

## 구강미생물에 대한 고삼의 항균효과

박숙자<sup>1,2</sup>, 김상찬<sup>1,2,3</sup>, 이종록<sup>1,3,\*</sup>

1 : 대구한의대학교 한의과대학, 2 : 한방신약개발팀 (BK21 Team), 3 : 한방생명자원연구센터

### Antimicrobial Effects of Sophorae Radix Extracts against Oral Microorganisms

Sook-Jahr Park<sup>1,2</sup>, Sang-Chan Kim<sup>1,2,3</sup>, Jong-Rok Lee<sup>1,3,\*</sup>

1 : College of Oriental Medicine, 2 : BK21 Team,  
3 : Research Center for Biomedical Resources of Oriental Medicine, Daegu Haany University, Daegu

#### ABSTRACT

**Objectives** : Sophorae Radix (SR), the dried root of *Sophorae Flavescens* Aiton, has been used to treat atherosclerosis, arrhythmia and skin diseases including scabies and eczema. The present study was examined to evaluate antimicrobial activities of SR extracts against oral microorganism.

**Methods** : Antimicrobial properties of SR extracts were determined by agar diffusion method and minimum inhibitory concentration (MIC) against *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Actinomyces viscosus*. Analysis of kurarinone from SR extracts was conducted using UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography).

**Results** : The ethanolic extracts of SR showed stronger antimicrobial effect than methanolic extracts, while the aqueous extracts of SR had no activity. In addition, the higher content of kurarinone was found in ethanolic extracts than methanolic extracts. The purified kurarinone from ethanolic extracts showed potent antimicrobial activity with the MIC value of 3.9~7.8 $\mu$ g/ml.

**Conclusion** : An ethanolic extract of SR showed antimicrobial properties against several oral microorganisms, and kurarinone contributed to antimicrobial action of SR. Thus, ethanolic extracts of SR or purified kurarinone should be beneficial for the preparation of the useful agent for treating oral disease including anticaries.

**Key Words** : Sophorae Radix, antimicrobial activity, kurarinone, oral disease

#### 서론

고삼은 콩과의 다년생 초본인 *Sophora flavescens* Aiton의 뿌리를 건조한 것으로, 가을에 채취하여 수염뿌리를 제거하고 세척한 다음 햇볕에 말린 후 얇게 잘라 한약재로 사용한다. 고삼은 성질이 차고 강한 쓴맛을 지니고 있으며, 항병원체 작용, 항알리지 작용,

이노작용, 항부정맥작용 등의 약리작용을 가지고 있다고 알려져 있다<sup>1)</sup>. 한방에서는 세균성 이질, 급성 위장염, 급성 전염성 감염의 치료에 쓰이고 피부 소양, 습진, 농포창, 마풍병 등을 치료하여 피부질환에 중요한 약으로 처방되고 있다<sup>2,3)</sup>. 고삼에 대한 연구로는 tyrosinase 억제활성<sup>4,5)</sup>, 암세포에 대한 독성작용<sup>6)</sup>, 항균작용<sup>7)</sup>, 항염증작용<sup>8)</sup> 등이 보고되었다.

\*교신저자 : 대구한의대학교 한의과대학, 대구시 수성구 상동 165  
· E-mail : ssephia@hanmail.net · Phone: 053-770-2297 · FAX: 053-768-6340  
· 접수 : 2010년 4월 25일 · 수정 : 2010년 6월 15일 · 채택 : 2010년 6월 22일

고삼의 성분으로는 alkaloid, flavonoid saponin 등이 알려져 있으며<sup>9)</sup> flavonoid 화합물인 kuwanon C는 5-lipoxygenase와 inducible nitric oxide synthase (iNOS)의 저해제로 항염작용이 보고되었고<sup>10)</sup>, sophoraflavanone G는 항균 및 항산화작용이 알려졌다<sup>11)</sup> kurarinone도 항균활성이 보고되었다<sup>12)</sup>. 또한, 고삼에서 분리된 alkaloid 화합물인 matrine과 oxymatrine은 세포자멸사를 유도하거나 암세포생장을 저해함으로써 항암작용을 가짐이 보고되었다<sup>13,14)</sup>.

구강 내에는 다양한 미생물이 번식하고 있으며, 이들에 의해 치아우식증 및 치주염과 같은 다양한 구강 질환이 발생된다. 그람양성세균인 *Actinomyces viscosus* (*A. viscosus*)는 치면세균막 형성 단계에서 치주염을 유발하는 것으로 보고되었고<sup>15)</sup> *Streptococcus mutans* (*S. mutans*)와 *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*) 등과 같은 oral streptococci는 치아우식증의 원인균이다<sup>16)</sup>. 특히, *S. mutans*는 치면세균막 형성에 가장 중요한 역할을 하는 대표적 원인균으로 음식물에 포함된 탄수화물, 특히 포도당, 과당 등을 분해하고 그 대사과정에서 발생하는 부산물인 유기산 주로 젖산을 세균 외로 방출함으로써 치아 법랑질을 파괴하는 것으로 알려져 있다<sup>17)</sup>.

