 처리 했을 때와 동일한 효과를 일으킨 것이다. sodium fluoride 뿐만 아니라 이러한 결과는 stannous fluoride에서도 마찬가지였으며 1:2 비율로 섞었을 때도 같은 양상을 나타내었다 (Table 1, 6). 이러한 결과는 홍 등 (2003)의 생약추출물이 초기우식범랑질의 재광화에 미치는 효과에 대한 연구에서 으름덩굴과 당귀가 함유된 불소치약의 MIC가 각각 3 mg/ml, 녹차가 함유된 불소치약의 MIC가 4 mg/ml로 나타난 것에 비해 효과가 더 높게 나타났으며 오미자, 황련, 느릅나무, 개오동, 결명자, 계수나무가 함유된 불소치약에 비해서도 효과가 아주 높게 나타났다. 또한 수중 우식원인균에 대한 으름덩굴 추출물의 항세균 및 saliva-coated hydroxyapatite beads에 대한 부착억제효과에 대한 장 등 (1997)의 연구에서 으름덩굴 추출물의 항세균효과를 평가한 결과 *A. viscosus* 균주에 대해서 억제효과를 확인할 수 없었던 반면 본 연구에서는 Xanthorrhizol과 불소 또는 자일리톨을 섞은 물질의 최대 500ppm에서부터 최소 5ppm의 농도에서 거의 모든 *A. viscosus* 균을 억제한 것으로 나타나 Xanthorrhizol과 불소 또는 자일리톨을 섞은 물질이 으름덩굴 추출물보다 광범위한 균주에 대해 효과를 나타내었다. 비록 불소치약에 Xanthorrhizol을 첨가했을 때 Xanthorrhizol 자체의 항균력은 떨어졌지만 불소와 혼합할 경우 Xanthorrhizol의 농도를 Xanthorrhizol 만을 사용했을 때보다 높여준다면 Xanthorrhizol의 항균력 뿐만 아니라 불소의 경우 초기우식 재광화 효과 및 내산성 효과 까지도 기대해 볼 수 있을 것이다. 실제로 홍 등 (2004)은 천연생약 물질이 첨가된 불소치약이 초기 인공 우식 범랑질의 표면경도를 현저하게 증가시켰다고 보고하였다. 또한 Mallatt 등 (1989)과 Tenenbaum 등 (1999)의 연구에서 현재 산업용으로 이용되고 있는 sodium fluoride와 Sanguinaria를 함유한

불소치약이 *Sanguinaria*의 효과뿐만 아니라 불소의 효과도 같이 나타남으로써 대조군에 비해 높은 표면경도의 증가를 보였으며 치면세균막 지수 또한 감소함을 보고하였다.

구강위생용품은 그 특성상 구강 내에서 수 분 안에 효과를 발휘할 필요가 있다. 구강양치액, 구강 스프레이 등 빠르게는 1분에서 3분 내에 효과를 발휘하는 것이 중요하다. 이러한 구강위생용품은 순식간에 구강내 타액과 섞여 희석되고 지속적인 삼킴으로 인해 효과를 볼 수 있는 시간이 굉장히 짧다. 치약의 경우 칫솔질 시간을 3분으로 고려했을 때 3분 내에 효과를 발휘하여야 한다. 따라서 Xanthorrhizol을 함유한 불소치약이 얼마 만에 효과를 나타내는지 알아보기 위해 불소와 Xanthorrhizol을 섞은 물질을 1, 2, 5, 10분 동안 biofilm 형성 초기 관련 균주에 적용시켜 항균력의 속효성을 알아보았다. Xanthorrhizol만 처리한 경우 *S. mutans*의 경우 1분 내에 25ppm의 농도에서 거의 모든 균을 사멸시켰고, *A. viscosus*와 *F. nucleatum*의 경우 각각 50ppm, 100ppm의 농도에서 1분 내에 거의 모든 균을 사멸시켰다 (Table 2). 하지만 Xanthorrhizol과 불소나 자일리톨을 섞은 경우에는 같은 농도에서 효과가 나타나지 않았다. Xanthorrhizol과 불소 또는 자일리톨을 섞어 1분 내에 거의 모든 균을 사멸시키는 농도는 자일리톨의 경우 1:1로 섞었을 때 *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum*에 대해 각각 100ppm, 100ppm, 250ppm의 농도에서 거의 모든 균을 사멸시켰지만 (Table 11) 1:2로 섞었을 때는 각각 500ppm, 250ppm, 500ppm의 농도에서 거의 모든 균을 사멸시킨 것으로 보아 자일리톨의 경우 Xanthorrhizol과 1:1로 섞었을 때 항균효과가 더 컸다 (Table 12). 반면 sodium fluoride와 1:1로 섞었을 때는 *S. mutans*와 *F. nucleatum*의 경우에는 측정 농도에서 어떠한 효과도 없었지만 *A. viscosus*에 대해서는 2500ppm의 농도에서 1분 안에 거의 모든 균을 사멸시켰고 (Table 9), 1:2로 섞었을 때는 *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum*에 대해 각각 5000ppm, 1000ppm, 5000ppm의 농도에서 거의 모든 균을 사멸시킨 것 (Table 10)으로 보아 sodium fluoride의 경우에는 xanthorrhizol과 1:2의 비율로 섞었을 때 더 큰 항균력이 나타난다고 사료되었다. Stannous fluoride와 섞었을 때는 1:1로 섞었을 경우 *S. mutans*, *A. viscosus*,

*F. nucleatum*에 대해 모두 2500ppm의 농도에서 그리고 1:2로 섞었을 경우 각각 5000ppm, 2500ppm, 5000ppm에서 1분 안에 거의 모든 균을 사멸시켰다 (Table 7, 8).

