

Antioxidant and Antibacterial Activities of Extracts from Different Parts of *Sophora japonica* L.

Min Jeong Park, Hye Soo Kim, Han Bi Kim, Sang Gyun Lee and Soo Jeong Cho*

Department of Pharmaceutical Engineering, Gyeongsang National University, 33 Dongjin-ro, Jinju 52725, Korea

Received September 7, 2022 / Revised October 7, 2022 / Accepted October 19, 2022

In this study, the antioxidant and antibacterial activities of *Sophora japonica* extracts were investigated to determine the potential of *S. japonica* as a functional food and medicinal materials. *S. japonica* was divided into flowers, fruits, and branches, and ethanol extraction was used. The total polyphenol and flavonoid contents were significantly higher in the flower and fruit extracts than in the branch extracts, but the ABTS and DPPH radical scavenging activity and ORAC value were higher in the branch extracts. Among the ethanol extracts of *S. japonica*, branch extracts showed strong antibacterial activity against *Porphyromonas gingivalis*, and the MIC was 0.2 mg/ml. Branch extracts showed bacteriostatic activity against *P. gingivalis* at a concentration of 0.4 mg/ml or less and bactericidal activity at a concentration of 0.6 mg/ml or more. Biofilm biomass production and cell growth of *P. gingivalis* in the culture medium treated with the branch extract at a concentration of 0.2-2.0 mg/ml were significantly decreased in a concentration-dependent manner. In addition, the mRNA expression of *fimA* and *mfaI* associated with fimbriae formation in these cultures was suppressed in a concentration-dependent manner. Based on these results, *S. japonica* branch extracts can be used as functional food and medicinal materials, as demonstrated by their antioxidant and antibacterial activities against *P. gingivalis* and the inhibition of biofilm formation resulting from *P. gingivalis*.

Key words : Antibacterial activity, antioxidant activity, biofilm biomass, *Porphyromonas gingivalis*, *Sophora japonica*

서 론

회화나무(*Sophora japonica* L.)는 쌍떡잎식물, 장미목, 콩과 식물에 속하는 낙엽 활엽 교목으로 한국, 일본, 중국 등지에 널리 분포하고 있으며, 한국에서는 전남, 경북, 충남, 경기 지역에 분포되어 있다. 회화나무는 회나무, 해나무, 괴화나무, 괴목, 괴수 등으로 불리기도 하며, 오염과 가뭄에 강하기 때문에 가로수로 이용되기도 하고, 수관이 아름다워 조경수로 이용되기도 했으며, 회화나무 꽃, 껍질, 작은 가지 등은 예로부터 한약재로 사용되어 왔다[26]. 특히, 민간 및 한방에서는 회화나무를 장기간 복용하면 수염과 머리카락이 검게 되고, 눈이 밝아져 장수한다고 알려져 있을 뿐만 아니라 항염, 고혈압, 지혈, 습진, 치질 치료에도 효과가 있다고 알려져 있다[25]. 회화나무는 7-8

월에 연한 노란색 꽃을 피우는데, 이를 한방에서는 괴화(*Sophorae flos*) 또는 괴화미, 괴미라고 부르며, 중국에서는 염료, 차 등으로 이용되고 있다[7, 10]. 괴화는 본초학적으로 맛은 쓰고 성질은 서늘하며, 간과 대장으로 귀경(歸經)하여 열을 내리고, 피를 차게 하며, 출혈을 멎게 하고, 출혈에 의한 눈 떨림, 혈압강화작용, 중풍치료에 효과가 있다고 알려져 있다[10, 34]. 괴화에는 triterpenoid saponin, botulin, sophoradiol, glucose, glucuronic acid, rutin, tannin, quercetin 등의 flavonoids류가 많이 함유되어 있으며, 괴화에 함유된 rutin과 quercetin은 모세혈관에 작용하여 혈관의 탄력성을 회복시키고 항염증 효능을 나타낸다[31]. 회화나무 열매는 괴각(*Sophorae fructus*)이라고 부른다. 괴각에는 genistein, kaempferol glucoside-C, sophorabioside, sophoraflavonololide, sophoricoside, rutin 등의 flavonoid와 isoflavonoid 화합물이 함유되어 있으며, 이 중 rutin 함량이 가장 많고, 어린 회화나무 열매에는 rutin이 46% 정도 함유되어 있다[5]. 괴각도 본초학적으로 맛은 쓰고 성질은 차가우며, 괴각의 효능으로는 대변출혈, 소변출혈, 자궁출혈, 치질출혈 등에 지혈효과가 알려져 있다[25, 34]. 회화나무의 어린 가지는 괴지라 부르며, 괴지에는 genistein, rutin, quercetin, sophorabioside 등의 isoflavone이 함유되어 있다[34].

*Corresponding author

Tel : +82-55-772-3397, Fax : +82-55-772-3399

E-mail : sjcho@gnu.ac.kr

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.

우리나라는 경제 발전과 더불어 의료 수준이 향상되면서 65세 이상 노인인구 비율이 증가하여 2018년에는 고령 사회가 되었으며, 2026년에는 노인인구 비율이 전체 인구의 20% 이상이 되는 초고령사회에 진입할 것으로 예상되고 있다. 이처럼 노인인구 비율이 증가함에 따라 건강한 노년에 관한 관심도 증가하여 질병 예방과 노화에 관한 다양한 연구들이 진행되고 있다. 질병과 노화의 주된 원인 중 하나는 superoxide (O₂), hydroxyl (OH), hydrogen peroxide (H₂O₂), singlet oxygen (¹O₂) 등과 같은 활성산소종(reactive oxygen species)에 의한 산화적 스트레스이며, 인체는 ascorbate peroxidase (APX), catalase, glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), superoxide dismutase (SOD) 등의 체내 항산화 효소를 이용하거나 항산화제에 의한 비효소적인 방법으로 활성산소와 자유 라디칼의 연쇄반응을 제어함으로써 항산화 방어체계의 균형을 유지하고 있다. 그러나, 여러 가지 요인에 의해 항산화 효소의 생성이 억제되거나 활성산소종이 과량으로 생성되면 산화적 스트레스가 발생되고, 이로 인해 여러 가지 질병의 발병과 노화가 촉진된다[11, 18, 19, 21]. 따라서 체내 항산화 효소의 생성을 촉진하거나 활성산소의 생성을 억제할 수 있는 생물소재는 질병 및 노화 관련 식의약품소재 개발에 중요한 타겟이 될 수 있을 것이다.