치아우식증을 비롯한 구강질환을 예방하기 위해 penicillin과 같은 항생제를 사용하여 구강미생물의 성장을 억제하려 하지만, 항생제는 장기간 사용 시 내성과 같은 부작용이 발생하므로 문제가 되고 있다<sup>18)</sup>. 그 외 칫솔질을 비롯한 불소 화합물의 이용법, 불소를 방출하는 장치, 자동 칫솔기구 등의 방법들이 개발, 소개되었으나 충분한 효과를 거두지 못하고 있다<sup>19)</sup>. 이러한 까닭에 보다 효과적이고, 안정성이 있는 구강질환 예방법의 개발이 요구되고 있는 실정이다. 국내에서는 부작용은 줄이고 치료효과는 개선한 대체품으로 천연물 치료제가 주목받고 있다. 특히 한약재는 예로부터 사용되어 온 천연물로서 기존 치료제에 의한 안전성이나 내성 문제를 극복할 수 있을 것으로 기대되고 있다.

일반적으로 천연물은 다양한 추출과정을 거쳐 활용되며, 추출방법에 따라 효능의 차이가 발생하기도 한다. 장 등은 감귤 과피의 열수, 에탄올, 설탕 추출방법에 따라 항균활성을 비교한 결과, 열수 및 에탄올 추출에서는 항균활성이 관찰되지 않았으나 설탕 추출에서 강력한 항균효능이 나타났다고 보고하였다<sup>20)</sup>. 방등도 추출조건에 따라 어수리의 항산화능을 비교한 결과, 물보다 에탄올로 추출했을 때 항산화효과가 커짐을 보고하였다<sup>21)</sup>.

본 연구에서는 고삼의 열수, 메탄올, 에탄올 추출물과 고삼에서 분리한 kurarinone의 구강미생물에 대해 항균력을 paper diffusion method와 MIC로 평가하였고, 각 추출물에 대한 성분분석을 통하여 kurarinone의 함량 변화가 고삼의 항균력에 기여하는지 살펴보았다.

## 재료 및 방법

### 1. 추출물의 제조

고삼 (*Sophorae Radix*, 대원약업사, 대구)은 마쇄한 후 3종 (물, 메탄올, 에탄올)의 용제를 사용하여 추출하였다. 물 추출물은 약재분말 200g을 1ℓ의 물로 3시간 동안 전탕하여 추출하였고, 메탄올과 에탄올 추출물은 약재분말 200g에 용제 1ℓ를 넣어 혼합하여 72시간 동안 추출하였다. 3종의 추출액을 여과지 (Whatman, No.2)로 여과한 후 55±2℃에서 회전 감압농축기(EYELA, Tokyo, Japan)로 감압농축하고 초저온냉동고 ((Nihon freezer, Japan)에서 동결한 후에 freezer dryer(Labconco, USA)에서 건조하였다. 고삼의 물, 메탄올, 에탄올 추출물의 최종 수율은 각각 9.8%, 14.6%, 8.6%이었으며 DMSO에 녹여 실험에 사용하였다.

### 2. 실험균주 및 배양

*S. mutans* KCCM 40105, *S. sobrinus* KCCM 11898, *A. viscosus* KCCM 12074는 한국미생물보존센터로부터 분양받아 BHI broth (Difco, USA)에 배양하였고 배양된 균은 glycerol과 3:7의 비율로 잘 혼합하여 -70℃에 보관하였다. 냉동고에 보관된 균주는 실험시작 3일 전에 활성화 시킨 후 BHI agar plate에 접종하여 *S. mutans*는 5% H<sub>2</sub>와 95% N<sub>2</sub>가 공급되는 혐기성 배양기 (Vision Scientific CO., LTD, Korea)에서, *S. sobrinus*와 *A. viscosus*는 호기조건에서 배양하여 실험에 사용하였다.

### 3. 디스크 확산법 (disk diffusion test)에 의한 생육저해환 (clear zone)의 측정

디스크 확산법에 의한 생육저해환을 측정하기 위하여 BHI agar plate를 사용하였다. 균주는 24시간 동안 전 배양하여 10<sup>8</sup> CFU/ml의 농도로 준비하여 45℃로 유지된 top agar 5ml에 1ml씩 가하여 잘 혼합한 후, BHI agar plate에 도말하였다. 고삼의 각추

출물은 1, 2mg/25 $\mu$ l의 농도로 준비하여 8mm 직경의 paper disc위에 25 $\mu$ l씩 올리고 대조구 (control) disc 위에는 DMSO를 25 $\mu$ l 적었다. Top agar가 마른 후에 BHI agar plate 위에 고삼 추출물이 적혀진 disc를 올리고 *S. mutans*는 혐기적 조건 (5% H<sub>2</sub>, 95% N<sub>2</sub>; 37°C)에서 *S. sobrinus*와 *A. viscosus*는 호기조건 (37°C)에서 배양하였다. 48시간 배양 후에 생성된 생육저해환은 micrometer (Mitutoyo, Kawasaki, Japan)를 이용하여 측정하였다. Kurarinone의 경우에는 50, 100 $\mu$ g/25 $\mu$ l/disc의 농도로 실험하였다.