위의 결과 구강건조증 환자나 잇몸수술 환자와 같이 구강 내 미생물을 조절해야 하는 경우에는 Xanthorrhizol만을 이용한다면 기존의 다른 생약 추출물에 비해 더 낮은 농도로도 미생물을 조절할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 biofilm 형성 초기 관련 균주이면서 구취 유발 균주 중 하나이기도 한 *F. nucleatum*에도 효과가 있는 것으로 나타나 구취환자에게도 적용가능 할 것으로 사료된다. Curcuma xanthorrhiza 추출물 및 함유 치약의 구취억제 효과와 구강 유해균에 대한 선택적 항균 효과를 평가한 김 등 (2005)의 연구에서 gas chromatography를 이용한 Curcuma xanthorrhiza 추출물의 구취억제 임상평가 결과 구취를 약 75% 정도 감소시키는 효과가 있는 것으로 나타났으며 관능검사에 의한 단기구취 임상평가에서 칫솔질 2시간 및 3시간 후에 실험군이 대조군에 비해서 통계적으로 유의한 수준으로 구취가 감소하였고 ($p<0.05$) 장기 구취 임상평가에서 양치 2일과 3일 후에 실험군의 구취지수 값이 각각 4.12와 4.28을 나타낸 반면 대조군은 4.59와 4.72를 나타내어서 실험군의 구취 지수가 대조군의 구취지수 보다 유의한 수준으로 낮았다고 보고하였다.

본 연구에 이용된 물질 중 가장 낮은 농도로도 거의 모든 균을 완전히 사멸시키는 항균물질은 Xanthorrhizol로 Xanthorrhizol의 최저 사멸농도에서 다른 물질들을 비교하여보았다. *S. mutans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum* 세 균주 모두에 대해 Xanthorrhizol이 가장 낮은 농도에서 가장 큰 항균력을 나타내었다 (Figure 2, 3, 4). *S. mutans*의 경우 25ppm 농도의 Xanthorrhizol에서 1분 안에 거의 모든 균을 사멸시켰지만 다른 물질들은 같은 농도에서 거의 모든 균을 사멸시키지 못했다 (Figure 2). 또한 *A. viscosus*의 경우 Xanthorrhizol 50ppm의 농도에서 거의 모든 균을 사멸시켰고 자일리톨과 1:1로 혼합한 경우나 stannous fluoride만을 단독으로 적용시켰을 때 거의 절반 정도 균을 사멸시켰다 (Figure 3). *F. nucleatum*의 경우 Xanthorrhizol 100ppm의 농도에서 거의 모든 균을 사멸시켰고 자일리톨과 1:1로 혼합하였을 때 효과가 있었다 (Figure 4).

위의 결과로 Xanthorrhizol을 단독으로 사용하였을 때 가장 큰 효과가 있다는 것을 알 수 있었고 Xanthorrhizol은 *A. viscosus*나 *F. nucleatum*보다도 *S. mutans*에 더 큰 항균력을 갖는다는 것을 알 수 있었다.

Xanthorrhizol은 현재 여러 편의 논문 등에서 항균 효과가 매우 뛰어난 천연물질로 보고되었으며 본 연구에서도 항균 효과가 매우 뛰어남을 확인하였다. 자일리톨 역시 항균 효과가 입증되어 여러 가지 형태로 산업화되어 이용되고 있는 실정이며 불소도 지속적으로 사용할 경우 항균 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 자일리톨과 불소는 다른 물질과 서로 혼합하였을 때 단독 사용했을 때 보다 효과가 상승한다고 보고되어 왔고 따라서 현재 산업화되어 이용되고 있다. 따라서 항균력이 있는 물질을 서로 섞으면 더 큰 항균력을 나타내리라고 사료되었으나 본 연구결과 Xanthorrhizol과 불소나 자일리톨을 섞었을 경우 불소나 자일리톨 단독 사용보다는 항균력이 더 높아졌지만 Xanthorrhizol 만을 사용했을 때보다는 동일 농도에서 항균력이 현저하게 떨어졌다. *Curcuma xanthorrhiza*로부터 분리된 Xanthorrhizol의 구강 미생물에 대한 항균활성에 관한 심 (1998)의 연구에 의하면 Xanthorrhizol의 항균활성은 Xanthorrhizol의 수산기(-OH)를 acetyl화 시켰을 때 항균활성이 완전히 사라지는 것으로 보아 수산기가 항균활성에 매우 중요한 역할을 하고 있다고 하였고 Xanthorrhizol의 hydrocarbon chain의 길이나 이중결합의 존재가 항균활성과 밀접한 관련이 있는 것으로 보고하였다. 그람양성균인 *S. mutans*의 경우 세포막의 선택적 투과성 기작에 관여하는 여러 가지 막수송 단백질인 permease를 가지며 이 단백질에 의해 세포막의 선택적 투과가 이루어지는데 Xanthorrhizol이 세포벽에 작용하여 세포벽의 안정성을 감소시키고 세포막의 선택적 투과성 기작 등을 억제시킨다. 따라서 삼투압 작용에 의해 균의 세포벽이 팽윤되면서 윤곽이 희미해져 세포벽 또는 세포막이 파괴되어 일부 세포내부 물질들이 유출됨으로써 미생물의 생리가 중단되고 생육이 억제되는 것으로 보고 하였다 (심재석, 1998). Xanthorrhizol은 항균활성을 나타내는 수산기를 가지고 있고 다른 물질과 쉽게 결합하는 이러한 수산기가 세균의 막수송 단백질과 같은 효소와 결합함으로써 세포벽 또는 세포막의 파괴를 일으키는 것으로 추정된다. 마찬가지로 박 등

