J. Fd Hyg. Safety 12(2), 102 - 106(1997)

Bioflavonoid naringin이 치아 우식증과 치주 질환 억제에 미치는 효과

김가영†

중문의과대학 부속 분당차병원 치과학교실

Effect of Naringin to Dental Caries and Periodontal Disease

Kaa-Yeong Kim†

Department of Dental Clinic, College of Medicine, Pochon CHA University, Sungnam, 463-070, Korea

ABSTRACT — The purpose of this study was to evaluate the bioflavonoids naringin on dental caries and periondontal disease in the albinorat. Twenty-five-day-old-male rats were fed the experimental diets for 42 days in this work at the end of the 42-day experimental period. The tooth surfaces were examined under a dissecting microscope. The sulcular caries lesions were recorded : the first molars were more affected than the second and third molars. Alveolar bone loss was measured on the buccal and lingual aspects of each molar: three site measurements (mesialpoint midpoint and distalpoint) were taken on the first molars. The results showed that the bioflavonoids, naringin had beneficial effects in the prevention of periodontal disease.

Key words □ Bioflavonoid, Rat, Naringin, Dental caries, Alveolar bone

Bioflavonoids가 치태 형성, 치주 질환 및 치아 탈회 등에 미치는 영향에 대한 연구는 많이 이루어졌다.[4,6,8,12] 역사적으로 bioflavonoids가 치료용으로 사용되어진 것은 Szent-Gyorgy[17]에 의하였으며, 이것을 비타민 C와 함께 섭취하면 비타민C를 활성화 시킨다는 효과도 인정되었다. Menkin[6]은 감귤류의 bioflavonoid 복합물이 모세혈관의 투과성을 감소시키고 leukotaxin의 작용을 증강시킨다는 것을 보고하였다. 이러한 작용은 부신피질 추출물의 작용과 유사한 효과를 가진다고 하였다.[9] Biskind와 martin[1]은 특히 수용성 감귤류 bioflavonoid 혼합물이 점막의 염증 치료에 효과가 있었다고 보고하였다.[2,15]

Carvel과 Halperin[3]는 잇몸 출혈 치료에도 수용성 bioflavonoid의 치료효과를 인정하였으며,[4,9,15] Gustafsson[6,8]와 Kazda[13]은 몇 가지 bioflavonoid가 사람의 구강 타액에서 산 생성을 감소시켜 우식활성을 감소시킨다고 발표하였다. Gustafsson과 Krasse[8]은 hamster에게 naringin을 구강 투여하여 대조군과 bioflavonoid군의 충치 이환율을 비교 실험한 결과, bioflavonoid 투여군에서 충치 이환율의 감소효과를 인정하였는데 naringin, quercetin, hesperidin, floretin 등을 동일한 농도로 투여한 결과, Sodium fluoride 보다도 훨씬 더 충치 발생을 억제 시켰다고 하였다.[19,20] Roth *et al.*[16]은 치주 질환의 환자에서 bioflavonoid가 치은 출혈을 임상적으로 억제시키는데 효과있다고 발표하였으며, 이것은 bioflavonoid 가 치은의 전체적인 상태를 호전시키고 치조골 구조 자체에 유익한 기능을 하기 때문이라고 하였다.

본 연구는 naringin이 충치 및 치주염 억제에 미치는 영향을 검토하기 위하여 albino rat를 실험동물로 사용하여 실험하였다.

재료 및 방법

실험동물

본 실험에 사용한 실험동물은 생후 21일, 무게가 50 gram인 수컷 흰쥐 Sprague Dawley로서 기초사료는 Table 1과 같고 여기에 naringin 0.6%를 혼합하여 급여하였다.

Table 1. Ingredients of basal diet

Ingredient	Percentage (%)
casein	20.0
corn oil	10.0
corn starch	30.4
sucrose	30.0
mineral mixture (see Table 3)	3.0
vitamin mixture (see Table 4)	1.0
of either naringin to the other three diets	5.6

† Author to whom correspondence should be addressed.

