

구강병원균에 대한 편백 피톤치드의 항균작용

경희대학교 치과대학 구강내과학교실¹, 경희대학교 치과대학 구강생물학연구소²

강수경¹ · 신미경² · 어규식¹ · 전양현¹ · 홍정표^{1,2}

천연 식물 추출물을 구강 질환 분야에 활용하는 방안이 다양하게 모색되고 있다. 본 연구는 편백나무에서 추출한 휘발성 정유인 피톤치드를 치의학분야에 활용하고자 치아우식증 원인균인 *Streptococcus mutans* GS5와 *Streptococcus sobrinus* 6715, 급진성 치주염에 관련된 *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Y4에 대한 항균효과를 미생물학적으로 실험하였다. 흡광도 측정, 생균수 검사, 항생제 감수성 검사를 통해 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다.

1. 피톤치드의 최소억제농도(minimum inhibitory concentration; MIC)는 *S. mutans* GS5는 0.5%, *S. sobrinus* 6715는 1%, *A. actinomycetemcomitans* Y4는 0.2%로 측정되었다.
2. 피톤치드의 최소살균농도(minimum bactericidal concentration; MBC)는 *S. mutans* GS5는 0.5%, *S. sobrinus* 6715는 2%, *A. actinomycetemcomitans* Y4는 0.2%로 측정되었다.
3. 피톤치드에 노출된 실험균주에 대한 항생제 감수성 실험에서 피톤치드를 적용했을 경우, *S. mutans* GS5과 *S. sobrinus* 6715는 ampicillin에 대한 감수성이 유의성 있게 증가하였다. *S. sobrinus* 6715의 경우는 penicillin과 amoxicillin에 대한 감수성도 피톤치드에 의해 유의성 있게 증가하였다. 반면, *A. actinomycetemcomitans* Y4는 amoxicillin과 cefotaxime에 대한 감수성이 다소 증가하였으나 유의성은 없었다.

이상의 결과로, 편백 피톤치드 정유는 치아우식증 원인균인 *Streptococcus mutans*와 *Streptococcus sobrinus*, 급진성 치주염 원인균인 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*에 대한 살균효과가 있을 뿐만 아니라 이들 균의 항생제 감수성을 높이는 것으로 판단된다. 따라서, 피톤치드는 치아우식증과 치주질환을 포함한 구강질환에 대해 예방적이고 치료적인 효과를 얻을 가능성이 있는 것으로 생각된다.

주제어 : 피톤치드, 항균작용, 치아우식증, 치주질환, 구강병원균

I. 서 론

인간의 구강에는 수많은 미생물이 존재하며, 그 중 질환을 일으키는 병원균이 포함되어 있다. 이들은 치아우식증, 치주질환 등의 질환을 일으켜 통증 및 섭식 기능에 장애를 일으키고 치아상실을 초래하기도 한다. 또한, 치료를 위하여 많은 시간과 비용이 소비된

다. 구강질환의 치료에 대한 연구와 임상 적용이 다양하게 이루어지고 있으며 그 성과도 나날이 발전하고 있지만, 치료 자체뿐만 아니라 질환의 예방과 치료 후 예후 관리도 중요하다.

우리나라 국민의 생활수준이 높아지면서 구강 보건에 대한 의식은 높아졌으나 식생활의 변화로 인해 치아우식증 원인요소는 보다 증가하여 현재 치아우식증 이환율은 감소하기 보다는 오히려 증가 추세에 있고, 2000년대 초반까지도 계속 증가할 것으로 예상되고 있다.¹⁾ 치주염은 치태를 구성하고 있는 복잡한 세균군, 즉 혼합감염에 대한 치아 주변조직의 반응에 따른 염증진행에 의하여 야기된다.²⁾ 모든 성인의 약 70~80%가 치주염으로 고통 받고 있으며, 만성 치주염은 이 모든 치주질환의 약 59%를 차지하고 있다.

교신저자 : 홍정표
서울시 동대문구 회기동 1번지
경희대학교 치과대학 구강내과학교실, 구강생물학연구소
전화 : 02-958-9358
Fax : 02-968-2043
E-mail : unicomfort@khu.ac.kr

원고접수일 : 2007-01-10
심사완료일 : 2007-03-12

발현빈도와 심도는 연령증가에 따라 커지고, 급진성 치주염의 유년형은 사춘기의 시작과 함께 나타나 활성기와 휴지기를 거치면서 비교적 급속하게 진행된다.³⁾

치아우식증이 청소년기에 가장 중요한 치아상실의 원인이라면, 치주염은 성인에 있어 치아상실을 야기하는 가장 중요한 원인이다. 치아우식증과 치주질환은 구강질환을 대표하는 가장 빈발하는 2대 질환이기 때문에 그만큼 많은 우리 국민이 치아상실에 따른 '삶의 질 저하'라는 위험에 처해있는 셈이다.

최근 천연 추출물의 활용성에 대한 이해가 넓어지고 연구가 활성화되면서 결과물에 대한 이용방안을 다양하게 모색하고 있다.⁴⁾ 피톤치드(phytoncide)는 식물을 수증기 증류하거나 압축하여 얻는 추출액인 정유(essential oil)의 휘발성 방향성분을 말한다. 이들 휘발성분들은 식물 종류에 따라 수십 종에서 많은 것은 200여 종에 달하며 phenolics, terpenoid, alkaloid, phenylpropane, acetogenin, steroid 등의 유기화합물로 구성되어 있다.^{5,6,7)} 이들은 미생물 등의 외부 공격으로부터 수목 자신을 보호하는 역할을 하는 것으로 알려져 있고, 식물의 방어기작으로 인지되고 있는 이러한 현상을 알레로파시(allelopathy)라고 한다.⁸⁾ 다양한 식물에서 추출된 피톤치드 또는 정유는 광범위한 미생물에 대해 항균효과가 있는 것으로 보고되고 있다.^{9,10,11,12,13,13-a,13-b)} 한편, 치아우식증이나 치주염, 기타 구강감염질환의 원인균들에 대한 식물 추출물이나 정유의 항균효과를 관찰하는 연구가 활발히 이루어지면서 이들 질환을 예방하거나 진행을 억제하는 목적으로 사용할 수 있는 항균제 후보 물질들이 속속 보고되고 있다.^{13-a,13-b,13-c,13-d,13-e,13-f)}