(1997)도 (+)-Cathechin을 이용하여 *S. mutans*의 세포막투과성을 연구한 결과 (+)-Cathechin의 수산기가 세균의 효소단백질의 아미드 결합부위와 쉽게 수소결합을 함으로써 효소의 활성을 저해하는 것으로 보고 하였다. 하지만 Xanthorrhizol에 불소 또는 자일리톨을 첨가하게 되면 Xanthorrhizol의 수산기가 세균의 세포벽이나 세포막과 결합하지 못하고 첨가 물질과 우선적으로 결합함으로써 Xanthorrhizol의 항균활성 기능이 방해 받는 것으로 추정된다.

이상의 결과로 Xanthorrhizol을 불소나 자일리톨과 섞어서 이용하였을 경우 다른 화학물질이나 천연물질들보다도 MIC가 낮았으며 1분 안에 낮은 농도로도 biofilm 형성 초기에 관련 하는 미생물의 성장을 효과적으로 억제할 수 있어 구강질환을 예방할 수 있을 것으로 평가되었으나 Xanthorrhizol 자체의 뛰어난 항균력은 감소하였다.

본 연구에서는 biofilm에 관여하는 미생물로 특정 균만을 이용하여 *in vitro* 실험을 진행하였지만 실제로 구강 내에서는 이러한 균들이 biofilm 형태로 존재하기 때문에 앞으로 인공 biofilm을 형성하여 구강질환의 문제가 되고 있는 biofilm을 대상으로 실험이 진행되어야 할 것이다. 더 나아가 실제 피검자를 대상으로 구강 내에서 다양한 미생물에 대한 항균력 평가가 시행되어야 할 것이다. 또한 이번 연구에서는 Xanthorrhizol과 불소를 섞었을 때 항균력의 변화만을 평가하였지만 앞으로 항균력 이외에 불소의 치아 재광화 효과에 어떤 변화가 일어났는지에 대한 평가가 시행될 필요가 있을 것이다.

V. 결론

본 연구에서는 구강내 biofilm을 형성하는 몇 가지 미생물에 대한 항균력을 평가하기 위해 *Curcuma xanthorrhiza* 추출물인 Xanthorrhizol과 불소 또는 자일리톨을 1:1과 1:2 비율로 혼합하여 각 항균물질의 MIC와 속효성에 대해 알아본 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Xanthorrhizol, stannous fluoride, sodium fluoride의 MIC는 각각 *S. mutans*에 대해 5ppm, 2500ppm, 5000ppm, *A. viscosus*에 대해 5ppm, 1000ppm, 1000ppm, *F. nucleatum*에 대해 5ppm, 1000ppm, 5000ppm으로 나타났으며 자일리톨은 실험에 이용된 농도에서는 MIC가 관찰되지 않았다.

2. Xanthorrhizol과 stannous fluoride, sodium fluoride, 또는 자일리톨이 1:1로 섞여있는 경우, MIC는 각각 *S. mutans*에 대해 1000ppm, 5000ppm, 10ppm, *A. viscosus*에 대해 500ppm, 250ppm, 5ppm, *F. nucleatum*에 대해 2500ppm, 1000ppm, 50ppm으로 나타났다.

3. Xanthorrhizol과 stannous fluoride, sodium fluoride, 또는 자일리톨이 1:2로 섞여있는 경우, MIC는 각각 *S. mutans*에 대해 1000ppm, 5000ppm, 100ppm, *A. viscosus*에 대해 500ppm, 500ppm, 50ppm, *F. nucleatum*에 대해 5000ppm, 2500ppm, 100ppm으로 나타났다.

4. 단일 항균물질의 속효성을 알아본 결과, Xanthorrhizol, stannous fluoride의 경우 1분 안에 균을 사멸시킬 수 있는 농도는 *S. mutans*에 대해 25ppm, 2500ppm, *A. viscosus*에 대해 50ppm, 2500ppm, *F. nucleatum*에 대해 100ppm, 5000ppm으로 나타났으나 sodium fluoride, 자일리톨은 실험에 이용된 농도에서는 1분 안에 균을 사멸시키지 못했다.