#### 4. 액체배지희석법 (broth dilution test)에 의한 최소저해농도 (MIC) 측정

MIC 측정을 위해서 구강 미생물 3종을 24시간 동안 전 배양하였다. 배양된 균은 분광광도계 (TECAN, Crailsheim, Germany)를 사용하여 620nm에서 흡광도를 측정하였고, 10<sup>7</sup> CFU/ml의 농도로 준비하여 96well plate에 200 $\mu$ l씩 분주하였다. 고삼 추출물은 최고농도를 1000 $\mu$ g/ml로 하여 2배씩 series로 희석 (stepwise 2-fold dilution)하여 0.5 $\mu$ g/ml까지 희석하였다. Kurarinone은 250 $\mu$ g/ml부터 0.5 $\mu$ g/ml까지 희석하였다. 고삼추출물 및 kurarinone은 시험균주가 접종된 96well plate에 첨가하여 각각의 조건 (*S. mutans*: 혐기, *S. sobrinus*, *A. viscosus*: 호기)에 맞게 37°C에서 배양하였다. 48시간 배양 후에, 분광광도계로 620nm에서 흡광도를 측정하였고 미생물의 생육이 억제된 최저의 농도를 최소저해농도로 결정하였다.

#### 5. 고삼추출물의 UPLC diagram 분석

3종의 고삼 추출물은 C<sub>18</sub> column을 사용하여, 용매A (0.1% formic acid in D.DW)와 용매B (0.1% formic acid in acetonitrile)를 기울기 변화로 (98:2 → 90:10 → 50:50 → 20:80 → 0:100 → 98:2) 흘려보내면서 AcQUITY UPLC™ System (Waters, UK)으로 분석하였다.

#### 6. 고삼 에탄올 추출물의 분획 및 kurarinone의 분리정제

고삼 2kg을 에탄올 15l 에 침지하여 상온에서 72시간 동안 추출하여 No.2 필터페이퍼를 사용하여 필터하고, 여액을 진공회전농축기를 사용하여 55°C에서

농축하여 갈색의 고삼 에탄올 추출물 172g을 얻었다. 고삼 에탄올 추출물을 실리카겔 (70-230 mesh) 칼럼 (12 × 26 cm)에 로딩한 후 클로로포름/메탄올의 혼합용매에서 메탄올의 비율을 순차적으로 높여가며 (1/0 → 4/1) 칼럼크로마토그래피를 실시하였다. 용출액을 250ml씩 회수하여 얻어진 분획을 TLC pattern에 따라 9개의 분획물로 분획하였다. 이 중에서 4번 분획은 TLC를 실시하였을 때 10% 황산에 의해 노란색으로 발색되고, UV 램프 (254nm)에서 비교적 강한 형광을 나타내며 flavonoid의 특징을 보였으며, *S. mutans* 균에 대해 16.5mm의 생육저해환을 형성하였다 (data not shown). 4번 분획은 recycling HPLC (JAI 9104, Japan)에 loading하여 GS-310 칼럼과 메탄올 단일 용매를 사용하여 순물질 kurarinone을 분리하였다.

#### 7. 통계처리

윈도우용 SPSS 17.0을 사용하여 oneway ANOVA, Turkey test (multiplecomparison)방식으로 분석하였으며, P값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

## 결 과

#### 1. 생육저해환(clear zone)의 측정

3종의 고삼추출물이 구강미생물에 대해 가지는 항균력을 비교하기 위해 고삼의 메탄올, 에탄올, 물 추출물을 1, 2mg/disc의 농도로 처리한 paper disc를 균이 도말된 plate 위에 놓고 혐기배양기 (5% H<sub>2</sub>, 95% N<sub>2</sub>; 37°C)에서 48시간 동안 배양하여 생긴 생육저해환을 측정하였다. 그 결과, 고삼 물 추출물에서는 모든 균주에 대하여 생육저해효과가 전혀 나타나지 않았고, 메탄올 및 에탄올 추출물에서 항균능이 확인되었다 (Fig. 1). 하지만 메탄올보다 에탄올 추출물에 의한 항균효과가 더 우수하였으며, 이러한 효과는 실험에 사용된 모든 균에서 동일하게 확인되었다. 에탄올 추출물은 2mg/disc의 농도에서 *S. mutans*, *S. sobrinus*, *A. viscosus* 균에 대하여 각각 15.7 ± 0.3mm, 15.0 ± 0.5mm, 13.3 ± 0.3mm의 생육저해환을 형성하여, 13.7 ± 0.6mm, 12.8 ± 0.8mm, 12.2 ± 0.3mm의 생육저해환을 형성한 메탄올 추출물보다 유의하게 (p > 0.01) 우수한 항균력을 보였다 (Table.1).

