

임상에서 분리한 메치실린 내성 황색포도상구균에 대한 녹나무잎 추출물의 항균활성

차정단^{1†}, 최미래^{1†}, 고은실¹, 황승미¹, 강제란¹, 오좌섭², 박영진², 정용환³, 전아림³, 최경민^{1*}

¹(재)진안홍삼연구소, ²(재)경기과학기술원 천연물신약연구소, ³(재)제주테크노파크 제주생물종다양성연구소

Synergistic Effects of *Cinnamomum camphora* Leaves Extract against Clinical Isolated Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Jeong-Dan Cha^{1†}, Mi-Rae Choi^{1†}, Eun-Sil Ko¹, Seung-Mi Hwang¹, Jea-Ran Kang¹, Joa-Sub Oh²,
Young-Jin Park², Young-Hwan Jung³, Ah-Lim Jeon³ and Kyung-Min Choi^{1*}

¹Institute of JinAn Red Ginseng, Jinan-Gun 567-801, Korea

²Gyeonggi Institute of Science&Technology Promotion, Natural Products Research Institute, Suwon 443-270, Korea

³Jeju Biodiversity Research Institute, Jeju Technopark, Seogwipo 697-943, Korea

Abstract - Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) has been emerging worldwide as one of the most important hospital and community pathogens. At the same time, because of the difficulty in developing chemical synthetic drugs and because of their side-effects, scientists are making more efforts to search for new drugs from plant resources to combat clinical multidrug-resistant microbial infections. *Cinnamomum camphora* (*C. camphora*) is a plant of family Lauraceae, and grown Jeju island in South Korea that are used as a drug to treat neurasthenia, epilepsy, cystitis, pyelonephritis, digitalis, cancer, and diabetes mellitus in folk remedies. In this study, antibacterial activities of 80% ethanol extract of *C. camphora* leaves (CCE) were investigated in combination with antibiotics against clinical isolates of MRSA. The results showed that CCE was determined with MIC and MBC values ranging from 156 to 313 and 313 to 625 $\mu\text{g/ml}$, oxacillin from 128 to 256 and 128 to 512 $\mu\text{g/ml}$, ampicillin from 4 to 64 and 8 to 128 $\mu\text{g/ml}$. The combination of CCE with oxacillin or/and ampicillin were synergistic effect against MRSA 1, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, and 15/ MRSA 1, 2, 6, and 7.

Key words - *Cinnamomum camphora*, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Synergistic effects

서 언

Staphylococcus aureus (*S. aureus*)는 피부감염증, 식중독, 폐혈증 등 여러 감염을 일으킬 수 있는 주된 병원성 세균으로 널리 알려져 있다(Han, 2011). 1961년 영국에서 메치실린 내성포도상구균(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)이 처음 보고된 이후 우리나라에서도 1980년대 들어서면서 여러 병원에서 MRSA 발생을 보고하고 있으며 현재까지 대표적인 병원감염 원인균 중의 하나이다(Lee *et al.*, 2005). 또한 최근 반코마이신 내성포도상구균(vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*, VRSA)과 같은 슈퍼박테리아의 출현으로 항균제 내성의 문제가 심각하게 대

두된 가운데 전통적으로 감염질환 치료에 사용되어 온 식물로부터 항균물질을 분리하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다(Shin and Seong, 2006; Heo *et al.*, 2012; Hwang *et al.*, 2014).

녹나무(*Cinnamomum camphora*)는 Lauraceae과로 난대성 기후에서만 자라는 나무로 겨울에도 잎이 떨어지지 않는 상록활엽수이다(Han, 2011). 또한 천연기념물 제162호로 국내에서는 제주도에 주로 자생하며 지리적으로는 일본, 중국, 대만, 인도네시아에 분포한다(Ko *et al.*, 2005). 재목, 가지, 잎, 뿌리를 말려 수증기로 증류시켜 얻은 기름을 장뇌라고 하며, 장뇌에는 정유성분인 camphor가 주성분이고 cineol, α -pinene, l-camphene, d-limonene, safrol, α -camphorene 등이 함유되어 있다(Stubbs *et al.*, 2004). 가지와 뿌리는 강심제를 만드는 약의 원료가 되고, 잎은 서양요리의 소스를 만들 때 사용하기도 하며 민간에서는 방해충, 신경쇠약, 간질, 방

*교신저자(E-mail) : kyungmc@ijrg.re.kr

† These authors contributed equally to this works.