또한, 노인인구가 증가함에 따라 노년기 치아관리를 비롯한 구강건강의 중요성이 강조되고 있다. 대표적인 노년기 구강질환으로는 구강건조증, 치주염, 치아 우식증 등이 있으며, 2020년 다빈도 상병 통계에 따르면 구강질환인 치은염 및 치주질환 환자 수와 요양 급여비용 총액은 급성 기관지염보다 높은 것으로 조사되었다[29]. 치주질환이 진행되면 치아 상실이 유발될 수 있고 이로 인해 저작기능 감소, 발음, 심미적 문제 등도 야기될 수 있기 때문에 치주질환은 노년기 삶의 질에 영향을 미칠 수 있다. 치주질환을 유발하는 대표적인 원인균은 *Porphyromonas gingivalis*이며, 최근의 연구 결과에 따르면 *P. gingivalis*는 동맥경화증과 같은 심혈관질환 뿐만 아니라 폐혈증, 유산, 조산, 폐렴, 당뇨병 등 전신질환과도 밀접한 연관이 있는 것으로 알려져 있다[17]. *P. gingivalis*는 구강내 여러 세균들과 상호작용을 통해 치아표면에 치면세균막(dental biofilm)을 형성하고 있고, 독소를 분비하여 치주질환과 같은 염증성 질환을 유발한다. 치면세균막은 치아 표면에 부착하여 서식하는 700여 종 이상의 세균들이 분비한 당 단백질(glycoprotein) 성분으로 이루어진 생물막(biofilm)이며, 시간이 지나면서 치석으로 변하게 된다[16]. 치면세균막을 형성한 세균들은 생물막 내에서 빠른 속도로 증식할 뿐만 아니라 대부분의 항생제는 생물막을 투과할 수 없기 때문에 항생제에 내성을 나타낼 수 있다. 따라서 치주질환 예방을 위해서는 무엇보다도 생물막인 치면세균막을 제거하는 것이 중요하며, 잇솔질만으로는

치아 교합면이나 인접면에 존재하는 생물막까지 제거하기는 어렵기 때문에 치면세균막 형성을 억제하거나 제거할 수 있는 천연물유래 구강 건강소재의 개발이 필요하다.

회화나무는 다양한 생리활성을 가지고 있어서 기능성 식의약품소재로 활용가치가 높은 수종이지만, 지금까지 보고된 회화나무에 관한 연구들은 괴화, 괴각의 생리활성과 약리작용에 관한 연구들이며 항세균성 식의약품소재로서 회화나무 이용 가능성에 관한 연구나 괴지에 관한 연구들은 미비한 실정이다.

본 연구에서는 기능성 식의약품 소재로써 회화나무의 이용 가능성을 확인하기 위하여 부위별 회화나무의 항산화 활성과 항균 활성을 조사하였고, 항노화 및 항세균성 식의약품소재로서 회화나무 추출물의 이용가능성을 확인하였다.

재료 및 방법

추출물 제조

회화나무의 열매인 괴각과 꽃인 괴화, 줄기인 괴지는 경동시장에서 건조된 것을 구매한 다음 분쇄하여 각각 70% 에탄올에 침지한 후 80°C에서 2시간 동안 3회 반복 추출하였다. 추출물은 Whatman filter paper (No. 2)를 이용하여 여과한 다음 회전감압농축기(Eyela, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 농축한 후 dimethyl sulfoxide (DMSO; Sigma Aldrich, St. Louis, USA)에 용해하였으며, 괴화, 괴각, 괴지의 추출수율은 각각 27%, 22%, 13%였다.

사용 균주

회화나무 추출물의 항균 활성은 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC)에서 분양받은 그람음성균인 *Porphyromonas gingivalis* KCTC5352와 그람양성균인 *S. mutans* KCTC 3065, *S. downei* KCTC3634, *S. sanguinis* KCTC 3284, *Streptococcus anginosus* KCTC33397, *S. gordonii* KCTC3286, *S. cricetis* KCTC19642 등의 균주를 대상으로 확인하였다. *P. gingivalis*는 tryptic soy agar hemin menadione (TSAHM), *S. anginosus*는 tryptic soy agar (TSA; BD, Franklin Lakes, USA), *S. mutans*는 brain-heart infusion agar (BHIA; BD, Franklin Lakes, USA), *S. cricetis*, *S. downei*, *S. gordonii*, *S. sanguinis*는 tryptic soy yeast extract agar에 계대한 다음 37°C에서 혐기배양하였다.

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정

추출물의 총 폴리페놀 함량은 Singleton 등[33]의 방법에 따라 gallic acid (Sigma-aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 표준물질로 작성한 검량선을 이용하여 측정하였다. 추출물 100 µl와 2% sodium carbonate (Na₂CO₃) 용액(Sigma-aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 2

ml를 혼합하여 3분 동안 반응시킨 후 0.2 N Folin-Ciocalteu reagent (Sigma-aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 100 μ l를 첨가하였고, 상온에서 30분 동안 반응시킨 다음 microplate reader (Molecular devices, SpectraMax M5, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 흡광도(720 nm)를 측정하였다.

추출물의 플라보노이드 함량은 Zhishen 등[36]의 방법에 따라 quercetin (Sigma aldrich, USA)을 표준물질로 작성한 검량선을 이용하여 확인하였다. 추출물 1 ml과 증류수 4 ml을 혼합하여 5분 동안 반응시킨 다음 5% sodium nitrate (NaNO_2) 용액 0.3 ml과 10% aluminium nitrate ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) 용액 3 ml을 첨가하고 상온에서 6분 동안 반응시킨 후 1 M sodium hydroxide (NaOH) 용액 2 ml을 첨가하였고, 증류수로 반응액의 양을 10 ml로 정량한 다음 microplate reader (Molecular devices, SpectraMax M5, Sunnyvale, CA, USA)로 흡광도(510 nm)를 측정하였다.

DPPH 라디칼 소거 활성

추출물의 항산화 활성을 나타내는 DPPH 라디칼 소거 활성은 Blois 등[2]의 방법에 따라 보라색의 안정한 라디칼인 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)가 추출물의 전자공여능(Electron donating ability, EDA)에 의해 수소 또는 전자를 받아 탈색되는 원리를 이용하여 확인하였다. 추출물 50 μ l와 0.15 mM DPPH 용액(Sigma-aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 200 μ l를 혼합한 다음 반응액을 37°C에서 30분 동안 반응시킨 다음 microplate reader (Molecular devices, SpectraMax M5, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 흡광도(517 nm)를 측정하였다. 양성대조구는 L(+)-ascorbic acid (Sigma-aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하였고, DPPH 라디칼 소거 활성은 대조구와 시료첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거 활성(\%)} = (\text{대조구 흡광도} - \text{시료첨가구 흡광도}) / \text{대조구 흡광도} \times 100$$

ABTS 라디칼 소거 활성

추출물의 항산화 활성을 나타내는 ABTS 라디칼 소거 활성은 Re 등[32]의 방법에 따라 청록색의 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) 라디칼이 추출물의 전자공여능에 의해 수소 또는 전자를 받아 탈색되는 원리를 이용하여 확인하였다. 추출물 100 μ l과 ABTS 용액(Sigma-aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 900 μ l를 혼합한 후 microplate reader (Molecular devices, SpectraMax M5, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 흡광도(734 nm)를 측정하였다. 양성대조구는 L(+)-ascorbic acid (Sigma-aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하였으며, ABTS 라디칼 소거 활성은 대조구와 시료첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

$$\text{ABTS 라디칼 소거 활성(\%)} = (\text{대조구 흡광도} - \text{시료첨가구 흡광도}) / \text{대조구 흡광도} \times 100$$

Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) 측정

추출물의 peroxy 라디칼 소거능을 나타내는 ORAC 지수는 Zhishen Cao 등[3]의 방법에 따라 trolox (Sigma-aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 표준물질로 작성한 검량선을 이용하여 확인하였다. ORAC 지수는 추출물 10 μ l과 300 mM 2,2'-azobis(2-amidino-propane) dihydrochloride (AAPH, Sigma-aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 용액 20 μ l, 250 nM fluorescein (Sigma-aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 용액 2.7 ml을 혼합한 다음 microplate reader (Molecular devices, SpectraMax M5, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 485 nm (excitation)와 535 nm (emission) 에서 1시간 동안 2분 간격으로 형광을 측정하였다.

