

Witch hazel(*Hamamelis virginiana*)의 구강병원균에 대한 항균 효과

연세대학교 치과대학 구강내과학교실¹
가톨릭대학교 성심교정 생체의약 선도분자 연구센터²

류성용¹ · 안형준¹ · 권정승¹ · 박주현¹ · 김재영² · 최중훈¹

이상적인 구강항균제로는 구강환경 내에서 정상 세균총보다는 치아우식증의 원인균주 및 치주염이나 구취 유발세균에 대한 선택적인 항균력이 우수하면서도 인체 및 환경독성이 낮은 물질이 요구된다. 이러한 요구사항을 충족시킬 수 있는 천연항균제 개발을 위해 천연물질인 *Hamamelis virginiana*의 추출물을 이용한 연구를 하였다. 최근 식물 추출물이나 정유(essential oil)의 항균 효과를 관찰하는 연구가 활발히 이루어지면서 치아우식증이나 구취 및 치주질환을 예방하거나 진행을 억제하는 목적으로 사용할 수 있는 천연 항균제 후보 물질들이 속속 보고 되고 있으며, *Hamamelis virginiana*가 여기에 속한다. *Hamamelis virginiana*는 치주질환을 야기하는 세균을 포함하는 여러 세균 중, 즉 *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Veilonella parvula*, *Eikenella corrodens*, *Peptostreptococcus micros*, *Actinomyces odontolyticus* 등에 대해 항균 효과가 있는 것으로 보고 되었고, 이 실험에서는 구강감염질환에 중요한 *Streptococcus mutans*, *Haemophilus actinomycetemcomitans*, *Klebsiella pneumoniae*에 대한 항균 효과를 연구함으로써 이러한 *Hamamelis virginiana*의 항균 효과를 이용하여 구강위생용품 등 치과영역 임상에 이용할 수 있는지에 대한 연구를 하였다.

본 실험에서는 *Hamamelis virginiana*의 항균 효과를 보기 위해서 *Hamamelis virginiana* 알콜 추출액을 처리하여 종이 원판 항생제 감수성 검사, 최소발육저지농도 그리고 최소살균농도를 결정하는 연구를 한 결과, 모든 실험 병원균주에 대해 항균성을 나타내었다. 본 연구 결과로 미루어 볼 때, *Hamamelis virginiana*의 항균력은 구강 감염질환에 중요한 *Streptococcus mutans*, *Haemophilus actinomycetemcomitans*, *Klebsiella pneumoniae* 모두에게 유효하게 작용하며, *Hamamelis virginiana*의 직접적인 살균작용까지도 확인되었다. 따라서 천연물질인 *Hamamelis virginiana*를 이용하여 구강질환을 일으키는 병원균에 대한 직접적인 항균작용을 기대할 수 있는 항균제 개발이 가능할 것으로 보인다.

주제어 : *Hamamelis virginiana*, 추출물, 항균 효과

I. 서 론

구강 내에는 700종 이상의 다양한 균들이 상주한

다. 이는 구강 내의 환경이 35-37°C의 온도와 적절한 습도, 치은열구액, 기타 세포, 음식물 잔사 등에 의해 세균 성장에 용이한 조건을 갖추기 때문이다.¹⁾ 이들 균주는 상주균과 병원균으로 구성되어 있으며, 상주균은 병원균이 못 자라도록 상호 균형을 통해 구강 건강을 유지하고 있다. 이 중 병원균은 치아우식증, 치주질환 등의 질환을 일으켜 통증 및 섭식 기능에 장애를 일으키고 치아 상실을 초래하기도 하며, 구취 유발의 주된 원인으로 작용하여 사회생활에 지장을 초래하기도 한다. 실제로 치주질환의 경우, 성인의 약 70-80%가 치주염으로 고통 받고 있으며, 만성 치주염은 치주질환의 약 60%를 차지하고 있다고 보고되

교신저자 : 최중훈

서울시 서대문구 신촌동 134번지
연세대학교 치과대학 구강내과학교실

전화 : 02-2228-8880

FAX : 02-393-5673

E-mail : jhchoij@yuhs.ac

원고접수일: 2008-02-23

원고수정일: 2008-03-29 / 게재확정일: 2008-04-09

* 이 논문은 2007년도 연세대학교 치과대학 연구비에 의해 지원되었음.

