

## Antimicrobial Effects of Oleanolic Acid, Ursolic Acid, and Sophoraflavanone G against *Enterococcus faecalis* and *Propionibacterium acnes*

Eojin Jo<sup>1,†</sup>, Mi-Hwa Choi<sup>1,†</sup>, Hwa-Sook Kim<sup>2,†</sup>, Soon-Nang Park<sup>1,\*</sup>, Yun Kyong Lim<sup>1</sup>, Christina K. Kang<sup>1</sup>, and Joong-Ki Kook<sup>1,\*\*</sup>

<sup>1</sup>Korean Collection for Oral Microbiology and Department of Oral Biochemistry, School of Dentistry, Chosun University, Gwangju, Korea

<sup>2</sup>Department of Dental Hygiene, Chunnam Techno University, Chunnam, Korea

(received March 18, 2014; revised April 11, 2014; accepted April 14, 2014)

The aim of this study was to investigate antimicrobial effect of oleanolic acid (OA), ursolic acid (UA), and sophoraflavanone G against *Enterococcus faecalis* and *Propionibacterium acnes*, which are the major causative bacteria of endodontic infections. The antimicrobial activity was evaluated by the minimal inhibitory concentration (MIC). The data showed that the OA, UA, and sophoraflavanone G had antimicrobial effect on all the strains use in the study with 16-64 µg/ml, 8-64 µg/ml, and 1-8 µg/ml of MIC values, respectively. These results indicate that OA, UA, and sophoraflavanone G could be useful in the development of antiseptic solution for washing the root canal

in endodontic treatments.

**Key words:** antimicrobial effect, oleanolic acid, ursolic acid, sophoraflavanone G, *Enterococcus faecalis*, *Propionibacterium acnes*

\*Correspondence to: Soon-Nang Park, Korean Collection for Oral Microbiology and Department of Oral biochemistry, College of Dentistry, Chosun University, 309 Pilmun-daero, Dong-gu, Gwangju 501-759, Korea.  
Tel.: 82-62-220-2733, Fax: 82-62-236-2734  
E-mail: jkook@chosun.ac.kr

\*\*Correspondence to: Joong-Ki Kook, Korean Collection for Oral Microbiology and Department of Oral biochemistry, College of Dentistry, Chosun University, 309 Pilmun-daero, Dong-gu, Gwangju 501-759, Korea.  
Tel.: 82-62-230-6877, Fax: 82-62-236-2734  
E-mail: jkook@chosun.ac.kr

†These authors contributed equally to this study.

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

### 서 론

성공적인 치근관 치료는 치근관 내 미생물의 수를 감소시키는 것에 의해 좌우되는데, 치근관에 감염된 미생물과 그 부산물을 효과적으로 제거하지 못한다면 증상이 지속되고 치유에 방해가 될 수 있기 때문이다[1,2]. 따라서 치근관 내 미생물들을 제거하기 위해서는 항균 능력이 좋은 근관세척제의 사용이 중요하고[3], 현재 사용되고 있는 대표적인 근관세척제로는 1~5.25% NaOCl (차아염소산나트륨)과 0.2~2% Chlorhexidine digluconate (클로르헥시딘) 등이 있다[4].

차아염소산나트륨은 1936년 Walker [5]에 의해 소개된 이후 치수조직 용해[6] 및 강력한 항균효과[7]로 현재까지 가장 많이 사용되고 있는 근관세척제다. 그러나 차아염소산나트륨은 염소 이온에 의한 기구 부식[8], 고농도 사용 시 괴사된 조직뿐만 아니라 생활 조직까지 용해시키는 단점을 가지며[9], 치근단공을 통해 인접 주위조직으로 빠져나가게 되면 심각한 조직 괴사나 동통, 부종, 감각이상 등이 올 수 있다[10].