5. 혼합 항균물질의 속효성을 알아본 결과, Xanthorrhizol과 stannous fluoride 또는 자일리톨이 1:1로 섞여있는 경우, 1분 안에 균을 사멸시킬 수 있는 농도는 각각 *S. mutans*에 대해 2500ppm, 100ppm, *A. viscosus*에 대해 2500ppm, 100ppm, *F. nucleatum*에 대해 2500ppm, 250ppm으로 나타났으며, Xanthorrhizol과 sodium fluoride가 1:1로 섞여있는 경우에는 2500ppm의 농도

에서 *A. viscosus* 균주를 거의 모두 사멸시켰지만 *S. mutans*나 *F. nucleatum* 균주에 대해서는 1분 안에 균을 사멸시키지 못했다. Xanthorrhizol과 stannous fluoride, sodium fluoride, 또는 자일리톨이 1:2로 섞여있는 경우, 1분 안에 균을 사멸시킬 수 있는 농도는 각각 *S. mutans*에 대해 5000ppm, 5000ppm, 500ppm, *A. viscosus*에 대해 2500ppm, 1000ppm, 250ppm, *F. nucleatum*에 대해 5000ppm, 5000ppm, 500ppm으로 나타났다.

불소나 자일리톨의 경우 Xanthorrhizol을 섞었을 때 불소나 자일리톨을 단독으로 사용할 때 보다 항균력이 증가하였다. 하지만 Xanthorrhizol은 그 자체로서 항균력이 매우 뛰어났지만 불소 또는 자일리톨과 섞을 경우 Xanthorrhizol 자체의 항균력은 떨어졌다. 따라서 치약의 경우처럼 불소를 배제할 수 없는 경우 Xanthorrhizol을 첨가하면 불소의 치아 재광화 효과와 함께 항균력 효과까지도 기대해 볼 수 있을 것이다.

참고문헌

- 김백일, 권호근, 김영남, Matsukubo T: 퍼센타일 곡선을 이용한 한국과 일본 성인의 구강건강상태 비교. 대한구강보건학회지 29 (1): 43-57, 2005.
- 김백일, 김상년, 장석윤, 문교태, 김윤석, 황재관, 정승화, 김민영, 김해선, 권호근: Curcuma xanthorrhiza 추출물 및 함유 치약의 구취 억제 효과와 구강 유해균에 대한 선택적 항균 효과. 대한구강보건학회지 29 (2): 221-237, 2005.
- 김영권, 한만덕: 구강미생물학. 2003, pp. 293-294, 고문사, 서울.
- 박정순, 신용서, 이갑상, 강인호, 김선숙: (+)-Catechin이 Streptococcus mutans JC-2의 glucosyltransferase의 활성 및 세포막투과성에 미치는 영향. 대한구강보건학회지 21 (2): 245-253, 1997.
- 배광학, 이병진, 장윤경, 이병렬, 이원재, 장덕수, 문혁수, 백대일, 김종배: NaF CPC 녹차추출액 및 솔잎추출물을 배합한 구강양치액의 치주질환예방효과와 구취감소효과 및 치아우식증예방효과에 관한 연구. 대한구강보건학회지 25 (1): 51-59, 2001.
- 심재석: Curcuma xanthorrhiza로부터 분리된 xanthorrhizol의 구강 미생물에 대한 항균 활성. 석사학위 논문, 연세대학교 대학원, 서울, 1998.
- 유영관, 노재승, 김주심, 장기완: S. mutans, Lactobacilli 및 Actinomyces에 대한 수종 propolis 추출물의 항세균 효과. 대한구강보건학회지 20: 65-74, 1996.
- 윤홍렬: 치아를 지키는 천연소재 감미료 자일리톨의 모든 것. 1998, 도서출판 건치, 서울.
- 장기완, 강동오, 김환규: 수종 우식원인균에 대한 으름덩굴 (Akebia quinata) 추출물의 항세균 및 saliva - coated hydroxyapatite beads에 대한 부착억제효과. 대한구강보건학회지 21 (4): 675-684, 1997.
- 정대인, 노재승, 장기완: 수종 flavonoids의 우식원인균에 대한 항세균효과. 대한구강보건학회지 20: 189-202, 1996.
- 정세환, 배광학, 문혁수, 백대일, 김종배, 박덕영: 자몽종자추출물과 차추출물 및