고 있다.²⁾ 생활수준이 높아지면서 구강 보건에 대한 의식은 높아졌으나 식생활의 변화로 인해 치아우식증 원인 요소는 보다 더 증가하여, 치아우식증 이환율 역시 감소하기보다는 오히려 증가 추세에 있다.³⁾ 치아우식증이 청소년기에 가장 중요한 치아 상실의 원인이라면, 치주염은 성인에 있어서 치아 상실을 야기하는 가장 중요한 원인이다. 치아우식증과 치주질환은 구강질환을 대표하는 가장 빈발하는 2대 질환이기 때문에 그만큼 많은 사람들이 치아 상실에 따른 '삶의 질 저하'라는 위험에 처해 있는 셈이다. 또한 최근 구취로 인해 치과를 찾는 사례가 늘고 있다고 한다.⁴⁾ 구취는 흡연, 음주 등의 습관이나 양파나 마늘 등의 음식물의 섭취 여부와 관련이 있는데 이런 종류의 구취는 표면적인 문제라고 생각되며 냄새를 상쇄시키는 다른 방향 물질로써 가려지거나 치료될 수 있다. 그러나 또 다른 종류의 구취는 혀와 치아 표면에 존재하는 미생물의 단백 분해 활성화와 연계되며, 이러한 종류의 구취는 다른 방향물질로써 쉽게 가려지지 않는다. 이는 구강 내에 단백질, 펩타이드 및 아미노산을 분해하여 악취를 유발하는 황화합물을 생성시키며 지방산과 polyamine을 분해 시켜서 악취를 생성하는 세균들이 많이 존재하기 때문이다.

이러한 시점에서 각종 구강 질환의 예방과 치료에 대한 천연추출물의 활용성에 대한 연구가 활성화되면서 결과물에 대한 이용 방안이 다양하게 모색되어지고 있다.⁵⁾ 이제까지는 주로 chlorhexidine, triclosan, cetylpyridinium chloride(CPC) 등의 합성 물질이 이러한 목적으로 사용되어 왔으나, 지속적인 사용 시 인체 및 환경 안정성과 관련하여 문제의 소지를 안고 있다.^{6,7)} 이들 물질 중 일부는 모든 균주에 걸쳐서 매우 광범위한 무차별 항균력을 보여 정상세균총의 균형 파괴 및 저항균주 출현 등으로 구강생태계의 균형을 깨뜨릴 가능성이 존재 한다.^{8,9)} 따라서 구강 환경 내에서 이상적인 항균제로는 구강 내 다른 정상 세균총보다는 치아우식증의 원인균주 및 치주염이나 구취 유발 세균에 대한 선택적인 항균력이 우수하면서도 인체 및 환경 독성이 낮은 물질이 요구된다. 이러한 요구 사항을 충족시킬 수 있는 물질에 대한 개발로 천연물질에서 유래하여 추출된 천연항균제가 이들 조건을 만족시키기도 하여, 천연물질에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다.¹⁰⁾ 최근 식물추출물이나 정유(essential oil)의 항균 효과를 관찰하는 연구가 활발히 이루어지면서 이들 질환을 예방하거나 진행을 억제하는 목적으로 사용할 수 있는 천연항

균제 후보 물질들이 속속 보고 되고 있으며, *Hamamelis virginiana*가 여기에 속한다고 할 수 있겠다.¹¹⁻¹⁵⁾

*Hamamelis virginiana*는 조록나무과(*Hamamelidaceae*) 풍년화속(*Hamamelis*)으로서 포크처럼 갈라진 어린 가지가 때로는 지하수의 위치를 찾기 위한 수맥 탐사에 쓰였기 때문에 'witch hazel'이라는 이름으로 불리기도 한다. 말린 잎에서 향기가 나는 도찰제가 만들어졌으며 때로는 어린 가지나 수피도 쓰인다. 과거에는, 인디언 부족들이 이 식물의 잎으로 혈관에 영향을 주는 질병에 대한 치료제로 사용하기도 했으며, 작은 혈관이 피하에서 터지는 것을 막도록 저항력을 강화시키는 효과가 있기 때문에 기능성 화장품의 한 성분으로도 현재 이용되기도 한다.¹⁶⁾ 항균 효과로서 *Hamamelis virginiana*는 치주질환을 야기하는 세균을 포함하는 여러 세균 중, 즉 *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Veilonella parvula*, *Eikenella corrodens*, *Peptostreptococcus micros*, *Actinomyces odontolyticus* 등에 대해 항균 효과가 있는 것으로 보고되었고, 이를 근거로 구강위생용품 등 치과영역 임상에 이용할 수 있는 가능성을 보고하였다.¹⁷⁾ 이에 본 연구에서는 *Hamamelis virginiana*의 구강 질환 예방 및 치료의 가능성을 보고자 대표적인 구강 질병의 주요 원인균이 되는 치아우식증의 원인균인 *Streptococcus mutans*, 급진성 치주염에 관련된 *Haemophilus actinomycetemcomitans* (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*), 구취 및 치주염에 관련된 *Klebsiella pneumoniae*에 대한 *Hamamelis virginiana* 추출물의 항균 실험을 하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 실험물질

