

오메프라졸과 란소프라졸의 혼합으로 인한 헬리코박터파이로리에 대한 항생제의 감수성 변화

방성혜 · 이숙향 · 서옥경 · 신현택 · 조경주^a · 이호근^a
서울특별시 용산구 청파동 2가 숙명여자대학교 약학대학,
서울특별시 동대문구 회기동 1가 경희대학교 문리과대학*

The Effect of Omeprazole and Lansoprazole on the Susceptibility of *Helicobacter pylori* to Antimicrobial Agents

Sung Hye Bang, Suk Hyang Lee, Ok Kyung Suh, Hyun Taek Shin
Kyung Joo Cho*, Ho Gun Rhie^a

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University Chungpa-Dong 2-Ka,
Yongsan-Ku, Seoul 140-742, Korea.

Department of Biology, Kyunghee University Hoeki-Dong 1-Ka,
Tongdaemun-Ku, Seoul 130-701, Korea^a

Helicobacter pylori (HP) has been implicated as the cause of acute and chronic gastritis, peptic ulcer, and gastric carcinoma. To date the most successful treatment in eradicating HP is known to be the combination of two or more antibiotics with an anti-ulcer drug. In this study, *in vitro* antimicrobial activity against HP was assessed, when proton pump inhibitors (PPIs), omeprazole and lansoprazole, were added to antibiotics at different concentrations. The assays in the absence of PPIs gave minimum inhibitory concentration (MIC) value of 0.63 mg/l for amoxicillin, 4 mg/l for tetracycline, 0.08 mg/l for clarithromycin and 0.16 mg/l for azithromycin. At the concentrations of 125 mg/l, 25 mg/l and 0.5 mg/l of omeprazole, and the concentrations of 31.25 mg/l, 6.25 mg/l and 1 mg/l of lansoprazole, the MICs of clarithromycin and azithromycin were reduced by 50%. Also, lansoprazole at the highest concentration 31.25 mg/l reduced the MIC of amoxicillin by 50%, and omeprazole at the highest concentration of 125 mg/l reduced the MIC of tetracycline by 50%. In conclusion, the *in vitro* combination of PPIs and antibiotics led to improvement in the MIC of antibiotics against HP associated gastric disease. (Kor. J. Clin. Pharm. 1997; 7(1): 40-44)

□ Keywords - *Helicobacter pylori*, Omeprazole, Lansoprazole, Amoxicillin, Tetracycline, Azithromycin, Clarithromycin, MIC

1983년 Marshall과 Warren에 의해 만성위염 환자의 위점막에서 굴곡형의 미확인 세균이 발견된 후 많은 연구결과에 의해 이 균이 위, 십이지장 궤양의 원인균으로 밝혀졌고 *Helicobacter pylori*라고 명명하게 되었다.¹⁻⁶⁾ *In vitro*에서 *H. pylori*에 대하여 대부분의 항생제가 감수성이 있는 것으로 보고되었지만⁷⁻⁹⁾ bismuth, tetracycline, metronidazole, amoxicillin, clarithromycin 등의 약물만이 치료제로 사용되고 있고, 단독요법보다는 복합요법이 널리 이용되고 있다. 그러나 이들 복합요법은 약물투여의 복잡성, 장기간의 치료기간, 부

작용 등의 문제점이¹⁰⁾ 있고 아직까지 만족할 만한 약물 또는 병용요법이 없기 때문에 이를 위한 연구가 필요하다.

따라서 본 연구에서는 *H. pylori*에 대해 항균효과가 있는 것으로 알려진 amoxicillin, tetracycline, clarithromycin 및 azithromycin과 이들 약물과 병용투여시 치료율이 높아질 것으로 예상되는 proton pump inhibitors (PPIs)인 omeprazole과 lansoprazole을 실험실적으로 공존시켜 *H. pylori*에 대한 항생제의 최소저지농도 (MIC)에 PPIs가 어떤 영향을 미치는가를 보고

자 하였다.