Table 2. Composition of mineral mixture

Ingredient	Content (g/100 g)
K_2HPO_4	32.670
$CaCO_3$	27.800
NaCl	23.860
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	9.504
$NaSiO_4 \cdot 9H_2O$	0.848
$FeC_6H_5O_7 \cdot 6H_2O$	0.542
$CaHPO_4 \cdot 2H_2O$	0.409
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.148
$MnSO_4 \cdot H_2O$	0.115
$Al_2(SO_4)_3(NH_4)_2SO_4 \cdot 24H_2O$	0.050
$ZnCl_2$	0.019
$Co(CH_3CO_2) \cdot 4H_2O$	0.013
NaF	0.013
$NiCl_2 \cdot 6H_2O$	0.010
$(NH_4)Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$	0.003
$NaSeO_3 \cdot 5H_2O$	0.002
KI	4.670×10^{-4}
Na_3VO_4	1.5×10^{-4}
SnF_2	1.4×10^{-4}
$Cr(C_2H_3O_2)_3 \cdot H_2O$	1.2×10^{-4}
Dextrose	3.545

Mineral mixture 및 비타민 혼합물은 Table 2, 3에 나타내었다.

동물사육은 바닥면이 스테인레스 철강으로 된 실험장 1개에 두 마리씩 넣었으며, 동물도착 후, 처음 4일 동안은 환경적응을 위해서 commercial diet와 수도물을 공급하였다. 실험기간 4일째부터 42일 동안의 사육은 experimental diet와 물을 제한없이 먹도록 하였고(adlibitum feeding), 일주일에 두 번씩 체중을 측정하였다. 사육실은 자동 조절 장치에 의하여 24시간 밤과 낮이 자동조절되었으며, 일정한 항온항습(온도: 16°C, 상대습도: 50%)의 실험 조건을 유지하였다.

Table 3. Composition of vitamin mixture

Ingredient	(g/10 kg of total diet)
Choline chloride	20.00 g
Inositol	3.00 g
Vitamin E	2.00 g
Niacin	0.80 g
Vitamin C	0.50 g
Ca pantothenate	0.25 g
Vitamin B1	0.05 g
Vitamin B2	0.05 g
Vitamin B6	0.05 g
Vitamin K	0.05 g
Vitamin A	0.20 g (50,000 IU/g)
Vitamin D	20.00 mg (50,000 IU/g)
Folic acid	4.00 mg
Vitamin B12	0.30 mg
Dextrose extender	73.00 mg

(Supplied by Sigma, United States Biochemicals, Gen. Biochemicals, Nutritional Biochemicals)

충치검사법

Dental caries검사는 Keys method[14]에 따라서 검사하였으며, 다음과 같이 점수로 표기하였다.

0 – no caries lesion

1 – decalcification enamel

2 – enamel caries

3 – dentin caries

치조골 손실 측정법

치조골 손실은 Keys와 Gold1[4]의 방법으로 평가하였으며, 에나멜과 백아질의 경계부위에서 치조골 정상까지의 거리를 recticle dissecting microscope로 측정하였다. 치조골이 파괴된 치아에서 에나멜과 백아질 경계부위의 측정이 용이한 7군데를 선정하여 측정하였다. 제1대구치에서는 mesial point, mid point, distal point 등 3군데를 측정하였고, 제2대구치와 제3대구치에서는 mesial point와 distal point 2군데를 측정하였다.[7]

치조골 손실측정을 위하여 실험동물의 머리를 절단한 다음, 악골로부터 연조직을 제거하기 위하여 20분 동안 autoclaving한 후에 발골하였다. 분리한 악골은 2:1 methanol-chlorform 용액에 24시간 침지하였다가 다시 3% hydrogen peroxide 용액에 15분간 침지후, 건조시켰다.