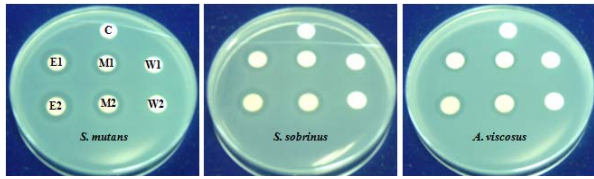


Fig. 1. Effects of SR extracts on the growth of oral microorganism. Dose response experiment was conducted with three kinds of SR extracts, ethanolic (E), methanolic (M) and aqueous extract (W). The number beside capital letter indicates a dose of SR extract, namely that 1 means 1mg/25μl/disc of SR extract.

Table 1. Antimicrobial activity of SR extracts against the three oral bacteria tested

Bacteria strain	Diameter of clear zone <sup>a</sup> (mm)						(mg/disc)
	Ethanol		Methanol		Water		
	1	2	1	2	1	2	
<i>Streptococcus mutans</i> KCCM40105	15.0±0.5 <sup>c,**</sup>	15.7±0.3 <sup>**</sup>	13.0±0.5	13.7±0.6	— <sup>b</sup>	—	
<i>Streptococcus sobrinus</i> KCCM11898	14.0±0.5 <sup>*</sup>	15.0±0.5 <sup>**</sup>	12.3±0.6	12.8±0.8	—	—	
<i>Actinomyces viscosus</i> KCCM12074	12.8±0.3 <sup>*</sup>	13.3±0.3 <sup>**</sup>	11.8±0.3	12.2±0.3	—	—	

<sup>a</sup> Diameter of clear zone including disc diameter of 8.0mm.

<sup>b</sup> Expressed as mean±SD (n=3); <sup>\*</sup>p<0.05, <sup>\*\*</sup>p<0.01 compared with same concentration of methanol extract.

<sup>c</sup> Not active.

## 2. 최소저해농도 (MIC) 측정

MIC는 미생물의 생육을 저해하는데 필요한 최소농도를 의미한다. MIC 측정을 위해 각각의 고삼추출물을 1000μg/ml부터 0.5μg/ml까지 2배씩 series로 희석하여 3종의 구강 세균 위에 올리고 37℃에서 배양하였고, 620nm에서 흡광도를 측정하여 균의 생육이 억제된 최저의 농도를 최소저해농도로 결정하였다. 고삼 물 추출물은 최소저해농도 결정 실험에 사용된 최고 농도 (1000μg/ml)에서도 3종의 구강 미생물 (*S. mutans*, *S. sobrinus*, *A. viscosus*)에 대해 항균효과를 보이지 않았고, 고삼의 메탄올 추출물은 125μg/

ml, 에탄올추출물은 *S. mutans*, *S. sobrinus*, *A. viscosus* 균에 대하여 각각 62.5, 62.5, 125μg/ml의 최소저해농도를 나타내었다(Table 2). 고삼 에탄올 추출물은 *S. mutans*, *S. sobrinus* 균에 대하여 메탄올 추출물보다 낮은 농도의 MIC 값을 보여, 생육저해환 형성에서와 마찬가지로 더 강한 항균효과를 보였다. *A. viscosus* 균은 에탄올 추출물과 메탄올 추출물에서 동일한 MIC값을 보였으나, Fig.1과 Table 1에서 제시한 바와 같이 에탄올 추출물이 유의적으로 더 큰 생육저해환을 형성하였기 때문에 이상의 결과를 종합하여 에탄올 추출물이 메탄올 추출물보다 더 강한 항균력을 지니는 것으로 판단되었다.

Table 2. Minimum inhibitory concentration (MIC) of SR extracts against oral microorganisms

Bacteria strain	MIC (μg/ml)		
	Ethanol	Methanol	Water
<i>Streptococcus mutans</i> KCCM40105	62.5 <sup>a</sup>	125	1000<
<i>Streptococcus sobrinus</i> KCCM11898	62.5	125	1000<
<i>Actinomyces viscosus</i> KCCM12074	125	125	1000<

<sup>a</sup> Values represent an average of three determinations.

### 3. UPLC 분석을 통한 고삼추출물의 kurarinone 함량 조사

항균실험의 결과로 3종의 고삼 추출물 중에서 에탄올 추출물의 항균효능이 가장 우수함을 확인하였다. 고삼에서 분리된 kurarinone은 다종의 균주에 대한 antimicrobial activity가 알려져 있고, 특히 *S. mutans*에도 항균작용을 발휘함이 보고되었다. 따라서 각 고삼 추출물의 구강 미생물에 대한 항균력의 차이가 kurarinone의 함량변화에 기인한 것일 가능성을 고려하여, 각 추출물의 UPLC diagram 분석을 통해 kurarinone 성분분석을 실시하였다. 순물질 kurarinone (Fig. 2A)을 이용하여 만든 standard curve (Fig. 2B)에 의존하여 각 추출물의 kurarinone의 함량변화를 살펴본 결과, 항균력이 증가된 메탄올, 에탄올 추출물의 순서대로 flavonoid 성분인 kurarinone의 함량도 증가함을 확인할 수 있었다 (Fig. 2C). 항균력이 관찰되지 않은 물 추출물에서 kurarinone은 검출되지 않았으며, 메탄올 추출물에서는  $6413.3 \pm 119.8$ ppm가 확인되었고, 항균 활성이 가장 우수했던 에탄올 추출물에서는  $7296.7 \pm 432.6$ ppm의 kurarinone이 존재하였다 (Table 3). 따라서 kurarinone이 고삼의 구강 미생물에 대한 항균능에 기여하는 유용 성분화합물일 것으로 사료된다.

