

## 우슬 추출물의 *Clostridium difficile*에 대한 항균 효과

정선미 · 최수임 · 박상민 · 허태련\*

인하대학교 생물공학과

### Antimicrobial Effect of *Achyranthes japonica* Nakai Extracts against *Clostridium difficile*

Sun-Mi Jung, Soo-Im Choi, Sang-Min Park, and Tae-Ryeon Heo\*

Department of Biological Engineering, Inha University

**Abstract** In this study, the ethanolic extracts of 40 species of traditional herbal medicines were examined for their antimicrobial activities against *Clostridium difficile*. Among the 43 screened traditional herbal medicines, *Achyranthes japonica* Nakai (AJN), *Siegesbeckia glabrescens* Makino, and *Phelloedendron amurense* Ruprecht showed antimicrobial activities greater than 90% at a concentration of 500 ppm. According to the minimum inhibitory concentration (MIC) test, the ethyl acetate soluble fraction of the AJN ethanolic extracts (AJNEA) showed the highest growth inhibitory activity against *C. difficile*, with a MIC of 625 µg/mL. In addition, the effect of AJNEA on the growth of lactic acid bacteria was investigated. AJNEA did not inhibit the growth of the tested *Bifidobacterium* spp. or *Lactobacillus* spp., with the exception of *B. longum*, *Streptococcus thermophilus*, and *L. helveticus*. These results indicate that AJNEA can be utilized as a potential antimicrobial agent against *C. difficile* related disease.

**Key words:** *Achyranthes japonica* Nakai, antimicrobial effect, lactic acid bacteria, *Clostridium difficile*, minimum inhibitory concentration

## 서 론

*Clostridium difficile*은 혐기성 아포 형성 그람양성균의 중요한 병원균이다. 우리나라에서는 1997년 위막성대장염(pseudomembranous colitis) 환자에게서 *C. difficile*의 toxin이 발견되면서 항생제 성 대장염의 원인이 밝혀졌고, 특히, 생후 1개월 이내의 신생아에게서 많이 발견된다(1,2). *C. difficile*의 주요 감염원인은 ampicillin, amoxicillin, cephalosporins, clindamycin 등을 포함한 광범위한 항생제의 사용에 의한 것으로 이들은 *C. difficile*의 과증식을 유도한다. 증식된 *C. difficile*은 대장 내에 존재하는 유익균을 억제하며 대장점막에 염증을 유도하고, 항생제유발설사(antibiotic-associated diarrhea)와 위막성대장염, *C. difficile*에 의한 설사(*C. difficile*-associated diarrhea: CDAD) 질환을 유발시킨다(3-5). *C. difficile*는 병독성인자로서 장독소(enterotoxin)인 toxin A와 세포독소(cytotoxin)인 toxin B를 생산하여 설사와 장염을 일으키는데(6-8), 이 중 toxin A는 인체 대장 내 상피세포를 자극하는데 관여한다(9,10). 특히, CDAD는 일반적으로 vancomycin이나 metronidazole 항생제를 사용하여 일차적으로 치료하는데 이들 항생제의 투여에 의한 재발률이 크게 급증하고 있어 항생제를 대체할 수 있는 새로운 치료제제로서의 천연소재 개발이 시급히 요구되

는 실정이다.

우슬(*Achyranthes japonica* Nakai, AJN)은 쇠무릎(*Achyranthes bidentate* 또는 *Achyranthes fauriei*)의 뿌리로 한국, 중국, 일본 등의 아시아 지역에 광범위하게 분포하는 다년초 식물로 비름과(Amaranthaceae)에 속한다. 한방에서 이뇨, 진통, 소중, 구어혈 등의 치료에 사용되고 있으며, 항염증, 항암작용, 간보호, 항산화 등의 생물학적 활성도 보고되고 있다(11-13). 우슬의 활성성분으로는 oleanolic acid, saponin, metamorphosis hormone, inokosterone, ecdysone, polysaccharide, 20-hydroxyecdysone, steroid 계열인  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, rubrosterone 등이 보고되어 있다(14,15).