추출물의 항균 활성

추출물의 항균 활성은 agar diffusion method [6]에 따라 추출물(1 mg/ml)이 함유된 paper disc (8 mm diameter, ADVANTEC, Tokyo, Japan)를 *P. gingivalis*, *S. epidermidis*, *S. anginosus*, *S. criceti*, *S. downei*, *S. gordonii*, *S. mutans*, *S. sanguinis*, *S. sobrinus* 균주가 각각 도말된 고체배지에 없어 배양한 후 paper disc 주위에 나타난 clear zone의 크기로 확인하였다. 양성 대조구는 광범위하게 사용되고 있는 구강 항균제인 triclosan (Sigma Aldrich, St. Louis, USA)을 사용하고, 음성 대조구는 용매인 DMSO를 사용하였다.

추출물의 최소성장억제 농도(MIC)와 최소살균농도(MBC)

추출물의 최소성장억제 농도(minimum inhibitory concentration, MIC)는 액체 배지 희석법을 이용하여 확인하였다[22]. *P. gingivalis*는 37°C에서 48시간 동안 혐기배양한 다음 1.2×10^4 - 10^6 cfu/ml의 밀도로 액체배지에 희석하였다. 희석된 배양액에 추출물(0.2-2.0 mg/ml)을 처리한 다음 37°C에서 48시간 동안 혐기배양한 후 흡광도(600 nm)를 측정하여 *P. gingivalis*의 증식이 억제되는 최소 농도를 최소성장억제 농도로 정하였다. 추출물의 최소살균농도(minimum bactericidal concentration, MBC)는 최소성장억제 농도로 확인된 추출물 농도와 그 이상의 농도에 해당되는 최소성장억제농도 측정 배양액을 추출물이 함유되지 않은 고체배지에 도말하여 37°C에서 48시간 동안 혐기배양한 다음 *P. gingivalis*가 99.9% 사멸된 추출물의 농도로 정하였다.

추출물에 의한 *P. gingivalis*의 바이오필름 바이오매스(biofilm biomass) 형성 억제

추출물에 의한 *P. gingivalis*의 바이오필름 바이오매스

형성 억제 효과는 Zhou 등[37]의 방법을 이용하여 확인하였다. 바이오필름 바이오매스 형성을 유도하기 위해 96-well plate에 *P. gingivalis* (1.2×10^4 - 10^6 cfu/ml)를 분주한 후 추출물(0.2-2.0 mg/ml)을 처리한 다음 37°C에서 혐기배양하였다. 바이오필름 바이오매스가 형성된 96-well plate는 멸균 증류수로 2회 세척한 다음 건조한 후 0.1% safranin으로 20분 동안 염색한 다음 멸균 증류수로 세척한 후 건조하였으며, safranin에 염색된 바이오필름 바이오매스는 70% 에탄올에 용해한 후 spectrophotometer (Softmax M5, Molecular Devices, USA)로 흡광도(575 nm)를 측정하여 확인하였다.

추출물 처리에 따른 *P. gingivalis*의 섬모(fimbriae) 관련 mRNA 발현 변화

추출물이 *P. gingivalis*의 섬모관련 mRNA 발현에 미치는 영향은 qRT-PCR로 조사하였다. Total RNA는 *P. gingivalis* (1.2×10^4 - 10^6 cfu/ml)에 추출물(0.2-2.0 mg/ml)을 처리한 다음 37°C에서 배양한 후 추출물이 처리된 *P. gingivalis* 배양액을 원심분리하여 얻은 pellet으로부터 RNeasy Kit (Qiagen, Hillden, Germany)를 이용하여 분리하였다. cDNA는 iScript cDNA synthesis kit (Bio-Rad, USA)를 이용하여 합성하였고, qRT-PCR은 ssoadvanced™ universal SYBR® green supermix (Bio-Rad, USA)를 사용하여 CFX96 touch™ qRT-PCR detection system (Bio-Rad, USA)으로 수행하였으며, 실험에 사용된 primer는 섬모 유전자인 *fimA* (Forward: 5'-TACTTCCACGCCTTCTCCTGTT-3', Reverse: 5'-CATCTTTACTGTTGCCACTTCG-3')와 *mfa1* (Forward: 5'-TTCCTACCAGCAGCACTTTCCA-3', Reverse: 5'-TCGGC ACTTGAGTTCCACTGATTAC -3')를 타겟으로 디자인하였다[8]. qRT-PCR은 95°C에서 denaturation 1분, 53°C에서 annealing 1분, 72°C에서 extension 30초의 조건으로 30 cycle을 수행하였고, *P. gingivalis*의 housekeeping gene인 16S rRNA(Forward: 5'-ATC ACG AGG AAC TCC GAT TG -3', Reverse: 5'-CGT TTA CTG CGT GGA CTA CC-3')을 endogenous control로 사용하여 *fimA*와 *mfa1* 유전자의 mRNA 발현량을 확인하였으며, melt-curve 분석을 통해 증폭된 유전자의 정확성을 확인하였다.

통계처리

모든 실험은 5회 이상 반복실험을 수행하였으며, 실험 결과의 평균값과 표준오차는 SAS (Statistical analysis system, USA) program을 사용하여 구하였고, 통계적 유의성 검정은 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's 다중검정법으로 확인하였다.

결과 및 고찰

회화나무 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

폴리페놀은 phenolic hydroxyl (-OH)기를 가진 화합물을 총칭하며, 대표적인 폴리페놀 화합물에는 플라바놀, 플라보놀, 안토시아닌, 레스베라트롤, 카테킨 등이 있다. 폴리페놀 화합물에 있는 다수의 phenolic hydroxy (-OH)기는 자유라디칼(free radical)을 환원시켜 산화를 억제하기 때문에 총 폴리페놀 함량이 높을수록 항산화 활성이 높게 나타난다. 따라서, 폴리페놀 함량 측정법은 시료의 항산화 활성을 측정하는 직접적인 방법은 아니지만, 항산화 활성을 평가하는 간접적인 지표로 이용되고 있다[14, 15].

플라보노이드는 3개의 탄소 단위인 C6-C3-C6가 2개의 페놀 고리로 결합된 구조를 가진 화합물로서 폴리페놀에 속하는 2차 대사산물이다. 플라보노이드는 슈퍼옥사이드 음이온, 산소원자, 지질과산화 라디칼 등을 제거하는 항산화 활성과 금속이온과 결합하는 성질이 있어서 천연 항산화제로 사용되고 있으며, 식물의 꽃, 잎, 줄기, 열매 등에 많이 함유되어 있고, 대표적인 플라보노이드 화합물에는 안토시아닌, 카테킨, 플라보논, 플라본, 이소플라본 등이 있다[12, 27].

괴화, 괴각, 괴지의 총 폴리페놀 함량은 gallic acid를 표준물질로 사용한 표준검량곡선을 이용하여 gallic acid equivalents (GAEs)으로 나타내었으며, 플라보노이드 함량은 quercetin을 표준물질로 사용한 표준검량곡선을 이용하여 quercetin equivalents (QEs)로 나타내었다(Fig. 1). 회화나무의 부위별 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 괴화에서 가장 높게 나타났고 괴각, 괴지 순으로 낮게 나타났다. 괴화, 괴각, 괴지 추출물의 총 폴리페놀 함량은 각각 253.9 ± 3.02 mg GAEs/extract g, 175.7 ± 2.2 mg GAEs/extract g, 90.3 ± 1.9 mg GAEs/extract g 으로 괴각, 괴지에 비해 괴화의 총 폴리페놀 함량이 유의적으로 높게 나타났으며, 이 결과는 회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물의 피부개선 효과에 관한 연구에 관한 Song 등[34]의 보고와 일치하는 결과이다. 플라보노이드 함량도 괴각(75.4 ± 1.9 mg QEs/extract g), 괴지(54.3 ± 1.5 mg QEs/extract g)에 비해 괴화(78.3 ± 2.1 mg QEs/extract g)에서 유의적으로 높게 나타났다.