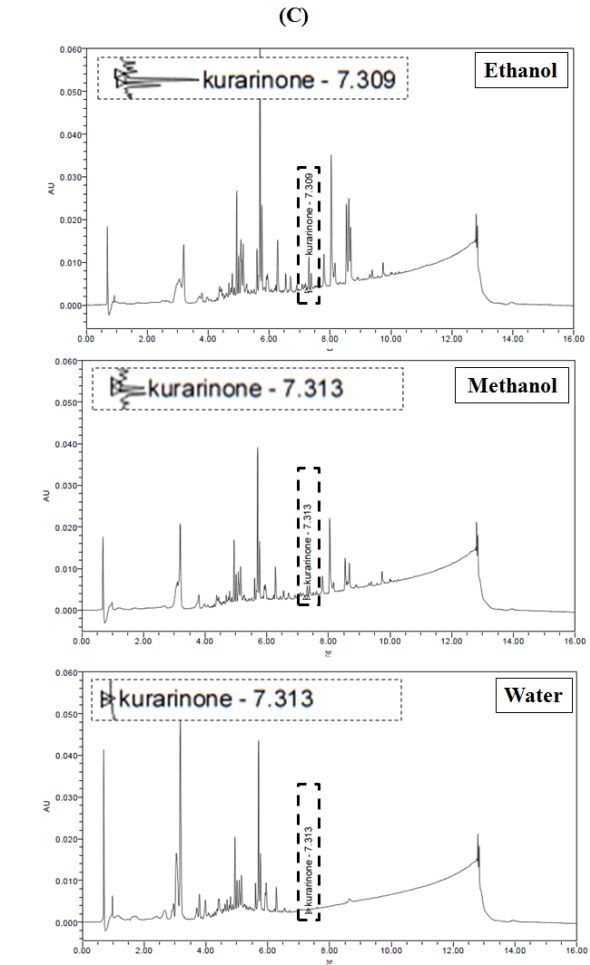
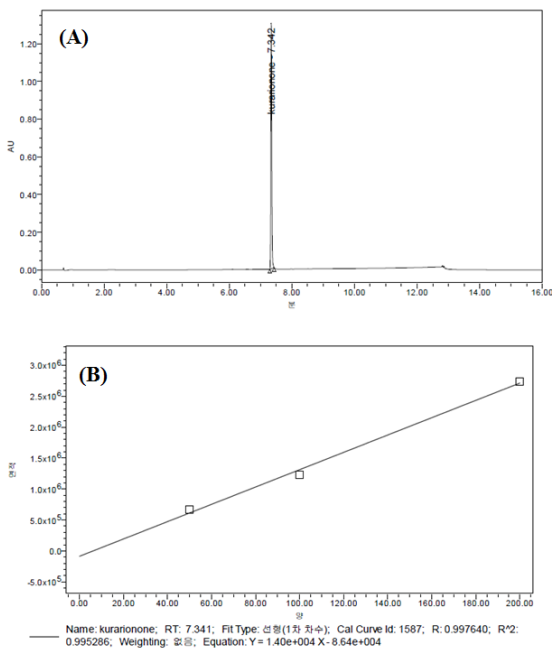


Fig. 2. UPLC diagram and standard curve. (A) Isolation of highly purified kurarinone, (B) Standard curve of kurarinone, and (C) UPLC diagram of SR extracts. Inserted figures in (C) show the enlarged peak of kurarinone.

Table 3. Comparison of kurarinone content in three kinds of SR extracts

	Extractant		
	Ethanol	Methanol	Water
Kurarinone (ppm)	$7296.7 \pm 432.6^{a,c}$	$6313.3 \pm 119.8$	— <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Mean  $\pm$  SD (n=3); \*p<0.05 compared with methanol extract.  
<sup>b</sup> Not detective.

### 4. Kurarinone의 구강 미생물에 대한 항균효과

고삼에서 분리한 kurarinone이 실질적으로 구강미생물에 대해 항균효능을 발휘하는지를 조사하기 위해

생육저해환 측정과 MIC 값으로 항균활성을 조사하였다. Kurarinone을 50, 100 $\mu\text{g}/25\mu\text{l}/\text{disc}$ 의 농도로 준비하고 3종의 구강 세균이 도말된 plate 위에 올려 48시간 동안 배양하였을 때, 실험에 사용한 모든 농도에서 항균효능이 관찰되었으며 농도의존적인 효과를 보였다 (Fig. 3, Table 5). Kurarinone을 100 $\mu\text{g}/25\mu\text{l}/\text{disc}$ 으로 처리했을 때 생긴 clear zone의 크기는 *S. mutans*, *S. sobrinus*, *A. viscosus* 균에 대하여 각각  $18.5\pm 0.5$ ,  $19.0\pm 0.5$ ,  $16.3\pm 0.6\text{mm}$ 로 나타났다. 또한, kurarinone을 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 최고농도로 하여 1/2배씩 단계적으로 희석하여 (stepwise 2-fold dilution) 최소저해농도 (MIC) 값을 조사하였다. 48시간 동안 배양하여 분광광도계 (TECAN, Crailsheim, Germany)로 620nm에서 흡광도를 측정 한 결과, MIC는 *S. mutans*, *S. sobrinus*, *A.*

*viscosus* 균에 대하여 각각 3.9, 3.9, 7.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 확인되었다 (Table 5).