클로르헥시딘은 대표적인 구강 항균용액으로 최근 근

관세척제 및 구강소독제 목적으로도 광범위하게 사용되고 있다. 클로르헥시딘은 차아염소산나트륨과 비슷한 항균효과를 가지면서 차아염소산나트륨에 저항을 보이는 세균에도 효과가 있는 것으로 보인다[11]. 그러나 클로르헥시딘은 괴사된 조직을 용해시킬 수 없고[12], 장기간 사용 시 치아나 보철물에 변색을 일으키며, 미각이상 및 구강점막의 작열감 등이 나타날 수 있다[13,14]

치근관 치료에 실패한 치아에서는 주로 1 ~ 2개 종류의 그람 양성균이 나타나는데, 그 중에서도 *Enterococcus faecalis*가 가장 많이 발견되고 있다[15]. *E. faecalis*는 장내세균으로 다양한 신체 부위에서 기회감염을 유발할 수 있다[16]. 구강 내에서는 위장관으로 이동하는 과정 중 일시적으로 나타나는데, 통상의 치근관 치료법에 의해서 제거되지 못하고 살아남거나 치료과정 중 치근관 내로 침투한 경우 치근관 치료의 실패를 일으키는 것으로 추정되는 세균 중이대[15,17]. *E. faecalis*는 2% 클로르헥시딘이나 5.25% 차아염소산나트륨만으로는 완전하게 제거하기 힘들다고 보고되었다[18].

*Propionibacterium acnes*는 그람 양성 혐기성 세균이며 감염된 치근관에서 치근관 치료 전·후로 검출됨이 보고되었다[19]. 만성 치근단 치주염 병소를 갖는 20명의 환자에서 분류된 세균 중 12명(16.2%)에서 검출되어 가장 높은 빈도를 보였고[20], 치근단 치주염 증상이 없는 건전한 치근관을 2.5% 차아염소산나트륨으로 치근관세척한 후 세균 중의 검출빈도를 비교한 경우에도 37%로 *P. acnes*가 가장 높게 검출되었다[21]. 이와 같이 구강 내에서 *P. acnes*가 자주 검출되는 것은 *Streptococcus sanguinis*와 같이 초기에 부착된 미생물과 함께 공동응집 되어 biofilm을 형성하기 때문이라고 보고 있다[20].

따라서 성공적인 치근관 치료를 위해서는 치근관 감염균에 대해 높은 항균효과를 지니면서 장기간 사용하더라도 부작용이나 내성이 없는 안전한 항균 물질의 개발이 필요하다. 최근 구강병 예방 및 치료보조제로 사용할 목적으로 항생제나 부작용이 많은 화학합성 항균제를 대체할 천연물에 대한 연구가 다양하게 진행되고 있다[22-25]. 사포닌 유도체인 Oleanolic acid ( $\beta$ -3-hydroxyolean-12-en-28-oic acid, OA)와 ursolic acid (( $\beta$ -3-hydroxy-urs-12-en-28-oic acid, UA)는 항균 작용뿐만 아니라 항염증 효과를 갖고 있는 것으로 보고되었다[26-33]. 특히, OA와 UA는 세포독성이 적고 구강 내 그람 양성 세균에 대한 항균력이 뛰어나고 치주질환 및 치근단 질환의 원인균종인 *Porphyromonas gingivalis*에 항균능이 있다고 보고되었다[29,33]. 최근 고삼에서 추출된 Sophoraflavanone G ((2S)-2-(2,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-[(2R)-5-methyl-2-(prop-1-en-2-yl)hex-4-en-1-yl]-2,3

-dihydro-4H-chromen-4-one)가 구강 내 그람음성 및 그람 양성 세균 중에 대한 항균능이 뛰어난이 보고되었다[33,34].

그러므로 본 연구는 기존에 그람양성 세균에 항균능이 우수하다고 보고된 OA, UA 및 sophoraflavanone G의 치근관 감염 병소에서 검출되는 *E. faecalis*와 *P. acnes* 균종에 대한 항균능을 알아보기 위하여 실시하였다. 본 연구 결과는 향후 이들 화합물을 이용한 치근관 치료 시 이용되는 근관세척제 개발에 기초적인 자료를 제공할 수 있을 것으로 생각된다.