*Hamamelis virginiana*의 줄기와 잎의 알코올 추출물(*Hamamelis* 86%, ethanol 14%) 제품인 Dickinson's[®] Witch Hazel(T.N. Dickinson Co. USA)을 구입하여 알코올 성분을 제거하여 사용하였다.

2. 미생물

Streptococcus mutans(ATCC 27351), *Haemophilus actinomycetemcomitans* (ATCC 29522),

Klebsiella pneumoniae(ATCC 9621)를 한국미생물보존센터(KCCM)에서 구입하였다.

3. 미생물 배양

*Haemophilus actinomycetemitans*는 Trypticase soy medium(15.0g pancreatic digest of casein, 5.0g papaic digest of soybean meal, 5.0 g NaCl, 950ml 증류수)에 50.0 ml defibrinated sheep blood를 넣고 pH 7.3에 맞추어 사용하였다. 5% 이산화탄소에 37°C 조건에서 24시간 배양하였다.

*Streptococcus mutans*와 *Klebsiella pneumoniae*는 Muller Hinton medium(2.0 g beef extract powder, 17.5g acid digest of casein, 1.5 g soluble starch, 1L 증류수)을 사용하여 37°C에서 24시간 배양하였다.

4. 항균성 실험

1) Disc법을 이용한 조사

증식된 미생물들을 Brain heart infusion(BHI: Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) 액체배지와 agar(DUCHEFA BIOCHEMI, Netherlands)가 첨가된 BHI 한천배지를 이용하였다. BHI 한천배지 위에 균을 plating한 후, 직경 6mm disc를 놓고 실험물질 50 μ l를 첨가하여 24시간 배양하였다. *Haemophilus actinomycetemitans*는 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였으며, *Streptococcus mutans*와 *Klebsiella pneumoniae*는 37°C 배양기에 배양하였다.

2) 미생물 최소억제농도 측정

각 실험 균주에 대한 *Hamamelis virginiana* 추출물의 최소억제농도(minimum inhibitory concentration; MIC)를 측정하기 위하여, *Hamamelis virginiana* 추출물을 BHI 액체배지를 가지고 10가지 농도별(1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512) 희석하여 접종한 후 24시간 배양하여 어느 농도에서부터 성장이 억제되었는가를 조사하였다. 접종 24시간 후 육안적으로 관찰하여 균이 발견되지 않는 실험 물질의 최소농도를 MIC로 결정하였다. 접종한 균주량을 조사하기 위하여, 실험에 사용한 동량의 배양균액을 BHI 한천배지에 10⁰~10⁻⁵으로 희석하여 접종하고 24시간 배양 후 콜로니 수를 측정하였다.

3) 미생물 최소 살균농도 측정

각 실험 균주에 대한 *Hamamelis virginiana* 추출물의 최소살균농도(minimum bactericidal concentration; MBC)를 조사하기 위하여, 실험 물질이 MIC 이상의 농도로 처리된 각 균주 배양액을 BHI 한천배지에 접종시키고, 24시간 배양하였다. BHI 한천배지에 배양 후 접종한 균이 완전히 사멸된 실험 물질의 최소농도를 MBC로 결정하였다.

III. 실험결과

1. Disc법을 이용한 항균성 조사

BHI 한천배지에 실험 균주를 접종하고 직경 6mm disc를 올려놓고 실험 물질인 *Hamamelis virginiana* 추출 원액을 50 μ l를 disc에 처리하여 24시간 배양한 결과 모든 실험 균주에 대한 항균성을 나타내었다.

결과 사진에서 보여 지는 바와 같이, 각 균의 콜로니가 균일하고 단일한 형태를 나타내는 것으로 보아 다른 균에 의한 오염은 없었던 것으로 판단된다(Fig. 1,2,3).