실험결과 및 고찰

Naringin의 체중에 미치는 영향

실험기간중 실험동물의 체중변화를 비교한 결과 Table 4와 같으며 naringin이 실험동물의 체중 변화에 영향을 주지 않았고, 따라서 대조군과 naringin 첨가군 사이에는 통계

Table 4. Body weight responses

Mean±S.E (in grams)

Days on diet	Control	Naringin
0	65±1.58	64±4.43
7	100±2.53	96±2.53
14	133±4.11	136±4.43
21	163±4.43	173±3.79
28	222±3.79	228±6.96
35	273±4.43	269±7.91
42	303±5.06	296±10.44

적으로 유의한 차가 나타나지 않았다.

Naringin의 충치억제효과

실험 동물 흰쥐 40마리를 대조군 20마리와 실험군 20마리로 구분하여 사육한 다음, 열구충치 병소를 high speed diamond disc로 절단하여 mesiodistal sagittal plane으로 세로절단하여 관찰하였다.

대부분의 충치부위는 실험군이나 대조군이나 동일하게 대구치의 교합면 열구부위에서 발견되었으며 naringin 0.6% 첨가에 의한 충치발생의 억제효과는 상악과 하악의 전체에서 15.46% 감소하였으나, 통계적 유의성은 나타내지 않았다. 충치가 가장 많이 나타난 부위는 제1대구치였고, 가장 낮은 충치발생부위는 제3대구치였다. 특히 상악 대구치에 더 충치 감수성이 높았고, 병소는 황갈색이나 짙은 갈색으로 깊은 열구를 따라 나타났다. 제일대구치의 대부분에서 sulcular lesion은 상아질내로 침투되어 있었고, 모든 충치병소 부위에는 음식 잔류물로 채워져 있었다. 동일한 방법으로 인접면 충치 부위도 관찰하였으나 병소를 발견하지 못했다.

Gustafsson[6]의 햄스터 실험 결과에서는 사료에 naringin을 0.2% 첨가하여 충치 발생이 52.17% 감소하였으며($P<0.001$), Bioflavonoid의 일종인 quercetin 0.2% 첨가 사료에서는 충치 발생에서 32%($P<0.001$) 억제되었으나(Stralfors),[18] 본 연구 실험 0.6%의 naringin 첨가시에는 유의한 차가 없는 것으로 나타났다.

Naringin의 치조골 파괴억제 효과

Sterling[17]은 134명을 대상으로 일반 Diet와 함께 매일 1½ 그레프후르트를 5개월 섭취시킨 실험군과 섭취하지 않은 대조군을 비교해본 결과 혈액내 ascorbic acid level이 대조군은 0.42 mg/100 ml인데 비해 실험군은 1.15 mg/100 ml로 높게 나타났으며, 치은염 상태도 대조군보다 실험군이 91%나 더 개선되었음을 나타냈다.[17]

Roth[16]는 상하악 전치부위에 치음염이 있는 25명의 환자를 3그룹으로 구분 매일 600 mg의 내추럴 비타민 C와 600 mg citrus bioflavonoid를 투여 시킨 실험군과, 투여하지 않은 대조군의 비교에서도 대조군 25% 개선보다 실험군에서 88.8% 높은 치은염 개선을 보였다.

EL-Ashiry *et al.*[5]은 치음염이 있는 102명의 성인을 대상으로 3주동안 300 mg 내추럴 비타민 C와 300 mg citrus bioflavonoid를 투여한 실험군과 대조군을 비교해 본 결과 대조군에서의 10%($P>0.200$)의 치유율 보다 실험군의 경우 치태형성 억제 및 치은염의 치유에 있어서 57%($P<0.001$)의 현저한 치유율을 나타내었다.