## 재료 및 방법

### 세균 및 배양

본 연구에서 사용한 *E. faecalis* KCTC 3206<sup>T</sup>, *E. faecalis* KCOM 5289 (ChDC YE1), *E. faecalis* KCOM 5290 (ChDC YE2), *E. faecalis* KCTC 2011, *E. faecalis* KCTC 3195, *P. acnes* KCOM 1315 (ChDC KB81), *P. acnes* KCOM 1861 (ChDC B594), *P. acnes* KCOM 1466 (ChDC B638), *P. acnes* KCOM 1542 (ChDC B715) 균주들은 한국구강미생물자원은행(KCOM, Korean Collection for Oral Microbiology, Gwangju, Korea) 또는 한국생명공학연구원 생명자원센터(KCTC, Korean Collection for Type Culture, Daejeon, Korea)에서 분양 받아 사용하였다.

분양 받은 *E. faecalis* 균주들은 Todd Hewitt broth (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) 배지에 접종해서 37°C, 10% CO<sub>2</sub> 세균 배양기로 배양하였다. *P. acnes* 균주들은 tryptic soy broth (Becton, Dickinson and Company)에 0.5% yeast extract, 0.05% cysteine HCl-H<sub>2</sub>O, 0.5 mg/ml hemin 및 2 µg/ml vitamin K<sub>1</sub>가 포함된 배지에 접종하여, 37°C anaerobic chamber (Bactron I, Sheldon Manufacturing Inc., Cornelius, OR, USA)와 혐기성 조건 (10% H<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>, 85% N<sub>2</sub>)에서 배양하였다.

### Minimum inhibitory concentration (MIC) 값 측정

MIC 값 측정은 NCCLS standard [35]에 따라 미세희석(micro-dilution) 법을 이용하여 실시하였다. 세균들은 선택배지를 이용하여 37°C 에서 24 시간 동안 세균배양기에서 배양한 후 1×10<sup>6</sup> CFU/ml가 되도록 희석하여 96-well plate에 분주하였다. OA (Sigma, St Louise, MO, USA)와 UA (Sigma)는 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 µg/ml가 되도록, sophoraflavanone G는 0.5, 1, 2, 4, 8 µg/ml가 되도록, 세균 배양액에 첨가(세균배양액의 1%가 되도록 첨가)하였다. 본 연구에서 사용한 sophoraflavanone G는 선

행연구[34]에서와 동일한 방법으로 추출하여 사용하였다. 이들 세 가지 화합물은 모두 dimethyl sulfoxide (DMSO; Sigma)에 녹여 사용하였다. 실험의 음성대조군은 DMSO를 세균배양액의 1%가 되도록 첨가하였고, 양성대조군은 100 mg/ml ampicillin (Sigma)를 세균배양액의 1%가 되도록 첨가하였다. 이들을 96-well plate에 200  $\mu$ l씩 분주한 후 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 실험군 및 대조군은 모두 3반복씩 실험하였다. 분주한 세균배양액은 37°C에서 24시간 동안 세균배양기에서 배양한 후 96-well plate상에서 육안으로 확인하였을 때 세균생장이 없는 well의 농도 중 최소 농도를 MIC 값으로 결정하였다.