2. 미생물 최소억제농도(MIC) 측정을 통한 항균성 조사(Table 1)

*Haemophilus actinomycetemitans*는 BHI 액체배지에 8.2 \times 10⁵와 6.6 \times 10⁵cfu/ml를 50 μ l 접종하여 37°C,



Fig. 1. Antimicrobial activity of *Hamamelis virginiana* extracts against *Haemophilus actinomycetemcomitans*

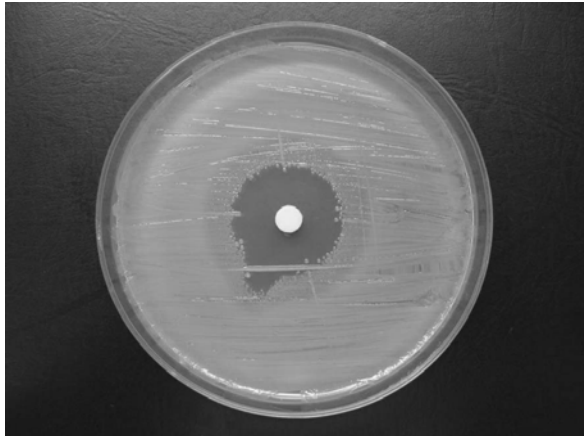


Fig. 2. Antimicrobial activity of *Hamamelis virginiana* extracts against *Streptococcus mutans*

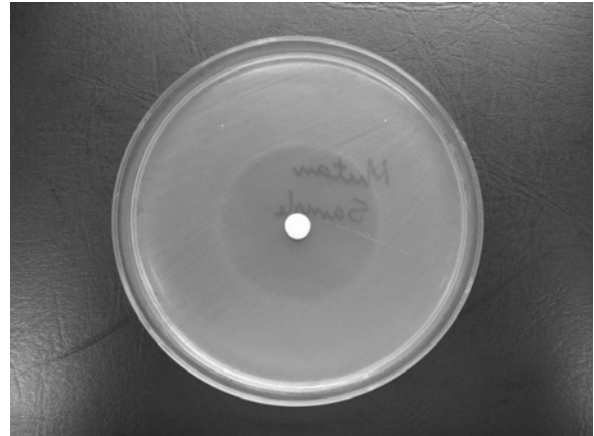


Fig. 3. Antimicrobial activity of *Hamamelis virginiana* extracts against *Klebsiella pneumoniae*

5% CO₂ 배양기에서 24시간 배양하였을 때, *Hamamelis virginiana* 추출물의 MIC는 7.8 μ l/ml이었다.

*Streptococcus mutans*와 *Klebsiella pneumoniae*는 BHI 액체배지에 1.6 \times 10⁵cfu/ml를 50 μ l 접종하고 37 $^{\circ}$ C 배양기에 24시간 배양하였을 때, *Hamamelis virginiana* 추출물의 MIC는 15.6 μ l/ml이었다.

3. 미생물 최소살균농도(MBC) 측정을 통한 항균성 조사(Table 1)

Hamamelis virginiana 추출물의 실험 균주들에 대한 MBC를 조사하기 위하여, MIC 이상의 농도로 처리한 배양균들을 BHI 한천배지에 접종하여 24시간 배양하였다. 배양 후 콜로니(colony) 생성 유무로 실험 물질의 완전히 실험 균주를 사멸시키는 최소농도를 조사하였다.

Hamamelis virginiana 추출물의 *Haemophilus*

*actinomycetemitans*에 대한 MBC는 7.8 μ l/ml이었다. *Streptococcus mutans*와 *Klebsiella pneumoniae*는 15.6 μ l/ml 농도에서 완전히 사멸시켰다.

IV. 총괄 및 고찰

*Hamamelis virginiana*의 잎과 나무껍질에서는 수증기 증류 방식으로 휘발성 성분인 ‘volatile fraction’을 추출할 수 있다. 이들 휘발성 성분은 alkanes, alkenes, aliphatic alcohols, aldehydes, ketones, fatty acid esters 등의 유기화합물로 구성되어 있으며, 이것은 일종의 정유(essential oil)의 휘발성 성분으로,¹⁸⁻²⁰⁾ 이렇게 추출된 정유는 광범위한 미생물에 대한 항균 효과가 있는 것으로 보고되고 있다.^{11,12,21,22)}

이에 본 연구에서는 미생물 중 치과 질환과 관련이 깊은 치아우식증과 치주질환 및 구취유발 원인균들에 대한 *Hamamelis virginiana*의 항균 효과를 관찰