실험방법

대상약물

실험에 사용된 약물로는 PPIs로 lansoprazole [Lot. No. H300, 한일약품공업(주)]과 omeprazole [Lot. No. PA00700, 종근당(주)], 항생제로는 tetracycline [Lot. No. A61937, 종근당(주)], amoxicillin [Lot. No. A62181, 종근당(주)], clarithromycin [Lot. No. 19741CA00, 한국에보트] 및 azithromycin [Lot. No. 550103, 한국화이자]를 사용하였다.

기기 및 기구

*H. pylori*의 배양에 필요한 기구로는 CO₂ 발생봉지, GasPak jar (BBL Microbiology Systems), 배양기 (VS-120393, VISION Scientific Co. LTD)를 사용하였고, 고체배지로는 Mueller-Hinton agar (Difco), 액체배지로는 tryptic soy broth (Difco), 첨가물로 hoarse serum (GIBCO BRL)을 사용하였으며 24 well flat-bottom tissue culture plates에 균을 접종하여 최소저지농도 (MIC)를 측정하였다.

시험균주 및 실험조건

시험균주는 *Helicobacter pylori* KCTC (Korean Collection for Type Cultures) No. 2797 1종으로 한국 과학기술원 (KIST) 생명공학연구소 유전자은행에서 구입하였고 계대배양 후 사용하였다. 균점종 plate를 CO₂ 발생봉지와 함께 jar내에 넣어 *H. pylori*의 성장에 필요한 5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂의 미호기성 환경에서 37 °C로 48 시간 배양하였으며 모든 조작은 agar dilution method로 하였다.^{11,12)}

Mueller-Hinton agar (MHA) plate 준비 및 균점종

Tetracycline 5 mg/ml 수용액, amoxicillin, clarithromycin 5 mg/ml DMSO용액, azithromycin 10 mg/ml DMSO용액, omeprazole, lansoprazole 20 mg/ml DMSO용액을 stock solution으로 준비하고 모든 약물은 차광 보관하였으며 항생제는 2배씩 희석(two-fold dilution)하였다. PPIs는 Iwahi 등의 연구에서의 omeprazole과 lansoprazole의 MIC를 기준으로, 그 MIC와 MIC의 5배 그리고 혈중농도를 택하여 lansoprazole은 31.25 mg/l, 6.25 mg/l, 1 mg/l의 3가지 농도

를, omeprazole은 125 mg/l, 25 mg/l, 0.5 mg/l의 3가지를 항생제와 혼합하기 위한 농도로 준비하였다.^{13,14)}

배지는 균배양 실험 당일 Mueller-Hinton broth와 한천을 섞어 121 °C, 15분간 멸균한 후 약 50 °C로 유지하여 사용하였다. 항생제 단독용 plate는 배지용액: 5% hoarse serum: 항생제=17:1:2로 조성되었고 PPIs가 포함된 plate는 배지용액: 5% hoarse serum: 항생제: PPI=17:1:1:1로 조성되었으며 혼합 후 즉시 1 ml씩 24 well에 분주하고 고형화하였다. 항생제 단독 MIC와 PPIs와 혼합 후의 MIC는 모두 duplicate로 실험하였다.

DMSO를 용매로 사용한 약물의 희석농도에서 DMSO가 균자체에 어떤 영향을 미치는가를 보기 위해 DMSO가 포함된 배지와 포함되지 않은 배지에서 *H. pylori* 성장 차이를 관찰하였다.

계대배양된 균주의 single colony 3~4개를 tryptic soy broth 5 ml에 혼합 후 하룻밤(15~17시간)을 배양하고 새로운 tryptic soy broth 100 ml에 이 균주용액 2 ml를 혼합 (50:1의 부피비)한 후 600 nm에서 2시간 간격으로 spectrophotometer로 optical density (O.D.)를 측정하여 early log phase를 나타내는 0.3~0.5의 일정한 O.D.에서 균주를 접종하여, 매 실험 시마다 접종균 주상태를 일관성 있게 액체 배양하였다. 액체 배양시킨 균주 100 µl를 멸균생리식염수로 10배씩 2번 희석한 후 20 µl를 MHAplate에 분주하여¹⁵⁾ 37 °C로 48시간 배양시켰다.