### Sophoraflavanone G의 세포 생존율 평가

MIC 측정에 사용된 sophoraflavanone G의 농도 값을 참고하여, 0.5, 1, 2, 4, 8  $\mu$ g/ml의 sophoraflavanone G 농도에 따른 KB 세포주의 생존율을 MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, a tetrazole) 분석법을 통하여 측정하였다. KB 세포주는 American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA)에서 구입하였으며, Minimum Essential Medium (MEM, Gibco, Grand Island, NY, USA)에 10% fetal bovine serum (PAA Laboratories, Etobicoke, Ontario, Canada), 100 U/ml penicillin과 100  $\mu$ g/ml streptomycin (Gibco)이 혼합된 세포배양액을 이용하여 37°C에서 5% CO<sub>2</sub>가 첨가되고, 100% 습도가 유지되는 세포 배양기에서 배양하였다. 24-well의 세포 배양접시에 분주된 세포에서 배양액을 제거하고 각 농도의 sophoraflavanone G (세포 배양액의 1%가 되도록 첨가) 및 DMSO가 1% 함유된 세포 배양액 1 ml씩(음성대조군)을 각각의 well에 분주하였다. 이들 세포들은 전술한 세포배양조건에서 24시간 동안 배양 후 기존의 세포 배양액을 모두 제거하고, 10% MTT 용액이 첨가된 배지를 각 well의 세포에 500  $\mu$ l씩 첨가하여 전술한 세포배양 조건에서 3시간 동안 배양시켰다. 그 후 반응액을 제거하고, Isopropanol (Sigma)을 각 well에 300  $\mu$ l씩 첨가하여 형성된 formazan 결정을 용해시켜 배양접시를 잘 흔든 후 96-well에 200  $\mu$ l씩 분주하여 파장 595 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 실험군 및 대조군은 각각 3 well씩 배당하였고, 이를 독립적으로 3회 반복 시행하였다.

## 결과

*E. faecalis* 5 균주와 *P. acnes* 4 균주들에 대한 OA,

UA 및 sophoraflavanone G 들의 항균능을 MIC 값으로 측정하였다(Table 1). *E. faecalis* KCTC 3206<sup>T</sup>과 *E. faecalis* KCOM 5289는 OA 및 UA에 대한 MIC 값은 다른 균주보다 높은 농도인 64  $\mu$ g/ml로 동일하게 나타났고, sophoraflavanone G에 대한 *E. faecalis* 균주들의 항균능은 *E. faecalis* KCOM 5290을 제외하고, 모두 8  $\mu$ g/ml에서 감수성을 보였다. *P. acnes* 균주의 OA에 대한 MIC 값은 *P. acnes* KCOM 1315와 *P. acnes* KCOM 1861은 32  $\mu$ g/ml, *P. acnes* KCOM 1466과 *P. acnes* KCOM 1542는 16  $\mu$ g/ml로 나타났고, UA의 MIC 값은 OA보다 4배 정도 낮은 4~8  $\mu$ g/ml 농도에서 세균성장 억제 효과를 보였으며, *P. acnes* 4 균주에 대한 sophoraflavanone G의 MIC 값은 모두 1  $\mu$ g/ml로 나타났다(Table 1).

Sophoraflavanone G의 KB 세포주 생존에 미치는 영향을 알아보기 위해 MTT 분석법을 실시한 결과 순수한 세포 배양 용액만을 이용한 대조군에 비해 최고 농도인 8  $\mu$ g/ml에서 91.1%의 세포생존율을 보였다(Fig. 1).

## 고찰

본 연구는 치근관 치료 시 기존의 근관세척제로 완전히 제거가 어렵거나 세균감염성 질환에서 빈번히 검출되는 *E. faecalis*와 *P. acnes*에 대한 OA, UA 및 sophoraflavanone G의 항균력을 조사하기 위하여 시행하였다. 연구 결과 OA, UA 및 sophoraflavanone G는 *E. faecalis*와 *P. acnes* 균주에 대하여 각각 16~64  $\mu$ g/ml, 4~64  $\mu$ g/ml 및 1~8  $\mu$ g/ml 범위의 MIC 값을 보였다(Table 1). 선행연구 결과에 의하면, OA 및 UA는 치아우식증의 주요 원인균인 mutans streptococci 59 균주들에 대해서도 각각 4~8  $\mu$ g/ml 및 2~4  $\mu$ g/ml의 MIC 값을 갖는 것으로 조사되었다[31,32]. 치주질환의 발병 및 진행 또는 치주 치료 예후와 밀접한 연관성이 있는 *P. gingivalis* ATCC