Table 1. The Minimum Inhibitory Concentration(MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration(MBC) of *Hamamelis virginiana* against Various Microorganisms

	<i>S. mutans</i>	<i>H. actinomycetemcomitans</i>	<i>K. pneumoniae</i>
MIC	15.6	7.8	15.6
MBC	31.2	7.8	15.6

Unit of MIC and MBC : μ l/mL,

Inoculation bacteria number : 5,000~50,000 cfu

하였다. disc법은 항균성의 유무를 모니터링하기 위한 수단으로 수행하였으며, 여기서 항균성이 확인되면 최소억제농도(MIC), 최소살균농도(MBC) 측정을 통해 더 정확하게 수치화하고자, 투명대(clear zone)의 크기 측정을 통한 각 균주들의 감수성 시험(sensitivity test)은 생략하였다. 투명대 크기 측정을 통한 균주들의 감수성 시험 결과는 균주의 활성화, 콜로니(colony)의 양과 밀집도에 대한 상대적 영향을 받을 가능성이 있어서, 항균성이 확인된 경우, 최소억제농도(MIC), 최소살균농도(MBC)를 통하여 각 농도와 항균력의 수치화를 가려내어, 자료의 신뢰성을 보다 높이고자 하였다.

먼저, *Hamamelis virginiana* 추출물은 치아우식증의 대표적인 원인균인 *S. mutans*의 성장을 억제하였다. 이들 균에 대한 *Hamamelis virginiana*의 MIC는 $15.6\mu\text{L}/\text{mL}$ 이었다. *Hamamelis virginiana* 추출물에 노출된 실험 균주들을 BHI 한천배지에 도말하여 생균수를 측정함으로써 *Hamamelis virginiana* 추출물이 살균 작용을 하는지 관찰한 결과에서도 *S. mutans*는 *Hamamelis virginiana* 추출물에 사멸되었으며 MBC는 각각 $31.2\mu\text{L}/\text{mL}$ 로 결정되었다. 이러한 결과는 *Hamamelis virginiana* 추출물이 *S. mutans*에 대한 항균력을 가짐으로써 치아우식증 예방 목적으로 사용하고자 할 때, 추출된 정유를 각종 구강 질환 예방 및 치료용 의약품이나 치약과 같은 의약보조제 개발에 사용될 수 있는 가능성을 보여주었다.

또, 급진성 치주염에 관련이 깊다고 알려져 있는 *H. actinomycetemcomitans*²³⁾는 *Hamamelis virginiana* 추출물에 민감성을 나타내었는데, 본 연구에서 MIC와 MBC는 모두 $7.8\mu\text{L}/\text{mL}$, $7.8\mu\text{L}/\text{mL}$ 로 *S. mutans*에 대한 항균 효과보다 높게 나타났다. 국소성 급진성 치주염은 청소년기에 급속한 치주조직의 파괴가 야기되어 일찍이 치아 상실을 가져오으로써 환자의 삶의 질에 커다란 영향을 미칠 수 있는 구강 질환으로, *H. actinomycetemcomitans*는 치은연하치태에 높은 비율로 존재하고 백혈구 독소와 같은 강한 독성인자를 생산하고 있으며 질환이 진행되고 있는 환자의 몸에서는 이 균에 대한 항체역가가 증가되거나 성공적인 치주치료 후에는 출현빈도와 항체역가가 감소하면서 증상이 사라지는 사실로 보아, *H. actinomycetemcomitans* 균에 대한 *Hamamelis virginiana* 추출물의 항균력이 있는 결과는 periodontal prophylaxis에 있어서 국소적 도포 등으로 이용 가능하리라 생각되어진다.

치주질환을 일으키는 세균들은 대부분 구취를 유발하는데, 이와 더불어 일부 구강 내 혐기성 미생물들 중, 구취를 유발하는 세균들의 증식은 음식물 중 단백질, 펩타이드 및 아미노산을 분해하여, 구취로 인식하게 되는 황화수소(hydrogen sulfide; H_2S), 메틸 머캡탄(methyl mercaptan; CH_3SH) 등의 휘발성 황화합물과 butylate, propionate, valerate 등의 휘발성 지방산들을 방출한다. *Klebsiella pneumoniae*는 대표적인 구취 유발균으로 알려져 있으며, 본 연구에서는 이 균주들에 대한 항균 실험도 시행하였고, 그 결과 *Hamamelis virginiana* 추출물은 *K. pneumoniae*에서 MIC $15.6\mu\text{L}/\text{mL}$ 과 MBC $15.6\mu\text{L}/\text{mL}$ 을 보이는 항균 효과를 나타내었다. 이로써 치은연하치태에서 존재하며 휘발성 황화합물의 생성에 관여하여 구취를 일으키는 것으로 알려진 그람음성 혐기성균인 *K. pneumoniae*의 항균 효과는 구취 제거를 위한 구강양치액 개발에 큰 의미를 가진다고 사료된다.

