

항생제 내성 및 감수성 *Salmonella typhimurium* 균주에 대한 개똥쑥 지상부 정유와 Kanamycin의 병용효과

신 승 원*

덕성여자대학교 약학대학

(Received October 8, 2007; Revised October 12, 2007)

In vitro Effects of Essential Oils from the Aerial Parts of *Artemisia annua* L. Against Antibiotic-Susceptible and -Resistant Strains of *Salmenella typhimurium*

Seungwon Shin*

College of Pharmacy, Duksung Women's University, Ssangmoondong 419, Dobongku, Seoul 132-714, Korea

Abstract — The essential oil fraction from the aerial parts of *A. annua* was analyzed by GC-MS. As the results, caryophyllene oxide (11.7%), caryophyllene (7.54%), camphor (7.32%), 1,8-cineol (4.98%), and borneol (3.99%) were confirmed as the main components of the oil fraction. The effects of this oil and its main components on antibiotic-susceptible and -resistant strains of *Salmonella enteritidis* and *S. typhimurium* were assessed. *A. annua* oil fraction significantly inhibited all strains of the two *Salmonella* species examined, with minimum inhibiting concentrations (MICs) ranging from 2.0 mg/ml to 8.0 mg/ml. Among the main components of the oil, borneol and camphor showed relatively strong inhibiting activity with MICs between 1.0 mg/ml and 4.0 mg/ml. The MICs of caryophyllene and caryophyllene oxide were higher than 16 mg/ml. The combination effects of the oils with kanamycin were evaluated using a checkerboard microtiter assay. Against *S. typhimurium* KCCM11862 and CCARM8009 strains, the oil fraction of *A. annua*, camphor, and 1,8-cineol exhibited significant synergistic with kanamycin with fractional inhibitory concentration (FIC) indices in the range of 0.085 to 0.375. In conclusion, a combination of kanamycin and *A. annua* oil or its main component, camphor, and cineol, may be useful for reducing the minimum effective dose of antibiotic required for the treatment of resistant *S. typhimurium* infections.

Keywords essential oil, *Artemisia annua*, *Salmenella typhimurium*, antibiotic-resistance, kanamycin, combination, camphor, 1,8-cineol

전 세계적으로 급속히 증가하는 내성균의 출현은 인류의 미래를 위협하고 있으며, 새로운 치료제의 개발의 필요성을 가중시켰다. 이중 장관계통 감염균의 주류를 이루며, 동, 식물성 식품이나 감염된 동물을 통하여 사람에게로 이차적으로 전파되어 여러 가지 질병을 유발시키는 *Salmonella* 속 다제 내성균의 빠른 증가 속도는 나날이 더욱 큰 문제로 부각되고 있다.¹⁻⁴⁾

식물에는 여러 계열의 항균성분이 존재하지만, 특히 정유에는 강력한 항균작용이 있는 성분들이 다수 함유되어 있어서, 새로운 천연항균제 개발의 중요자원으로 여겨지고 있다.⁵⁻⁸⁾ 그러나 기존항생제에 전반적으로 약한 정유의 항균활성은 치료제로의 개

발가능성을 떨어뜨리고 있다. 이에 대한 해결방안 중 하나가 정유와 기존 항생제의 병용에 의한 상승작용을 이용하는 것이다.⁹⁻¹²⁾

개똥쑥(*Artemisia annua* L.)은 국화과에 속하는 일년생 초본으로 열대아시아 원산으로 세계적으로 분포되어 있으며, 우리나라에서도 전국 각지의 길가나 들판에 무리를 이루어 야생하고 있다.¹³⁾ 한방에서는 이 식물의 지상부를 한방에서는 청호(靑蒿)라는 이름으로 해열제, 지혈제, 피부병 치료제, 살충제 등으로 사용되어 왔으며, 그 외 항균, 항 virus, 항산화 작용 등이 있는 것으로 알려져 있다.¹⁴⁾ 개똥쑥은 항 말라리아제인 artemisinin의 공급원으로 잘 알려져 있으며 식물에의 함량이 적어서, 공존하는 생합성 전구체인 arteannuin B, arteannuic acid 등으로부터 만들어내는 방법이 연구되고 있으나, 여전히 고가이며, 사용시 나타나는 부작용의 문제가 차츰 부각되고 있다.^{15,16)} 근래에는 개똥쑥으로부터 artemisinin 이외의 다른 물질을 개발 하려는 연구도