본 연구에서는 문헌조사를 통해 항염증 및 항균 효과가 알려진 40여 가지의 생약재를 선정하여 대장염의 원인균인 *C. difficile*에 대한 항균활성을 조사하였고, 가장 높은 항균활성을 나타낸 우슬에 대하여 *C. difficile*에 대한 성장 억제 활성을 측정하였다. 또한 장내 유익균인 유산균의 생육에 미치는 영향을 조사함으로써 새로운 *C. difficile* 치료제 또는 기능성 소재로서의 개발 가능성을 확인하였기에 보고하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용한 40여 가지의 생약재는 서울 경동시장 약재상가에서 구입하였으며, 건조 및 마쇄하여 시료로 사용하였다. 시료 추출에 사용한 용매는 일급 또는 특급을 사용하였다. 항생제로는 CJ 제약(Seoul, Korea)의 vancomycin-HCl을 구입하여 대조균으로 사용하였다.

\*Corresponding author: Tae-Ryeon Heo, Department of Biological Engineering, Inha University, Yonghyun-dong 253, Nam-gu, Incheon, 402-751, Korea  
Tel: 82-32-860-7511  
Fax: 82-32-872-4046  
E-mail: theo@inha.ac.kr

Received June 25, 2007; accepted September 8, 2007

### 사용균주 및 배지

본 실험에 사용한 *C. difficile* ATCC 9689는 한국미생물보존센터(KCCM, Seoul, Korea)에서 분양받아 사용하였다. 유산균은 본 실험실에서 보유하고 있던 *Bifidobacterium adolescentis* ATCC 15703, *B. bifidum* ATCC 29521, *B. breve* ATCC 15700, *B. infantis* ATCC 15697, *B. longum* ATCC 15707, *Lactobacillus brevis* ATCC 14869, *L. bulgaricus* CH-2, *L. helveticus* ATCC 15009와 Denmark의 C.H.R. Hansen's 실험실에서 분양 받은 *Staphylococcus thermophilus* KCTC 21185, KCCM에서 분양받은 *L. acidophilus* ATCC 4356, *L. rhamnosus* GG IFO 3863을 사용하였다. *C. difficile*의 전배양 및 본배양을 위한 생육배지는 reinforced clostridial medium(RCM) 액체배지(Difco, Detroit, MI, USA)를 사용하였으며, 평판배지로 brucella agar with hemin/vitamin K1(BA, Sigma, St. Louis, MO, USA)을 사용하였다. *Bifidobacterium* spp.는 trypticase-proteose peptone-yeast extract(TPY) 액체배지를 사용하였고, *Lactobacillus* spp.는 Lactobacilli MRS broth(Difco)를 사용하였다.

### 시료 추출 및 분획

각각의 시료 50 g에 10배 용량의 95% 에탄올을 가하여 침지한 뒤, 24시간 동안 정지추출하고, 이를 총 3회 반복하여 추출하였다. 추출액은 여과지(Whatman No. 2, Whatman Ltd., Kent, UK)를 사용하여 여과하였고, 감압농축기(EYELA, Tokyo, Japan)를 사용하여 감압 농축한 후 건조하여 냉동 보관하면서 활성 검증을 위한 에탄올 추출물 시료로 사용하였다. 이 에탄올 조추출물(44.67 g)을 증류수에 현탁시킨 후 *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol 및 water 순으로 분획을 실시하였고, 얻어진 각각의 분획은 감압 농축한 후 건조하여 시료로 사용하였다. 에탄올 추출물로부터 얻어진 각각의 용매별 분획물의 함량은 핵산총 0.4 g, 클로로포름층 0.9 g, 에틸아세테이트층 1.2 g, 부탄올층 1.5 g, 물층 19.5 g이었다.

### 생약재 추출물의 *C. difficile*에 대한 생육억제 활성

*C. difficile*에 대한 생약재 추출물의 항균활성은 다음 2가지 방법으로 실시하였다.

**액체배지희석법:** 활성화된 균액을 optical density(O.D.) 값이 0.3이 되도록 희석하여 RCM 액체배지에 1% 접종하였다. Membrane syringe filter(0.45 µm, Millipore Co., Bedford, MA, USA)로 제균한 추출물을 10 mL RCM broth 배지에 첨가하였다. *C. difficile*을 12시간 배양한 후, O.D.(600 nm) 값을 측정하였고 생장억제 효과는 다음과 같은 식에 의하여 산출하였다. 이때 blank는 각 시료만 첨가하고, 균액을 접종하지 않은 것으로 하였다(16).

$$C. \text{difficile} \text{에 대한 생육억제 활성}(\%) = \frac{[(\text{Control} - \text{Control blank}) - (\text{Treatment} - \text{Treatment blank})]}{(\text{Control} - \text{Control blank})} \times 100$$

*C. difficile*에 대한 우슬 추출물의 최소저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC)는 액체배지희석법에 의하여 측정하였다. 각각의 시료를 첨가하여 배양된 액체배지로부터 500 µL씩 취해서 agar plate에 접종한 후 균의 생육을 확인하였고, 균이 생성되지 않은 최소 농도를 MIC로 하였다.