편백나무(*Chamaecyparis obtusa*)는 일본과 대만 등에서 자생하고 있는 측백나무과 편백나무속의 상록 침엽 교목으로 줄기에는 독특한 향기가 있는 피톤치드가 다량 생산된다. 편백나무의 피톤치드는 세균, 진균 등 다양한 미생물에 대한 항균작용이 있다. 편백 피톤치드는 그람 양성세균인 *Staphylococcus epidermidis*, 그람 음성세균인 *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, 효모형 곰팡이인 *Candida albicans*, 사상형 곰팡이인 *Aspergillus nidulas*, *Alternaria mali*, *Fusarium oxysporum* 등에 항균효과가 있는 것으로 알려지고 있다.¹⁷⁾ 편백나무는 북한의 백두산 부근의 군락지에서 자생하고 있고, 여기서 피톤치드가 생산, 공급되어 현재 우리의 생활 주변에서 활용되고 있다. 편백나무

는 소나무, 잣나무와 같은 종류의 상록 침엽수로 우리에게 친근하면서도 상쾌한 기분을 느끼게 하는 향기가 있어, 만약 구강미생물에 대한 항균효과가 있다면 구강위생용품 등 치과영역 임상에 이용하는 데 유리한 장점이 있다. 그러나 아직 구강미생물에 대한 편백 피톤치드의 항균효과는 알려진 바가 없다. 본 연구에서는 편백 피톤치드를 치과영역에 활용할 수 있는 지에 대한 가능성을 타진하기 위하여, 치아우식증 원인균인 *Streptococcus mutans*와 *Streptococcus sobrinus*, 급진성 치주염에 특이적으로 관련된 세균인 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*에 적용시켜 피톤치드의 항균효과를 관찰하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험균주 및 실험재료

실험에 사용할 균주로 *S. mutans* GS5, *S. sobrinus* 6715, *A. actinomycetemcomitans* Y4를 사용하였다. 항균실험에 사용된 피톤치드는 편백나무(*Chamaecyparis obtusa* Sieb. et Zucc.)에서 추출한 정유로서 (주)SH제약에서 구입하였다.

2. 실험균주의 배양조건

S. mutans GS5와 *S. sobrinus* 6715는 brain heart infusion (BHI; Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) 액체배지와 Micro agar (DUCHEFA BIOCHEMIE, Netherlands)가 첨가된 BHI 한천배지에 37°C에서 혐기적(85% N₂, 10% CO₂, 5% H₂)으로 배양하였다. *A. actinomycetemcomitans* Y4는 같은 배지에 접종한 후 37°C CO₂ 배양기(80% N₂, 10% CO₂, 10% H₂)에서 배양하였다.

3. 피톤치드의 최소억제농도 측정

각 실험균주에 대한 피톤치드의 최소억제농도(minimum inhibitory concentration; MIC)를 측정하기 위해, 우선 실험균주를 24시간 배양한 후 배양 균액의 일정액을 새 BHI 액체배지에 접종하여 McFarland #1 흡광도의 1/2 농도, 즉 10 ml 액체배지의 흡광도가 0.1(600 nm)이 되도록 균액 농도를 조정 한 후 피톤치드를 0~1.0%(vol/vol) 첨가하였다. 실험균주가 접종된 BHI 액체배지를 각 실험균주의 배양

조건에 따라 24시간 배양한 후 600 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도가 0.050 이하로 측정되는 균 배양액에 첨가된 피톤치드의 농도를 그 실험균주에 대한 MIC로 결정하였다.^{13-a)}

4. 피톤치드의 최소억제농도 측정

각 실험균주에 관한 피톤치드의 항균효과가 살균작용에 의한 것인지를 확인하고, 최소살균농도(minimum bactericidal concentration; MBC)를 결정하기 위하여 생균수를 측정하였다. 즉, 위에서와 같이 배양된 실험균주(흡광도 0.1)에 피톤치드를 MIC보다 낮은 농도와 높은 농도로 첨가한 후 24시간 배양하였다. 피톤치드가 첨가된 배지에서 배양된 각 실험균주들의 균액 농도가 균일하게 되도록 vortex로 가볍게 진탕하고 나서 100 μ l을 취하여 인산완충생리식염수(pH 7.0)가 900 μ l 담긴 1.5 ml microcentrifuge tube에 넣고 vortex하여 10배 희석균액을 만들었다. 희석균액을 다시 100 μ l 취하여 인산완충생리식염수가 900 μ l 담긴 새 1.5 ml microcentrifuge tube에 넣고 vortex하는 과정을 반복하여 $10^0 \sim 10^8$ 까지 단계희석하였다. BHI 한천배지에 희석균액 100 μ l를 적하하고 나서 무균처리된 삼각유리막대로 한천배지 위에 균일하게 도말한 후 각 실험균주의 배양조건에 따라 24시간 배양하였다. 집락이 200개 정도로 나타난 한천배지를 선택하여 집락수를 센 다음, 이 배지에 도말했던 균액의 희석배수를 역산하여 균액 원액 100 μ l당 생균수를 계산하였다. 생균수를 측정하여 대조군에 비해 사멸된 균수가 99.9%를 넘는 피톤치드의 최소농도를 MBC로 결정하였다.^{13-b)}

6. 항생제 감수성 검사

피톤치드에 노출된 실험균주의 항생제에 대한 감수성 변화, 즉 피톤치드에 의한 항생제의 항균상승효과를 관찰하기 위하여 disc 확산법을 시행하였다. 항생제 감수성 검사에 앞서 예비실험을 통해 disc 확산법으로 나타난 억제환(inhibition zone)의 크기가 20~40 mm 정도가 되어 관찰하고 측정하기 용이하도록 항생제 농도를 미리 결정하였다. 다음, 멸균된 8 mm 직경의 paper disc에 항생제 용액을 20 μ l씩 적하하여 각 paper disc 당 항생제 농도가 위에서 결정한 적정농도, 즉 amoxicillin 5 μ g, ampicillin 5 μ g, cefotaxime 15 μ g, penicillin 5 μ g, tetracycline 15 μ g이 되도록 취

중농도를 조절하였다. 항생제 용액이 적하된 paper disc는 50°C 배양기에서 무균상태로 건조시켰다. MIC 측정실험에서 피톤치드를 첨가하고 24시간 배양한 후 각 실험균주의 배양 균액의 흡광도가 0.1로 나타난 실험균을 항생제 감수성 검사 대상으로 선택하였다. 선택된 실험균의 배양 균액을 100 μ l씩 BHI 한천배지에 도말한 다음 적정농도의 항생제 disc를 올려놓은 상태로 37°C에서 48시간 배양한 후 항생제 disc 주변에 형성된 억제환의 직경을 측정하였다. 한편, 피톤치드가 첨가되지 않은 상태로 각 실험균주를 24시간 배양한 후 새 BHI 액체배지를 혼합하여 배양 균액의 흡광도를 0.1로 조정된 다음 100 μ l씩 도말한 BHI 한천배지를 항생제 감수성 검사를 위한 대조군으로 사용하였다.