산딸나무의 부위별 추출물의 생리활성 비교에 관한 Lee 등[23]의 보고에 의하면 산딸나무의 총 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량도 꽃에서 가장 높게 나타났고, 가지와 열매 순으로 낮게 나타났다. 자생식물과 생약자원 추출물의 폴리페놀, 플라보노이드 함량 및 항산화 활성에 관한 Kim 등[15]의 보고와 비교했을 때, 괴화 추출물의 폴리페놀 함량은 생약자원인 차전자(246.44 ± 4.07 mg TAEs/extract g)와 유사하였으며, 플라보노이드 함량은 괴화 추출물(78.3 ± 2.1 mg QEs/extract g)이 차전자(48.06 ± 2.17 mg NEs/extract g)보다 1.6배 정도 높게 나타났다. 따라서, 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 꽃, 열매, 가지 등 부위에 따라 함량의 차이가 크고, 수종에 따라서도 함량의 차이가 큰 것으로 판단되며, 회화나무 추출물은 생약

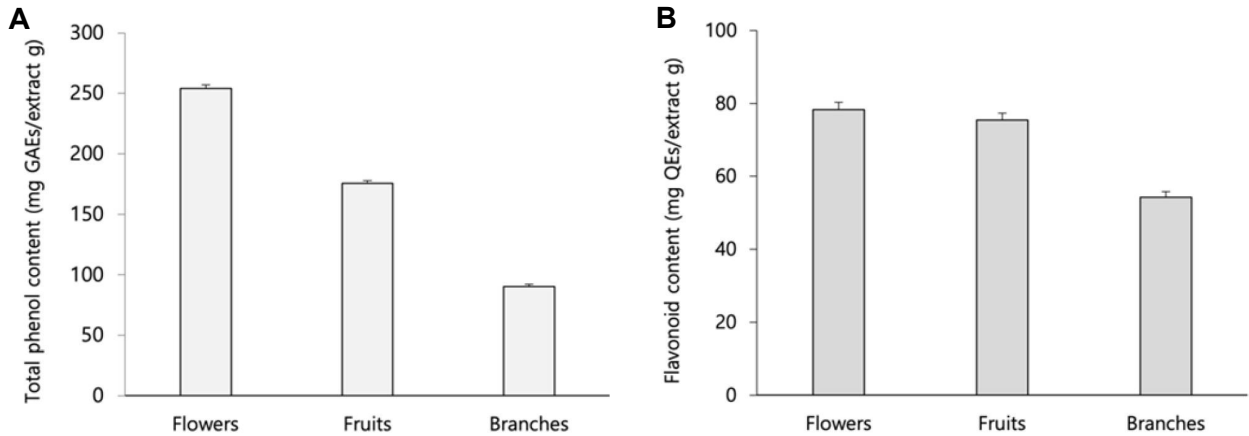


Fig. 1. Total contents of total polyphenol (A) and flavonoid (B) of ethanol extracts from flowers, fruits, and branches of *S. japonica* L. Values are expressed as mean \pm SD (n=5), values with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

자원인 차전자보다 플라보노이드 함량이 높은 생물소재임을 확인하였다.

회화나무 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성

DPPH 라디칼 소거 활성을 측정하여 회화나무 추출물의 항산화 활성을 확인한 결과는 Fig. 2와 같다. DPPH 라디칼 소거 활성은 짙은 자색을 띠는 안정한 라디칼인 DPPH가 항산화 물질로부터 전자나 수소를 공여받아 라디칼이 환원되면 DPPH의 짙은 자색이 노란색으로 변하여 흡광도가 감소하는 원리를 이용하여 항산화 활성을 측정하는 방법으로[35], 전자공여능이 높을수록 라디칼의 공유결합이 증가되기 때문에 항산화 물질의 전자공여능이 높을수록 활성산소종에 의한 손상을 효과적으로 억제할 수 있다. 따라서 전자공여능은 페놀산과 플라보노이드, 기타 페놀성 화합물의 항산화 활성을 측정하는 지표로 이용되고 있으며, 환원력이 클수록 전자공여능이 높다[13].

회화나무 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 껍질, 피각, 피지 모두 농도 의존적으로 증가하였으며, 껍질, 피각보다는 피지의 DPPH 라디칼 소거능이 유의적으로 높게 나타났다(Fig. 2). 회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물의 피부개선 효과에 관한 Song 등[34]의 보고에서는 낮은 농도(50-250 ug/ml)에서는 피지 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성이 높게 나타났지만, 높은 농도(500-1,000 ug/ml)에서는 피지 추출물보다 껍질 추출물의 활성이 약간 높게 나타났다. 이와같이 회화나무 추출물의 DPPH 라디칼 소거능에 차이가 나타난 이유는 일반적으로 식물은 재배조건과 같은 외부의 환경적 변화에 따라 식물의 생육뿐만 아니라 식물에 함유된 파이토케미칼 성분이나 함량이 달라질 수 있기 때문으로 판단된다[1]. Kim 등[15]은 자생식물과 생약자원 추출물의 항산화 활성에 관한 연구에서 14종의 약용식물 중 총 폴리페놀 함량이 가장 높았던 차전자의 DPPH 라디칼 소거 활성은 1 mg/ml의 농도에서 29.17%

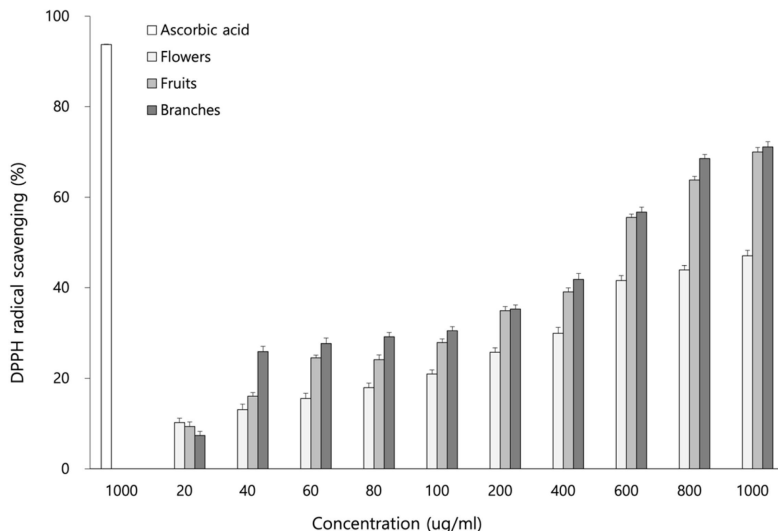


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of ethanol extracts from flowers, fruits, and branches of *S. japonica* L. Values are expressed as mean \pm SD (n=5), values with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

라고 보고하였으며, 이 연구결과와 비교하면 괴화(47.06%), 괴각(69.94%), 괴지(71.07%) 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성이 차전차보다 높은 것을 확인할 수 있었다.