MIC측정

MIC는 뒷배경이 어두운 곳에서 육안으로 볼 때 균의 성장이 저해되는 가장 낮은 약물의 농도 (mg/l)를 기록하였다. Well안에 single colony만 형성되었거나 희미하게 성장하였을 때는 자라지 않은 것으로 보고 MIC보다 높은 농도에서 두개 이상의 균락이 있거나 낮은 농도에서는 균락이 형성되지 않았으나 높은 농도에서 균락이 형성되었을 때는 재실험하였다.

결 과

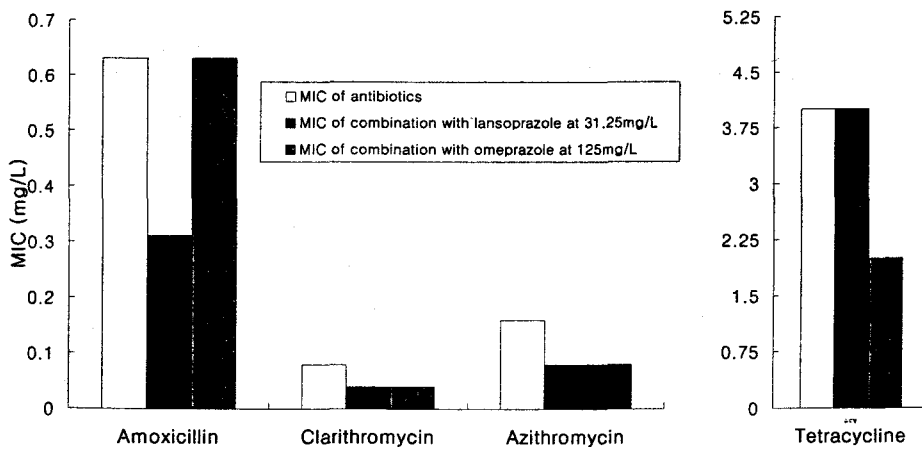
각 항생제 단독시의 MIC와 PPIs인 omeprazole과 lansoprazole을 혼합하였을 때의 MIC를 Table 1과 Fig. 1에 나타내었다. 각 항생제 단독 MIC는 amoxicillin은 0.63 mg/l, tetracycline은 4 mg/l, clarithromycin은 0.08 mg/l, azithromycin은 0.16 mg/l로 관찰되었다. PPIs와 혼합 후의 MIC는 항생제 단독의 MIC보다 감

Table 1. Minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibiotics and antibiotics in combination with proton pump inhibitors

	Amoxicillin	Tetracycline	Clarithromycin	Azithromycin
MIC of antibiotics	0.63 mg/l	4 mg/l	0.08 mg/l	0.16 mg/l
L 1 ^a	0.31 mg/l	4 mg/l	0.04 mg/l	0.08 mg/l
L 2	0.63 mg/l	4 mg/l	0.04 mg/l	0.08 mg/l
L 3	0.63 mg/l	4 mg/l	0.04 mg/l	0.08 mg/l
O 1 ^b	0.63 mg/l	2 mg/l	0.04 mg/l	0.08 mg/l
O 2	0.63 mg/l	4 mg/l	0.04 mg/l	0.08 mg/l
O 3	0.63 mg/l	4 mg/l	0.04 mg/l	0.08 mg/l

^aL: Lansoprazole L 1: 31.25 mg/l, L 2: 6.25 mg/l, L 3: 1 mg/l.

^bO: Omeprazole O 1: 125 mg/l, O 2: 25 mg/l, O 3: 0.5 mg/l.

**Fig. 1. Effect of PPIs on the minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibiotics.**

소 양상을 보였는데 amoxicillin의 MIC는 lansoprazole MIC의 5배 농도인 31.25 mg/l에서 반으로 감소되었고 tetracycline은 MIC에 변화가 없었다. Azithromycin과 clarithromycin의 MIC는 lansoprazole의 3가지 혼합농도에서 각각 반으로 감소되었다. Omeprazole과 혼합하였을 때는 amoxicillin의 MIC는 변화가 없었고 omeprazole 농도가 MIC의 5배인 125 mg/l에서 tetracycline의 MIC가 반으로 감소되었으며 azithromycin과 clarithromycin의 MIC는 omeprazole의 3가지 혼합농도에서 각각 반으로 감소되었다.