본 연구에서는 *Hamamelis virginiana* 추출물의 구강 미생물에 대한 항균력이 구체적으로 어떤 성분에 의해 어떤 기전으로 항균 효과를 나타내었는지는 알 수 없었지만, 식물들의 방어 기작의 산물인 정유의 효능 중의 하나라고 여겨진다. 그동안 정유의 항균성에 대하여는 여러 보고가 있었으며 일반적으로 그람음성세균보다는 그람양성세균에 대해 효과가 큰 것으로 알려져 왔는데,^{24,25)} 이는 그람음성세균인 경우 외막(outer membrane)에 있는 다당체가 친수성인데 반해 정유는 소수성이기 때문에, 정유에 비교적 저항적인 것으로 보고 있다.²⁶⁾ 그러나 이와 다르게 구강 세균의 경우는 *S. mutans* 같은 치아우식증 관련 그람양성의 통성 또는 혐기성 세균보다, 치주질환 관련 *H. actinomycetemcomitans* 같은 그람음성 혐기성 세균이 정유에 대해 감수성이 높은 것으로 보고되기도 한다.^{11,13,27)} 이것은 본 실험 및 결과에서도 *Hamamelis virginiana* 추출물에 대한 *S. mutans*와 *H. actinomycetemcomitans*의 MIC는 각각 $15.6\mu\text{L}/\text{mL}$, $7.8\mu\text{L}/\text{mL}$ 그리고 MBC는 각각 $31.2\mu\text{L}/\text{mL}$, $7.8\mu\text{L}/\text{mL}$ 로서 *H. actinomycetemcomitans*에 대한 감수성이 더 높게 나타난 것에도 일치한다. 그러나 정유의 항균 효과는 그람 염색성과 관계없이 세균종이나 균주에 따라 달라질 수도 있고,^{28,29)} 정유의 종류, 또는 같은 정유라 하더라도 원산지나 원료, 추출기술에 따라서도 달라질 수 있다는 것도 고려해 볼 때, 보다 체계적인 연구가 이루어져야 할 것이다.

본 연구 결과, *Hamamelis virginiana*의 항균력은

구강 감염 질환에 중요한 다양한 병원균에 모두 유효하게 작용하며, *Hamamelis virginiana*를 이용한 직접적인 살균 작용까지도 보여주었기에, 구강 질환을 일으키는 병원균에 대한 직접적인 항균 작용을 기대할 수 있는 항균제 개발이 가능할 것으로 보인다. 그리고 화학적 합성물질로 이루어진 항균제의 장기간 사용으로 인해 발생할 수 있는 구강생태계 환경의 변화로 인한 균형 파괴, 저항균주의 출현^{6-8,30} 등의 문제점을 줄여줄 수 있는 가능성의 천연항균제¹⁰의 개발에 *Hamamelis virginiana*를 사용함으로써 직접적인 항균 효과를 기대하는 방법도 가능해질 것으로 생각된다. 향후 본 연구에서 관찰된 유효 농도를 세분화하여 *Hamamelis virginiana*의 항균 및 항염증 기전 등의 추가적인 연구를 시행하고, 인체에 사용을 가능하게 하기 위해 동물실험을 통한 안전성 검사, 독성 검사와 임상 검사를 거친다면, 천연물질의 장점을 살린 인체에 부작용이 적은 항균제의 개발에 도움이 될 것으로 사료된다.