*본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-901-8384 (팩스) 02-901-8386
(E-mail) swshin@duksung.ac.kr

활발한데, 강열하고 특이한 냄새를 풍기는 이 식물을 수증기 증류하여 얻은 정유 분획에는 이들 artemisinin 계 화합물은 아주 미량 또는 거의 함유되어 있지만 특정 병원균에 강력한 항균작용이 있음이 보고되어 있으며 이외에도 항진균 및 항 바이러스제로의 개발 가능성이 모색되고 있다.¹⁷⁾ 그러나 이들의 식물에서의 낮은 함량과 불안정성 등으로 대량생산에는 많은 문제점이 있다. 그래서 이 식물의 정유 분획을 이용하거나 정유중의 타 성분으로부터 활성성분을 개발하기 위한 연구가 추진되고 있다.

본 논문에서는 개똥썩을 수증기 증류하여 얻은 정유 분획의 조성을 GC-MS로 분석하고, 이 정유로부터 장관계통 감염균의 주류를 이루는 *Salmonella* 속 균 중에서 특히 감염된 동물을 통하여 사람에게로 이차적으로 전파되어 여러 가지 질병을 유발시키는 *Salmonella typhimurium*과 *S. enteritidis* 내성균에 대한 억제효과를 실험하고, 또한 이중 개똥썩 정유에 대해 보다 강한 감수성을 나타낸 *Salmonella typhimurium*의 kanamycin 내성 및 감수성 균주에 대한 개똥썩 정유 분획 및 주성분과 kanamycin의 병용효과를 실험한 결과, 현저한 상승효과를 확인하였기에 그 결과를 보고한다.

실험재료 및 방법

정유추출 및 분석

경상북도 영천 지역의 들판에 야생하는 개똥썩의 지상부를 8월말 채취하여 건조한 것(6.2 kg)을 수차에 나누어 simultaneous steam distillation-extraction apparatus(SDE) 장치에서 5시간 수증기 증류하고, 수집된 ether층과 수층을 ether로 추출한 것을 합하여, 감압 농축하여 정유를 채취하였다. 표본(CHR3)은 덕성여자대학교 약학대학 식물표본실에 보관하였다.

추출한 정유의 조성은 정유의 조성은 Hewlett-Packard 6890 GC와 Hewlett-Packard 5973 MSD 분석기기에 2% 용액(ether) 1 µl씩을 주입하여 아래와 같은 조건에서 분석하였다. 측정된 각 peak의 mass spectrum은 computer에 저장된 mass data(PBM Search of Library file: Data: Wiley L.)와 비교하여 구조를 동정하였다. Carrier gas: He (0.8 및 1.6 ml/min), column: HP-5MS (50 m×0.2 mm×0.11 µm) capillary column, oven temperature: 50°C(10 min.), 3°C/min(50~220°C), split (10 : 1).

사용균주 및 배양

S. enteritidis KCCM12201, *S. enteritidis* CCARM8010, *S. enteritidis* CCARM8011, *S. typhimurium* KCCM11862, *S. typhimurium* CCARM8007, *S. typhimurium* CCARM8009를 한국미생물보존센터(KCCM)와 항생제내성균주은행(CCARM)에서 분양받아서, Müller-Hinton I 액체배지에 (BD) 배지에 현탁하고, McFarland 0.5 Standard와 같은 탁도로 조정된 균액을 제

조하여 균의 농도가 약 $1 \times 10^4 \sim 10^5$ CFU/ml가 되게 만들어서 MIC 측정과 checkerboard titer test에 사용하였다.

정유 표준품 및 항생제

Borneol(98%), camphor(96%), caryophyllene(98.5%), caryophyllene oxide(90%), 1,8-cineol(99%), kanamycin(98.8%), norfloxacin(99%) 및 ampicillin(sodium monohydrate로 99%), streptomycin(99%) 은 Sigma-Korea Chemical Co.에서 구입하여 사용하였다.