III. 실험결과

1. 피톤치드의 MIC

피톤치드와 함께 배양한 실험균주를 BHI 액체배지에 접종하고 배양한 다음 배양 균액의 흡광도를 측정해 피톤치드의 항균효과를 관찰하였다(Table 1). *S. mutans* GS5의 경우 피톤치드가 없을 때 흡광도는 1.244였으며 피톤치드의 첨가량이 많을 수록 흡광도는 감소하여 0.5%가 첨가되었을 때 0.003으로 측정되어 *S. mutans* GS5에 대한 피톤치드의 MIC는 0.5%로 결정되었다.

S. sobrinus 6715는 *S. mutans* GS5보다 피톤치드에 대한 감수성이 낮게 나타났다. 피톤치드가 없을 때 흡광도는 1.286이었고 피톤치드가 0.5% 이상 첨가되어야 흡광도가 크게 떨어져 0.106로 나타났다. 피톤치드가 0.75% 첨가되어도 *S. sobrinus*의 흡광도는 큰 차이를 보이지 않다가 1.0%가 첨가되어야 0.03으로 떨어졌다. 따라서 *S. sobrinus* 6715에 대한 피톤치드의 MIC는 1.0%로 결정되었다.

피톤치드를 첨가하지 않고 24시간 배양한 *A. actinomycescomitans* Y4의 경우 흡광도는 1.463이었으나 피톤치드를 적게 첨가하여도 *A. actinomycescomitans* Y4의 흡광도는 크게 감소하여 0.05%일 때 0.826이었다. 피톤치드의 첨가량을 증가시키면 점차적으로 흡광도가 감소하여 피톤치드가 0.2% 첨가되었을 때 흡광도는 0.035로 나타나 *A. actinomycescomitans* Y4에 대한 피톤치드의 MIC는 0.2%로 결정되었다.

Table 1. Changes in the growth of oral pathogens in the presence of phytoncide

Bacteria	Phytoncide added(%)	O. D. (600 nm)
<i>S. mutans</i> GS5	0	1.244
	0.05	1.144
	0.10	0.414
	0.20	0.401
	0.30	0.085
	0.40	0.057
	0.50	0.003
	<i>S. sobrinus</i> 6715	0
	0.50	0.106
	0.75	0.089
	1.0	0.030
<i>A. actinomycetemcomitans</i> Y4	0	1.463
	0.050	0.826
	0.075	0.463
	0.10	0.187
	0.20	0.035

The bacteria were grown in BHI in the presence of phytoncide at different concentration for 24 h. Changes in the bacterial growth by phytoncide were determined by measuring the optical density (O. D.) of the bacterial culture at 600nm. The result shown here is the representative of several experiments unless otherwise indicated.

2. 피톤치드의 MBC

피톤치드와 함께 배양한 각 실험균주를 BHI 한천 배지에 도달한 다음 형성된 생균수를 측정함으로써 피톤치드의 MBC를 결정하였다. 피톤치드를 첨가하지 않고 24시간 배양한 대조군 *S. mutans* GS5의 생균수는 100 μ l당 4.14×10^7 이었으나, 피톤치드와 함께 배양했을 때는 생균수가 크게 줄어 피톤치드 첨가량이 0.5%일 때 생균수는 100 μ l에 단지 75개로 거의

Table 2. Effect of phytoncide on viability of *Streptococcus mutans* GS5

Phytoncide(%)	Number of viable cells (%)
0	4.14×10^7 (100.0)
0.10	8.73×10^6 (21.09)
0.25	1.12×10^6 (2.71)
0.50	75 (1.81×10^{-6})
0.75	0(0)

S. mutans was grown, adjusted the optical density to 0.1 at 600 nm, and incubated for 24 h anaerobically in the presence of phytoncide at 0~0.75% (v/v). After the incubation, 100 μ l of the cultured bacterial cells was smeared on an agar plate. Number of the viable cells (colony forming unit; CFU) in the 100- μ l bacterial cells was counted after 48-h incubation. The results shown here are the representative of several experiments unless otherwise indicated.

Table 3. Effect of phytoncide on viability of *Streptococcus sobrinus* 6715

Phytoncide(%)	Number of viable cells (%)
0	2.36×10^7 (100.0)
1	2.90×10^6 (12.29)
2	945 (4.00×10^{-5})
3	31 (1.31×10^{-6})
4	0(0)

S. sobrinus was grown, adjusted the optical density to 0.1 at 600 nm, and incubated for 24 h anaerobically in the presence of phytoncide at 0~4% (v/v). After the incubation, 100 μ l of the cultured bacterial cells was smeared on an agar plate. Number of the viable cells (colony forming unit; CFU) in the 100- μ l bacterial cells was counted after 48-h incubation.

완전히 사멸(99.9% 이상)하였다. 따라서 *S. mutans* GS5에 대한 피톤치드의 MBC는 0.5%로 결정하였다. 피톤치드의 농도를 높여 0.75% 첨가하면 생존하는 세균이 전혀 없었다(Table 2).

피톤치드를 첨가하지 않고 24시간 배양한 대조군 *S. sobrinus* 6715의 경우는 생균수가 100 μ l당 2.36×10^7 이었다. *S. sobrinus*는 피톤치드의 첨가량이 MIC

Table 4. Effect of phytoncide on viability of *A. actinomycetemcomitans* Y4

Phytoncide(%)	Number of viable cells (%)
0	8.19×10^8 (100.0)
0.05	5.93×10^7 (7.24)
0.10	5.73×10^7 (7.00)
0.20	94 (1.15×10^{-7})
0.50	5 (6.11×10^{-9})
0.75	0(0)

A. actinomycetemcomitans was grown, adjusted the optical density to 0.1 at 600 nm, and incubated in a 5% CO₂ incubator for 24 h in the presence of phytoncide at 0~0.75% (v/v). After the incubation, 100 μl of the cultured bacterial cells was smeared on an agar plate. Number of the viable cells (colony forming unit; CFU) in the 100-μl bacterial cells was counted after 48-h incubation.