**Disc법:** BA 평판 배지에 활성화된 균액을 O.D.가 0.3이 되도록 희석하여 100 µL 도말 후 membrane syringe filter로 제균한

시료를 원통에 100 µL 흡수시켰다. 37°C incubator에서 12-24시간 배양 후 원통(직경 7 mm) 주위에 형성된 억제환의 크기에 따라 항균활성을 비교하였다(17).

### 우슬 추출물의 유산균에 대한 생육 증식 효과

유산균에 대한 증식활성은 각각의 유산균을 10 mL TPY 또는 MRS 액체배지에 1% 접종하고 우슬의 에틸아세테이트분획물을 membrane syringe filter로 제균한 후 500 ppm의 농도로 처리하여 37°C incubator에서 18시간 배양한 후 O.D.(600 nm)를 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 생약재 에탄올 추출물의 항균활성

40여종의 생약재 에탄올 추출물의 *C. difficile*에 대한 항균 활성을 검색한 결과, 우슬(*Achyranthes japonica* Nakai, AJN), 희침(*Siegesbeckia glabrescens* Makino), 황백(*Phelloendron amurense* Ruprecht)은 1,000 ppm 농도에서 90% 이상의 높은 활성을 보였고, 지각(*Citrus aurantium* L.), 길경(*Platycodon grandiflorum* ADC) 등은 50% 이상의 활성을 나타내었으며, 위령선(*Clematis mandshurica* Rupr), 산사(*Crataegus pinnatifida* Bunge), 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer), 금은화(*Lonicera japonica* Thunberg) 등은 *C. difficile*에 대한 항균활성을 보이지 않았다(Table 1). 각각의 추출물은 *C. difficile*에 대하여 12시간 배양하였을 때 가장 높은 항균효과를 나타내었다(data not shown). Cai 등(18)은 *Staphylococcus aureus*와 *Escherichia coli* O157:H7에 대한 우슬, 목단피, 지실, 황백 등의 항균 활성을 보고하였고, Park 등(19)은 황백 추출물의 *L. plantarum* 및 *Leuconostoc mesenteroides*에 대한 항균 효과를 보고한 바 있다. 그러나 우슬, 황백 및 희침의 *C. difficile*에 대한 생육 억제 활성에 대한 연구는 보고된 바 없어, 이들의 CDAD 관련 치료제로서의 개발 가능성을 확인하였고, 가장 높은 항균활성을 나타낸 우슬추출물을 최종 시료로서 사용하였다.

### 생약재 에탄올 추출물의 용매분획별 항균활성

항균활성이 우수한 우슬, 희침, 황백의 에탄올 추출물에 대하여 극성에 따른 용매분획을 실시하였다. 각각의 분리된 분획물(500 ppm)에 대하여 액체배지희석법에 의해 *C. difficile*에 대한 생육억제활성을 측정된 결과(Fig. 1), 우슬 에틸아세테이트분획물에서 95%로 가장 높은 항균력을 나타냈으며, 희침의 클로로포름분획물에서는 80% 이상을 나타내었다. 황백은 핵산분획물을 제외한 나머지 용매 분획물에서 60% 이상의 활성을 나타내었으나 물 분획물에서는 활성을 보이지 않았다. 따라서 우슬 에틸아세테이트분획물을 *C. difficile*에 대한 최종 항균활성시료로 선정하였다.