광염, 신우신염, 강심제로도 알려져 있고, 제주도에서는 당뇨, 암 치료약으로 사용되어 왔다(Lee, 2003). 다방면에 이용되고 있는 녹나무추출물의 MRSA 항균활성과 항생제 병용 처리 후 시너지 효과를 확인하고 천연 항생제로서의 이용 가능성을 제시하고자 한다.

재료 및 방법

천연물 확보 및 추출

본 실험에 사용된 재료는 제주지역에서 채집하여 대한식물도감을 참고하여 동정하였으며, 실험에 사용된 녹나무(Voucher No. JBRI-0624027)의 증거표본은 제주생물종다양성연구소 표본실에 보관하였다. 동정된 녹나무 잎은 음건 후 믹서기로 분쇄하여 80% 에탄올로 실온에서 24시간 3회 추출하여 동결건조 후 냉동보관하였으며, 실험 전 10% Dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma-Aldrich, MO, USA)에 녹여 0.22 mm (Merck millipore, France)로 필터 후 멸균 증류수로 농도별 희석하여 실험하였다.

MRSA 분리 및 동정

전라북도의 한 대학병원의 임상샘플을 받아 Mannitol Salt Agar (MSA, Sigma-Aldrich)에 2 mg/ml oxacillin (Sigma-Aldrich)이 첨가된 배지에 접종하여 노란색 집락으로 변한 집락을 찾아 1차 스크리닝 하였다. MRSA 확인동정을 위해서는 *femA* 유전자와 penicillin-binding protein (PBP) 2` (Choi *et al.*, 2009)을 생성하는 *mecA* 유전자를 PCR법으로 시험하였다. Tryptic soy agar (TSA, Becton Dickinson, NJ, USA)배지에 접종하여 37°C, 호기성 배양기에서 18시간 배양한 집락을, QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany)를 사용하여 주형 DNA를 분리하였다. 사용된 primer의 염기서열은 Table 1과 같으며, Cosmogene Co. (Daejeon, Korea)에 의뢰하여 합성하였다. Forward와 reverse primer를 각각 1 ml, PCR mastermix (Bioneer, Korea) 4 ml, DEPC 12 ml, 주형 DNA 2 ml를 넣어 PCR반응의 최종 액을 20 ml로 하였다. PCR 반응은 thermal cycler (Abcam, CA, USA)를 사용하였으며, 위의 2개의 유전자 증폭조건은 95°C 5분간 pre-denaturation, 95°C 30초 denaturation, 50°C annealing 30초, 72°C extension 30초로 30회 반복하

여, 72°C 5분 last extension 시킨 후 4°C에서 종료시켰다. 반응 후 1.5% agarose gel (Lonza, NJ, USA)에서 전기영동 하여 ethidium bromide (EtBr, Invitrogen, NY, USA)로 염색 한 후 결과를 확인하였다. MRSA로 최종 동정된 균주는 30% glycerol이 첨가된 Brain Heart Infusion (BHI, Becton Dickinson) broth에 풀어 -70°C에 보관하였다(Kim *et al.*, 2009).