회화나무 추출물의 ABTS 라디칼 소거 활성

ABTS 라디칼 소거 활성은 DPPH 라디칼 소거 활성과 함께 항산화 활성을 확인하기 위해 많이 이용되는 방법으로 안정한 상태의 자유 라디칼인 ABTS가 potassium sulfate와 반응하여 녹색의 ABTS 라디칼을 형성하고, 항산화 물질로부터 전자를 받은 녹색의 ABTS 라디칼이 무색으로 환원되는 원리를 이용하여 항산화 활성을 측정하는 방법이다[20]. ABTS와 DPPH는 *in vitro* 상에서 항산화 활성을 측정할 때 사용되는 가장 보편적인 방법으로 항산화 물질의 환원력에 의한 자유 라디칼 소거능을 흡광도 변화로 나타낸다는 공통점이 있지만, DPPH는 자유 라디칼을 제거하는 방법이고, ABTS는 양이온 라디칼을 제거하는 방법이기 때문에 추출물에 따라 두 라디칼에 결합하는 정도가 다를 수 있고, 따라서 라디칼 소거능에 차이가 나타날 수 있다[28].

ABTS 라디칼 소거능을 이용하여 회화나무 추출물의 항산화 활성을 측정한 결과는 Fig. 3과 같이 괴화, 괴각, 괴지 모두 농도 의존적으로 ABTS 라디칼 소거능이 증가하였으며 괴화, 괴각보다는 괴지의 ABTS 라디칼 소거능이 유의적으로 높게 나타났다(Fig. 3). 회화나무 추출물의 ABTS 라디칼 소거 활성이 DPPH 라디칼 소거능보다 높게 나타난 이유는 일반적으로 ABTS 양이온 라디칼 소거 활성은 친수성 물질과 소수성 물질 모두에 적용 가능하기 때문이다[34]. 산딸나무의 부위별 추출물의 생리활성 비교에 관한 Lee 등[23]의 보고에 의하면 산딸나무 추출물에서는 열매보다 꽃의 ABTS 라디칼 소거능이 높게 나타났는데, 이는 식물은 수종과 꽃, 열매, 가지 등 부위에 따라

항산화 물질의 분포와 함량에 차이가 있기 때문이다.

회화나무 추출물의 Oxygen radical absorbance capacity (ORAC)

ORAC 지수는 세포막에 손상을 주는 ROS (reactive oxygen species)의 소거능을 측정하여 총 항산화능을 평가하는 방법으로 ORAC 수치가 높을수록 항산화력이 높으며, 친수성 성분과 소수성 성분에 모두 반응하기 때문에 응용 범위가 넓다는 장점이 있어서 많이 이용되고 있다[30].

회화나무 추출물의 ORAC 지수는 Trolox equivalents (TEs)로 구하였으며, 그 결과는 Fig. 4와 같다. 괴화, 괴각, 괴지의 ORAC 지수는 각각 45.23±2.5 µM TEs/extract g, 69.55±1.7 µM TEs/extract g, 89.32±1.9 µM TEs/extract g으로, 괴화, 괴각보다는 괴지의 ORAC 지수가 더 높게 나타났다. 클로렐라 추출물의 항산화 활성에 관한 Lee[24] 등의 보고에 의하면 클로렐라 추출물의 ORAC 지수는 62.39±7.15 µM TEs/extract g였으며, 괴지 추출물의 ORAC 지수가 클로렐라보다 높게 나타났다. 괴지 추출물은 폴리페놀 함량이나 플라보노이드 함량은 괴화, 괴각에 비해 낮지만, DPPH 라디칼과 ABTS 라디칼 소거 활성, ORAC 지수 등이 높기 때문에 괴지 추출물은 항산화 활성이 있는 기능성 식의약품소재로 사용될 수 있을 것으로 판단된다.

회화나무 추출물의 항균활성

P. gingivalis, *S. epidermidis*, *S. anginosus*, *S. criceti*, *S. downei*, *S. gordonii*, *S. mutans*, *S. sanguinis*, *S. sobrinus*에 대한 회화나무 추출물의 항균활성을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 괴화와 괴각 추출물은 대표적인 치주염 원인균인 *P. gingivalis*에 대해서만 항균활성을 나타내었고, 괴지 추출물은 *P. gingivalis*, *S. epidermidis*, *S. anginosus*, *S. criceti*, *S. downei*, *S. gordonii*, *S. sanguinis*, *S. sobrinus*에 대해 광범

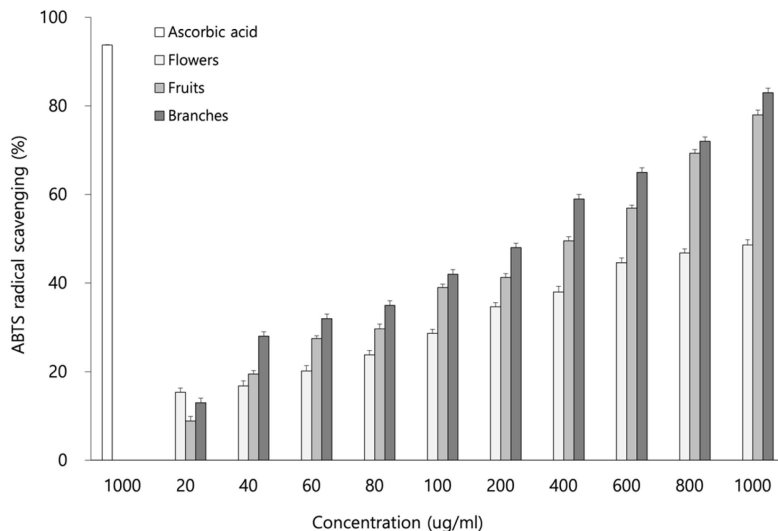


Fig. 3. ABTS radical scavenging activity of ethanol extracts from flowers, fruits, and branches of *S. japonica* L. Values are expressed as mean ± SD (n=5), values with different superscript letters are significantly different at *p*<0.05 by Duncan's multiple range test.

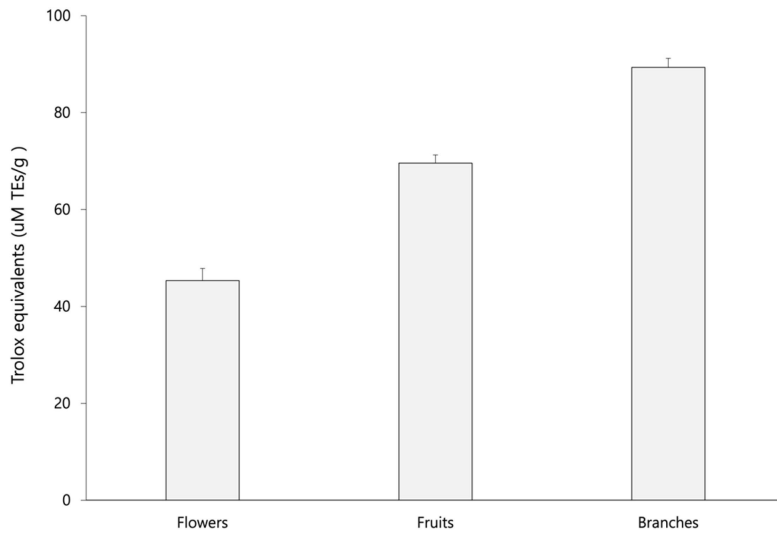


Fig. 4. Oxygen radical absorbance capacity of ethanol extracts from flowers, fruits, and branches of *S. japonica* L. Values are expressed as mean ± SD (n=5), values with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