본 실험에서 Naringin의 치조골 손실에 미치는 영향을 검토하기 위하여 기초diet에 naringin 0.6%를 첨가하여 42일간 급여한 결과, 대조군의 파괴된 치조골 협측면 손실 mesial point길이는 상악 좌우 협측면에서 19.2 mm였는데 비

Table 6. Statistical analysis of occlusal caries on first molars

Groups		Mean±S.E	t-value	P-value
MAX	Control	2.60±0.145	2.095	P>0.05
	Naringin	2.25±0.083		
MAND	Control	2.30±0.133	2.091	P>0.05
	Naringin	1.75±0.227		

Table 7. Alveolar bone loss on first molars

Mean±S.E. (in unit. 24 unit=1 mm)

Group			Control	Naringin	Change (%)
Mesial point	Max	B	19.2±.3	14.2±.32	26
		L	21.8±.63	16.3±.43	25.5
	Mand	B	17.1±.76	12.2±.52	29
		L	34.5±.55	28.5±.53	17
Mid point	Max	B	12.4±.39	8.2±.2	35
		L	16.6±.83	13.5±.46	19
	Mand	B	11.5±.41	6.9±.19	40
		L	24.4±.63	19.3±.43	22
Distal point	Max	B	11.4±.36	7.05±.18	39
		L	13.6±.50	10.5±.35	29
	Mand	B	10.2±.18	6.25±.17	39
		L	20.1±.74	13.7±.47	32

B: buccal, L: lingual.

Table 5. Occlusal caries on maxillary and mandibular teeth

Mean±S.E. (index)

Dietary groups		Max			Mand		
		1st	2nd	3rd	1st	2nd	3rd
Control	Right	2.4±.27	1.9±.23	1.3±.15	1.9±.23	1.4±.27	0.9±.18
	Left	2.8±.13	2.1±.23	1.3±.15	2.7±.15	2.1±.18	1.2±.20
Naringin	Right	2.3±.15	1.9±.18	1.3±.15	1.3±.31	1.3±.26	1.0±.21
	Left	2.2±.13	1.9±.18	1.1±.10	1.6±.23	1.6±.16	1.1±.10

하여 naringin 첨가군의 것은 14.25 mm로서 naringin 첨가에 의하여 26% 감소하였고 상악좌우 설측면에서는 21.85 mm에서 16.3 mm로 25.5% 감소하였다. 하악에서도 이와 유사하게 협측면 손실이 17.1 mm에서 12.2 mm로 29% 감소하였고, 설측면에서는 34.5 mm에서 28.5 mm로 17% 감소하였다.

Mid point 길이는 상하좌우 협측면에서 12.4 mm에서 8.2 mm로 35% 감소하였고, 설측면에서는16.6 mm에서 13.5 mm로 19% 감소하였다. 하악에서도 협측면은 11.5 mm에서 6.9 mm로4 0% 감소하였고, 설측면은 24.4 mm에서 19.3 mm로 22% 감소하였다. Distal point 길이는 상악좌우 협측면에서 11.4 mm에서 7.05 mm로 39% 감소를 설측에서는 13.6 mm에서 10.5 mm로 23% 감소를 보였고, 하악에서는 협측면에서 10.25 mm에서 6.25 mm로 39% 감소를 보였고, 설측면에서는 20.1 mm에서 13.75 mm로 32% 감소함을 보였다.

이로 미루어 Naringin이 충치 예방에 통계적 유의성을 나타낼 만큼의 효과는 없었으나, 치주질환 예방에는 효과가 있는 것으로 보아 citrus bioflavonoid에 대한 계속적인 비교 연구가 필요하다고 생각된다.

국문요약

Bioflavonoid naringin이 치아 우식증과 치주질환에 미치는 영향을 평가하기 위하여, 생후 25일된 흰쥐를 실험동물로 사용하여 42일간 naringin 함유 사료로 사육하면서 실험군과 대조군과의 치아 표면과 잇몸을 관찰하여 naringin이 치아우식 및 치주질환에 미치는 효과를 평가하였다. 상악대구치 교합면에 흔히 나타나는 열구 부위의 병소에 있어서 대조군에 비하여 실험군의 제1대구치가 제2대구치나 제3대구치보다 이환율이 약 16% 억제되었고, 하악대구치의 경우에는 약 15% 억제되었다. 치조골의 파괴량도 상악 대구치나 하악 대구치에서 약 24% 억제효과가 인정되었다.