V. 결 론

최근 천연추출물의 활용성에 대한 이해가 넓어지고 연구가 활성화되면서 결과물의 이용 방안을 다양하게 모색하고 있다. 본 연구는 *Hamamelis virginiana*(Witch hazel)를 치의학 분야에 활용하고자 치아우식증의 원인균인 *Streptococcus mutans*, 급진성 치주염에 관련된 *Haemophilus actinomycetemcomitans*(*A. actinomycetemcomitans*), 구취 및 치주염에 관련된 *Klebsiella pneumoniae*에 대한 항균 효과를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. *Streptococcus mutans*에 대한 *Hamamelis virginiana* 추출물의 항균력으로 15.6 $\mu\text{l}/\text{mL}$ 의 최소억제농도(MIC), 31.2 $\mu\text{l}/\text{mL}$ 의 최소살균농도(MBC)를 갖는 항균력을 나타내었다.
2. *Haemophilus actinomycetemcomitans*에 대한 *Hamamelis virginiana*추출물의 항균력으로 7.8 $\mu\text{l}/\text{mL}$ 의 MIC, 7.8 $\mu\text{l}/\text{mL}$ 의 MBC를 갖는 항균력을 나타내었다.
3. *Klebsiella pneumoniae*에 대한 *Hamamelis virginiana* 추출물의 항균력으로 15.6 $\mu\text{l}/\text{mL}$ 의 MIC, 15.6 $\mu\text{l}/\text{mL}$ 의 MBC를 갖는 항균력을 나타내었다.

그러므로 본 연구는 천연물질인 *Hamamelis virginiana* 추출물이 구취 및 구강질환 유발균에 대한 항균 효과를 나타내었으며, 향후 본 연구에서 관찰된 유효 농도를 세분화하여 *Hamamelis virginiana*의 항균 및 항염증 기전 등의 추가적인 연구를 시행하고 독성 검사와 임상 검사를 거친다면, 천연물질의 장점을 살린 인체에 부작용이 적은 항균제의 개발에 도움이 될 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Elizabeth Peninisi. A mouthful of microbes. Science 2005;307:1899-1901.
2. Carranza FA, Newman MG. Clinical periodontology. 8th ed., 1996, W.B. Saunders, pp. 84-103.
3. 문혁수, 백대일, 김종배. 지역사회 구강보건현황실습. 1st ed., 서울, 1996, 고문사, pp. 24.
4. 허혜영, 신승철, 조자원, 박광식. 성인에서 구취상태와 요인들간의 상관관계에 관한 연구. 대한구강보건학회지 2005;29(3):368-384.
5. 안정엽, 이성숙, 강하영. 편백(*Chanaecyparis obtusa*) 정유의 항균, 항염, 항산화 효과. J Soc Cosmet Scientists Korea 2004;30(4):503-507.
6. Adolfsson Erics M, Pettersson M, Parkkonen J, Sturve J. Triclosan, a commonly used bactericide found in human milk and in the aquatic environment in Sweden. Chemosphere 2002;46(9-10):1485-1489.
7. Rule KL, Ebbett VR, Vikesland PJ. Formation of chloroform and chlorinated organs by free-chlorine-mediated oxidation of triclosan. Environ Sci Technol 2005;39(9):3176-3186.
8. Furia TE, Schenkel AG. A new, broad-spectrum, bacteriostat. Soap Chem Specialties 1968;44:47-50, 116-122.
9. McBain AJ, Bartolo RG, Catrenich CE, Charbonneau D, Ledder RG, Gillbert P. Effects of triclosan-containing rinse on the dynamics and antimicrobial susceptibility of in vitro plaque ecosystems. Antimicrob Agents Chemother 2003a;47(11):3531-3538.
10. 조미희, 배은경, 하상도, 박지용. 천연항균제의 식품산업에의 응용. 식품과학과 산업 2005;38(2):36-40.
11. 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.
12. Murray, Patrick R. Manual of Clinical Microbiology. 4th ed., Washington DC, 1985, American Society for