### 우슬 에틸아세테이트분획물의 농도별 항균활성

우슬 에틸아세테이트분획물의 첨가농도에 따른 항균활성을 측정된 결과 2가지 방법에서 모두 농도 의존적으로 높은 항균활성을 나타내었으며(Table 2), 500 ppm의 농도에서는 현재 CDAD 치료에 사용되고 있는 vancomycin(12.5 ppm, 98.4%)과 유사한 항균 활성(96.8%)을 나타내었고, 이때 액체배지희석법에 의한 MIC는 625 µg/mL였다. Vancomycin은 그람양성균과 관련된 경험적 치료에 사용되는데 *Staphylococcus*에 의한 소장결장염이나 항생제의 사용과 관련이 있는 *C. difficile*에 의한 위막성대장염에 사용되고 있다. 본 연구에 사용된 vancomycin의 유효최저혈청농도는 5-12 µg/mL이고, 유효최고혈청농도는 25-40 µg/mL로 이 농도를 기준으로 12.5 µg/mL을 처리 농도를 하였다. Kim 등(14)은 우슬이

**Table 1. Screening of antimicrobial activity of herbal plant extracts against *Clostridium difficile*. Each ethanolic extracts of herbal medicines was treated at 1,000 ppm in RCM broth as final concentration**

Botanical origin	Scientific name	Family name	Used part <sup>a</sup>	Inhibitory activity (%)
Achyranthes radix	<i>Achyranthes japonica</i> Nakai	Amaranthaceae	Ra	98.4 ± 0.7 <sup>b</sup>
Aconitum koreanum	<i>Aconitum koreanum</i> R. Raymond	Ranunculaceae	R	- <sup>c</sup>
Acorus gramineus	<i>Acorus gramineus</i> Soland	Araceae	Rh	30.1 ± 7.8
Angelica gigantis radix	<i>Angelica gigas</i> Nakai	Umbelliferae	Ra	27.9 ± 2.8
Angelica koreanae radix	<i>Angelica koreana</i> Max.	Umbelliferae	R	-
Atractylodes rhizoma alba	<i>Atractylodes japonica</i> Koidz	Compositae	Rh	36.2 ± 6.0
Aurantii fructus	<i>Citrus aurantium</i> L.	Rutaceae	Fc	66.9 ± 9.1
Bupleurum falcatum	<i>Bupleurum falcatum</i> L.	Umbelliferae	Ra	12.4 ± 4.5
Celosiae semen	<i>Celosia arentea</i> L.	Amaranthaceae	Se	13.9 ± 9.1
Chaenomeles fructus	<i>Chaenomeles sinensis</i> Koehn	Rosaceae	Fr	13.1 ± 11.4
Clematidis radix	<i>Clematis mandshurica</i> Rupr	Ranunculaceae	R	-
Cnidium officinale	<i>Ligusticum chuansiong</i> Hort	Umbelliferae	Fr	-
Coptidis rhizoma	<i>Coptis chinensis</i> Franch	Ranunculaceae	R	27.4 ± 6.7
Corni fructus	<i>Corus officinalis</i> Sieb. et Zucc	Cornaceae	Fr	-
Crataegi fructus	<i>Crataegus pinnatifida</i> Bunge	Rosaceae	Fr	-
Cyperus rhizoma	<i>Cyperus rotundus</i> L.	Cyperaceae	Se	15.4 ± 6.7
Dictamni cortex	<i>Dictamnus dasycarpus</i> Turcz	Rutaceae	Ra	15.8 ± 9.5
Erycibeae caulis	<i>Erycibe obtusifolia</i> Benth	Convolvulaceae	C	44.9 ± 24.8
Eucommiae cortex	<i>Eucommia ulmoides</i> Oliv	Eucommiaceae	C	10.7 ± 3.8
Gastrodia elata	<i>Gastrodia elata</i> Blume	Orchidaceae	R	22.6 ± 5.4
Gentiana radix	<i>Gentiana scabra</i> Bunge	Gentianaceae	R	12.0 ± 3.3
Ginseng radix	<i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer	Araliaceae	R	-
Hoelen (Poria)	<i>Poria cocos</i> Wolf	Polyporaceae	W	13.3 ± 9.4
Kalopanax cortex	<i>Kalopanax pictus</i> Nakai	Araliaceae	C	42.4 ± 7.4
Ledebouriellae radix	<i>Ledebouriella seseloides</i> Wolff	Umbelliferae	R	59.5 ± 9.6
Ligustri lucidifolius	<i>Ligustrum lucidum</i> Aiton	Oleaceae	Fr	18.1 ± 9.0
Liriope platyphylla	<i>Liriope platyphylla</i> WANGET et TANG	Liliaceae	Fr	27.3 ± 5.7
Lonicerae flos	<i>Lonicera japonica</i> Thunberg	Caprifoliaceae	Fl	-
Mori cortex	<i>Morus alba</i> L.	Moraceae	Sb	-
Moutan radice cortex	<i>Paeonia suffruticosa</i> Andr	Paeoniaceae	C	17.0 ± 0.6
Paeoniae radix alba	<i>Paeonia lactiflora</i> Pall	Paeoniaceae	Ra	-
Phelloedendri cortex	<i>Phelloedendron amurense</i> Ruprecht	Rutaceae	R	90.0 ± 3.0
Platycodi radix	<i>Platycodon grandiflorum</i> ADC	Campanulaceae	Ra	57.6 ± 14.9
Polygoni multiflori caulis	<i>Polygonum multiflorum</i> Thunb	Polygonaceae	Ra	10.8 ± 3.6
Poncirus trifoliata	<i>Poncirus trifoliata</i> RAFIN	Rutaceae	Ra	22.1 ± 9.1
Puerariae radix	<i>Pueraria thunbergiana</i> Benth	Leguminosae	R	-
Rubi fructus	<i>Rubus coreanus</i> Miq	Rosaceae	Fr	17.1 ± 6.4
Schisandrae fructus	<i>Schisandra chinensis</i> Baill	Schisandraceae	Fr	-
Siegesbeckiae herba	<i>Siegesbeckia glabrescens</i> Makino	Compositae	L	93.9 ± 1.7
Smilacis glabrae rhizoma	<i>Smilax glabra</i> Roxb	Liliaceae	Rh	12.4 ± 6.7
Sophorae flavescentis radix	<i>Sophora flavescens</i> Ait	Leguminosae	Ra	6.3 ± 7.1
Taraxacum mongolicum hand	<i>Taraxacum platycarpum</i> H	Taraxacum	St	28.5 ± 16.4
Tetrapanax medulla	<i>Tetrapanax papyriferus</i> K.Koch	Araliaceae	St	17.7 ± 10.9