Minimum Inhibitory Concentrations (MICs)/Minimum Bactericidal Concentrations (MBCs)

임상에서 분리된 MRSA 균주의 녹나무잎 추출물(80% EtOH *cinamomum camphora* leaves extract, CCE)과 항생제의 minimum inhibitory concentrations (MICs)는 broth dilution method로 측정하였다. MIC 측정은 Mueller Hinton broth (MHB, Becton Dickinson)에 항생제와 CCE를 단계 희석한 후, 균의 최종희석 농도를 1×10^6 CFU/ml로 하여 37°C 18시간 배양 후 540 nm에서 흡광도를 측정하여 판독하였다. MIC 농도를 기준으로 증식하지 않은 배양액 100 ml를 TSA에 균일하게 도말하여 37°C 18시간 배양 후 99.9% 살균이 되는 농도로 MBC를 판독하였다.

Checkboard Dilution Assay

CCE와 β -lactam계의 항생제인 oxacillin과 ampicillin의 synergistic effect를 checkbord dilution method로 확인하였다 (Arnold and Morrison, 1984; Cha *et al.*, 2014). 각 천연물과 항생제의 혼합에 따른 fractional inhibitory concentration (FIC)와 fractional bactericidal concentration (FBC)는 다음과 같이 계산하였다.

$$FIC_A = MIC_A \text{ in combination} / MIC_A$$

$$FIC_B = MIC_B \text{ in combination} / MIC_B$$

$$FIC \text{ Index} = FIC_A + FIC_B$$

$$FBC_A = MBC_A \text{ in combination} / MBC_A$$

$$FBC_B = MBC_B \text{ in combination} / MBC_B$$

$$FBC \text{ Index} = FBC_A + FBC_B$$

Table 1. Primers used for detection of the *mecA* and *femA* genes from *S. aureus*

Gene	Orientation	Primer	Oligonucleotide sequence (5'-3')	PCR product size
<i>mecA</i>	→	mecA-F	ATGAGATTAGGCATCGTTTC	554 bp
	←	mecA-R	TGGATGACAGTACCTGAGCC	
<i>femA</i>	→	femA-F	CATGATGGCGAGATTACAGG	372 bp
	←	femA-R	CGCTAAAGGTACTAACACACGG	

FIC index 0.5 이하 synergistic, 0.5에서 1사이 additive, 1에서 2 사이 indifference, 2 이상일 경우 antagonism 으로 해석하였다 (Cha *et al.*, 2007; Lee and Cha, 2010; Cha *et al.*, 2014).

서 *S. aureus*를 확인 동정하는 *femA* 유전자를 확인 할 수 있었고, PBP 2`을 생성하는 *mecA* 유전자 또한 확인하였다(Fig. 1).

결과 및 고찰

MRSA 동정

2 µg/ml의 oxacillin이 첨가된 MSA에서 노란색 집락이 생성된 15 균주에서 *femA*, *mecA*의 유전자를 검출한 결과 15균주 모든 샘플에

항생제와 CCE와 병용처리 후 항생제 내성균주의 시너지 효과

본 시험에 사용된 임상에서 분리된 MRSA에 대한 CCE의 MIC, MBC 범위는 313-1.25 µg/ml, 0.625-1.25 µg/ml였고, oxacillin의 MIC, MBC 범위는 512-1024 µg/ml, 512-1024 µg/ml, ampicillin의 위는 MIC와 MBC모두 32-256 µg/ml였다(Table 2).