이상의 결과에서 고삼은 구강 미생물에 대해 우수한 항균력을 지니며, kurarinone이 고삼의 항균력에 관여하는 구성화합물 중의 하나임을 알 수 있다.

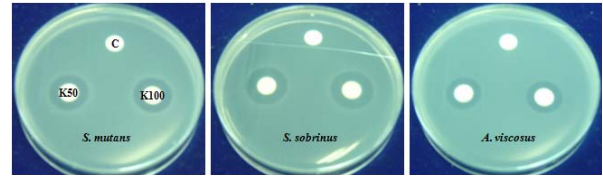


Fig. 3. Inhibitory effects of kurarinone on the growth of oral microorganism.

Dose response experiment was conducted with kurarinone (K) purified from ethanolic extract of SR. The number beside capital letter indicates a dose of kurarinone, namely that 50 means 50 $\mu\text{g}/25\mu\text{l}/\text{disc}$  of kurarinone.

Table 5. Antibacterial effect of kurarinone purified from ethanolic extract of SR

Bacteria strain	Diameter of clear zone <sup>a</sup> (mm)		MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
	50	100 ( $\mu\text{g}/\text{disc}$ )	
<i>Streptococcus mutans</i> KCCM40105	$17.7\pm 0.3^b$	$18.5\pm 0.5$	3.9
<i>Streptococcus sobrinus</i> KCCM11898	$18.2\pm 0.3$	$19.0\pm 0.5$	3.9
<i>Actinomyces viscosus</i> KCCM12074	$15.5\pm 0.5$	$16.3\pm 0.6$	7.8

<sup>a</sup> Diameter of clear zone including disc diameter of 8.0mm.

<sup>b</sup> Values represent an average of three determinations

## 고찰

최근 식생활의 변화로 당질이 다량 함유된 가공식품 섭취의 증가로 구강 상태는 점점 악화되고 있다<sup>22,23</sup>. 치아우식증과 치주병은 가장 문제가 되는 구강 질환이며, 치아우식증은 식생활 습관의 변화로 해마다 그 발생빈도가 증가하고 있으나 뚜렷한 예방 및 치료제가 개발되지 않아 다수의 환자들이 의료혜택이 적용되지 않는 치과 진료에 많은 의료비를 지출하고 있다<sup>23</sup>. 구강 질환의 치료를 위해 항생제를 이용하여 구강에 상주하는 미생물의 성장을 억제하고 있으나 항생제의 내성은 문제가 되고 있다<sup>18</sup>. 이에, 새로운 구강 질환 치료제에 대한 요구가 증가되고 있으며 예로부터 안전성이 입증되어 온 한약재를 소재로 한 천연치료제에 관심이 집중되고 있다.

한의학에서 피부질환, 급성 전염성 감염 및 세균성 이질 치료제로 사용되어 온 고삼은 항염증<sup>8</sup>, 항암<sup>6</sup>, tyrosinase 저해 효과<sup>4,5</sup>가 보고되어 있으며, 다양

한 균종에 항균활성<sup>7</sup>을 지니는 것으로 알려져 있다. Flavonoid 성분인 kurarinone은 고삼의 구성화합물 중의 하나이며, 항균활성을 지니고 있다고 보고되었다<sup>7,24</sup>. 고삼과 kurarinone은 치아우식증의 원인균인 *S. mutans*에 효과가 있는 것으로 알려져 있으나<sup>12</sup>, 또 다른 치아우식증 원인균인 *S. sobrinus*나 치주염을 유발하는 *A. viscosus*에 대한 항균효과는 평가되지 않았다.

한방에서 修治는 약효를 억제하거나 증가시키기 위해 약재를 가공 처리하는 방법으로<sup>25</sup>, 수삼을 찌서 홍삼으로 만드는 것이 보편적으로 알려진 수치의 한 예라 할 수 있다. 수치를 하는 이유는 독성의 경감<sup>26</sup>, 약효의 변화<sup>27</sup>, 약성의 변화<sup>28</sup> 등이며, 이중 새로운 약효가 발견되는 것은 수치과정에서 일어나는 물리화학적 작용에 의해 약성이 변하기 때문인 것으로 추측되고 있다. 수삼에서 존재하지 않던 여러 가지의 유용 사포닌이 홍삼에서 발견되는 것은 이를 잘 설명해주는 연구결과들이라 하겠다<sup>29</sup>.