- UDCA 를 배합한 구내분무액의 *S . mutans* 와 구취 감소효과 및 치은염완화효과에 관한 연구. 대한구강보건학회지 22 (1): 37-46, 1998.
- 조민정, 홍석진, 최충호, 정성숙: 오배자, 파고지 추출물 함유치약이 치면세균막형성 억제에 미치는 영향. 대한구강보건학회지 29 (2): 141-152, 2005.
- 홍석진, 박근형, 오종석, 정성숙, 최충호, 임희순: 치아우식원인균과 초기우식법랑질에 영향을 미치는 생약추출물 연구. 대한구강보건학회지 28 (4): 536-547, 2004.
- 홍석진, 손재범, 박근형: 생약추출물이 초기우식법랑질의 재광화에 미치는 효과. 대한구강보건학회지 27 (3): 237-248, 2003.
- 홍석진, 최유진, 임희순, 손재범, 정성숙: 금은화와 포공영추출물이 첨가된 치약의 치면세균막 및 치은염에 미치는 영향. 대한구강보건학회지 25 (4): 347-355, 2001.
- Baddour LM: Twelve-year review of recurrent native-valve infective endocarditis: a disease of the modern antibiotic era. *Rev Infect Dis* 10: 1163-1170, 1988.
- Barnes D, Barnaud J, Khambonanda S, Infirri JS: Field trials of preventive regimens in Thailand and French Polynesia. *Int Dent J* Mar;35 (1): 66-72, 1985.
- Bender GR, Sutton SV, Marquis RE: Acid tolerance, proton permeabilities, and membrane ATPases of oral streptococci. *Infect Immun* Aug;53 (2): 331-338, 1986.
- Beynen AC: Lowering of serum cholesterol by Temoe Lawak Singer, a Curcuma mixture. *Artery* 14 (4): 190-7, 1987.
- Biswas S, Biswas I: Role of HtrA in surface protein expression and biofilm formation by *Streptococcus mutans*. *Infect Immun* 73: 6923-6934, 2005.
- Bolstad AI, Jensen HB, Bakken V: Taxonomy, biology, and periodontal aspects of *Fusobacterium nucleatum*. *Clin Microbiol Rev* 9: 55-71, 1996.
- Bowen WH, Schilling K, Giertsen E, Pearson S, Lee SF, Bleiweis A, Beeman D:

- Role of a cell surface-associated protein in adherence and dental caries. *Infect Immun* 59: 4606-4609, 1991.
- Bradshaw DJ, Marsh PD, Watson GK, Allison C: Role of *Fusobacterium nucleatum* and coaggregation in anaerobe survival in planktonic and biofilm oral microbial communities during aeration. *Infect Immun* 66: 4729-4732, 1998.
- Choi MA, Kim SH, Chung WY, Hwang JK, Park KK: Xanthorrhizol, a natural sesquiterpenoid from *Curcuma xanthorrhiza*, has an anti-metastatic potential in experimental mouse lung metastasis model. *Biochem Biophys Res Commun Jan* 7;326 (1): 210-7, 2005.
- Chow LC, Markovic M: In: Calcium phosphates in biological and industrial systems. 1997, pp. 67-84, Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Ciancio SG: Agent for the management of plaque and gingivitis. *J Dent Res* 71 (7): 1450-1454, 1992.
- Claeson P, Panthong A, Tuchinda P, Reutrakul V, Kanjanapothi D, Taylor WC, Santisuk T: Three non-phenolic diarylheptanoids with anti-inflammatory activity from *Curcuma xanthorrhiza*. *Planta Med* Oct;59 (5): 451-4, 1993.
- Corpron RE, More FG, Clark JW, Korytnicki D, Kowalski CJ: In vivo remineralization of artificial enamel lesions by a fluoride dentifrice or mouthrinse. *Caries Res* 20: 48-55, 1986.
- De Kloet HJ, Exterkate RA, Rempt HE, Ten Cate JM: In vivo bovine enamel remineralization and fluoride uptake from two dentifrices containing different fluoride concentrations. *J Dent Res* Dec;65 (12): 1410-1414, 1986.
- De Soete M, Dekeyser C, Pauwels M, Teughels W, van Steenberghe D, Quirynen M: Increase in cariogenic bacteria after initial periodontal therapy. *J Dent Res* Jan;84 (1): 48-53, 2005.
- Douglas CW, Heath J, Hampton KK, Preston FE: Identity of viridans streptococci isolated from cases of infective endocarditis. *J Med Microbiol*

- Sep;39 (3): 179-182, 1993.
- Endo A, Hayashida O, Murakawa S: Mutastein a new inhibitor of adhesive-insoluble glucan synthesis by glucosyltransferases of *Streptococcus mutans*. *J Antibiot* 36: 203-207, 1983.
- Featherstone JD, Shariati M, Brugler S, Fu J, White DJ: Effect of an anticalculus dentifrice on lesion progression under pH cycling conditions in vitro. *Caries Res* 22 (6): 337-341, 1988.
- Firestone AR, Graves CN, Feagin FF: Caries on root surfaces exposed following gingivectomy in conventional rats infected with *Streptococcus sobrinus* and *Actinomyces viscosus*. *J Periodontol* 60 (11): 624-627, 1989.
- Froeliger EH, Fives-Taylor P: *Streptococcus parasanguis* fimbria-associated adhesin Fap1 is required for biofilm formation. *Infect Immun* 69: 2512-2519, 2001.
- Gauduchon V, Benito Y, Celard M, Mouren C, Delorme V, Philippe-Bert J, Etienne J, Vandenesch F: Molecular diagnosis of recurrent *Streptococcus mutans* endocarditis by PCR amplification and sequencing. *Clin Microbiol Infect* Jan;7 (1): 36-37, 2001.
- Gibbons RJ: Bacterial adhesion to oral tissues: a model for infectious diseases. *J Dent Res* May;68 (5): 750-760, 1989.
- Gibbons RJ, Hay DI: Human salivary acidic proline-rich proteins and statherin promote the attachment of *Actinomyces viscosus* LY7 to apatitic surfaces. *Infect Immun* Feb;56 (2): 439-445, 1988.
- Greenman J, Nelson DGA: Hydrolysis of triclosan monophate by dental plaque and selected species of oral micro-organisms. *J Dent Res* 75 (8): 1578-1584, 1996.
- Hamada S, Slade HD: Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Rev* Jun;44 (2): 331-384, 1980.
- Hamilton IR: Effects of fluoride on enzymatic regulation of bacterial