DMSO가 *H. pylori* 성장에 영향을 미치는가를 보기 위해 DMSO의 희석농도 첨가시와 배지만 있는 경우를 비교해 보았을 때 육안으로 균락형성에 차이가 없었다.

고 찰

H. pylori 감염성 질환의 치료방법으로 항생제와

PPIs를 포함하는 병용요법에 대한 많은 연구가 이루어져왔다. Labenz등의 연구에서는 omeprazole 20 mg을 1일 2회, amoxicillin 500 mg을 1일 4회, 2주 투여하여 bismuth를 포함하는 삼중요법 (bismuth, metronidazole, tetracycline)과 비슷한 80%의 *H. pylori* 제거율을 나타내었고¹⁶⁾ Bortoni등의 연구에서는 omeprazole 20 mg 1일 2회, amoxicillin 1 g을 1일 3회, 2주 투여하여 59.1%의 제거율을 보였다.¹⁷⁾ Bayerdorffer 등의 연구에서는 omeprazole 40 mg, amoxicillin 750 mg을 각각 1일 3회, 2주 투여하여 약 90%의 제거율을 나타내었다.¹⁸⁾ 또한 bismuth 120 mg, tetracycline 500 mg, metronidazole 400 mg 각각 1일 4회 첫 1주와 omeprazole의 4주 병용투여로 95% 이상의 제거율을 보였다.¹⁹⁾

Omeprazole과 유사한 작용이 있는 lansoprazole은 *in vitro*에서 *H. pylori*에 대해 omeprazole보다 항균력이 큰 것으로 보고되었고, 또 bismuth와 MIC가 비슷

하다는 보고가 있다.¹³⁾ Hatlebakk 등의 연구에서 lansoprazole 60 mg 1일 1회 14일간, amoxicillin 현탁제 500 mg 1일 4회로 11일간 투여하여 46%의 제거율을 보였다.²⁰⁾ 또 Takimoto의 보고에 의하면 lansoprazole 30 mg과 clarithromycin 400 mg을 1일 2회 복용 후 73.3%의 제거율을 보였다.²¹⁾

항생제와 PPIs를 혼합 복용한 후의 상승작용에 대한 기전은 완전히 밝혀지지 않았지만 위내 산도를 감소시켜 항생제를 안정화시킴으로써 약물의 효과를 증가시키거나, PPIs 자체의 항생작용에 기인하는 것으로 추정된다.²²⁾

본 연구에서 amoxicillin, clarithromycin, azithromycin의 MIC는 다른 연구와 비교해 볼 때 유사한 결과가 나왔으며 tetracycline은 다른 연구보다 약간 높은 MIC가 나왔으나 최근 tetracycline에 대한 내성 균주의 출현에 의한 것으로 사료된다.²³⁾

결 론

Proton pump inhibitors를 각 항생제에 실험실적으로 공존시켜 *H. pylori*에 대한 항생제의 MIC에 PPIs가 어떤 영향을 미쳤는가를 본 결과 PPIs는 clarithromycin과 azithromycin의 MIC를 50% 감소시켰고 amoxicillin의 MIC는 lansoprazole의 최고 혼합농도에서, tetracycline의 MIC는 omeprazole의 최고 혼합농도에서 각각 50% 감소시켰다. 본 연구결과는 *H. pylori* 감염에 의한 위, 십이지장 궤양의 치료제로 PPIs가 효과적으로 쓰일 수 있는 가능성을 제시하였다. 그러나 본 연구는 *in vitro* 실험으로서 그 결과를 환자에게 적용하기 위해 임상시험을 통하여 효과를 검증하여야 하며, 또한 다양한 형태의 병용요법도 연구되어야 할 것이다.