참고문헌

1. Biskind, M.S. and Martin, W.C.: The use of citrus flavonoids in infections: II. *Am. J. Dig. Dis.*, **22**, 41 (1955).
2. Calomme, M., Pieters, L., Vlietinck, A. and Vanden, B. D.: Inhibition of bacterial mutagenesis by citrus flavonoids. *Planta Medica,* **62**, 222 (1996).
3. Carvel, R.I. and Halperin, V.: Therapeutic effect of water-soluble bioflavonoids in gingival inflammatory conditions. *Oral Surg. Oral Med. Oral Path.,* **14**, 847 (1961).
4. Chung, C.P., Park, J.B., Bae, K.H.: Pharmacological effect of methanolic extract from the root of Scutellaria baicalenensis and ita flavonoids on human gingival fibroblast. *Planta Medica,* **61**, 150 (1995).
5. EL-Ashiry, G.M., Ringsdorf, W.M.: Local & systemic influences in Periodontal disease: II Effect of prophylaxis and natural versus synthetic vitamin C upon gingivitis J. *Periodont,* **35**, 250 (1964).
6. Gustafsson, B.E.: Inhibitary effect of flavones and flavonons on the acid production in saliva from caries active patient. *Svensk Tandlakretidskrift.* **45**, 341 (1952).
7. Gold, H.S.: Periodontal lesions in the Syrian hamster: I.A method of evaluating alveolar bone resorption. *Oral Surg. Oral Med. and Oral Path.* **8**, 492 (1955).
8. Gustafsson and Krasse, B.: The caries reducing effect of naringin and protamine in hamsters. *Acta Odont. Scand.* **16**, 355 (1958).
9. Heisey, R.M., Bernadette, K. Gorham.: Antimicrobial effect of plant extract on streptococcus mutans, candida albicans, trichophyton rubrum and other microorganisms. *Letter in Appl Microbio,* **14**, 136 (1992).
10. Herrera MD Marhuenda: Effect of naringin and naringenin on contractions induced by nor adrenaline in rat vas deferens. *General Pharma.* **24**(3), 739 (1993).
11. Horowitz, R.M. and Gentili, B.: Citrus based dihydrochalcone sweeteners. Proc. Sweetners and Dental Caries, eds. Shaw, J.H. and Roussos, G.G. Sp. Supp. Feeding. Weight & Obesity Abstract, Information Retrieval Inc., Washington, D.C., 1978. p.291.
12. Jordan, H.V. *et al.*: Plaque formation and periodontal pathology in gnotobiotic rats infected with an oral actinomycetes. *Am. J. Path.* **47**, 1157 (1965).
13. Kazda, I.K.: Reduction of experimental alveolar bone loss and caries by dietary Rutin or Quercetin. M.S. thesis Boston University H.M.Goldman School of Dentistry. (1983).

14. Keyes, P.H.: Dental caries in the molar teeth of rats: A method for diagnosing and scoring several Types of lesions simultaneously. *J. D. Res,* **27**, 1088 (1958).
15. Menkin, V.: Anti-inflammatory activity of some water soluble bioflavonoids. *Am. J. Physiol.* **196**, 1205 (1959).
16. Roth, H. *et al.*: Preliminary progress report of clinical study of the effect of C.V.P. on gingival hemorrage.Oral Surg. *Oral Med and Oral Pathol.* **10**, 590 (1967).
17. Sterling, V. Mead: Studies of the effect of ingestion of citrus fruit upon gingival hemorrage. *J. D. Res.* **23**, 51 (1944).
18. Stralfors, A.: Inhibition of hamster caries by phenolic compounds Archs oral Biol. 12, 1375-1385(1967).
19. Szent Gyoryi, A. and Ruszsnyak, S.: Vitamin P: Flavonols as vitamins. *Nature,* **138**, 27 (1936).
20. Wang P. Zheng RI.: Inhibition of the auto-oxidation of linoleic acid by flavonoids. *Food & Chem. Toxicology.* **32**, 1061 (1995).