농도인 1%이상이 되어야 생균수가 크게 감소하였다. 피톤치드 첨가량이 1%일 때 생균수는 2.90×10^6 이었고 2%일 때 생균수는 100 μl에 94개로 거의 모두 사멸(99.9% 이상)하였다. 따라서 *S. sobrinus* 6715에 대한 피톤치드의 MBC는 2%로 결정하였다. 피톤치드의 농도를 높여 4%까지 첨가하면 생존하는 세균은 나타나지 않았다(Table 3).

피톤치드를 첨가하지 않고 24시간 배양한 대조군 *A. actinomycetemcomitans* Y4의 생균수는 100 μl당 8.19×10^8 이었고, 피톤치드의 첨가량이 0.05%일 때 생균수가 5.93×10^7 로 생존율은 7.24%였다. MIC 농도인 0.2%로 피톤치드가 첨가되면 생균수가 크게 감소하여 100 μl당 94개에 불과하여 거의 모두 사멸(99.9% 이상)한 것으로 나타남으로써 0.2%를 MBC 농도로 결정하였다. 피톤치드의 농도를 높여 0.75%까지 첨가하면 생존하는 세균은 나타나지 않았다(Table 4).

3. 항생제 감수성 변화

피톤치드를 첨가하고 배양한 실험균주를 대상으로 하여 disc 확산법으로 항생제 감수성 검사를 시행한 후 형성된 항생제 disc의 억제환 크기를 피톤치드를 첨가하지 않고 배양한 대조군 실험균주를 사용했을 때에 형성된 억제환 크기와 비교함으로써 피톤치드

Table 5. Effect of phytoncide on antibiotic sensitivity of *Streptococcus mutans* GS5

Antibiotics	No phytoncide	0.3% phytoncide
Amoxicillin (5 μg)	27.3 ± 0.75	28.7 ± 0.38 ^a
Ampicillin (5 μg)	28.3 ± 0.38	32.7 ± 0.75
Cefotaxime (15 μg)	29.3 ± 0.75	30.7 ± 0.75
Penicillin (5 μg)	26.7 ± 0.75	25.3 ± 0.75
Tetracycline (15 μg)	24.7 ± 1.50	25.3 ± 0.75

S. mutans GS5 was grown in the presence of 0.3% phytoncide for 24 h and 100 μl of the cultured cells was smeared on a BHI agar plate and then subjected to antibiotic sensitivity test for 48 h using different antibiotic discs. Diameter of the inhibition zone was measured and compared with that of the inhibition zone created on the plate of *S. mutans* GS5 that had been incubated in the absence of phytoncide.

a; diameter of the inhibition zone (mm) ± S. D.

가 실험균주의 항생제 감수성에 변화를 유도하는 지 관찰하였다. 피톤치드가 첨가되어도 *S. mutans* GS5는 amoxicillin, cefotaxime, penicillin, tetracycline에 대한 감수성에는 전혀 변화가 없었다. 그러나 ampicillin에 대해서는 대조군 *S. mutans* GS5를 사용했을 때(28.3 mm)와 비교하면 피톤치드와 함께 배양한 *S. mutans* GS5는 항생제 감수성 검사에서 억제환의 크기가 32.7 mm로 유의성(P<0.0044)있게 증가하였다 (Table 5).

S. sobrinus 6715는 피톤치드가 첨가되었을 때 cefotaxime와 tetracycline에 대한 감수성에는 변화가 없었다. 피톤치드를 첨가하지 않고 배양한 대조군 *S. sobrinus*에 대한 penicillin 억제환의 크기는 26.0 mm, 피톤치드를 첨가하고 배양한 *S. sobrinus*를 사용했을 때는 28.7 mm로 유의성이 있는 증가를 보였다 (P<0.017). Ampicillin의 경우, 대조군 *S. sobrinus* 6715를 사용했을 때(38.0 mm)와 비교하면 피톤치드와 함께 배양한 *S. sobrinus* 6715는 항생제 감수성 검사에서 억제환의 크기가 41.3 mm로 유의성(P<0.020)있게 증가하였다. 한편 amoxicillin에 대한 감수성에도 변화가 있는 것으로 나타났다. 피톤치드가 없을 때 억제환의 크기가 33.7 mm이었으나 피톤치드와 함께 배양했을 때 형성된 억제환의 크기는 35.3 mm로 유의성(P<0.025)이 있는 증가를 보였다(Table 6).

Table 6. Effect of phytoncide on antibiotic sensitivity of *Streptococcus sobrinus* 6715

Antibiotics	No phytoncide	0.75% phytoncide
Amoxicillin (5 µg)	33.7 ± 0.38	35.3 ± 0.38 ^a
Ampicillin (5 µg)	38.0 ± 0.65	41.3 ± 0.75
Cefotaxime (15 µg)	32.7 ± 0.38	34.0 ± 1.30
Penicillin (5 µg)	26.0 ± 0.00	28.7 ± 0.75
Tetracycline (15 µg)	25.3 ± 0.75	27.0 ± 0.65

Antibiotic sensitivity test was performed as described in Table 5. Change in antibiotic sensitivity of the bacterium was determined by measuring the inhibition zone created by discs containing different antibiotics.

a: diameter of the inhibition zone (mm) ± S. D.

Table 7. Effect of phytoncide on antibiotic sensitivity of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Y4

Antibiotics	No phytoncide	0.15% phytoncide
Amoxicillin (5 µg)	24.0 ± 1.30	25.7 ± 1.00 ^a
Ampicillin (5 µg)	24.7 ± 0.75	26.0 ± 0.65
Cefotaxime (15 µg)	26.7 ± 1.50	28.3 ± 0.99
Penicillin (5 µg)	24.7 ± 0.75	25.0 ± 1.73
Tetracycline (15 µg)	24.7 ± 1.99	24.7 ± 1.50

Antibiotic sensitivity test was performed as described in Table 5. Change in antibiotic sensitivity of the bacterium was determined by measuring the inhibition zone created by discs containing different antibiotics.

a: diameter of the inhibition zone (mm) ± S. D.

A. actinomycetemcomitans Y4는 *S. mutans*나 *S. sobrinus*와 달리 피톤치드가 첨가되어도 항생제 감수성에 변화가 거의 없었다. 다만 amoxicillin과 cefotaxime에 대한 감수성을 다소 증가시켰으나 유의성은 없었다(Table 7).