액체배지 희석법에 의한 MIC 측정

수증기 증류에서 얻은 개똥썩 정유와 주성분인 borneol, camphor, caryophyllene, caryophyllene oxide 및 1,8-cineol을 에탄올과 소량의 Tween 80을 가하여 현탁시킨 후 syringe filter로 무균 여과하여, 최고농도 50 mg/ml에서 최저농도가 0.78 mg/ml에 이르도록 단계적으로 희석하여 96 well plate의 각 well에 100 µl씩 주입한 후 균액을 100 µl씩 첨가하였다. 이것을 shaking incubator(100 rpm)에 넣고 36°C에서 24시간 배양한 후, 육안으로 관찰하여 균의 성장이 억제된 최저농도(MIC)를 판별하였다. Kanamycin, norfloxacin은 dimethylsulfoxide(DMSO)를 용매로, ampicillin은 증류수를 용매로 하여, 2 mg/ml부터 8단계까지의 배수 희석액을 제조하였다. 각각 한 농도의 sample을 각 well마다 5 µl씩을 주입하고, 균액 100 µl, 배지 95 µl를 첨가하고, 정유와 같은 조건에서 배양하였다. 사용한 용매와 Tween 80이 시료의 항균력에 영향을 미치지 않았음을 대조실험을 통해 확인하였다. 대조실험에서는 시료를 제외하고 균과 용매, Tween 80을 본 실험과 같은 조건에서 배양하여, 균만을 배양했을 때와 비교하여 균 생장에 첨가한 Tween 80이 영향을 주지 않음을 확인하였다.

Checkerboard microtiter test에 의한 병용효과 실험

96 well plate의 각 well의 가로 방향으로 최고농도 50 mg/ml에서 최저농도가 0.78 mg/ml에 이르도록 2% Tween 80을 포함한 배지로 단계적으로 희석한 개똥썩 정유 분획, camphor 또는 1,8-cineol 50 µl를 넣고 세로방향으로는 이와 유사한 방법으로 항생제를 각각 DMSO(99%)에 녹인 배수 희석액을 제조하여, 각각 한 농도의 sample을 각 well마다 5 µl씩 첨가하였다. 여기에 Mcfarland 0.5의 탁도로 조절된 *S. typhimurium* 각 strain의 현탁액 145 µl를 가하고, 위와 같은 조건으로 배양한 후 균이 억제된 최소농도의 배합비율을 관찰하였다. 가장 효율적으로 나타난 배합농도의 결과를 Table III의 각주에 기록된 공식에 대입하여 fractional inhibiting concentration(FIC)를 산출하여 FIC index가 0.5보다 작거나 같을 때 synergistic effect가 있는 것으로, 0.5와 4 사이면 indifferent 또는 additive로, 4보다 클 때 antagonistic effect로 판정하였다.¹⁸⁾ 이어 실험한 96 well plate 상에서 균 생

장을 억제 시킨 최소한의 배합농도 각각의 수치로 isobologram을 그려 곡선의 휘어진 상태로 병용효과를 판정하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 개똥쑥의 정유로부터, 감염된 동물을 통하여 사람에게로 이차적으로 전파되어, 특히 사육과정에서 항생제를 투여한 가축을 재료로 한 식품 등을 먹을 경우, 기존의 항생제로 치료되기 어려운 여러 가지 질병을 유발시키는 *S. enteritidis*와

Salmenella typhimurium 내성균에 대한 억제물질을 개발하는 것을 목표로 실험을 시행하였는데, 그 결과는 다음과 같다.

개똥쑥 건조 지상부 7.2 kg을 수증기 증류하여 7.04 g의 정유를 추출하였고, 수득율은 평균 0.11%(w/w)였다. 추출한 정유를 GC-MS로 분석한 결과 총 85종의 성분이 확인되었다. Table I에 정리된 바와 같이 개똥쑥 정유에 가장 많이 함유된 성분은 sesquiterpene 화합물인 caryophyllene oxide(11.7%)와 caryophyllene(7.54%)인 것으로 나타났고, 그 다음으로는 monoterpene 계의 camphor(7.32%), 1,8-cineol(4.98%), 및 borneol(3.99%)의

Table I - Constituents of essential oils from *Artemisia annua* identified by GC-MS