<sup>a</sup>C: cortex, Fl: flower, Fc: fruit cortex, Fr: fruit, L: leaf, R: root, Ra: radix, Rh: rhizome, Sb: stem bark, Se: seed, St: stem, T: tuber, W: wolf.

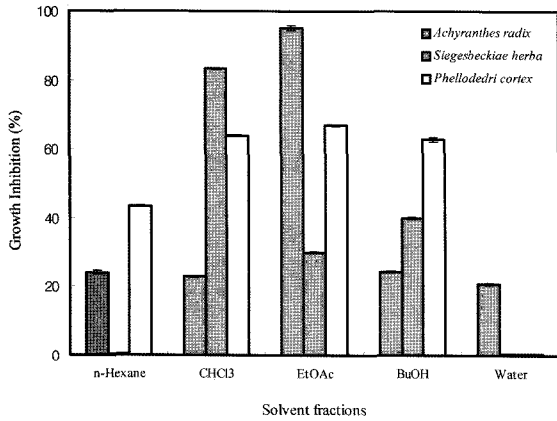
<sup>b</sup>Result was presented as mean ± S.D. (n = 4).

<sup>c</sup> -: no inhibition.

다양한 진균성 식물병해들에 대하여 항진균력을 보인다고 보고한 바 있으나 아직까지 항생제 내성균주에 대해서는 보고된 바는 없다.

우슬 에틸아세테이트 분획물의 *C. difficile*에 대한 시간에 따른 생장 저해효과

현재 CDAD의 치료를 위한 항생제 사용의 문제점을 보완하기



**Fig. 1.** Antimicrobial activity of each solvent fractionates from *Achyranthes japonica* Nakai (AJN), *Siegesbeckia glabrescens* Makino and *Phelloedendron amurense* Ruprecht ethanolic extracts against *Clostridium difficile*. *C. difficile* (0.3 at O.D. 600 nm) was inoculated into 10 mL of RCM broth containing 500 ppm of each of the filtered fractions separated from AJN, *Siegesbeckia herba* and *Phelloedendri cortex* was incubated at 37°C for 12 h.