IV. 총괄 및 고찰

식물이 생활하면서 만들어내는 2차 대사산물 중에 많은 것들은 주변의 다른 식물 또는 균류를 포함한 각

종 미생물에 스트레스를 주는데, 이러한 스트레스는 식물과 미생물을 방해하는 작용으로 나타나고, 이러한 현상을 식물의 방어기작이라고 하고¹⁴⁾ 결과적으로 식물 생존과 적응에 중요한 역할을 하게 된다.¹⁶⁾ 이와 같이 식물이 화학물질을 생성하여 주위로 방산함으로써 다른 식물들에게 직·간접적으로 해를 입히는 것을 알레로파시(allelopathy)라고 한다.^{8,15)} 알레로파시 효과에 관여하는 화학물질, 즉 allelochemicals는 증기, 압축, 추출 등의 방법으로 정유(essential oil)의 형태로 정제할 수 있다. 정유 속에 포함되어 있는 휘발성(방향성)의 향미생물 allelochemic 유기화합물을 피톤치드라고 한다. 피톤치드의 주성분은 terpene (terpenoids)이고, 그 외에 phenolics, alkaloid, phenylpropane, acetogenin, steroid 등이 있다.^{7,17-a,17-b)}

편백나무(*Chamaecyparis obtusa*)는 일본과 대만 등에서 자생하고 있는 측백나무과 편백나무속의 상록 침엽 교목으로 줄기에 독특한 향기가 있는데 이 향기는 피톤치드에 의한 것이다. 편백나무의 줄기에서 많이 발견되는 송진은 편백 피톤치드 terpene이 주성분이다. 편백나무는 예전부터 건재용으로 많이 사용되고 있으며, 정유는 향료, 살충제, 방향제 등에 이용되고 있다. 편백나무의 피톤치드는 세균, 진균 등 다양한 미생물에 대한 항균작용이 있다. 편백 피톤치드에 감수적인 미생물로는 그람 양성세균인 *Staphylococcus epidermidis*, 그람 음성세균인 *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, 효모형 곰팡이인 *Candida albicans*, 사상형 곰팡이인 *Aspergillus nidulus*, *Alternaria mali*, *Fusarium oxysporum* 등이 잘 알려져 있다.¹⁷⁾

많은 연구를 통해 보고된 항균효과를 토대로 편백 피톤치드를 이용한 다양한 생활용품들이 개발되고 있다. 항생제에 대한 내성을 가진 병원균이 점차 늘어나고 있는 현실에서 천연물질을 치의학분야에서도 구강위생제품이나 임상에 이용할 수 있다면 매우 바람직 할 것으로 사료된다. 본 연구는 대표적 구강질환인 치아우식증과 치주질환의 원인균들에 대한 편백 피톤치드의 항균효과를 관찰하였다.

편백 피톤치드를 첨가하고 *S. mutans*와 *S. sobrinus* 배양했을 때 성장이 크게 억제되었다. 이들 균에 대한 피톤치드의 MIC는 각각 0.5%와 1%이었다(Table 1). 치아우식증의 원인균은 *mutans streptococci*로서 과거 *S. mutans*라고 명명되었던 다양한 생화학적, 혈청학적, 유전적으로 이질성을 갖는 세균군이다. *Mutans streptococci* 중에서 사람의 우식병소

에서 주로 나타나는 종은 *S. mutans*와 *S. sobrinus*이다.^{18,19)} *S. mutans*가 *S. sobrinus*보다 우식병소에서 많이 나타나는^{20,21)} 반면, 일부 조사에서는 *S. mutans*보다 오히려 *S. sobrinus*가 높은 우식활성과 연관성이 있다고 보고하고 있다.^{22,23)} 따라서 사람의 치아우식증에 중요한 원인인 이들 두 세균에 대해 피톤치드가 항균효과가 있다는 것은 고무적인 결과이다. 피톤치드에 대한 감수성은 *S. sobrinus*보다는 *S. mutans*가 높게 나타났다. 같은 *S. mutans* GS5와 *S. sobrinus* 6715를 대상으로 하여 lavender, clove, tea tree, peppermint, lemon 정유의 항균효과를 관찰한 연구에서도 *S. sobrinus*보다는 *S. mutans*에 대해 더 높게 나타났다.²⁴⁾ 이 연구에 사용한 정유와 편백 피톤치드의 항균효과를 비교하기는 실험조건이 달라 어렵다. 한편, Takarada 등^{13-a)}은 96-well plate를 사용하여 manuka, tea tree, eucalyptus, lavandula, rosmarinus 정유의 항균효과를 본 연구에서 사용한 *S. sobrinus* 6715를 대상으로 관찰하였다. 그 결과, manuka 정유를 제외한 정유들은 1% 이상의 농도에서 MIC가 결정되었기 때문에 직접적인 비교는 불가능하지만 편백 피톤치드는 이들 정유보다 훨씬 강한 항균효과를 갖는 것으로 판단된다.

편백 피톤치드에 노출된 실험균주들을 BHI 한천배지에 도말하여 생균수를 측정함으로써 편백 피톤치드가 살균작용을 하는 지 관찰하였다. *S. mutans*와 *S. sobrinus* 모두 편백 피톤치드에 사멸되었으며 MBC는 각각 0.5, 2%로 결정되었다(Table 2). MIC의 경우와 마찬가지로 편백 피톤치드는 Takarada 등^{13-a)}이 사용한 정유 중에서 manuka 정유를 제외한 나머지 정유와 같거나 보다 강한 살균력을 갖고 있는 것으로 나타났다.

국소성 급진성 치주염은 청소년기에 급속한 치주조직의 파괴가 야기되어 일찍이 치아상실을 가져오므로써 환자의 삶의 질에 커다란 영향을 미칠 수 있는 구강질환이다.³⁾ 급진성 치주염환자 중 많은 사람들이 화학주성 자극에 대한 반응이 약한 다형핵백혈구를 가지고 있다. 이러한 결핍은 혐기성 그람음성 구간균인 *A. actinomycetemcomitans*가 많이 나타나는 것과 관련이 있거나, 혹은 그 직접적인 원인이 될 수 있다. *A. actinomycetemcomitans*는 환부 부위에서 채취한 치은연하 치태에 높은 비율로 존재하고, 백혈구독소와 같은 강한 독성인자를 생산하고 있으며, 질환이 진행되고 있는 환자의 몸에서는 이 균에 대한 항체역가가 증가하나 성공적인 치주치료 후에는 출