Compounds	RI	Area (%)	Compounds	RI	Area (%)
α-Pinene	916	0.28	Caryophyllene	1416	7.54
Camphene	932	0.56	Germacrene-D	1426	0.13
β-Pinene	966	0.28	Coumarin	1431	0.06
Mushroom alcohol	975	0.10	Bergamotene	1435	0.07
3-Cyclohexene-1-methanol	985	0.16	Santalol	1446	0.05
Artemisia triene	1001	0.77	α-Humulene	1451	3.27
1,4-Hexadiene	1010	0.08	trans-β-Farnesene	1459	1.76
1,8-Cineole	1027	4.98	Geranyl acetate	1468	0.09
Benzene acetaldehyde	1041	0.40	γ-Selinene	1475	0.54
γ-Terpinene	1057	0.90	Germacrene-D	1480	2.84
(+)-2-Carene	1086	0.13	ar-Curcumene	1484	2.51
α-Thujone	1102	3.92	Copaene	1491	0.17
3,3-Dimethyl-6-methylene-1-cyclohexane	1122	0.70	Zingiberene	1497	0.69
Camphor	1140	7.32	α-Murolene	1501	0.24
Vinylidene-cyclohexane	1146	0.06	Ledene	1504	0.06
Homarine	1149	0.12	Bornyl isobutyrate	1509	0.61
Sabina ketone	1154	0.15	α-Amorphene	1514	0.84
Pinocarvone	1159	0.28	δ-Cadinene	1524	1.16
Borneol	1162	3.99	Junipene	1532	0.30
4-Terpineol	1171	0.40	α-Calacorene	1542	0.31
4-Methylbenzaldehyde oxime	1185	0.10	Longifolene	1557	0.12
α-Terpinene	1190	0.28	m-xylohydroquinone	1560	0.15
Myrtenal	1192	0.53	(+)-Nerolidol	1574	0.75
5,7-Dimethylundecane	1200	0.17	Caryophyllene oxide	1581	11.7
1-Verbenone	1205	0.54	Cycloisolongifol-5-ol	1589	2.44
Bornyl-methylether	1209	0.08	α-Guaiene	1596	1.4
Isoborneol	1225	1.90	β-Selinene	1620	0.58
Cumic aldehyde	1237	0.49	(E,Z)-alpha-Farnesene	1627	1.08
Carvone	1242	0.26	α-Selinene	1641	1.08
Piperitone	1252	0.97	Vulgarone B	1647	2.39
5,5-Dimethyl-1,3-hexadiene	1256	0.20	Aromadendrene	1652	0.67
Chrysanthenyl acetate	1262	0.38	Valencene	1666	3.91
cis-1,2-Divinylcyclohexane	1273	0.52	Aromadendrene	1678	1.07
L-bornyl acetate	1286	1.37	Widdrene	1694	2.02
endo-Borneol	1326	0.91	Chamazulene	1727	0.38
2-Ethyl-p-xylene	1355	0.32	Vulgarol B	1753	0.82
Eugenic acid	1359	0.17	α-Fenchene	1794	0.41
Junipene	1364	0.24	(+)-Vitrenal	1798	0.48
α-Copaene	1373	0.59	Alloaromadendrene oxide	1879	0.56
β-Bourbonene	1382	0.22	Valerenol	1920	0.30
β-Elemene	1390	0.29	Aromadendrene oxide	1941	0.35
Exobornyl acetate	1394	0.09	β-Oploponone	1950	0.16
α-Cedrene	1406	0.18	In total		92.4

Compounds are listed in their order of their elution on the HP-5 MS column. GC retention indices (RI) calculated against C₉ to C₂₄ n-alkanes on a HP-5 MS column.

Table II – MICs (minimum inhibitory concentrations) of the *A. annua* oil fraction and its main components against antibiotic-susceptible and -resistant strains of *S. enteritidis*, and *S. typhimurium*

Samples (mg/ml)	<i>S. enteritidis</i>			<i>S. typhimurium</i>		
	S12021	R8010	R8011	S11862	R8007	R8009
<i>Artemisia annua</i> oil	4	4			4	4
Caryophyllene	>16	>16	>16	>16	>16	>16
Caryophyllene oxide	>16	>16	>16	16	>16	>16
Cineol	8	16	16	4	16	16
Borneol	1	1	1	1	2	1
Camphor	4	4	4	2	4	4
Amphicillin*	>64	>64	>64	>64	>64	>64
Kanamycin*	1	16	8	4	2	2048
Norflaxacin*	>0.5	>0.5	1	>0.5	>0.5	>0.5

S12021: *S. enteritidis* KCCM12021; **R8010:** *S. enteritidis* CCARM8010; **R8011:** *S. enteritidis* CCARM8011; **S11862:** *S. typhimurium* KCCM11862; **R8007:** *S. typhimurium* CCARM8007; **R8009:** *S. typhimurium* CCARM8009.

