

銀翹散과 Quinolone계 항생제의 併用이 호기성 Gram(-) 細菌株에 대한 試驗管内 抗菌力에 미치는 영향

송광규, 전귀옥, 서영호, 권은희, 조동희, 박미연, 최혜운, 김종대

대구의한대학교 한의과대학 내과학교실

Synergic Effects of *Eunkyo-san* and Quinolones on 5 Strains of Aerobic Gram-negative Bacteria

Kwang-Kyu Song, Kwi-Ok Jeon, Young-Ho Seo, Eun-Hee Kwon, Dong-Hee Cho, Mee-Yeon Park, Hae-Yun Choi, Jong-Dae Kim

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University, Daegu, Korea

Abstractives & Methods : In order to evaluate the *in vitro* synergic effects of *Eunkyo-san* which is a traditional poly-herbal formula that has been used in the treatment of respiratory diseases in oriental medicine, and quinolone antibiotics, rifloxacin (RUFX) and ciprofloxacin(CPFX), experimentation was designed to determine minimal inhibitory concentration(MIC), MIC₅₀ and MIC₉₀ of single use of quinolones and concomitant treatment with *Eunkyo-san* against 5 strains of aerobic gram negative bacteria, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Hemophilus influenzae*, *Citrobacter freundii* and *Pseudomonas aeruginosae*.

Results : In the case of aerobic gram negative bacteria, the MIC, MIC₅₀ and MIC₉₀ against *Klebsiella pneumoniae* and *Citrobacter freundii* significantly decreased in concomitant-treated groups with *Eunkyo-san* compared to those of single-treated groups of RUFX and CPFEX, respectively. However, no significant changes were demonstrated against *Echerichia coli*, *Hemophilus influenzae* and *Pseudomonas aeruginosae*.

Conclusion : According to these results, concomitant use of *Eunkyo-san* against some strains of aerobic gram-negative bacteria dramatically increases *in vitro* antibacterial activity of RUFX and CPFEX, and the increase and selectivity of antibacterial activities against these strains is attributable to *Eunkyo-san*, and not RUFX or CPFEX activity.

Key Words: Quinolones, Rifloxacin(RUFX), Ciprofloxacin(CPFEX), Aerobic gram-negative bacteria, *Eunkyo-san*(銀翹散)

1. 緒 論

의약분업 이후 각 개인이 항생제를 남용하는 일은 크게 감소하였으나 아직 우리나라의 여건상 항생제 남용이 큰 문제점으로 남아 있으며, 과량의 항생제를 사용하여 이에 많은 부작용이 생기고 내성

균도 많아지면서 중증감염이 증가되어 여러 가지의 새로운 문제점들에 직면하게 되었다¹.

현재 quinolone계 항생제는 종류에 따라 다양한 항균력을 나타내어 요로감염증과 호흡기 감염증을 포함한 거의 모든 감염증에 적용될 수 있다고 알려져 있으며, 실제 임상에서도 매우 광범위하게 적용되어져 왔다^{2,4}. 하지만 quinolone계 항생제는 용량의존성에 따라 소화기 장애 및 간독성, 심장독성, 신장독성과 같은 심각한 부작용을 초래하여 사용량이 극히 제한을 받고 있으며 이러한 독성을 완화시키기 위한 노력이 현재에도 계속 진행 중으로 이 중

· 접수 : 2005. 4. 19. · 채택 : 2005. 6. 9.
· 교신저자 : 송광규, 대구광역시 수성구 상동 165
대구의한대부속 대구한방병원
(Tel. 053-770-2082, Fax. 053-770-2169
E-mail : silent95@hanmail.net)

비교적 독성이 적은 신약의 개발과 함께 또 다른 보조 약물을 동시에 사용하여 상승작용에 의한 사용량의 감소를 위한 노력이 진행되고 있다. 그러나 또 다른 문제를 야기할 수 있는 새로운 기전의 항생제 개발보다는 다른 약물과의 병용효과를 기대할 수 있도록 quinolone계 항생제의 사용량을 줄이는 방향으로 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

한약 중 특히 감염성 질환의 치료나, 항염제로 사용되어온 한약은 생체 활성을 유발하거나 세균에 대한 저항성을 높여 어느 정도 유효한 효과를 나타낼 것으로 생각되며 한약재 성분 중에 포함된 성분 중 직접적인 항균력을 나타내는 물질이 포함되어 있을 가능성이 매우 높으므로 이들 한약 중 한방임상에서 감염성 질환에 효과적으로 다용되고 있는 銀翹散과 quinolone계 항생제의 병용이 내성균주의 출현을 막고 항생제의 사용량을 줄일 수 있는 새로운 치료 대책이 될 것으로 기대되어 본 연구를 시작하게 되었다.

이제까지 한약처방과 quinolone계 항생제 병용투여에 관한 연구보고로는 국내에서 銀翹散과 麻黃潤肺湯의 병용투여가 Gram(+) 세균주에 대한 시험관내 항균력에 미치는 효과⁵⁻⁸를 연구하여 유의한 결과들이 발표되었으나 Gram(-) 세균주에 대한 연구는 없는 실정이다.

이에 저자는 『溫病條辨』에 처음 수록되어 溫病

의 邪在衛分 表熱證의 대표적인 처방으로 辛涼透表 清熱解毒의 效能이 있어 현대에 폐렴과 같은 감염성 질환에 사용하는 銀翹散^{9,10}과 비교적 잘 알려진 quinolone계 항생제 중 ciprofloxacin(이하 CPFX)과 rifloxacin(이하 RUFX)과의 병용효과를 알아보기 위해 5종의 호기성 Gram(-) 세균주를 사용한 *in vitro* 방법을 통해 실험적 연구로 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 材料

1) 藥材

본 실험에서 사용된 약재는 (주)한국신약(Daejon, Korea)에서 구입하여 사용하였고, 처방은 『溫病條辨』을 따랐으며 1첩의 내용과 분량은 아래와 같다 (Table 1).