현빈도와 항체역가가 감소하면서 증상이 사라지는 사실로 미루어 급진성 치주염에 *A. actinomycetemcomitans*가 특이적으로 관련되어 있는 것으로 보인다.^{3,25)} 본 연구에서 편백 피톤치드는 *A. actinomycetemcomitans*에 대해 항균효과가 있는 것으로 관찰되었고 MIC와 MBC는 모두 0.2%로 *S. mutans*와 *S. sobrinus*에 대한 항균효과보다 높게 나타났다(Table 1, 2). 정유는 광범위한 항균효과를 갖고 있는데 일반적으로 그람음성 세균보다는 그람양성 세균에 대해 효과가 큰 것으로 알려져 있다^{26,27)}. 그람음성 세균인 경우 외막(outer membrane)에 있는 다당체가 친수성인데 반해 정유는 소수성이기 때문에 정유에 비교적 저항적인 것으로 생각된다.²⁸⁾ 이와 다르게 구강세균의 경우는 치아우식증 관련 그람양성의 통성 또는 혐기성 세균보다 치주질환 관련 그람음성 혐기성 세균이 정유에 대해 감수성이 높은 것으로 관찰되고 있다.^{13-a,13-c,24)} 그러나 정유의 항균효과는 그람염색성과 관계없이 세균종이나 균주에 따라 달라질 수도 있고,^{26,29,30)} 정유의 종류, 또는 같은 정유라도 원산지나 원료, 추출기술에 따라 서로 달라질 수 있다^{17-a,31)}는 것도 고려해야 할 것이다.

Takarada 등^{13-a)}의 연구에서 manuka 정유는 *S. sobrinus* 6715에 대한 MIC와 MBC가 각각 0.13, 0.25%, *A. actinomycetemcomitans* Y4에 대해서는 MIC와 MBC가 각각 0.03, 0.13%로 보고되었다. 따라서 manuka 정유는 이들 세균에 대해 편백 피톤치드에 비해 강한 항균효과를 갖고 있는 것으로 보인다. 그러나 성인형 치주염의 원인균인 *Porphyromonas gingivalis*에 대해서는 이들 연구가 보고한 manuka의 MBC 농도보다는 훨씬 낮은 농도에서 편백 피톤치드는 살균효과를 보인다(personal communication). 한편, manuka는 우리에게 친숙하지 않은 다소 불쾌한 냄새가 있지만 편백 피톤치드는 우리에게 친숙한 향기를 갖고 있으면서 상쾌한 기분을 느끼게 해주는 장점이 있다. 편백 피톤치드는 생활용품이나 임상 항균제로서 활용이 가능할 만큼 낮은 농도에서도 이들 세균에 대한 억제효과가 충분히 있기 때문에 오히려 실생활에서는 manuka 등 다른 정유보다 실용성이나 유효성이 높다고 판단된다.

정유의 항균기전에 대해선 알려진 것이 별로 없다. 아마도 정유가 세균의 세포막 손상, 이에 따른 투과성 증가와 세포질 유리를 유발하기 때문에 가능한 것으로 생각된다. 이외에 정유는 세균 호흡대사에 영향을 미침으로써 항균효과를 발휘하는 것으로 생각된

다.^{17-b,32)} 그러나 Carson 등³³⁾은 *Staphylococcus aureus*의 경우, tea tree 정유가 세포용해를 일으킬 만큼 직접적으로 세균 세포벽이나 세포막에 손상을 주는 것은 아니고 세포벽을 약화시킴으로써 세포막 삼투압에 변화를 유도하여 세포벽을 파괴하고, 동시에 자가분해효소를 활성화시켜 결과적으로 세균의 자가분해(autolysis)를 야기한다고 추측하였다. 연구자들은 이것 외에도 항균기전을 설명할 수 있는 다른 기전이 있을 것이라고 예상하였다. Oussalah 등³⁴⁾은 Spanish oregano, Chinese cinnamon, savory 정유가 *Escherichia coli* O157:H7 와 *Listeria monocytogenes*의 세포막 통합성(integrity)에 영향을 미치고 세포 내 ATP의 감소, 세포질 내용물 유출의 증가, 세포 내 pH가 감소하는 현상이 나타난다고 보고하였다. 한편, 이들 연구자는 전자현미경으로 세균 세포막이 손상된 것을 관찰하였다.

편백 피톤치드가 세포막에 변화를 초래할 수 있는지를 알아보고, 임상적으로는 피톤치드에 의해 항생제의 항균효과가 상승할 수 있는지를 항생제 감수성 검사로 관찰하였다(Table 5, 6, 7). *S. mutans* GS5는 피톤치드가 첨가된 상태로 배양하면 ampicillin에 대해, *S. sobrinus* 6715는 ampicillin, amoxicillin 및 penicillin 등 penicillin계 항생제에 대한 감수성이 증가하였다. 반면 *A. actinomycetemcomitans* Y4의 항생제 감수성은 피톤치드의 영향을 받지 않은 것으로 나타났다. 항생제나 살균제 등의 세균막 투과성을 높여주는 화학물질을 permeabilizer라고 한다.^{35,36,37)} 편백 피톤치드는 *S. mutans*와 *S. sobrinus*에 대해서 일부 항생제의 항균효과를 높여주는 permeabilizing 효과가 있는 것으로 미루어 이들 세균의 세포막에 변화를 초래했을 것으로 추측된다. Nguefack 등³⁸⁾도 일부 정유들이 *Listeria*, *Staphylococcus*의 세포막 투과성을 높여준다고 보고하였다. 본 연구결과는 피톤치드를 첨가하고 24시간 배양한 균액의 일부를 항생제 감수성 검사용 한천배지에 도말한 상태에서 항생제 disc를 올려놓고 추가로 48시간 배양해서 얻은 것이기 때문에 피톤치드에 의해 이미 사멸된 균은 항생제 감수성 검사에서 배제된 상태였다. 따라서 억제환의 크기가 증가하였다는 것은 살아있는 세균이지만 이미 세포막에 변화가 있었기 때문에 나타난 결과라고 볼 수 있다. 본 연구에서 관찰되었듯이 이런 피톤치드의 효과는 균종에 따라, 그리고 항생제에 따라 다르게 나타나는 것으로 생각된다. 다른 연구들도 항생제에 따라 같은 permeabilizer라도 permeabilizing 효과는

다르게 나타난다고 보고하고 있다.^{35,36,37)} 그러나 정유가 세균 세포의 생활력에 관련된 물질 또는 과정을 억제하여 균이 사멸함으로써 생기는 일련의 현상으로 세포막이 손상되고 용해현상이 나타날 수 있는 가능성도 배제할 수 없다. 사멸에 따른 용해현상과 세포막에 직접적인 손상이 온 다음에 사멸되고 결과적으로 세포질 내용물이 유리되면서 용해되는 현상을 구별하기는 쉽지 않기 때문에 앞으로 보다 면밀히 피톤치드의 항균기전, permeabilizing 효과에 대한 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