* $\mu\text{g/ml}$

함량이 높았다. 그 외 비교적 적은 양이지만 국화와 특유의 성분인 vulgarone B(2.39%), vulgarol B(0.82%), chrysanthenyl acetate(0.38%) 및 chamazulene(0.38%)이 확인되었다. 본 연구에서 분석한 개똥쑥 정유에서는 Ma 등¹⁹⁾이 보고한 artemisia ketone 이나 arteannuic acid는 확인되지 않았고, borneol(15.9%)이 가장 많이 함유된 성분인 것으로 보고 되었다. 한편 Juteau 등²⁰⁾의 실험 결과에서는 camphor(43.5%)가 주성분으로 확인되었다. 그러나 이 같은 정유조성의 차이는 식물의 자생조건, 채취시기, 추출조건 등 여러 가지 요인에 의해 흔히 나타나는 결과이며, 따라서 같은 종의 개똥쑥이라도, 실험 시료에 따라 활성실험의 결과에 많은 차이가 있을 수 있다는 것이 예측되었다.

우선 Micro broth dilution test로 *S. typhimurium* 3종 및 *S. enteritidis* 3종 strain에 대해 균 생장 최소억제농도(MIC)를 측정 한 결과를 Table II에 정리하였다. 기존의 항생제에 대한 내성 감수성에 대한 MIC 판정기준은 NCCLS 2007년도 판²¹⁾에 보고된 바를 적용하였다. 본 실험에 사용한 6종의 *Salmonella* strain은 모두 norflaxacin에 대하여 감수성(≤ 4)을, amphicillin에 대해서는 내성(≥ 32)을 나타내었다. Kanamycin에 대하여는 *S. typhimurium* CCARM8009 만이 내성(≥ 64)을 나타내고, 다른 5종 strain은 감수성(≤ 16)을 나타내었다.

개똥쑥 정유분획은 실험한 모든 항생제에 대한 감수성 및 내성 *Salmonella* 균주에 대해 억제효과를 보였는데, 균주에 따른 MIC(2 mg/ml~8 mg/ml)에 있어서의 현저하게 큰 차이는 나타나지 않았다. 이 정유에서 가장 함유율이 높은 caryophyllene oxide는 MIC가 >16 이상 이었고, caryophyllene 또한 ≥ 16 으로 나타나, 이들 성분은 정유 분획의 항균작용에 거의 기여하지 않는 것으로 판단되었다. 개똥쑥 정유의 구성 성분 중 가장 강력한 항균작용을 나타낸 성분은 borneol로 1 mg/ml~2 mg/ml의 MIC를 나타내었다. Camphor의 MIC는 2 mg/ml~4 mg/ml로 borneol의 약 2배 정도였으며, 1,8-cineol은 4 mg/ml~16 mg/ml의 MIC로

borneol 이나 camphor에 비해 상대적으로 약한 항균력을 보였다. 전반적으로 개똥쑥 정유의 항 *Salmonella* 작용에 있어서 항생제 감수성 균주와 내성 균주가 구분될 만한 차이는 확인되지 않았다. 결과적으로 개똥쑥 정유분획이나 일부 주성분들은 항생제 감수성 균주 뿐 아니라 내성 균주에 대한 억제제로 사용될 수 있음을 시사하였다. 본 연구에 있어서의 *Salmonella* 억제 실험 결과는 Rasooli 등²²⁾이 개똥쑥 정유로 수종 곰팡이에 대하여 실험했을 때와 비교하면, 효과가 낮은 것으로 판단되지만 이외에도 많은 경우에 정유가 박테리아보다 곰팡이에 더 강한 항균력을 나타내는 것이 보고되어 있다.