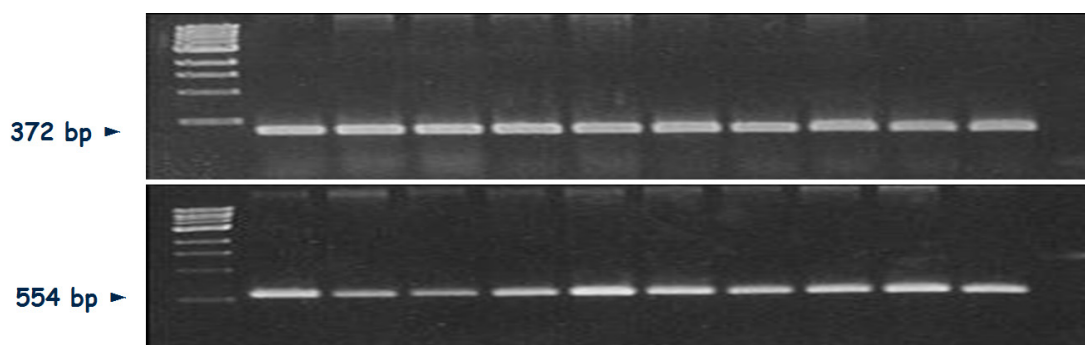


Fig. 1. Agarose gel electrophoresis of amplified 372-bp, 554-bp DNA fragments of the *femA*, *mecA* genes of *S. aureus* isolates by PCR.

Table 2. Antibacterial activity of ethanol extract of *C. camphora* leaves on isolates MRSA and reference strains

Samples	CCE	Ampicillin	Oxacillin
		MIC/MBC (µg/ml)	
MSSA ATCC 25923 ^z	625/625	1.25/2.5	0.25/0.25
MRSA ATCC 33591 ^y	625/625	256/256	512/512
MRSA 1 ^x	625/625	32/32	512/512
MRSA 2	625/625	32/32	512/512
MRSA 3	313/625	32/32	512/512
MRSA 4	313/625	32/32	512/512
MRSA 5	313/625	32/32	512/512
MRSA 6	625/625	32/32	512/512
MRSA 7	625/0.625	32/32	512/1024
MRSA 8	625/625	256/256	1024/1024
MRSA 9	625/625	64/128	1024/1024
MRSA 10	625/1250	64/64	1024/1024
MRSA 11	625/1250	256/256	1024/1024
MRSA 12	1250/1250	256/256	1024/1024
MRSA 13	625/625	256/256	1024/1024
MRSA 14	625/1250	256/256	1024/1024
MRSA 15	1250/1250	256/256	512/1024

^zMSSA (ATCC 25923): reference strain Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*.

^yMRSA (ATCC 33591): reference strain Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

^xMRSA (1-15): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated a clinic.

Table 3. Synergistic effects of the ethanol extract of *C. camphora* leaves with oxacillin on isolates MRSA and reference strains

Strains	Agent	MIC/MBC ($\mu\text{g/ml}$)		FIC/FBC	FICI/FICI ^y	Outcome
		Alone	Combination ^z			
MSSA ATCC 25923 ^x	CCE	625/625	313/625	0.5/1.0	1.0/1.5	Indifference/Indifference
	Oxacillin	0.25/0.25	0.125/0.125	0.5/0.5		
MRSA ATCC33591 ^w	CCE	625/625	156/156	0.25/0.25	0.5/0.75	Synergistic/Additive
	Oxacillin	512/512	128/256	0.25/0.5		
MRSA 1 ^v	CCE	625/625	156/313	0.25/0.5	0.5/0.75	Synergistic/Additive
	Oxacillin	512/512	128/128	0.25/0.25		
MRSA 2	CCE	625/625	313/313	0.5/0.5	0.75/0.75	Additive/Additive
	Oxacillin	512/512	128/128	0.25/0.25		
MRSA 3	CCE	313/625	156/313	0.5/0.5	0.75/0.75	Additive/Additive
	Oxacillin	512/512	128/128	0.25/0.25		
MRSA 4	CCE	313/625	156/313	0.5/0.5	0.75/0.75	Additive/Additive
	Oxacillin	512/512	128/128	0.25/0.25		
MRSA 5	CCE	313/625	156/313	0.5/0.5	0.75/0.75	Additive/Additive
	Oxacillin	512/512	128/128	0.25/0.25		
MRSA 6	CCE	625/625	156/313	0.25/0.5	0.5/0.75	Synergistic/Additive
	Oxacillin	512/512	128/128	0.25/0.25		
MRSA 7	CCE	625/625	156/313	0.25/0.5	0.5/0.75	Synergistic/Additive
	Oxacillin	512/1024	128/256	0.25/0.25		
MRSA 8	CCE	625/625	156/313	0.25/0.5	0.5/1	Synergistic/Additive
	Oxacillin	1024/1024	256/512	0.25/0.5		
MRSA 9	CCE	625/625	313/313	0.5/0.5	0.75/0.75	Additive/Additive
	Oxacillin	1024/1024	256/256	0.25/0.25		
MRSA 10	CCE	625/1250	156/313	0.25/0.25	0.5/0.5	Synergistic/Synergistic
	Oxacillin	1024/1024	256/256	0.25/0.25		
MRSA 11	CCE	625/625	156/313	0.25/0.5	0.5/0.75	Synergistic/Additive
	Oxacillin	1024/1024	256/256	0.25/0.25		
MRSA 12	CCE	1250/1250	313/625	0.25/0.5	0.5/0.75	Synergistic/Additive
	Oxacillin	1024/1024	256/256	0.25/0.25		
MRSA 13	CCE	625/625	156/313	0.25/0.5	0.5/0.75	Synergistic/Additive
	Oxacillin	1024/1024	256/256	0.25/0.25		
MRSA 14	CCE	625/1250	313/313	0.5/0.25	0.75/0.75	Additive/Additive
	Oxacillin	1024/1024	256/512	0.25/0.5		
MRSA 15	CCE	1250/1250	313/313	0.25/0.25	0.5/0.5	Synergistic/Synergistic
	Oxacillin	512/1024	128/256	0.25/0.25		