본 연구결과로 미루어 볼 때, 편백 피톤치드의 항균력은 구강감염질환에 중요한 그람 양성세균과 그람 음성세균에 모두 유효하게 작용하며, 편백 피톤치드를 이용한 직접적인 살균작용 뿐만 아니라 항생제의 항균효과를 상승시킬 수 있음을 보여주었다. 따라서 천연물질인 피톤치드를 이용하여 구강질환을 일으키는 원인균에 대한 직접적인 항균작용을 기대할 수 있는 항균제 개발이 가능할 것으로 보인다. 한편, 화학적 항생제의 장기간 사용으로 인해 자주 출현하는 항생제 내성 병원균들에 대해서도 피톤치드를 사용함으로써 직접적인 항균효과를 기대하거나 항생제를 소량 투여하는 대신 피톤치드를 병용하여 충분한 항균효과를 얻어 결과적으로 항생제 사용을 감소시키는 방법도 가능해질 것으로 생각된다.

V. 결 론

최근 천연 추출물의 활용성에 대한 이해가 넓어지고 연구가 활성화 되면서 결과물의 이용방안을 다양하게 모색하고 있다. 본 연구는 편백나무에서 추출한 휘발성 정유인 피톤치드를 치의학분야에 활용하고자 치아우식증 원인균인 *Streptococcus mutans*와 *Streptococcus sobrinus*, 급진성 치주염에 관련된 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*에 대한 항균효과를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. *Streptococcus mutans* GS5에 대한 피톤치드의 최소억제농도(minimum inhibitory concentration; MIC)는 0.5%, *Streptococcus sobrinus*에 대해서는 1%, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*에 대해서는 0.2%였다.
2. *Streptococcus mutans* GS5에 대한 피톤치드의 최소살균농도(minimum bactericidal concentration; MBC)는 0.5%, *Streptococcus sobrinus* 6715는 2%

로 측정되었고, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Y4에 대한 피톤치드의 MBC는 0.2%로 측정되었다.

3. 피톤치드에 노출된 실험균주에 대한 항생제 감수성 실험에서 피톤치드를 적용했을 경우, *Streptococcus mutans* GS5와 *Streptococcus sobrinus* 6715는 ampicillin에 대한 감수성이 유의성 있게 증가하였다. *Streptococcus sobrinus* 6715의 경우는 penicillin과 amoxicillin에 대한 감수성도 피톤치드에 의해 유의성 있게 증가하였다. 반면, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Y4는 amoxicillin과 cefotaxime에 대한 감수성이 다소 증가하였으나 유의성은 없었다.

이상의 결과로, 편백 피톤치드 정유는 치아우식증 원인균인 *Streptococcus mutans*와 *Streptococcus sobrinus*, 급성 치주염 원인균인 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*에 대한 살균효과가 있을 뿐만 아니라 이들 균의 항생제 감수성을 높이는 것으로 판단된다.

그러므로 본 연구는 천연물질인 피톤치드가 구강 질환 유발균에 대한 항균효과를 나타내었으며, 향후 본 연구에서 관찰된 유효 농도를 세분화하여 추가적인 연구를 시행하고 독성검사와 임상검사를 거쳐 천연물질의 장점을 살린 인체에 부작용이 없는 약제의 개발에 도움이 될 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. 문혁수, 백대일, 김중배. 지역사회 구강보건현장실습. 서울, 1996, 고문사, p.24.
2. Loe H, Morrison E. Epidemiology of periodontal disease. In Genco RJ, Goldman HM, Cohen DW (Eds). Contemporary periodontics. St. Louis, 1990, C. V. Mosby Company, p106-112.
3. Samaranayake L.P. 대한구강생물학회 역. 치의학을 위한 미생물학. 2판, 서울, 2004, 이퍼블릭 코리아.
4. 안정엽, 이성숙, 강하영. 편백(*Chanaecyparis obtusa*) 정유의 항균, 항염, 항산화 효과. J Soc Cosmet Scientists Korea 2004;30(4):503-507.
5. 강하영, 오중환. 침엽수 침엽 정유의 방향성 이용적성. 임업연보 1994;49:177.
6. 강하영, 이성숙, 최인규. 침엽수 수엽 정유의 항균성에 관한 연구. 한국임산에너지학회지 1993;13(2):71.
7. Whittaker R.H, Feeny P.P. Allelochemicals, chemical interactions between species. Science 1971;171:757.
8. Meller C.H. Allelopathy as a factor in ecological process. Vegetatio 1969;18:348.
9. Gocho S. Antibacterial action of aroma compounds in vapor state. Int. J. Antimicrob. Agents 1991;19(7):329.
10. Gocho S. The factors affecting antibacterial action of FDA vapor. Int. J. Antimicrob. Agents 1991;19:389.
11. Rudman P. The causes of natural durability in timber(9), the antifungal activity of heartwood extractives in wood substrate. Holzforschung 1962;16:74.
12. Rudman P. The causes of natural durability in timber(11), some tests on fungi toxicity of wood extractives and related compounds. Holzforschung 1963;17:54.
13. 강하영. 수목 추출 성분의 생화학적 역할. 목재공학 1994;22(1).
- 13-a. Takarada K, Kimizuka R, Takahashi N, Honma K, Okuda K, Kato T. A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. Oral Microbiol Immunol 2004;19:61-64.
- 13-b. Schoenknecht FD, Sabath LD, Thornsberry C. Susceptibility tests: special tests. In Lennette EH, Balows A, Hausler WJ Jr, Shadomy HJ (Eds). Manual of Clinical Microbiology. 4th, Washington DC, 1985, American Society for Microbiology p1000-1008.
- 13-c. Alviano WS, Mendonca-Filho RR, Alviano DS *et al.* Antimicrobial activity of *Croton cajucara* Benth linalool-rich essential oil on artificial biofilms and planktonic microorganisms. Oral Microbiol Immunol 2005;20:101-105.
- 13-d. Cha JD, Jeong MR, Jeong SI *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Artemisia scoparia* and *A. capillaris*. Planta Med 2005;71:186-190.
- 13-e. Cha JD, Jeong MR, Choi HJ *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Artemisia lavandulaefolia* Planta Med 2005;71:575-577.
- 13-f. Chung JY, Choo JH, Lee MH, Hwang JK. Anticariogenic activity of macelignan isolated from *Myristica fragrans* (nutmeg) against *Streptococcus mutans*. Phytomedicine 2006;13:261-266.
14. Lovett JV, Rynuntyu MY Liu DL. Allelopathy Chemical communication and plant defense. J Chem Ecol 1989;15:1193-1202.
15. Patrick ZA. Allelopathy mechanism and their exploitation for biological control. Anandian J Plant Pathol 1986;8:225-228.
16. Wink M. Plant breeding, importance of plant

- secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Ther Appl Gen* 1988;75: 225-233.
17. 이현옥, 백승화, 한동민. 편백정유의 항균효과, *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 2001;29:253-257.
 - 17-a. Schnaubelt K. *Advanced aromatherapy*. Vermont, 1995. Healing Arts Press, Rochester.
 - 17-b. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev.*, 1999;12:564-582.
 18. Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol. Rev* 1980;44:331-384.
 19. Whiley RA, Beighton D. Current classification of the oral streptococci. *Oral Microbiol Immunol* 1998;13: 195-216.
 20. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 1986;50:353-380.
 21. Carlsson P, Gandour IA, Olsson B, Rickardsson B, Abbas K. High prevalence of mutans streptococci in a population with extremely low prevalence of dental caries. *Oral Microbiol Immunol* 1987;2:121-124.
 22. Fujiwara T, Sasada E, Mima N, Ooshima T. Caries prevalence and salivary mutans streptococci in 0-2-year-old children of Japan. *Community Dent Oral Epidemiol* 1991;19:151-154.
 23. Hirose H, Hirose K, Isogai E, Miura H, Ueda I. Close association between *Streptococcus sobrinus* in the saliva of young children and smooth-surface caries increment. *Caries Rev* 1993;27:292-297.
 24. 김종철, 정치중, 박근영, 이진용. 구강미생물에 대한 essential oil의 항균효과. *경희치대논문집* 2003;25: 47-64.
 25. Henderson B, Nair SP, Ward JM, Wilson M. Molecular pathogenicity of the oral opportunistic pathogen *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Annu Rev Microbiol* 2003;57:29-55.
 26. Inouye S, Takizawa T, Yamaguchi H. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *J Antimicrob Chemother* 2001;47:565-573.
 27. Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Lett Appl Microbiol* 1998;26:118-122.
 28. Mann CM, Cox SD, Markham JL. The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Lett Appl Microbiol* 2000;30:294-297.
 29. Harkenthal M, Reichling J, Geiss HK, Saller R. Comparative study on the in vitro antibacterial activity of Australian tea tree oil, cajut oil, niaouli oil, manuka oil, kanuka oil, and eucalyptus oil. *Pharmazie* 1999;54:460-463.
 30. Imai H, Osawa K, Yasuda H, Hamashima H, Arai T, Sasatsu M. Inhibition by the essential oils of peppermint and spearmint of the growth of pathogenic bacteria. *Microbios* 2001;106(Suppl. 1):31-39.
 31. May J, Chen CH, King A, Williams L, French GL. Time-kill studies of tea tree oils on clinical isolates. *J Antimicrob Chemother* 2000;45:639-643.
 32. Cox SD, Mann CM, Markham JL *et al.* The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J Appl Microbiol* 2000;88: 170-175.
 33. Carson CF, Mee BJ, Riley TV. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assay and electron microscopy. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:1914-1920.
 34. Oussalah M, Caillet S, Lacroix M. Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *J Food Prot* 2006;69:1046-1055.
 35. Ayres H, Furr JR, Russell AD. A rapid method of evaluating permeabilizing activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Lett Appl Microbiol* 1993;17:149-151.
 36. Ayres H, Furr JR, Russell AD. Effect of permeabilizers on antibiotic sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa*. *Lett Appl Microbiol* 1999;28:13-16.
 37. Vaara M, Jaakkola J. Sodium hexametaphosphate sensitizes *Pseudomonas aeruginosa*, several other species of *Pseudomonas*, and *Escherichia coli* to hydrophobic drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:1741-1747.
 38. Nguefack J, Budde BB, Jakobsen M. Five essential oils from aromatic plants of Cameroon: their antibacterial activity and ability to permeabilize the cytoplasmic membrane of *Listeria innocua* examined by flow cytometry. *Lett Appl Microbiol* 2004;39: 395-400.

- ABSTRACT -

Antibacterial Effect on Oral Pathogenic Bacteria of Phytoncide
from *Chamaecyparis Obtusa*

Soo-Kyung Kang, D.M.D.¹, Mi-Kyoung Shin², Q-Schick Auh, D.M.D.,M.S.D.,Ph.D.¹,
Yang-Hyun Chun, D.M.D.,M.S.D.,Ph.D.¹, Jung-Pyo Hong, D.M.D.,M.S.D.,Ph.D.^{1,2}

Dept. of Oral Medicine, College of Dentistry, Kyung Hee University¹
Institute of Oral biology, College of Dentistry, Kyung Hee University²

Plant extract has attracted considerable interest in oral disease therapy. The present study was performed to observe the antibacterial effect on cariogenic *Streptococcus mutans* GS5 and *Streptococcus sobrinus* 6715, and periodontopathic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Y4 of phytoncide from *Chamaecyparis obtusa* Sieb. et Zucc employing the measurement of optical density, viable cell counts, and antibiotic sensitivity. The results were as follows:

1. Minimum inhibitory concentration of the phytoncide for *S. mutans*, *S. sobrinus*, and *A. actinomycetemcomitans* was observed to be 0.5%, 1%, and 0.2%, respectively.
2. Minimum bactericidal concentration of the phytoncide for *S. mutans*, *S. sobrinus*, and *A. actinomycetemcomitans* was determined to be 0.5%, 2%, and 0.2%, respectively.
3. The bacteria exposed to the phytoncide become more sensitive to antibiotics. The phytoncide enhanced significantly antibacterial activity of ampicillin against *S. mutans* and *S. sobrinus*. It also increased significantly the activity of penicillin and amoxicillin against *S. sobrinus*. In contrast, the phytoncide augmented the activity of amoxicillin and cefotaxime against *A. actinomycetemcomitans* but the increase was not statistically significant.

The overall results indicate that phytoncide from *Chamaecyparis obtusa* Sieb. et Zucc used for this study has a strong antibacterial activity against cariogenic and periodontopathic bacteria and that it also has permeabilizing effect on certain antibiotics against these bacteria. Therefore, the phytoncide may be used as a candidate for prevention and therapeutic agent against oral infectious disease including dental caries and periodontal disease.

Key words : Phytoncide, Antibacterial effect, Dental caries, Periodontal disease, Oral pathogenic bacteria