- Microbiology, pp. 1000-1008.
13. Alviano WS, Mendonca-Filho RR, Alviano DS. Antimicrobial activity of Croton cajucara Benth Linalool-rich essential oil on artificial biofilms and planktonic microorganism. *Oral Microbiol Immunol* 2005;20:101-105.
 14. Cha JD, Jeong MR, Jeong SI. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Artemisia scoparia* and *A. capillaris*. *Planta Med* 2005;71:186-190.
 15. 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.
 16. Schultz H, Albroseheit G. High-performance liquid chromatographic characterization of some medical plant extracts used in cosmetic formulas. *J chromatogr* 1988;17:353-361.
 17. Iauk L, A. M. Lo Bue, I. Milazzo, A. Rapisarda, G. Blandino. Antibacterial activity of medicinal plant extract against periodontopathic bacteria. *Phytotherapy Research* 2003;17:599-604.
 18. Engel R, Gutmann M, Hartisch C, Nahrstedt A. Study on the composition of the volatile fraction of *Hamamelis virginiana*. *Planta Med* 1998;64(3): 251-258.
 19. 강하영. 수목 추출 성분의 생화학적 역할. *목재공학* 1994;22(1).
 20. Whittaker RH, Feeny PP. Allelochemicals, chemical interactions between species. *Science* 1971;171:757.
 21. Rudman P. The causes of natural durability in timber, the antifungal activity heartwood extractives in wood substrate. *Holzforchung* 1962;16:74.
 22. 강하영, 오중환. 침엽수 침엽 정유의 방향성 이용적성. *임업연보* 1994;49: 177.
 23. Henderson B, Nair SP, Ward JM, Wilson M. Molecular pathogenicity of the oral opportunistic pathogen *A. actinomycetemcomitans*. *Annu Rev Microbiol* 2003;57:29-55.
 24. 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.
 25. Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L. Antibacterial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Lett Appl Microbiol* 1998;26:118-122.
 26. Mann CM, Cox SD, Markham JL. The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCT6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Lett Appl Microbiol* 2000;30:294-297.
 27. 김종철, 정치중, 박근영, 이진용. 구강미생물에 대한 essential oil의 항균 효과. *경희치대논문집* 2003;25: 47-64.
 28. 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. *Phamazie* 1999;54:460-463.
 29. Imai H, Osawa K, Yasuda H, Hamashima H, Arai T, Sasatsu M. Inhibition between the essential oils of peppermint and spearmint of the growth of pathogenic bacteria. *Microbios* 2001;106(Suppl.1): 31-39.
 30. McBain AJ, Bartolo RG, Catrenich CE, Charbonneau D, Ledder RG, Gillbert P. Exposure of sink drain microcosmos to triclosan: population dynamics and antimicrobial susceptibility. *Appl Environ Microbiol* 2003b;69(9): 5433-5442.

- ABSTRACT -

The Anti-Bacterial Effect of Witch Hazel(*Hamamelis virginiana*) on Oral Pathogens

Seong-Yong Ryu¹, D.D.S.,M.S.D., Hyung-Joon Ahn¹, D.D.S.,M.S.D.,Ph.D.,
Jeong-Seung Kwon¹, D.D.S.,M.S.D., Ju-Hyun Park¹, D.D.S.,
Jae-Young Kim², Ph.D., Jong-Hoon Choi¹, D.D.S.,M.S.D.,Ph.D.

Department of Oral Medicine, College of Dentistry, Yonsei University¹
GRRC, Songsim Campus, Catholic University of Korea²

An ideal anti-bacterial medication for oral infection requires selective effect on pathogens causing dental caries and periodontal disease but not on normal flora. In addition, it should be less toxic for human and even for environment. This study was to seek such a natural anti-bacterial medication and thus anti-bacterial effect of *Hamamelis virginiana* was evaluated. Many recent researches on the anti-bacterial effect of natural plant extract and essential oil have reported that natural products can be used as medication for prevention and restraintment of dental caries, halitosis and periodontitis. It has been also reported that *Hamamelis virginiana* has anti-bacterial effect on *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Veilonella parvula*, *Eikenella corrodens*, *Peptostreptococcus micros*, and *Actinomyces odontolyticus*. This study evaluated anti-bacterial effect of *Hamamelis virginiana* on *Streptococcus mutans*, *Haemophilus actinomycetemcomitans*, and *Klebsiella pneumoniae* to expand its anti-bacterial effect on other important oral pathogens and eventually to develop its oral care products or apply to clinical purpose.

In this study, anti-bacterial tests for antibiotic disk susceptibility, minimal inhibitory concentration and minimal bactericidal concentration were performed to evaluate anti-bacterial effect of *Hamamelis virginiana* against *Streptococcus mutans*, *Haemophilus actinomycetemcomitans*, and *Klebsiella pneumoniae*. The results showed that *Hamamelis virginiana* has anti-bacterial effect on all pathogen strains tested in this study and furthermore *Hamamelis virginiana* possesses bactericidal effect other than bacteriostatic effect on *Streptococcus mutans*, *Haemophilus actinomycetemcomitans*, *Klebsiella pneumoniae*. This study indicates that a natural anti-bacterial medication for oral diseases can be developed using *Hamamelis virginiana*.

Key words : Anti-bacterial effect, *Hamamelis virginiana*