^zThe MIC and MBC of CCE with ampicillin.

^ythe FIC index.

^xMSSA (ATCC 25923): reference strain Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*.

^wMRSA (ATCC 33591): reference strain Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

^vMRSA (1-15): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated a clinic.

Table 4. Synergistic effects of the ethanol extract of *C. camphora* leaves with ampicillin in isolated MRSA and reference MSSA and MRSA strains

Strains	Agent	MIC/MBC($\mu\text{g/ml}$)		FIC/FBC	FICI/FBCI ^y	Outcome
		Alone	combination ^z			
MSSA ATCC 25923 ^x	CCE	625/625	313/625	0.5/1	1/1.5	Additive/Indifference
	Ampicillin	1.25/2.5	0.625/1.25	0.5/0.5		
MRSA ATCC33591 ^w	CCE	625/625	313/313	0.5/0.5	0.75/0.75	Additive/Additive
	Ampicillin	256/256	64/64	0.25/0.25		
MRSA 1 ^v	CCE	625/625	156/313	0.25/0.5	0.5/1	Synergistic/Additive
	Ampicillin	32/32	8/16	0.25/0.5		
MRSA 2	CCE	625/625	156/156	0.25/0.25	0.5/0.5	Synergistic/Synergistic
	Ampicillin	32/32	8/8	0.25/0.25		
MRSA 3	CCE	313/625	78/313	0.25/0.5	0.5/0.75	Synergistic/Additive
	Ampicillin	32/32	8/8	0.25/0.25		
MRSA 4	CCE	313/625	156/156	0.5/0.25	0.75/0.5	Additive/Synergistic
	Ampicillin	32/32	8/8	0.25/0.25		
MRSA 5	CCE	313/625	78/313	0.25/0.5	0.5/0.75	Synergistic/Additive
	Ampicillin	32/32	8/8	0.25/0.25		
MRSA 6	CCE	625/625	156/313	0.25/0.5	0.5/1	Synergistic/Additive
	Ampicillin	32/32	8/16	0.25/0.5		
MRSA 7	CCE	625/625	156/156	0.25/0.25	0.5/0.5	Synergistic/Synergistic
	Ampicillin	32/32	8/8	0.25/0.25		
MRSA 8	CCE	625/625	313/313	0.5/0.5	0.75/0.75	Additive/Additive
	Ampicillin	256/256	64/64	0.25/0.25		
MRSA 9	CCE	625/625	156/156	0.25/0.25	0.75/0.5	Additive/Synergistic
	Ampicillin	64/128	32/32	0.5/0.25		
MRSA 10	CCE	625/1250	313/313	0.5/0.25	0.75/0.75	Additive/Additive
	Ampicillin	64/64	16/32	0.25/0.5		
MRSA 11	CCE	625/625	313/313	0.5/0.5	0.75/0.75	Additive/Additive
	Ampicillin	256/256	64/64	0.25/0.25		
MRSA 12	CCE	1250/1250	625/625	0.5/0.5	0.75/1	Additive/Additive
	Ampicillin	256/256	64/128	0.25/0.5		
MRSA 13	CCE	625/625	313/313	0.5/0.5	0.75/0.75	Additive/Additive
	Ampicillin	256/256	64/64	0.25/0.25		
MRSA 14	CCE	625/1250	313/625	0.5/0.5	0.75/0.75	Additive/Additive
	Ampicillin	256/256	64/64	0.25/0.25		
MRSA 15	CCE	625/625	313/313	0.5/0.5	0.75/0.75	Additive/Additive
	Ampicillin	256/256	64/64	0.25/0.25		