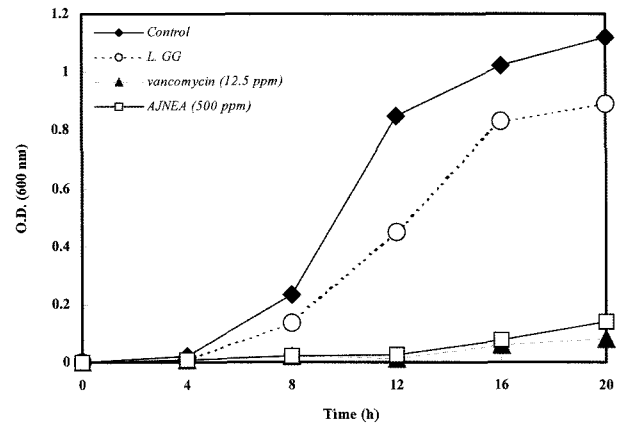
**Table 2.** Antimicrobial effect of ethyl acetate fractionates from *Achyranthes japonica* Nakai ethanolic extracts (AJNEA) with different concentrations against *Clostridium difficile*

Concentration (ppm)	Inhibition activity	
	Growth inhibition (%)	Clear zone (mm)
AJNEA 50	-	- <sup>a</sup>
100	5.69 ± 1.5	+ <sup>b</sup>
200	11.13 ± 1.3	+ <sup>c</sup>
300	22.89 ± 1.3	++ <sup>c</sup>
400	62.50 ± 1.6	++
500	96.80 ± 1.2	+++ <sup>d</sup>
Vancomycin 12.5	98.23 ± 1.2	+++

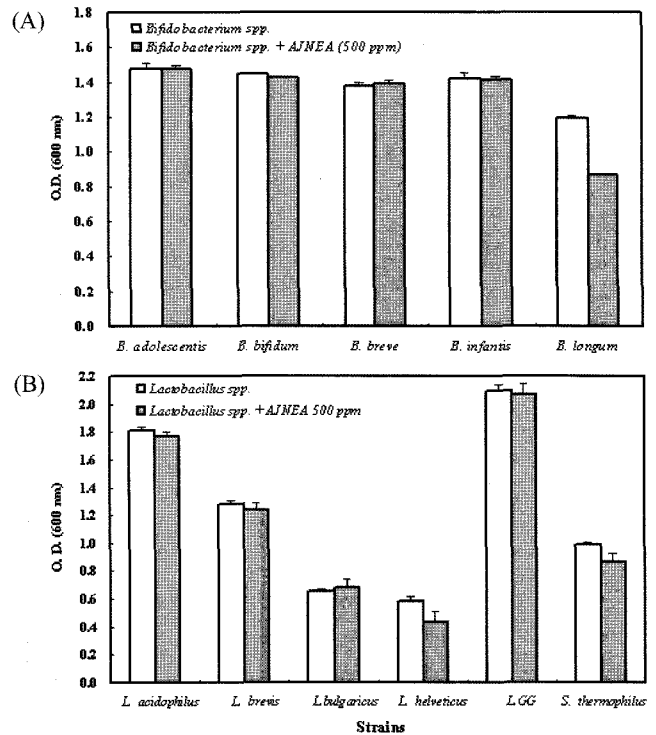
<sup>a</sup>: No antimicrobial activity, C.Z.(clear zone) of sample <10 mm.  
<sup>b</sup>: C.Z. of sample 10-13 mm.  
<sup>c</sup>: C.Z. of sample 13-16 mm.  
<sup>d</sup>: C.Z. of sample >16 mm.

위한 대체 방법으로서 probiotics 또는 yogurt가 치료제로서 이용되고 있으며(20,21), 특히 *Saccharomyces boulardii*, *L. rhamnosus* GG, *B. breve*, *B. longum*과 *L. acidophilus* 등이 항생제성 유발 실험에 예방 및 치료에 효과를 나타내는 것으로 보고되어 있다(22-24). 또한 Lee 등(25)은 유아분변으로부터 *C. difficile*에 대한 생육을 저해하는 균주를 분리하여 *B. infantis*와 *L. salivarius*로 동정한 바 있다. 이미 활성이 알려진 *L. rhamnosus* GG 균주배양액 또는 우슬 에틸아세테이트분획물 시료를 첨가하여 배양한 *C. difficile*을 20시간 배양 동안 4시간 간격으로 성장 정도를 확인한 결과(Fig. 2), 12시간까지 그 저해 활성이 가장 높았고, 20시간까지도 유지되면서 우수한 효과를 나타내었다. AJNEA(500 ppm)는 *L. rhamnosus* GG(100 ppm) 보다는 높은 생장억제 활성을 나타내었으나 vanco-mycins(12.5 ppm)과 유사한 높은 효과를 보였다.