위하게 항균활성을 나타내었으며, 이 중에서도 *P. gingivalis*에 대한 항균활성이 가장 우수하였다. *P. gingivalis*에 대한 괴지 추출물과 triclosan의 항균활성을 비교한 결과, 1 mg/ml의 농도에서 회화나무 추출물은 *P. gingivalis*에 대한 triclosan과 유사한 항균활성을 나타내었다(data not shown). Triclosan은 시판되고 있는 구강케어제품에서 광범위하게 사용되고 있는 양이온성 항균제 중 하나이지만, 장기간 사용 시 치아나 연조직에 착색이 유발되고 미각변화 가능성이 보고되고 있기 때문에 이를 대체할 항균제의 개발이 필요한 실정이다[9]. 따라서 괴지 추출물은 *P. gingivalis*에 대해 triclosan과 유사한 항균활성을 나타내기 때문에 천연물유래 구강건강 식의약품소재로써 개발 가능성이 있다고 판단된다.

***P. gingivalis* KCTC5352에 대한 괴지 추출물의 최소성장억제 농도(MIC) 및 최소살균농도(MBC)**

괴지 추출물은 구강미생물 중 *P. gingivalis*에 대해 우수

Table 1. Antimicrobial activities of ethanol extracts (1 mg/ml) from flowers, fruits, and branches of *S. japonica* L. against Bacterium

Bacteria	Conditions	Ethanol extracts of <i>S. japonica</i> L. (1 mg/ml)		
		Branches	Fruits	Flowers
<i>S. mutans</i> KCTC3065		-	-	-
<i>S. downei</i> KCTC3634		+	-	-
<i>S. sanguinis</i> KCTC3284		+	-	-
<i>S. anginosus</i> KCTC33397		+	-	-
<i>S. gordonii</i> KCTC3286		+	-	-
<i>S. criceti</i> KCTC19642		+	-	-
<i>P. gingivalis</i> KCTC5352		++	+	+

*Growth inhibition size of clear zone: -, not detected; +, less than 5 mm; ++, more than 5 mm.

한 항균활성을 나타내었으며, 괴지 추출물 처리에 따른 *P. gingivalis*의 최소성장억제농도(MIC)는 0.2 mg/ml였고, *P. gingivalis*에 대한 괴지 추출물(0.2-2 mg/ml)의 항균활성은 농도의존적으로 증가하는 경향을 나타내었다. *P. gingivalis*에 대한 괴지 추출물의 최소성장억제농도를 바탕으로 최소살균농도(MBC)를 확인한 결과, 최소성장억제농도인 0.2 mg/ml 및 그 이상의 농도에 해당하는 MIC 측정 배양액을 괴지 추출물이 첨가되지 않은 고체배지에 도말하여 배양하였을 때 최소성장억제농도인 0.2- 0.4 mg/ml의 농도에서는 2×10^2 CFU/ml 이상의 colony가 관찰되었지만, 0.6 mg/ml 이상의 농도에서는 colony가 관찰되지 않았기 때문에 괴지 추출물은 0.4 mg/ml 이하의 낮은 농도에서는 *P. gingivalis*에 대해 정균작용을 하고 0.6 mg/ml 이상의 높은 농도에서는 *P. gingivalis*에 대해 살균작용을 하는 것으로 판단된다(Table 2).

이 결과는 *P. gingivalis*에 대한 오리나무 추출물의 항균활성 및 바이오필름 형성 억제에 관한 이전 연구[16]와 유사한 결과이며, 오리나무 줄기 추출물은 0.4 mg/ml 이상의 농도에서 *P. gingivalis*에 대해 정균작용을 나타내었지만, 0.6 mg/ml 이상의 농도에서는 살균작용을 나타내었다. 박하 추출물의 구강미생물에 대한 Choi 등[4]의 보고에서도 박하 추출물은 1 mg/ml 이상의 농도에서 *P. gingivalis*의 정균작용을 나타내었고, 10 mg/ml 이상의 농도에서는 살균작용을 나타내었다. 따라서 괴지 추출물은 오리나무 추출물과 박하 추출물에 비해 낮은 농도에서 항균활성을 나타내기 때문에 괴지 추출물을 천연물 유래 식의약품소재로 사용할 경우 경제성이 있을 것으로 판단된다.

괴지 추출물이 *P. gingivalis*의 바이오필름 바이오매스 형성에 미치는 영향

괴지 추출물이 *P. gingivalis*의 바이오필름 바이오매스

Table 2. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of ethanol extracts from flowers, fruits, and branches of *S. japonica* L. against *P. gingivalis* ATCC33277

	Concentration (mg/ml)						
	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	2.0
Minimum inhibitory concentration	+ ^a	+	+/- ^c	- ^b	-	-	-
Minimum bactericidal concentration	+	+	+	-	-	-	-

^a, growth on test medium; ^b, no growth on test medium; ^c, slow growth on test medium.

형성에 미치는 영향은 양적 분석법인 Zhou 등[37]의 방법을 이용하여 조사하였으며 그 결과는 Fig. 5와 같다. 0.2-2.0 mg/ml 농도의 괴지 추출물을 *P. gingivalis* 현탁액에 처리한 후 48시간 배양했을 때, *P. gingivalis*의 바이오필름 바이오매스 형성이 억제되는 것을 확인할 수 있었다. 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 2.0 mg/ml 농도의 추출물이 처리된 배양액에서 *P. gingivalis*의 바이오필름 바이오매스 형성율은 각각 88.54±0.56%, 58.81±0.99%, 54.82±0.66%, 51.13±0.24%, 49.85±0.10%, 47.47±0.15%로서 추출물의 농도가 높아질수록 바이오필름 바이오매스 형성이 농도의존적으로 억제되는 것을 확인할 수 있었고, *P. gingivalis*의 생육도 추출물의 농도에 따라 농도의존적으로 억제되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 5). 이 결과는 *P. gingivalis*에 대한 오리나무 추출물의 항균활성 및 바이오필름 형성 억제에 관한 이전 보고[16]와도 일치하는 결과이며, 이전 연구에서 오리나무 가지추출물은 추출물의 농도가 높아질수록 바이오필름 바이오매스 형성이 농도의존적으로 억제된다는 보고하였다. 따라서 괴지 추출물은 *P. gingivalis*의 생육을 억제할 수 있을 뿐만 아니라 바이오필름 바이오매스 형성도 억제할 수 있기 때문에 천연물유래 식의약품 소재로써 개발 가능성이 있다고 판단된다.

괴지 추출물 처리에 따른 *P. gingivalis*의 섬모(fimbriae) 관련 mRNA 발현 변화

괴지 추출물이 *P. gingivalis*의 섬모관련 mRNA 발현에 미치는 영향은 *fimA*와 *mfal* 유전자를 primer로 이용한 qRT-PCR로 확인하였으며, 그 결과는 Fig. 6과 같다. 괴지 추출물을 0.2-2.0 mg/ml의 농도로 처리한 후 *P. gingivalis*의 섬모 유전자 *fimA*와 *mfal* 발현 변화를 qRT-PCR로 확인한 결과, *P. gingivalis*의 *fimA*와 *mfal* 유전자의 발현은 추출물의 농도가 높아질수록 억제되는 경향을 나타내었다.