일반적으로 정유는 합성항균제에 비하여 독성이 적고 안전한 항균제이고, 현재 임상에서 사용되는 항생제와는 전혀 다른 구조의 화합물이므로 내성균에 대한 새로운 항생제 개발의 대상으로 기대되나, 기존 항생제에 항균활성이 상대적으로 떨어지는 약점이 있어서, 정유분획이나 단일 정유 성분차원에서 실제 임상 사용 가능한 항생제로 개발된 것은 극소수에 불과하다. 이에 정유와 기존항생제의 병용에 의한 효과상승을 유도하여, 안전하고 강력한 항균제를 개발 하는 방법이 연구되고 있다. 본 연구에서는 개똥쑥 정유와 항생제와의 병용효과를 checkerboard microtiter test를 행하였는데, 대상 항생제로는 본 실험에 사용한 균주에 대한 감수성과 내성이 뚜렷이 구분되는 kanamycin을 선택하여, *S. typhimurium* 3종 strain에 대해 실험하였다. 정유 주성분 중에서는 다량함유 되어 있으나 활성이 약한 caryophyllene oxide 와 caryophyllene를 실험대상에서 배제하고, 다음으로 함량이 높고, 앞의 두 성분 보다 활성이 높은 1,8-cineol과 camphor를 선택하여 실험하였다. Table III에 정리된 바와 같이 kanamycin과 개똥쑥 정유 또는 주성분인 camphor, 1,8-cineol의 병용은 *S. typhimurium* CCARM 8007 strain을 제외한 대부분의 경우 FIC가 0.250이하로 현저한 MIC의 저하를 나타내었다. 또한 *S. typhimurium* KCCM 11862 및 *S. typhimurium* CCARM 8009

Table III – Fractional Inhibiting Concentrations (FICs) and FIC Indices (FICIs) of *A. annua* oil and kanamycin against kanamycin-susceptible and resistant strains of *S. typhimurium*

Combination	S11862		R8007		R8009	
	FIC	FICI	FIC	FICI	FIC	FICI
<i>A.annua</i> oil fraction-kanamycin	0.250 0.062	0.312	1.000 1.000	2.000	0.125 0.250	0.375
camphor-kanamycin	0.070 0.015	0.085	0.500 0.062	0.562	0.125 0.250	0.375
1,8-cineol-kanamycin	0.015 0.125	0.140	0.250 0.031	0.281	0.125 0.062	0.187

$$\text{FIC of oil} = \frac{\text{MIC of oil in combination with kanamycin}}{\text{MIC of oil alone}}$$

$$\text{FIC of kanamycin} = \frac{\text{MIC of kanamycin in combination with oil}}{\text{MIC of kanamycin alone}}, \text{ FICI} = \text{FIC of oil} + \text{FIC of kanamycin}$$

의 경우 FICI가 0.185~0.375로 나타나 개똥쭉 정유 또는 주성분과 kanamycin의 병용이, 항균작용에 있어서 synergism을 가져옴이 확인되었다. 이중 camphor는 개똥쭉 주성분 중 자체의 MIC가 가장 낮은데다가 *S. typhimurium* KCCM 11862 FICI가 0.185로 병용에 의한 synergism로 가장 큰 것으로 나타났다.

결론적으로 개똥쭉 지상부 정유 분획과 그 주성분인 borneol, camphor 및 1,8-cineol은 본 실험에 사용한 *S. enteritidis* 및 *S. typhimurium pneumoniae* 항생제 감수성 및 내성 균주 모두에 항균작용을 나타냄을 확인하여, 이 정유의 항생제 내성 *Salmonella* 균주 감염에의 이용 가능성을 제시하였다. 또한 정유와 항생제와의 병용시에 나타나는 항균효과의 현저한 synergism은 항생제 사용을 줄여, 내성균 발생억제에 기여할 수 있을 것이 기대된다. 그러나 앞으로 좀더 광범위하게 수집된 많은 내성균주 strain에 대한 실험이 필요할 것으로 생각된다.

감사의 말씀

이 논문은 2006년도 정부(과학기술부)의 재원으로 한국과학재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. R01-2006-000-10732-0).