- carbohydrate metabolism. *Caries Res* 11 (Suppl. 1): 262-291, 1977.
- Hase S, Hofstad T, Rietschel ET: Chemical structure of the lipid A component of lipopolysaccharides from *Fusobacterium nucleatum*. *J Bacteriol* Jan;129 (1):9-14, 1977.
- Hodge HC, Holloway PJ, Davies TG, Worthington HV: Caries prevention by dentifrices containing a combination of sodium monofluorophosphate and sodium fluoride. Report of a 3-year clinical trial. *Br Dent J* Oct 7;149 (7): 201-204, 1980.
- Hwang JK, Shim JS, Baek NI, Pyun YR: Xanthorrhizol: a potential antibacterial agent from *Curcuma xanthorrhiza* against *Streptococcus mutans*. *Planta Med* Mar;66 (2): 196-197, 2000.
- Hwang JK, Shim JS, Pyun YR: Antibacterial activity of xanthorrhizol from *Curcuma xanthorrhiza* against oral pathogens. *Fitoterapia* Jun;71 (3): 321-323, 2000.
- Jones RR, Harkrader JR, Southard GL: The effect of pH on sanguinarine imminium ion form. *J Natural Prod* 49: 1109-1111, 1986.
- Jordan HV, Keyes PH, Bellack S: Periodontal lesions in hamsters and gnotobiotic rats infected with actinomyces of human origin. *J Periodontal Res* 7 (1): 21-8, 1972.
- Kanapka JA, Khandelwal RL, Hamilton IR: Fluoride inhibition of glucose-6-P formation in *Streptococcus salivarius*: relation to glycogen synthesis and degradation. *Arch Biochem Biophys* Jun;144 (2): 596-602, 1971.
- Kim SH, Hong KO, Hwang JK, Park KK: Xanthorrhizol has a potential to attenuate the high dose cisplatin-induced nephrotoxicity in mice. *Food Chem Toxicol* 43 (1): 117-122, 2005.
- Kleinberg I, Codipilly M: The biological basis of oral malodor formation. *Bad Breath*. Rosenberg M, ed., 1995, pp. 13-39, Ramot Publishing, Tel Aviv.
- Kolenbrander PE: Oral microbial communities: Biofilms, Interactions, and

- Genetic Systems. *Annu Rev Microbiol* 54: 413-437, 2000.
- Kolenbrander PE, Andersen RN, Blehert DS, Egland PG, Foster JS, Palmer RJ Jr: Communication among oral bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 66: 486-505, 2002.
- Kopczyk RA, Abrams H, Brown AT, Matheny JL, Kaplan AL: Clinical and microbiological effects of a sanguinaria-containing mouthrinse and dentifrice with and without fluoride during 6 months of use. *J Periodontol* Oct;62 (10): 617-622, 1991.
- Kroes I, Lepp PW, Relman DA: Bacterial diversity within the human subgingival crevice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 14547-14552, 1999.
- Kwon IB: Studies on glucosyltransferase inhibitors from cacao bean husk. philosophy Doctorial Thesis, Kangwon National University, Kangwon, Korea, 1990.
- Lee SF, Li YH, Bowden GH: Detachment of *Streptococcus mutans* biofilm cells by an endogenous enzymatic activity. *Infect Immun* 64: 1035-1038, 1996.
- Lin SC, Lin CC, Lin YH, Supriyatna S, Teng CW: Protective and therapeutic effects of *Curcuma xanthorrhiza* on Hepatotoxin-induced liver damage. *Am J Chin Med* 23: 243-254, 1995.
- Loesche WJ: Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 50: 353-380, 1986.
- Mallatt ME, Beiswanger BB, Drook CA, Stookey GK, Jackson RD, Bricker SL: Clinical effect of a sanguinaria dentifrice on plaque and gingivitis in adults. *J Periodontol* Feb;60 (2): 91-95, 1989.
- Mankodi S, Bauroth K, Witt JJ, Bsoul S, He T, Gibb R, Dunavent J, Hamilton A: A 6-month clinical trial to study the effects of a cetylpyridinium chloride mouthrinse on gingivitis and plaque. *Am J Dent* Jul;18 Spec No: 9A-14A, 2005.
- Marsh PD: Microbial ecology of dental plaque and its significance in health