^zThe MIC and MBC of CCE with ampicillin.

^ythe FIC index.

^xMSSA (ATCC 25923): reference strain Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*.

^wMRSA (ATCC 33591): reference strain Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

^vMRSA (1-15): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated a clinic.

CCE와 oxacillin의 병용 처리 결과는 CCE에서 MIC와 MBC의 범위는 156-313 $\mu\text{g/ml}$ 와 313-625 $\mu\text{g/ml}$ 이고, oxacillin에서는 MIC와 MBC의 범위는 128-256 $\mu\text{g/ml}$ 와 128-512 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타났으며, CCE와 oxacillin의 단독처리시보다 병용처리시 항균활성이 높은 것을 확인할 수 있었다(Table 3, 4). CCE와 ampicillin 병용처리시 CCE의 MIC와 MBC의 범위는 156-625 $\mu\text{g/ml}$ 와 156-625 $\mu\text{g/ml}$ 이고, ampicillin에서는 MIC와 MBC의 범위는 4-64 $\mu\text{g/ml}$ 와 8-128 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타났으며, ampicillin과 CCE와의 병용처리 역시 높은 항균활성을 확인할 수 있었다. 또한, FIC index와 FBC index로 계산하여 판독한 결과 CCE와 oxacillin의 병용처리는 MRSA 2, 3, 4, 5, 9, 14를 제외한 MRSA에서 synergistic 효과를 확인 하였고(FIC \leq 0.5), CCE와 ampicillin의 병용처리시 MRSA 1, 2, 6, 7에서 시너지 효과를 관찰할 수 있었다. 시너지효과는 CCE와 oxacillin의 병용효과가 ampicillin과의 병용효과보다 더 좋은 것을 확인하였다.

또한, reference 균주인 *S. aureus* ATCC 25923은 FIC와 FBC index 결과에서 oxacillin, ampicillin 모두 시너지 효과가 없었고, 반면에 *S. aureus* ATCC 33591에서는 시너지 효과가 확인되어 MRSA 균주 특이적으로 시너지 효과가 있음을 확인 할 수 있었다(Table 2, 3).