문헌

- Hald, T., Lo, F. W., Danilo, M. A. and Aarestrup, F. M. : The attribution of human infections with antimicrobial resistant salmonella bacteria in denmark to sources of animal origin. *Foodborne Pathogens and Disease* **4**, 313 (2007).
- Zhao, S., McDermott, P. F., White, D. G., Qaiyumi, S., Friedman, S. L., Abbott, J. W., Glenn, A., Ayers, S. L., Post, K. W., Fales, W. H., Wilson, R. B., Reggiardo, C. and Walker, R. D. : Characterization of multidrug resistant *Salmonella* recovered from diseased animals. *Veterinary Microbiology* **123**, 122 (2007).
- Singh, B. R., Singh, P., Agrawal, S., Teotia, U., Verma, A., Sharma, S., Chandra, M., Babu, N. and Kant Agarwal, R. : Prevalence of multidrug resistant *Salmonella* in Coriander, mint, carrot, and radish in Bareilly and Kanpur, northern India. *Foodborne Pathogens and Disease* **4**, 233 (2007).
- Swanson, S. J., Snider, C., Braden, C. R., Boxrud, D., Wünschmann, A., Rudroff, J. A., Lockett, J. and Smith, K. E. : Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium associated with pet rodents. *The New England Journal of Medicine* **356**, 21 (2007).
- Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R. and Wyllie, S. G. : The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J. Appl. Microbiol.* **88**, 170 (2000).
- Giamperi, L., Fraternali, D. and Ricci, D. : The in vitro action of essential oils on different organisms. *J. Essent. Oil Res.* **14**, 312 (2002).
- Arnal-Schnebel, B., Hadji-Minaglou, F., Peroteau, J.-F., Ribeyre, F. and Billerbeck, V. G. : Essential oils in infectious gynaecological disease: a statistical study of 658 cases. *Int. J. of Aromather.* **14**, 192 (2004).
- Shin, S. : *In vitro* inhibitory activities of essential oils from *Oenanthe javanica* DC against *Candida* and *Streptococcus* species. *Natural Product Sciences* **10**, 325 (2004).
- Giordani, R., Trebaux, J., Masi, M. and Regli, P. : Enhanced antifungal activity of ketoconazole by *Euphorbia characias* latex against *Candida albicans*. *J. Ethnopharmacol.* **78**, 1 (2001).
- Hammer, K., Carson, C. F. and Riley, T. V. : *In vitro* activities of ketoconazole, econazole, miconazole and *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against *Malassezia* species. *Antimicrob. Agents Chemother.* **44**, 467 (2000).
- Shin, S. and Kang, C. A. : Antifungal activity of the essential oil of *Agastache rugosa* Kuntze and its synergism with

- ketoconazole. *Lett. Appl. Microbiol.* **36**, 1874 (2003).
- 12) Shin, S. : Anti-Salmonella activity of lemongrass oil alone and in combination with antibiotics. *Natural Product Sciences* **11**, 160 (2005).
 - 13) 고경식, 전의식 : 한국의 야생식물, 아카데미서적, p. 691 (2003).
 - 14) Romero, M. R., Serrano, M. A., Vallejo, M., Efferth, T., Alvarez, M. and Marin, J. J. G. : Antiviral effect of artemisinin from *Artemisia annua* against a model member of the Flaviviridae family, the bovine viral diarrhoea virus (BVDV). *Planta Medica* **72**, 1169 (2006).
 - 15) Tatineni, R., Doddapaneni, K. K., Dalavayi, S., Kulkarni, S. M. and Mangamoori, L. : *Microbacterium trichotecenolyticum* enzyme mediated transformation of arteannuin B to artemisinin. *Process Biochemistry* **41**, 2464 (2006).
 - 16) Duranton, C., Akkaya, C., Brand, V. B., Tanneur, V., Lang, F. and Huber, S. M. : Artemisinin inhibits cation currents in malaria-infected human erythrocytes. *Nanomedicine* **1**, 143 (2005).
 - 17) 김현철, 길봉섭, 이영행 : 개똥쭉의 천연화학물질에 의한 항균효과와 성분확인. *한국생태학회지* **24**, 137 (2001).
 - 18) White, R. L., Burgess, D. S., Manduru, M. and Bosso, J. A. : Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test. *Antimicrob. Agents Chemother.* **40**, 1914 (1996).
 - 19) Ma, C., Wang, H., Lu, S., Li, H., Liu, B. and Xu, G. : Analysis of *Artemisia annua* L. volatile oil by comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1150**, 50 (2007).
 - 20) Juteau, F., Masotti, V. M., Bessiere, J. M., Dherbomez, M. and Viano, J. : Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil. *Fitoterapia* **73**, 532 (2002).
 - 21) Clinical and Laboratory Standard Institute : Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 17th informational supplement. M100-S17, p. 98 (2007).
 - 22) Rasooli, I., Rezaee, M. B., Moosavi, M. L. and Jaimand, K. : Microbial sensitivity to and chemical properties of the essential oil of *Artemisia annua* L. *Journal of Essential Oil Research* **15**, 59 (2003).