- and disease. *Adv Dent Res* 8:263 - 271, 1994.
- Marsh PD: Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *J Clin Periodontol* 32 (suppl. 6): 7-15, 2005.
- Matee MI, Mikx FH, Maselle SY, Van Palenstein Helderma WH: The influence of dietary sugars and starch on the establishment of *Streptococcus mutans* and *Actinomyces viscosus* in dental plaque of specific pathogen-free rats. *Afr Dent J* 7: 1-5, 1993.
- McBain AJ, Bartolo RG, Catrenich CE, Charbonneau D, Ledder RG, Gilbert P: Effects of triclosan-containing rinse on the dynamics and antimicrobial susceptibility of in vitro plaque ecosystems. *Antimicrob Agents Chemother* 47 (11): 3531-3538, 2003.
- McBain AJ, Bartolo RG, Catrenich CE, Charbonneau D, Ledder RG, Gilbert P: Exposure of sink drain microcosms to triclosan: population dynamics and antimicrobial susceptibility. *Appl Environ Microbiol* 69 (9): 5433-5442, 2003.
- Mellberg JR: Fluoride dentifrices: current status and prospects. *Int Dent J* Feb;41 (1): 9-16, 1991.
- Montgomery EH, Kroeger DC: Use of antibiotics in dental practice. *Dent Clin North Am* Jul;28 (3): 433-53, 1984.
- Nuuja T, Meurman JH, Torkko H: Xylitol and the bactericidal effect of chlorhexidine and fluoride on *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*. *Acta Odontol Scand* Apr;51 (2): 109-14, 1993.
- Nyvad B, Kilian M: Microbiology of the early colonization of human enamel and root surfaces in vivo. *Scand J Dent Res* 95: 369-380, 1987.
- Oetjen J, Fives-Taylor P, Froeliger E: Characterization of a streptococcal endopeptidase with homology to human endothelin-converting enzyme. *Infect Immun* 69: 58-64, 2001.
- Oshima T, Minami T, Aono W, Izumitani A, Sobue S, Fujiwara T, Kawabata S, Hamada S: Oolong tea polyphenols inhibit experimental dental caries in

- SPF rats infected with mutans Streptococci. *Caries Res* 27: 124-129, 1993.
- Otake S, Makimura M, Kuriki T, Hirasawa M: Anticaries effects of polyphenolic compounds from Japanese green tea. *Caries Res* 25: 438-443, 1992.
- Phan TN, Nguyen PT, Abranches J, Marquis RE: Fluoride and organic weak acids as respiration inhibitors for oral streptococci in acidified environments. *Oral Microbiol Immunol* Apr;17 (2): 119-124, 2002.
- Piper JT, Salameh MS: Mechanisms of anticarcinogenic properties of curcumin: the effect of curcumin in glutathione linked detoxification enzymes in rat liver. *Int J Biochem Cell Biol* 30: 445-456, 1998.
- Rimpler H, Hansel R, Kochendoerfer L: Xanthorrhizol, a new sesquiterpene from *Curcuma xanthorrhiza*. *Z Naturforsch B* Sep;25 (9): 995-998, 1970.
- Rodriguez-Lorenzo LM, Hart JN, Gross KA: Influence of fluorine in the synthesis of apatites. Synthesis of solid solutions of hydroxy-fluorapatite. *Biomaterials* Sep;24 (21): 3777-3785, 2003.
- Saeki Y: Effect of seaweed extracts on *Streptococcus sobrinus* adsorption to saliva-coated hydroxyapatite. *Bull Tokyo Dent Coll* 35: 9-15, 1994.
- Saeki Y, Kato T, Naito Y, Takazoe I, Okuda K: Inhibitory effects of funoran on the adherence and colonization of mutans Streptococci. *Caries Res* 30: 119-125, 1996.
- Scheinin A, Banoczy J: Xylitol and caries: the collaborative WHO oral disease preventive programme in Hungary. *Int Dent J* Mar;35 (1): 50-57, 1985.
- Scheinin A, Banoczy J, Szoke J, Esztari I, Pienihakkinen K, Scheinin U, Tiekso J, Zimmermann P, Hadas E: Collaborative WHO xylitol field studies in Hungary. I. Three-year caries activity in institutionalized children. *Acta Odontol Scand* Dec;43 (6): 327-347, 1985.
- Shah HN, Gharbia SE: Ecological events in subgingival dental plaque with reference to *Bacteroides* and *Fusobacterium* species. *Infection* 17 (4):

264-8, 1989.