MRSA는 병원성 감염의 중요한 원인균이고 최근 VRSA와 같은 슈퍼박테리아의 증가로 인해 항균제 내성의 문제가 심각하게 대두되어 천연물질을 이용한 항균물질을 분리하기 위한 연구가 활발하게 진행되고 있다. Zhao *et al.* (2001)의 보고에 따르면 녹차 잎에서 추출한 EGCG 추출물과 β -lactam계 항생제의 MRSA 시너지 활성을 확인할 수 있었고, Cha *et al.* (2014)은 단삼에서 분리한 cyptotanshinone에서 분리한 물질로 MRSA와 VRSA의 시너지 활성을 본 결과 oxacillin, ampicillin, vancomycin에서 항생제 처리보다 병용처리의 항균활성이 월등히 높은 것을 확인 하였다(Cha *et al.*, 2014). 또한 Ha (2009)는 녹나무 부탄을 분획물이 멜라닌 생합성에 관여한다고 보고하였고, Han (2011)은 메탄을 추출 녹나무의 방충효과와 *Klebsiella pneumoniae*의 항균활성에 효과가 있다고 보고 하였다(Ha *et al.*, 2009; Han 2011). 본 연구에서도 CCE를 이용해 항균활성과 항생제 시너지활성을 보았고, 내성균이 단독으로 항생제나 CCE에 노출 되었을 때보다 병용처리 하였을 때 항균활성이 높은 것을 확인하였으며, 그 결과 β -lactam계 내성 영향을 미치지 않는 새로운 약물 개발을 위한 천연물질 소재로 제시할 수 있다고 사료된다.

사 사

본 연구는 산업통상자원부의 2011년도 지역특화기술융복합연구지원사업(과제번호: R0001028)에 의해 수행 되었습니다.

적 요

메치실린내성 황색포도상구균(MRSA)은 가장 중요한 지역 사회 병원성 균주의 하나로서 항생제 내성 문제가 세계적으로 대두되고 있다. 감염 치료에 대한 부작용과 내성이 적은 새로운 항생제의 개발에 많은 관심과 연구가 필요하다. *Cinnamomum camphora*는 제주도에서 자생하는 녹나무과의 식물이다. 민간에서는 신경 쇠약, 간질, 방광염, 신우 신염, 당뇨, 암과 당뇨병 치료제로 이용되고 있다. 본 연구에서는 80% 에탄올을 이용하여 녹나무잎을 추출물하여 임상에서 분리한 메치실린 내성 균주에 대한 항균활성을 연구하였다. 그 결과 녹나무잎 추출물에서 높은 항균활성을 관찰 할 수 있었고, 항생제와의 병용처리 녹나무잎 추출물의 MIC와 MBC의 범위는 156-313 $\mu\text{g/ml}$ 와 313-625 $\mu\text{g/ml}$ 로 판독되었고, oxacillin의 병용처리의 범위는 1288-256 $\mu\text{g/ml}$ 와 128-512 $\mu\text{g/ml}$, 그리고 ampicillin의 병용처리 범위는 $\mu\text{g/ml}$ 와 8-128 $\mu\text{g/ml}$ 로 판독되었다. 녹나무잎 추출물과 항생제의 병용처리는 MRSA 항균활성에 대한 상승효과가 높게 나타났다.

References

- Arnol, S.B. and J. Morrison. 1984. Disparity between timed-kill and checkerboard methods for determination of *in vitro* bactericidal interactions of vancomycin plus rifampin versus methicillin-susceptible and -resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 26:220-223.
- Cha, J.D., M.R. Jeong, S.I. Jeong and K.Y. Lee. 2007. Antibacterial activity of sophoraflavanone G isolated from the roots of *Sophora flavescens*. *J. Microbial. Biotechnol.* 17(5):858-864.
- Cha, J.D., J.H. Lee, K.M. Choi, S.M. Choi and J.H. Park. 2014. Synergistic effect between cryptotanshinone and antibiotics against clinic methicillin and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Evid. Based complement. Alternat. Med.* 2014:450572.
- Choi, J.H., M.H. Yu, E.Y. Hwang and I.S. Lee. 2009. Effect of *Rosmarinus officinalis* L. fractions on antimicrobial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and resistant genes regulation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38:541-547.
- Choi, I.L., J.Y. Cho and S.C. Lim. 2006. Antimicrobial activity of medicinal herbs against *Staphylococcus aureus*. *Korean J. Plant Res.* 19(8):419-496.
- Domaracki, B.E., A.M. Evans and R.A. Venezia. 2000.