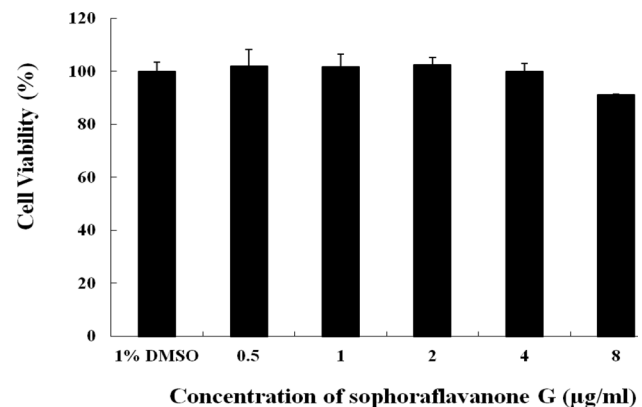


Fig. 1. Cell viability test of sophoraflavanone G against KB cells.

**Table 1.** Antimicrobial effects of and oleanolic acid, ursolic acid, sophoraflavanone G against *Enterococcus faecalis* and *Propionibacterium acnes*

Species and strains	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	oleanolic acid	ursolic acid	sophoraflavanone G
<i>Enterococcus faecalis</i> KCTC 3206 <sup>T</sup>	64	64	8
<i>E. faecalis</i> KCOM 5289 (ChDC YE1)	64	64	8
<i>E. faecalis</i> KCOM 5290 (ChDC YE2)	32	64	4
<i>E. faecalis</i> KCTC 2011	16	8	8
<i>E. faecalis</i> KCTC 3195	32	16	8
<i>Propionibacterium acnes</i> KCOM 1315 (ChDC KB81)	32	8	1
<i>P. acnes</i> KCOM 1861 (ChDC B594)	32	8	1
<i>P. acnes</i> KCOM 1466 (ChDC B638)	16	4	1
<i>P. acnes</i> KCOM 1542 (ChDC B715)	16	8	1

33277<sup>T</sup> 및 *Prevotella intermedia* ATCC 25611<sup>T</sup> 균주에 대해서도 16  $\mu\text{g/ml}$  및 64  $\mu\text{g/ml}$ 의 MIC 값을 갖는 것으로 보고되었다[33]. Sophoraflavanone G도 16균주의 mutans streptococi에 대해서 0.5~4  $\mu\text{g/ml}$  범위의 MIC 값을 갖고, 치주질환 원인균인 *P. gingivalis* ATCC 33277<sup>T</sup> 및 *P. intermedia* ATCC 25611<sup>T</sup>에 대한 MIC 값도 1  $\mu\text{g/ml}$ 과 0.5  $\mu\text{g/ml}$ 로 OA 및 UA보다 항균능이 우수한 것으로 보고되었다[33,36]. 이들의 결과에 의하면, OA, UA 및 sophoraflavanone G는 *E. faecalis*와 *P. acnes* 뿐만 아니라 치아우식증 및 치주질환 원인균중에 대해서도 항균력이 뛰어남을 알 수 있었다.