**우슬 에틸아세테이트분획물의 유산균에 대한 생육 증식 효과**  
 우슬의 새로운 *C. difficile* 치료제 또는 기능성 소재로서의 개발 가능성을 확인하기 위해서 장내 유익 균종인 *Bifidobacterium* spp.와 *Lactobacillus* spp.의 생육에 미치는 영향을 조사하였다(Fig.



**Fig. 2.** Growth inhibitory effect of ethyl acetate fractionates from *Achyranthes japonica* Nakai ethanolic extracts (AJNEA) against *Clostridium difficile*. The control was inoculated *C. difficile* (0.3 at O.D. 600 nm) without any treat and incubated at 37°C for 20 h. Tested concentration of filtered supernatant from *Lactobacillus* spp. was 100 ppm at the final concentration.



**Fig. 3.** Growth effect of ethyl acetate fractionates from *Achyranthes japonica* Nakai ethanolic extracts (AJNEA) on *Bifidobacterium* spp. (A) and *Lactobacillus* spp. (B). These species were inoculated into 10 mL of TPY broth or MRS broth (2 %, v/v) with or without AJNEA (500 ppm) and incubated at 37°C for 12 h.

3). 우슬 에틸아세테이트분획물은 실험에 사용한 균주 중 *B. longum*(25%)을 제외한 나머지 *Bifidobacterium* spp.에 대해서는 생장에 거의 영향을 미치지 않았고, *Lactobacillus* spp. 중에는 *L. helveticus*(12.1%)와 *Streptococcus thermophilus*(25%)에 대해서 약간의 생육 저해활성을 보였다. 따라서 우슬은 이들 probiotics 균주들의 생육에는 영향을 미치지 않으면서 *C. difficile*에 대한 항균-상승효과(synergistic antimicrobial effect)를 나타낼 것으로 사료

되어 이에 대한 추가 실험을 진행 중이며, 이들 결과로부터 우슬 추출물의 CDAD 관련 질환에 대한 치료제제 또는 기능성 소재로서 활용가능성을 확인하였다.

## 요 약

본 연구에서는 대장염 유발균인 *C. difficile*에 대한 항균활성이 우수한 천연항균물질을 검색하기 위하여 40여 가지 생약재 에탄올 추출물에 대하여 *C. difficile*에 대한 생육저해활성을 측정하였다. 결과, 우슬, 희침, 황백은 1,000 ppm 농도에서 90% 이상의 높은 항균 활성을 나타내었고, 우슬 에틸아세테이트분획물(AJNEA)은 가장 높은 활성을 나타내었으며 이의 최소저해농도(MIC)는 625 µg/mL였다. 또한 기능성 소재로의 활용가능성을 확인하기 위하여 AJNEA의 유산균 생육에 미치는 영향을 조사한 결과, *B. longum*, *L. helveticus*와 *S. thermophilus*를 제외한 나머지 균주들에 대해서 생장 억제 효과를 나타내지 않았다. 이들 결과로부터 우슬 추출물은 *C. difficile* 관련 질환에 대하여 우수한 항균제제로 이용될 수 있을 것으로 확인되었다.

## 감사의 글

본 연구는 인하대 교내연구비에 의해 수행되었으며, 이에 저자는 감사드립니다.