예로부터 한약재는 열수로 다린 탕제의 형태로 많이 처방되었지만, 修治의 방법으로 輔料를 사용하기도 하였으며 어떠한 輔料를 선택하는지에 따라 원래의 약성이 변하기도 하였다. 한약재를 추출하는 방법에 있어서도 용매에 따라 서로 다른 효능이 나타나며, 이러한 효능의 차이는 용매에 따라 추출되어지는 유용 성분의 함량 차이에 기인한 것으로 알려져 있다. 최근의 연구 결과를 보면 물보다 에탄올로 추출한 어수리에서 더 큰 항산화능이 관찰되었고, 항산화능에 기여하는 플라보노이드와 페놀의 함량도 에탄올 추출물에서 높은 것으로 보고되었다<sup>21)</sup>. 또한 오미자 물 추출물과 에탄올 추출물의 항산화 및 혈당강화 효과를 조사한 연구에서도 페놀함량이 많이 함유된 에탄올 추출물에서 우월한 항산화 효과가 나타났다<sup>30)</sup>.

본 연구에서는 한약재를 준비함에 있어 일반적인 열수를 이용한 탕제 외에 修治의 방법으로 술이 輔料로 사용되어져 왔다는 점에 착안하여 고삼을 물, 메탄올, 에탄올로 추출하여 3종의 구강미생물에 대한 항균활성을 평가하였으며, 각 추출물의 항균능의 차이가 kurarinone의 함량 변화에 기인하는지 조사하여 보았다. 고삼 물추출물이 항균활성을 나타내지 않은 반면, 메탄올과 에탄올추출물에서는 3종의 구강 미생물에 대해 항균능이 관찰되었다. 에탄올추출물의 항균능은 메탄올추출물보다 유의하게 우수하였으며, kurarinone의 함량도 에탄올추출물에서 높게 확인되었다.

이것은 한방에서 輔料를 사용하여 修治를 하는 이유를 설명해 줄 수 있는 간접적인 결과라 사료되며, 고삼이나 kurarinone이 *S. mutans* 균주뿐만 아니라 항균활성이 규명되어져 있지 않던 *S. sobrinus*나 *A. viscosus*에 대해 우수한 항균력을 발휘함을 확인함으로써 치아우식증 및 치주염을 포함한 구강 질환 치료제로서 개발가능성을 보여준다 하겠다.

## 결 론

고삼은 3종의 용제 (물, 메탄올, 에탄올)로 추출하여 구강 미생물인 *S. mutans*, *S. sobrinus*, *A. viscosus* 균에 대한 항균활성을 조사하고, 각 추출물 속에 함유된 kurarinone 함량을 살펴본 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 고삼 에탄올 추출물은 *S. mutans*, *S. sobrinus*, *A. viscosus* 균에 대하여 각각 62.5, 62.5, 125  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 MIC 값을 보이며 가장 우수한 항균능을 나타내었다.

2. UPLC 성분분석 결과, kurarinone의 함량도 에탄올 추출물에서  $7296.7 \pm 432.6\text{ppm}$ 으로 가장 많이 존재하였다.
3. 에탄올 추출물에서 분리 정제한 kurarinone으로부터 3종의 구강 미생물에 대한 항균활성을 확인하였다.

이상의 결과로 보아 고삼 에탄올 추출물은 구강 미생물에 대해 우수한 항균능을 지니며, kurarinone이 고삼의 항균능에 기여하는 구성화합물임을 알 수 있다. 따라서 고삼 에탄올 추출물 및 kurarinone은 구강 질환에 대한 예방 및 치료제로 개발될 수 있을 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 지식경제부 지역혁신센터사업(대구한의대학교 한방생명자원연구센터)의 지원에 의하여 이루어진 것입니다.

## 참고문헌

1. 김대근, 김만배, 김훈, 박진한, 임종필, 홍승현. 본초생약학. 서울 : 신일상사. 2005 : 99-101.
2. 신민교. 임상본초학. 서울 : 남산당. 1986 : 314-6.
3. Huang KC. The pharmacology of Chinese herbs. Boca Raton : CRC Press. 1993 : 63.
4. Son JK, Park JS, Kim JA, Kim Y, Chung SR, Lee SH. Prenylated flavonoids from the roots of *Sophora flavescens* with tyrosinase inhibitory activity. *Planta Med.* 2003 ; 69(6) : 559-61.
5. Ryu YB, Westwood IM, Kang NS, Kim HY, Kim JH, Moon YH, Park KH. Kurarinol, tyrosinase inhibitor isolated from the root of *Sophora flavescens*. *Phytomedicine.* 2008 ; 15(8) : 612-8.
6. 이현옥, 전주연, 이지연, 김창희. 고삼 추출물의 암세포에 대한 세포독성. *한국치위생과학회지.* 2002 ; 2(1) : 15-9.
7. 이현옥, 이경희, 박남규, 정승일, 백승화, 한동민. 고삼의 *Streptococcus mutans*에 대한 항세균 효과. *한국식품영양학회지.* 2000 13(6) : 539-46.
8. 강민희, 이정현, 이제혁, 조소연, 최재수, 김영식, 강삼식, 정춘식. 고삼 Trifolirhizin의 항위염 및 항 *H. pylori* 균 효과. *생약학회지.* 2006 ; 37(4)