*P. gingivalis*는 *Streptococcus gordonii* 등의 *Streptococcus*속 세균들과 coadhesion을 통해 치아표면에 부착되어 이형생물막(heterotypic biofilm)을 형성함으로써 초기 치면세균막 형성에 관여한다. 치아표면에 부착된 *P. gingivalis* 표면에는 FimA subunit으로 구성된 긴 섬모와 Mfa1 subunit으로 구성된 짧은 섬모가 존재하고 있는데, 긴 섬모를 암호화하는 *fimA* 유전자는 streptococcal surface에 존재하는 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase에 결합함으로써 이형생물막을 형성하기 때문에 섬모를 암호화하는 *fimA*와 *mfal* 유전자는 초기 치면세균막 형성에 중요한 역할을 한다[17]. 따라서 괴지 추출물의 처리 농도에 따라 *fimA*와 *mfal* 유전자 발현이 감소하였다는 것은 초기 치면세균막 형성 과정에서 이형생물막 형성이 농도의존적으로 저해되었다는 것을 나타내고, 이형생물막 형성이 저해되면 치면세균막이 형성될 수 없기 때문에 괴지 추출물은

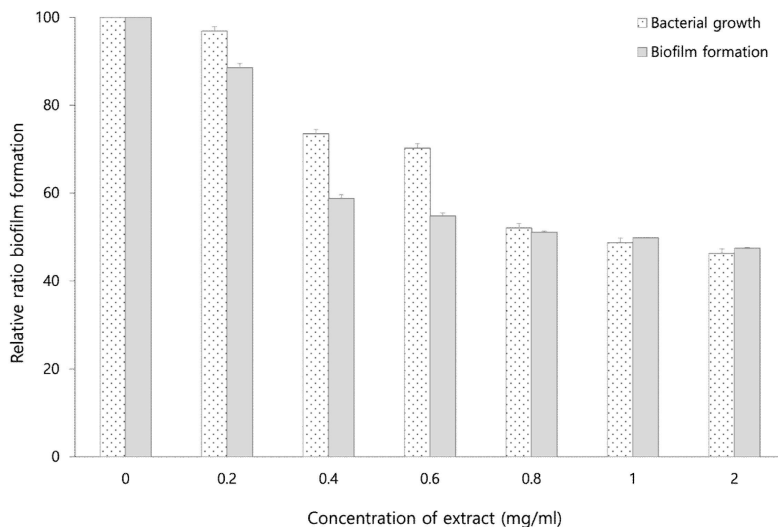


Fig. 5. Bacterial growth and biofilm formation of *P. gingivalis* KCTC5352 in tryptic soy hemin menadione broth treated with branches extract (0.2-2.0 mg/ml) of *S. japonica* L. Growth and biofilm formation were measured under anaerobic condition. All assays were performed in triplicate, and mean values and standard deviations are shown.

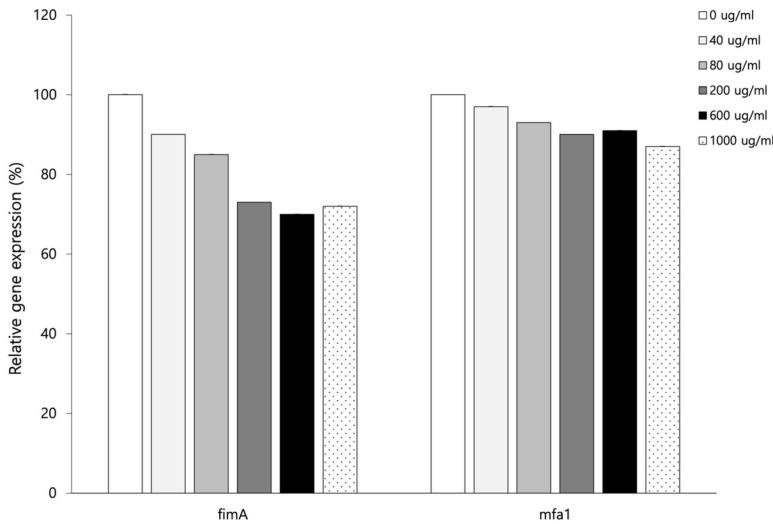


Fig. 6. Effects of branches extract (0.2-2.0 mg/ml) of *S. japonica* L. on mRNA expression of *fimA* and *mfa1* genes in *P. gingivalis* KCTC5352 by qRT-PCR analysis. The mRNA expression was normalized to 16S rRNA gene used as an endogenous control. Results are shown as the \pm SD of five replicates. * p <0.05, as compared with the control.

*P. gingivalis*의 바이오필름 형성을 억제할 수 있을 것으로 판단된다.

이상의 결과를 종합하면 회화나무 추출물 중 괴지 추출물은 항산화 활성이 높고, *P. gingivalis*에 대해 낮은 농도에서는 정균작용을 하고, 높은 농도에서는 살균작용을 하는 항균 소재일 뿐만 아니라 *P. gingivalis*의 섬모 유전자 발현을 억제함으로써 초기 치면세균막 형성을 억제할 수도 있기 때문에 기능성 식의약품소재로서 개발 가능성이 높다고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2022년 경상국립대학교 학술연구지원사업에 의해 수행된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

1. Akula, R. and Gokare, A. R. 2001. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signal. Behav.* **6**, 1720-1731.
2. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.
3. Cao, G., Alessio, H. M. and Cutler, R. G. 1993. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.* **14**, 303-311.
4. Choi, B. B. R., Yun, S. E., Park, S. R. and Kim, G. C. 2020. Effectiveness of mentha extracts against oral microorganisms: an *in vitro* study. *J. Kor. Acad. Oral Health* **44**, 67-72.
5. Choi, Y. S., Shin, E. H., Park, S. J. and Kim, J. D. 2008. Nutritional characteristics and some bioactive components contents of *Sophorae fructus*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 1154-1161.
6. Davidson, P. M. and Parish, M. E. 1989. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol.* **43**, 148-152.
7. Han, K. H., Zuo, C. L. and Hong, I. K. 2019. Extraction of antioxidants from *Lonicera japonica* and *Sophora japonica* L.: optimization using central composite design model. *Appl. Chem. Eng.* **30**, 337-344.
8. He, L., Wang, H., Zhang, R. and Li, H. 2018. The regulation of *Porphyromonas gingivalis* biofilm formation by ClpP. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **509**, 335-340.
9. James, P., Worthington, H. V., Parnell, C., Harding, M., Lamont, T., Cheung, A., Whelton, H. and Riley, P. 2017. Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. *Cochrane Database Syst. Rev.* **3**, CD 008676.
10. Jang, T. W. and Park, J. H. 2017. Evaluation of whitening activities of flower and fruit of *Sophora japonica* L. *Kor. J. Plant Res.* **30**, 22-28.
11. Jeong, D. H. and Park, S. H. 2020. The smoking rate of the elderly according to the level of education and income: Using the 2018 national health and nutrition survey data. *J. Occup. Age. Dement.* **14**, 117-123.
12. Kang, H. W. 2014. Antioxidant and anti-inflammation effects of water extract from buckwheat. *Culin. Sci. Hosp. Res.* **20**, 190-199.
13. Kang, Y. H., Park, Y. K. and Lee, G. D. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Kor. J. Food. Sci. Technol.* **28**, 232-239.
14. Kim, D. W., Park, M. H. and Kim, M. R. 2021. Study on antioxidant activity and cytotoxicity to A549 cells of Korean Aronia fruit extracts. *J. East Asian Soc. Diet. Life.* **31**, 163-171.
15. Kim, E. J., Choi, J. Y., Yu, M. R., Kim, M. Y., Lee, S. H. and Lee, B. H. 2012. Total polyphenols, total flavonoid

- contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Kor. J. Food. Sci. Technol.* **44**, 337-342.
16. Kim, H. S. and Cho, S. J. 2019. Antibacterial and anti-biofilm activities of *Alnus japonica* stem extract against *Porphyromonas gingivalis*. *J. Life Sci.* **29**, 1386-1392.
 17. Kim, H. S., Park, M. J., Kim, S. J., Kim, B. K., Park, J. H., Kim, D. H. and Cho, S. J. 2021. Antibacterial and antibiofilm activities of leaf extracts of *Stewartia koreana* against *Porphyromonas gingivalis*. *J. Life Sci.* **31**, 330-337.
 18. Kim, H. S., Park, M. J., Kim, S. J., Kim, B. K., Park, J. H., Kim, D. H. and Cho, S. J. 2021. Antioxidant effects of *Stewartia koreana* Nakai leaves and branch extracts. *J. Life Sci.* **31**, 229-236.
 19. Kim, J. H., Kim, H. H. and Kim, K. S. 2020. The effect of caregivers' working environment and rest right on the intention of transfer through job satisfaction. *Kor. J. Policy Anal. Eval.* **30**, 211-238.
 20. Kim, M. J. and Park, E. J. 2011. Feature analysis of different *in vitro* antioxidant capacity assays and their application to fruit and vegetable samples. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nut.* **40**, 1053-1062.
 21. Kim, S. C., Kwon, H. S., Kim, C. H., Kim, H. S., Lee, C. Y. and Cho, S. J. 2016. Comparison of antioxidant activities of pileus and stipe from white beech mushrooms (*Hypsizygus marmoreus*). *J. Life Sci.* **26**, 928-935.
 22. Kim, S. Q., Shin, M. K., Auh, Q. S., Lee, J. Y., Hong, J. P. and Chun, Y. H. 2007. Effect of phytoncide on *Porphyromonas gingivalis*. *J. Oral Med. Pain.* **32**, 137-150.
 23. Kim, Y. J., Jeong, J. A., Kwon, S. H. and Lee, C. H. 2008. Comparison of biological activities of extracts from different parts and solvent fractions in *Cornus kousa* Buerg. *Kor. J. Plant Res.* **21**, 28-35.
 24. Lee, D. H. and Hong, J. H. 2015. Antioxidant activities of chlorella extracts and physicochemical characteristics of spray-dried chlorella powders. *Kor. J. Food Preserv.* **22**, 591-597.
 25. Lee, J. E. 2005. Anti-obesity effects of *Sophora japonica* L. M.S. dissertation, Sungkyunkwan University, Seoul, Korea.
 26. Lee, S. H. 2009. Effects of rexflavone, an extract of *sophorae fructus*, on the cardiovascular system. M.S. dissertation, Konkuk University, Seoul, Korea.
 27. Maulana, T. I., Falah, S. and Andrianto, D. 2019. Total phenolic content, total flavonoid content, and antioxidant activity of water and ethanol extract from Surian (*Toona sinensis*) leaves. *IOP. Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* **299**, 012021.
 28. Meir, S., Kanner, J., Akiri, B. and Philosoph-Hadas, S. 1995. Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *J. Agric. Food Chem.* **43**, 1813-1819.
 29. Moon, J. S., Kim, S. J., Park, Y. M., Hwang, J. S., Kim, E. H., Park, J. W., Park, I. B., Kim, S. W., Kang, S. G., Park, Y. K. and Jung, S. T. 2004. Activities of anti-oxidation and alcohol dehydrogenase inhibition of methanol extracts from some medicinal herbs. *Kor. J. Food Preserv.* **11**, 201-206.
 30. Ozer, A., Ergul, B. K. and Sezai, S. 2005. Oxidative stress in patients with acne vulgaris. *Mediators Inflamm.* **6**, 380-384.
 31. Park, S. J., Chung, B. H., Choi, Y. S., Park, S. H. and Kim, J. D. 2007. Nutritional characteristics and bioactive components contents of *Flos Sophora Japonica*. *J. Physiol. Pathol. Kor. Med.* **21**, 171-180.
 32. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* **26**, 1231-1237.
 33. Singleton, V. L. and Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* **16**, 144-158.
 34. Song, H. S. 2014. A study on the effects of the extracts from sophora flowers, fruits and branches on improvements in skin condition. M.S. dissertation, Kyonggi University, Suwon, Korea.
 35. Yoon, J. W., Kim, H. N., Ha, T. J., Park, S. H., Lee, S. M., Ahn, S. I., Jhoo, J. W. and Kim, G. Y. 2016. Antioxidant activity of greek-style yogurt with stevia leaf extracts. *J. Dairy Sci. Biotechnol.* **34**, 263-270.
 36. Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W. 1998. The determination flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* **64**, 555-559.
 37. Zhou, L., Ding, Y., Chen, W., Zhang, P., Chen, Y. and Lv, X. 2013. The *in vitro* study of ursolic acid and oleanolic acid inhibiting cariogenic microorganisms as well as biofilm. *Oral Dis.* **19**, 494-500.

초록 : 회화나무 부위별 추출물의 항산화 및 항균활성

박민정 · 김혜수 · 김한비 · 이상균 · 조수정*
(경상국립대학교 제약공학과)

본 연구에서는 천연물유래 기능성 식의약품 소재로써 회화나무의 이용 가능성을 알아보기 위해 회화나무 꽃(피화), 열매(피각), 가지(피지)를 에탄올에 추출한 다음 회화나무 부위별 추출물의 항산화 활성과 항균활성을 조사하였다. 항산화 활성을 측정한 결과, 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 피각, 피지에 비해 피화 추출물에서 유의적으로 높게 나타났지만, ABTS 라디칼 소거능과 DPPH 라디칼 소거능, ORAC 지수는 피지 추출물에서 높게 나타났다. 회화나무 추출물 중 피지 추출물이 *P. gingivalis*에 대해 가장 우수한 항균활성을 나타내었으며, MIC는 0.2 mg/ml이었다. 또한, 피지 추출물은 0.4 mg/ml 이하의 농도에서 *P. gingivalis*에 대해 정균작용을 나타내었고, 0.6 mg/ml 이상의 농도에서는 살균작용을 나타내었다. 피지 추출물(0.2-2.0 mg/ml)이 처리된 배양액에서 *P. gingivalis* KCTC5352의 바이오필름 형성과 세균 생육은 추출물의 농도가 증가할수록 농도의존적으로 억제되는 경향을 나타내었고, 섬모 관련 유전자인 *fimA*와 *mfal*의 mRNA 발현도 피지 추출물의 농도가 증가할수록 감소되는 것을 확인할 수 있었다. 이상의 결과를 종합하면, 회화나무 추출물 중 피지 추출물은 항산화 활성이 높고, *P. gingivalis*에 대해 낮은 농도에서는 정균작용을 하고, 높은 농도에서는 살균작용을 하는 항균 소재일 뿐만 아니라 *P. gingivalis*의 섬모 유전자 발현을 억제함으로써 초기 치면세균막 형성을 억제할 수도 있기 때문에 기능성 식의약품소재로서 개발 가능성이 높다고 판단된다.