## 문 헌

- Kelly CP, Pothoulakis C, Lamont JT. *Clostridium difficile* colitis. *New Engl. J. Med.* 330: 257-262 (1994)
- McFarland LV, Mulligan ME, Kwok RY, Stamm WE. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection. *New Engl. J. Med.* 320: 204-210 (1989)
- Bartlett JG. *Clostridium difficile*: history of its role as an enteric pathogen and the current state of knowledge about the organism. *Clin. Infect. Dis.* 18: 5265-5275 (1994)
- Cartmill TD, Panigrahi H, Worsley MA, McCann DC, Nice CN, Keith E. Management of diarrhoea due to *Clostridium difficile*. *J. Hosp. Infect.* 27: 1-15 (1994)
- Freeman J, Wilcox MH. Antibiotics and *Clostridium difficile*. *Microbes Infect.* 1: 377-384 (1999)
- Ackermann G, Loffler B, Tang-Feldman YJ, Cohen SH, Silva J, Rodloff AC. Cloning and expression of *Clostridium difficile* toxin A gene(tcdA) by PCR amplification and use of an expression vector. *Mol. Cell. Probe* 18: 271-274 (2004)
- Pothoulakis C. Effect of *Clostridium difficile* toxins on epithelial cell barrier. *Ann. NY Acad. Sci.* 915: 347-356 (2000)
- Anderson TL, McGregor A. Evaluation of the clearview *Clostridium difficile* toxin A test and various selective culture media in comparison with the cytotoxin assay for the diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea. *Pathology* 35: 244-247 (2003)
- Lyerly DM, Saum KE, Macdonald DK, Wilkins TD. Effects of *Clostridium difficile* toxins given intragastrically to animals. *Infect. Immun.* 47: 349-352 (1985)
- Lee JY, Yoon YM, Roh HC, Kim JM. Nuclear factor-kappa B activation and chemokine genes expression in HT-29 intestinal epithelial cells in response to *Clostridium difficile* toxin A stimulation. *J. Bacteriol. Virol.* 35: 217-226 (2005)
- Marcone MF, Jahaniaval F, Aliee H, Kakuda Y. Chemical characterization of *Achyranthes bidentata* seed. *Food Chem.* 81: 7-12 (2003)
- Kiso Y, Suzuki Y, Konno C, Hikino H, Hashimoto I, Yagi Y. Liver-protective drugs. 3. The viability of the oriental medicines, 38. Application of carton tetrachloride-induced liver lesion in mice for screening of liver protective crude drugs. *Shoyakugaku Zasshi* 36: 238-244 (1982)
- Shimomura H, Sashida Y, Nakata H. Plant growth regulating activities of crude drugs and medicinal plants. *Shoyakugaku Zasshi* 35: 173-179 (1981)
- Kim JC, Choi GJ, Lee SW, Kim JS, Chung KY, Cho KY. Screening extracts of *Achyranthes japonica* and *Rumex crispus* for activity against various plant pathogenic fungi and control of powdery mildew. *Pest Manag. Sci.* 60: 803-808 (2004)
- Son KH, Hwang JH, Lee SH, Park JH, Kang SJ, Chang SY, Lee KS. Isolation and quantitative determination of 20-hydroxyecdysone from *Achyranthes radix*. *Korean J. Pharmacogn.* 30: 335-339 (1999)
- Gavidson PH, Parish ME. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol.-Chicago* 43: 148-152 (1989)
- Shin DH, Kim MS, Han JS. Antimicrobial effect of ethanol extracts from some medicinal herbs and their fractionates against foodborn bacteria. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 808-816 (1997)
- Cai H, Choi SI, Lee YM, Heo TR. Antimicrobial effects of herbal medicine extracts on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 17: 537-542 (2002)
- Park MG, Jeong GS, In MJ. Effect of *Scutellaria baicalensis* and *Phellodendron amurense* extracts on growth of lactic acid bacteria and kimchi fermentation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33: 420-426 (2004)
- D'Souza AL, Rajkumar C, Cooke J, Bulpitt J. Probiotics in prevention of antibiotic-associated diarrhoea: meta analysis. *Brit. Med. J.* 324: 1361-1364 (2002)
- Surawicz CM. Probiotics, antibiotic-associated diarrhoea and *Clostridium difficile* diarrhoea in human. *Best Pract. Res. Cl. Ga.* 17: 775-783 (2003)
- Tasteyre A, Barc MC, Karjalainen T, Bourlioux P, Collignon A. Inhibition of *in vitro* cell adherence of *Clostridium difficile* by *Saccharomyces boulardii*. *Microb. Pathogenesis* 32: 219-225 (2002)
- Van-Niel CW, Feudtner C, Garrison MN, Christakis DA. *Lactobacillus* therapy for acute infectious diarrhoea in children: a meta analysis. *Pediatrics* 109: 678-684 (2002)
- Araki T, Shinozaki T, Irie Y, Miyazawa Y. Trial of oral administration of *Bifidobacterium breve* for the prevention of rotavirus infection. *Kansenshogaku Zasshi* 73: 305-310 (1999)
- Lee YJ, Yu WK, Heo TR. Identification and screening for antimicrobial activity against *Clostridium difficile* of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* species isolated from healthy infant faeces. *Int. J. Antimicrob. Ag.* 21: 340-246 (2003)