감사의 말씀

본 연구는 1996년도 숙명여자대학교 교비연구비에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 7: 1311-1315.
2. Ateshkali A, Lam NP, Johnson CA. *Helicobacter pylori* and peptic ulcer disease. *Clin. Pharm.* 1993;

- 12: 34-48.
3. Marshall BJ. *Helicobacter pylori*. *Am. J. Gastrol.* 1994; 89(8): S116-S128.
4. Tompkins LS, Falkow S. The new path to preventing ulcers. *Science* 1995; 267: 1621-1622.
5. Sunairi M, Watanabe K, et al. Effects of anti-ulcer agents on antibiotic activity against *Helicobacter pylori*. *Eur. J. Gastroenterol. Hepathol.* 1994; 6(suppl 1): S121-S124.
6. Newell DG. Virulence factors of *Helicobacter pylori*. *Scand. J. Gastroenterol.* 1991; 26(Suppl 187): 31-38.
7. Czinn S, Carr H, Aronoff S. Susceptibility of *Campylobacter pyloridis* to three macrolide antibiotics (erythromycin, roxithromycin [RU 28965], and CP 62, 993) and rifampin. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 1986; 30(2): 328-329.
8. McNulty CA, Dent JC. Susceptibility of Clinical isolates of *Campylobacter pylori* to twenty-one antimicrobial agents. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1988; 7: 566-569.
9. Walsh JH, Peterson WI. The treatment of *Helicobacter pylori* infection in the management of peptic ulcer disease. *N. Engl. J. Med.* 1995; 333(15): 984-991.
10. Sahn DF, Washington JA. Antibacterial susceptibility test. dilution methods. In: Balows A, et al. editors. *Manual of clinical microbiology*. Washington DC. Am. Soc. Microbiol. 1991: 1105-1116.
11. Marilyn Ohm-Smith. Agar dilution MIC test for anaerobic bacteria. In: Isenberg HD edior. *Clinical microbiology procedures handbook*. Washington DC. Am. Soc. Microbiol. 1992: 5.9.1-5.9.19.
12. Debets-Ossenkopp YJ, Namavar F, MacLaren DM. Effect of an acidic environment on the susceptibility of *Helicobacter pylori* to trospectomycin and other antimicrobial agents. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1995; 14: 353-355.
13. Iwahi T, Satoh H, Nakao M, et al. Lansoprazole, a novel benzimidazole proton pump inhibitor, and its related compounds have selective activity against *Helicobacter pylori*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 1991; 35: 490-496.
14. Brum RA. Lansoprazole and omeprazole in the treatment of acid peptic disorders. *Am. J. Health-Syst. Pharm.* 1996; 53: 1401-1415.
15. Berger SA, Gorea A, Moskowitz M, Santo M, Gilat T. Effect of inoculum size on antimicrobial susceptibility of *Helicobacter pylori*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1993; 12: 782-783.
16. Labens J, Gyenes E, et al. Amoxicillin plus omeprazole vs triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori* in duodenal ulcer disease. a prospective, randomized, and controlled study. *Gut* 1993; 34: 1167-1170.
17. Bertoni G, Sassatelli R, Nigrisoli E, et al. Triple therapy with azithromycin, omeprazole, and amoxicillin is highly effective in the eradication of *Hel-*

- icobacter pylori*. A controlled trial vs omeprazole plus amoxicillin. Am. J. Gastroenterol. 1996; 91: 258-263.
18. Bayerdorffer E, Miehke S, et al. Double-blind trial of omeprazole and amoxicillin to cure *Helicobacter pylori* infection in patients with duodenal ulcers. Gastroenterology 1995; 108: 1412-1417.
 19. Hosking SW, Link TK, et al. Randomised controlled trial of short-term treatment to eradicate *Helicobacter pylori* in patients with duodenal ulcer. Br. Med. J. 1992; 305: 502-504
 20. Hatlebakk JG, Hausken T, Bang CJ, Berstad. Lansoprazole capsules and amoxicillin oral suspension in the treatment of peptic ulcer disease. Scand. J. Gastroenterol. 1995; 30: 1053-1057.
 21. Takimoto T, Kimura K, et al. Dual therapy with lansoprazole and clarithromycin for eradication of *Helicobacter pylori*. Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. 1995; 7(Suppl 1): S63-S66.
 22. Axon ATR. The role of acid inhibition in the treatment of *Helicobacter pylori* infection. Scand. J. Gastroenterol. 1994; 29(Suppl 201): 16-23.
 23. Midolo PD, et al. *Helicobacter pylori* resistance to tetracycline. Lancet 1996; 347: 1194-1195.