- Vancomycin and oxacillin synergy for methicillin-resistant Staphylococci. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44(5):1394-1396.
- Ha, S.K., E.J. Moon, M.J. Lee, H.M. Park, E.S. Yoo, M.S. Oh and S.Y. Kim. 2009. Effect of the BuOH soluble fraction of *Cinnamomum camphora* on melanin biosynthesis. *Korean J. Medicinal Crop. Sci.* 17(4):293-300.
- Han, J.H. 2011. Studies on the effect of antimicrobial and anti-insecticidal activity from warm temperate zone species of tree. MS Thesis, Jeonbuk National Univ., Korea.
- Heo, B.G., Y.J. Park, S.J. Lee, K.S. Kim, J.Y. Cho and H.O. Boo. 2012. Antioxidant enzyme activity and antimicrobial activity of *Isatis tinctoria* extract. *Korean J. Plant Res.* 25(5):543-549.
- Hwang, H.J., J.S. Yu, H.Y. Lee, D.J. Kwon, W. Han, S.I. Heo and S.Y. Kim. 2014. Evaluations on deodorization effect and anti-oral microbial activity of essential oil from *Pinus koraiensis*. *Korean J. Plant Res.* 27(1):1-10.
- Kenneth, H.R. and J. H. Herbert. 2004. Synergy of daptomycin with oxacillin and other-lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48(8):2871-875.
- Kim, S.M., D.C. Lee, S.D. Park, B.S. Kim, J.K. Kim, M.R. Choi, S.Y. Park, S.M. Hwang, N.Y. Shin, E.S. Shim, P.S. Kwon, D.Y. Kwon, S.H. Hur, H.J. Kim, H.B. Lim and Y.S. Chong. 2009. Genotype, coagulase type and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from dermatology patients and healthy individuals in Korea. *J. Bacteriol. Virol.* 39(4):307-316.
- Ko, B.S., M.Y. Lee, H.K. Kim, J.K. Chun, S.B. Choi, D.W. Jun, J.S. Jang and S.M. Park. 2005. Effect of *Cinnamomum camphora* leaf fractions on insulin action. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34(9):1336-1343.
- Lee, J.W., Y.J. Ji, M.H. Yu, H.G. Im, M.H. Hwangbo and I.S. Lee. 2005. Antimicrobial effect of extract of *Glycyrrhiza uralensis* on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Korean J. Food Sic. Technol.* 37(3):456-464.
- Lee, Y.S., and J.D. Cha. 2010. Synergistic antibacterial activity of *Fig (Ficus carica)* leaves extract against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 38(4):405-13.
- Lee, H.J. 2003. Inhibitory effect of *Cinnamomum camphora*, Jeju native plant, on the Inflammatory biomarkers in RAW264.7 cells. MS Thesis, Jeju National Univ. Korea.
- Shin, S.H. and I.W. Seong. 2006. Antimicrobial activity of the extracts from *Paeonia japonica* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Korean J. Microbiol.* 42(1):54-58.
- Stubbs, B.J., A. Specht, D. Brushett. 2004. Essential oil of *cinnamomum camphora* (L.) nees and eberm.-variation in oil composition throughout the tree in two chemotypes from Eastern Australia. *J. Essential Oil Res.* 16:155-159.
- Lim, Y.J., Y.S. Cho and K.H. Oh. 2008. Antibacterial synergic effect and cellular responses of nalidixic acid-resistant *Salmonella typhimurium* exposed to tea polyphenols and nalidixic acid. *Korean J. Microbiol.* 44(2):122-129.
- Zhao, W.H., Z.Q. Hu, S. Okubo, Y. Hara and T. Shimamura. 2001. Mechanism of synergy between epigallocatechin gallate and β -Lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agent Chemother.* 45(6):1737-742.

(Received 23 July 2014 ; Revised 9 January 2015 ; Accepted 9 February 2015)