- : 266-71.
9. 육창수, 김성만, 정진모, 정명숙, 김정화, 김승배. 한약의 약리, 성분, 임상응용. 서울 : 계축문화사. 1995 : 414-6.
  10. Chi YS, Jong HG, Son KH, Chang HW, Kang SS, Kim HP. Effects of naturally occurring prenylated flavonoids on enzymes metabolizing arachidonic acid: cyclooxygenase and lipoxygenase. *Biochem Pharmacol*. 2001 ; 62 : 1185-91.
  11. Cha JD, Moon SE, Kim JY, Jung EK, Lee YS. Antibacterial activity of sophoraflavanone G isolated from the roots of *Sophora flavescens* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytother Res*. 2009 ; 23(9) : 1326-31.
  12. Chen L, Cheng X, Shi W, Lu Q, Go VL, Heber D, Ma L. Inhibition of growth of *Streptococcus mutans*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, and vancomycin-resistant enterococci by kurarinone, a bioactive flavonoid isolated from *Sophora flavescens*. *J Clin Microbiol*. 2005 ; 43(7) : 3574-5.
  13. Ma L, Wen S, Zhan Y, He Y, Liu X, Jiang J. Anticancer effects of the Chinese medicine matrine on murine hepatocellular carcinoma cells. *Planta Med*. 2008 ; 74 : 245-51.
  14. Song G, Luo Q, Qin J, Wang L, Shi Y, Sun C. Effects of oxymatrine on proliferation and apoptosis in human hepatoma cells. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2006 ; 48(1) : 1-5.
  15. 문혁수, 박덕영, 마득상, 정세환, 백대일, 김종배, 윤정원, 신미정, 서우석. Triclosan을 배합한 세치제의 치은염완화효과와 치면세균막형성억제효과 및 구강질환원인균에 대한 항균효과에 관한 연구. 대한구강보건의학회지. 1998 ; 22(2) : 171-82.
  16. Allaker RP, Douglas CWI. Novel antimicrobial therapies for dental plaque-related disease. *Int J Antimicrob Agents*. 2009 ; 33 : 8-13.
  17. Koga T, Askawa H, Okahashi N, Hamada S. Sucrose-dependent Cell Adherence and Cariogenicity of Serotype c *Streptococcus mutans*. *J Gen Microbiol* 1986 ; 10 : 2873-83.
  18. 광동주. 황백 추출물이 구강균 *Streptococcus mutans*의 증식에 미치는 영향. 한국위생과학회지. 2004 ; 10(2) : 99-107.
  19. 이황, 유용욱. 소목 추출물이 *Streptococcus mutans*의 치아우식 유발능 억제에 미치는 효과와 항균물질 brazilin의 분리. 원광치의학지. 2004 ; 13(1) : 63-83.
  20. 장세영, 최현경, 하나영, 김옥미, 정용진. 추출방법에 따른 감귤과피 추출물의 항균효과. 한국식품저장유통학회지. 2004 ; 11(3) : 319-24.
  21. 방지은, 최해연, 김순임. 추출조건에 따른 어수리의 항산화 활성 및 성분 분석. 한국식품저장유통학회지. 2009 ; 16(5) : 765-71.
  22. 송병선, 문정순. 강원도 군지역 유아들의 구강관리 행태와 치아 우식증. 한국보건간호학회. 2002 ; 16(1) : 123-34.
  23. 문정순, 박선남, 송병선. 유치원 아동의 구강관리행태에 따른 구강건강상태. 지역사회간호학회지. 2004 ; 15(4) : 618-27.
  24. Sohn HY, Son KH, Kwon CS, Kwon GS, Kang SS. Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medicinal plants: *Morus alba* L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent, *Sophora flavescens* Ait and *Echinosophora koreensis* Nakai. *Phytomedicine*. 2004 ; 11 : 666-72.
  25. 강수영, 서부일, 최호영. 한약포제와 임상응용. 서울 : 영림사. 2003 : 15-28.
  26. 박신영, 정보섭, 이형규, 이현선, 류종현. 무독부자의 제조에 관한 연구. 한국생약학회지. 1989 ; 20(1) : 25-31.
  27. 김남재, 홍남두. 한약수치에 관한 연구(제5보)-수치에 의한 감초의 성분변화 및 생리활성. 생약학회지. 1996 ; 27(3) : 196-206.
  28. 신용욱, 김동현, 김남재. 한약의 수치에 관한 연구(제7보)-치자의 수치에 의한 성분변화 및 생리활성. 생약학회지. 2003 ; 34(1) : 45-54.
  29. 홍희도, 김영찬, 노정해, 김경탁, 이영철. 증숙 횡수에 따른 고려인삼의 이화학적 특성 변화. 고려인삼학회지. 2007 ; 31(4) : 222-9.
  30. 김순임, 심기현, 주신윤, 한영실. 추출 조건에 따른 오미자 추출물의 항산화 및 혈당 강하에 관한 연구. 한국식품영양학회지. 2009 ; 22(1) : 41-7.