구강 내 세균 감염성질환을 예방 및 치료보조제로 사용하기 위해서는 원인균중에 대한 항균력뿐만 아니라 구강조직 세포에 대한 세균 독성도 적어야 한다. 본 연구 결과 Sophoraflavanone G는 *E. faecalis*와 *P. acnes*에 대한 최대의 항균력을 8  $\mu\text{g/ml}$ 에서 KB 세포주에 대해 세포생존율 91.1%로 조사되어 세포 독성이 거의 없는 것으로 조사되었다(Fig. 1). 또한, Sophoraflavanone G는 8  $\mu\text{g/ml}$  농도 이하에서 사람 정상 섬유모세포에 대해서도 세포 독성이 없는 것으로 보고되었다[34]. 일반적으로 OA는 UA보다 항균력은 떨어지지만, 세포에 대한 독성은 매우 적은 것으로 보고되었다[31,32]. 선행 연구에 의하면, OA는 32  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 KB 세포주에 대하여 94.5%의 세균생존율을 보였지만[31], UA는 32  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 약 50%의 세균생존율을 보였다[32]. 이러한 결과에 의하면, 사포닌 유도체인 OA 및 UA보다는 sophoraflavanone G가 KB 세포주에 대한 세포 독성이 적기 때문에 임상에 우선적으로 적용할 수 있을 것으로 생각되며, 차 후 세포독성실험 결과에 따라 OA도 사용 가능할 것으로 생각된다.

이상의 결과에 의하면 OA, UA 및 sophoraflavanone G는 치근관 감염병소에서 검출된 *E. faecalis*와 *P. acnes*에 우수한 항균효과를 가지며, 특히, sophoraflavanone G는 KB 세포주에 대한 세포 독성이 거의 없어 근관세척제 개발에 사용할 수 있을 것으로 생각된다.

## 감사의 글

이 논문은 2013년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음.

## Conflict of interest

The authors declare that they have no competing interest.

## References

- Menezes MM, Valera MC, Jorge AO, Koga-Ito CY, Camargo CH, Mancini MN. *In vitro* evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. *Int Endod J.* 2004;37:311-319.
- Siqueira JF, Rocas IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod.* 2008;34:1291-1301.
- Gentil M, Pereira JV, Sousa YT, Pietro R, Neto MD, Vansan LP, de Castro França S. *In vitro* evaluation of the antibacterial activity of *Arctium lappa* as a phytotherapeutic agent used in intracanal dressings. *Phytother Res.* 2006;20:184-186.

4. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.* 2006; 32:389-498.
5. Walker A. Definite and dependable therapy for pulpless teeth. *J Am Dent Assoc.* 1936;23:1418.
6. Senia ES, Marshall FJ, Rosen S. The solvent action of sodium hypochlorite on pulp tissue of extracted teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1971;31:96-103.
7. Siqueira JF Jr, Batista MM, Fraga RC, de Uzeda M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. *J Endod.* 1998;24:414-416.
8. Neal RG, Craig RG, Powers JM. Effect of sterilization and irrigants on the cutting ability of stainless steel files. *J Endod.* 1983;9:93-96.
9. Yesilsoy C, Whitaker E, Cleveland D, Phillips E, Trope M. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. *J Endod.* 1995;21:513-515.
10. Mehdipour O, Kleier DJ, Averbach RE. Anatomy of sodium hypochlorite accidents. *Compend Contin Educ Dent.* 2007;28:544-546.
11. Zamany A, Safavi K, Spångberg LS. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003; 96:578-581.
12. Naenni N, Thoma K, Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *J Endod.* 2004;30:785-787.
13. Schaupp H, Wahnaut H. Disturbances of taste from oral disinfectants. *HNO.* 1978;26:335-341.
14. Tredwin CJ, Scully C, Bagan-Sebastian JV. Drug-induced disorders of teeth. *J Dent Res.* 2005;84:596-602.
15. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjogren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative retreatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;85:86-93.
16. Jett BD, Huycke MM, Gilmore MS. Virulence of enterococci. *Clin Microbiol Rev.* 1994;7:462-478.
17. Evaness M, Davies K, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J.* 2002;35:221-228.
18. Rôças IN, Siqueira JF Jr, Santos KR. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod.* 2004;30:315-320.
19. Siqueira JF Jr, Magalhães KM, Rôças IN. Bacterial reduction in infected root canals treated with 2.5% NaOCl as an irrigant and calcium hydroxide/camphorated paramonochlorophenol paste as an intracanal dressing. *J Endod.* 2007;33:667-672.
20. Fujii R, Saito Y, Tokura Y, Nakagawa KI, Okuda K, Ishihara K. Characterization of bacterial flora in persistent apical periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol.* 2009;24:502-505.
21. Rôças IN, Siqueira JF Jr. Comparison of the *in vivo* antimicrobial effectiveness of sodium hypochlorite and chlorhexidine used as root canal irrigants: a molecular microbiology study. *J Endod.* 2011;37:143-150.
22. Kubo I, Muroi H, Himejima M. Antimicrobial activity of green tea flavor components and their combination effects. *J Agri Food Chem.* 1992;40:245-248.
23. Lee ES, Ahn TY, Yoon JJ, Kook JK, Lee BR, Kim DK. Restraint effect on leaf-extract from *Camellia sinensis* and seed-extract from *Casia tora* against periodontopathogens. *J Korean Acad Dent Health* 2003;27:569-579.
24. Lim SH, Seo JS, Yoon YJ, Kim KW, Yoo SY, Kim HS, Kook JK, Lee BR, Cha JH, Park JY. Effect of leaf-extract from *Camellia sinensis* and seed-extract from *Casia tora* on viability of mutans streptococci isolated from the interface between orthodontic brackets and tooth surfaces. *Korea J Orthod.* 2003;33:381-389.
25. Petti S, Scully C. Polyphenols, oral health and disease: A review. *J Dent.* 2009;37:413-423.
26. Liu J. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *J Ethnopharmacol.* 1995;49:57-68.
27. Hichri F, Jannet JC, Cheriaa J, Jegham S, Mighri Z. Antibacterial activities of a few prepared derivatives of oleanolic acid and of other natural triterpenic compounds. *C R Chimie.* 2003;6:473-483.
28. Horiuchi K, Shiota S, Hatano T, Yoshida T, Kuroda T, Tsuchiya T. Antimicrobial activity of oleanolic acid from *Salvia officinalis* and related compounds on vancomycin-resistant enterococci (VRE). *Biol Pharm Bull.* 2007; 30:1147-1149.
29. Fontanay S, Grare M, Mayer J, Finance C, Duval RE. Ursolic, oleanolic and betulinic acids: antibacterial spectra and selectivity indexes. *J Ethnopharmacol.* 2008; 120:272-276.
30. Han C, Guo J. Antibacterial and anti-inflammatory activity of traditional Chinese herb pairs, *Angelica sinensis* and *Sophora flavescens*. *Inflammation.* 2012;35:913-919.
31. Kim MJ, Kim CS, Ha WH, Kim BH, Lim YK, Park SN, Cho YJ, Kim M, Ko JH, Kwon SS, Ko YM, Kook JK. Antimicrobial effects of oleanolic acid against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* isolated from a Korean population. *Int J Oral Biol.* 2010; 35:191-195.
32. Kim MJ, Kim CS, Park JY, Lim YK, Park SN, Ahn SJ, Jin DC, Kim TH, Kook JK. Antimicrobial effects of ursolic acid against mutans streptococci isolated from Koreans. *Int J Oral Biol.* 2011;36:7-11.
33. Park SN, Kook JK. Antimicrobial activity of oleanolic acid, ursolic acid, and sophoraflavanone G against periodontopathogens. *Int J Oral Biol.* 2013;38:149-154.
34. Kim CS, Park SN, Ahn SJ, Seo YW, Lee YJ, Lim YK, Freire MO, Cho E, Kook JK. Antimicrobial effect of sophoraflavanone G isolated from *Sophora flavescens* against mutans streptococci. *Anaerobe* 2013;19:17-21.
35. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 5th ed. Approved standard M7-A5. Wayne, Pa, USA: NCCLS; 2000.
36. Cha JD, Jeong MR, Jeong SI, Lee KY. Antibacterial activity of sophoraflavanone G isolated from the roots of *Sophora flavescens*. *J Microbiol Biotechnol.* 2007;17:858-864.