- Sidhu GS, Singh AK, Thaloor D, Banaudha KK, Patnaik GK, Srimal RC, Maheshwari RK: Enhancement of wound healing by curcumin in animals. *Wound Repair Regen* Mar-Apr;6 (2): 167-77, 1998.
- Sigmund SS, Anne DH: The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol* 63: 322-331, 1992.
- Sharma A, Inagaki S, Sigurdson W, Kuramitsu HK: Synergy between *Tannerella forsythia* and *Fusobacterium nucleatum* in biofilm formation. *Oral Microbiol Immunol* 20: 39-42, 2005.
- Suzuki JB, Delisle AL: Pulmonary actinomycosis of periodontal origin. *J Periodontol* 55: 581-584, 1984.
- Tang G, Yip HK, Samaranyake LP, Chan KY, Luo G, Fang HH: Direct detection of cell surface interactive forces of sessile, fimbriated and non-fimbriated *Actinomyces* spp. using atomic force microscopy. *Arch Oral Biol* 49: 727-738, 2004.
- Tenenbaum H, Dahan M, Soell M: Effectiveness of a sanguinarine regimen after scaling and root planing. *J Periodontol* Mar;70 (3): 307-311, 1999.
- Thorild I, Lindau B, Twetman S: Salivary mutans streptococci and dental caries in three-year-old children after maternal exposure to chewing gums containing combinations of xylitol, sorbitol, chlorhexidine, and fluoride. *Acta Odontol Scand* Oct;62 (5): 245-250, 2004.
- Wen ZT, Burne RA: Functional genomics approach to identifying genes required for biofilm development by *Streptococcus mutans*. *Appl Environ Microbiol* Mar;68 (3): 1196-1203, 2002.
- White DJ, Featherstone JD: A longitudinal microhardness analysis of fluoride dentifrice effects on lesion progression in vitro. *Caries Res* 21 (6): 502-512, 1987.
- Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrander PE: Mechanisms of adhesion by oral

bacteria. *Annu Rev Microbiol* 50: 513-552, 1996.

Yasni S, Imaizumi K, Sin K, Sugano M, Nonaka G: Identification of an active principle in essential oils and hexane-soluble fractions of *Curcuma xanthorrhiza* ROXB. Showing triglyceride-lowering action in rats. *Food Chem Toxicol* 32: 273-278, 1994.

http://www.biofilm.org/whatis_biofilm.htm

Abstract

Effect of Xanthorrhizol containing fluoride or Xylitol on biofilm forming microorganisms

Hae Sun Kim

*Department of Dentistry
The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Baek Il Kim, DDS, MDS, Ph.D)

The Purpose of this study was to evaluate the effect of Xanthorrhizol containing fluoride or Xylitol on bacteria related to biofilm formation. Minimum inhibitory concentrations (MIC) and the fast effectiveness antibacterial agents were examined for the evaluation. The results were as follows:

1. MICs of Xanthorrhizol, stannous fluoride, and sodium fluoride were 5ppm, 2500ppm, 5000ppm on *S. mutans*, were 5ppm, 1000ppm, 1000ppm on *A. viscosus*, and were 5ppm, 1000ppm, 5000ppm on *F. nucleatum* respectively. However, the MIC of Xylitol is still under observation.

2. MICs of Xanthorrhizol mixed with stannous fluoride, sodium fluoride or Xylitol in the ratio of 1:1 were 1000ppm, 5000ppm, 10ppm on *S. mutans*, were 500ppm, 250ppm, 5ppm on *A. viscosus*, were 2500ppm, 1000ppm, 50ppm on *F. nucleatum* respectively.

3. MICs of Xanthorrhizol mixed with stannous fluoride, sodium fluoride or Xylitol in the ratio of 1:2 were 1000ppm, 5000ppm, 100ppm on *S. mutans*, were 500ppm, 500ppm, 50ppm on *A. viscosus*,

were 5000ppm, 2500ppm, 100ppm on *F. nucleatum* respectively.

4. As a result of the fast effectiveness of only single antibacterial agents, Xanthorrhizol or stannous fluoride was able to completely inhibit growth of bacteria when they were exposed to these antibacterial agents for 1 minute in concentrations of 25ppm, 2500ppm on *S. mutans*, 50ppm, 2500ppm on *A. viscosus*, 100ppm, 5000ppm on *F. nucleatum* respectively. However, Xylitol couldn't inhibit growth of bacteria when they were exposed to these antibacterial agents for 1 minute.

5. According to the fast effectiveness of mixed antibacterial agents, Xanthorrhizol mixed with stannous fluoride or Xylitol in the ratio of 1:1 was able to completely inhibit growth of bacteria when they were exposed to these antibacterial agents for 1 minute in concentrations of 2500ppm, 100ppm on *S. mutans*, 2500ppm, 100ppm on *A. viscosus*, 2500ppm, 250ppm on *F. nucleatum* respectively. However, Xanthorrhizol mixed with sodium fluoride in the ratio of 1:1 inhibited only growth of *A. viscosus* at 2500ppm but couldn't inhibit growth of *S. mutans* and *F. nucleatum* when they were exposed to these antibacterial agents for 1 minute. Xanthorrhizol mixed with stannous fluoride, sodium fluoride or Xylitol in the ratio of 1:2 was able to completely inhibit growth of bacteria when they were exposed to these antibacterial agents for 1 minute in concentrations of 5000ppm, 5000ppm, 500ppm on *S. mutans*, 2500ppm, 1000ppm, 250ppm on *A. viscosus*, 5000ppm, 5000ppm, 500ppm on *F. nucleatum* respectively.

As the result of this study, Xanthorrhizol containing fluoride or

Xylitol had more antibacterial effect than only fluoride or Xylitol. Therefore, it is expected that dentifrice containing Xanthorrhizol and fluoride will have more effect on tooth remineralization with antibacterial effect.

Key Word: antibacterial agent, biofilm, fast effectiveness, fluoride, minimum inhibitory concentration, Xanthorrhizol, Xylitol