2) 實驗菌株

본 실험에 사용된 세균주는 일본 오즈카제약 보관균주와 미국 ATCC 보관 균주를 구입하여 사용하였다. 본 실험에 사용된 균주는 호기성 그람음성균주 5종을 사용하였으며, 균주는 구입 후 thawing한 다음 일주일 간 계대배양하고, 실험에 사용하였다 (Table 2).

Table 1. Composition of *Eunkyo-san* Used in This Study

藥物名	生藥名	用量(g)
金銀花	Lonicerae Flos	40
連翹	Forsythiae Fructus	40
苦桔梗	Platycodi Radix	24
薄荷	Menthae Herba	24
牛蒡子	Arctii Fructus	24
淡豆豉	Sojae Semen Preparatum	20
生甘草	Glycyrrhizae Radix	20
淡竹葉	Lophatheri Herba	16
荊芥穗	Schizonepetae Herba	16
Total	9 types	224

Table 2. Aerobic Gram(-) Bacterial Strains

Aerobic Gram(-) Bacteria Strains
<i>Escherichia coli</i> MB4-01
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632
<i>Hemophilus influenzae</i> ATCC 9327
<i>Citrobacter freundii</i> IFO 12681
<i>Pseudomonas aeruginosae</i> ATCC 10145

3) 實驗群의 區分

대조약물로 대표적인 quinolone계 항생제인 rufloxacin(Merk, Darmstadt, Germany)과 ciprofloxacin(Merk, Darmstadt, Germany)을 사용하였으며, 대조약물 2종을 각각 단독 처리한 군(RUFX 및 CPFX 군)과 항생제 처리 후 銀翹散을 각 50, 100 μ g/ml 농도로 처리한 실험군(RT1, RT2, CT1, CT2)의 6군으로 구분하여, 실험을 실시하였다(Table 3.).

4) 抗生劑 用量設定

한천평판희석법(일본 화학요법학회 표준법 및 일본 화학요법학회 혐기성균 측정법 검토위원회법)에 따라 RUFX과 CPFX은 각각 100 μ g/ml에서부터 0.003 μ g/ml까지 2배씩 희석하여 사용하였으며(16 단계), 실험군에서는 대조약물을 100 μ g/ml에서부터 0.003 μ g/ml까지 2배씩 희석한 후 각각 50, 100 μ g/ml의 銀翹散을 첨가하였다.

2. 方法

1) 藥物調劑

선정된 약제 1첩 분량(224g)을 취하여 정제수 2,000ml로 가열 추출한 후 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator(N-N type; LAB Camp, Dajeon, Korea)로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer(PVTFD10A; Ilshin Lab., Seoul, Korea)를 사용하여 동결 건조시켜 1첩당 3.50g(수율 1.56%)의 추출물을 얻어 실험에 사용하였다.

2) MIC 測定

한천평판희석법을 사용하였다. 즉, 5종의 호기성 그람음성균을 37 $^{\circ}$ C에서 18시간 전 배양(MHB 또는 BHIA, Difco, Detroit, USA)하여 UV-spectro-photometer를 이용하여 optical density(OD; 550nm) 값을 측정하고 10⁶cells/ml의 균을 100 μ g/ml에서부터 0.003 μ g/ml까지 2배씩 희석된 약물 또는 銀翹散이 함께 첨가된 agar microplate에 5 μ l씩 분주한 후 다시 37 $^{\circ}$ C에서 18시간 배양(MHB 또는 BHIA Difco, Detroit, USA)하였다. 최소발육저지농도(MIC)의 판정은 OD 값을 측정하여 무처치 대조군에 비해 감소된 최저약물농도를 MIC로 결정하였으며, OD 값을 기준으로 90% 발육저지농도(MIC₉₀)와 50% 발육저지농도(MIC₅₀)를 계산하였다.

Table 3. Experimental Grouping *in vitro* Assay Used in This Study

Group ID	Types of used quinolone	Dosage of herbal-drug*
RUFX	Rufloxacin	None
RT1	Rufloxacin	50 μ g/ml
RT2	Rufloxacin	100 μ g/ml
CPFEX	Ciprofloxacin	None
CT1	Ciprofloxacin	50 μ g/ml
CT2	Ciprofloxacin	100 μ g/ml

* *Eunkyo-san* (Han kook shin yak, Daejeon, Korea) were used in this study.

RUFX: single use of rufloxacin-dosig group

RT1: mixed group of rufloxacin and *Eunkyo-san* 50 μ g/ml-dosig group

RT2: mixed group of rufloxacin and *Eunkyo-san* 100 μ g/ml-dosig group

CPFEX: single use of ciprofloxacin-dosig group

CT1: mixed group of ciprofloxacin and *Eunkyo-san* 50 μ g/ml-dosig group

CT2: mixed group of ciprofloxacin and *Eunkyo-san* 100 μ g/ml-dosig group

3) 統計處理

MIC는 5번의 반복실험을 통해 평균 ± 표준오차 (mean ± S. E.)로 표시하였으며, 銀翹散 추출물을 가한 군과 銀翹散 추출물을 첨가하지 않은 대조군을 평가하기 위하여, 각각의 비침가군과 비교하여, Mann-Whitney Wilcoxon's test로 유의성을 검증하였으며, p value가 0.05이하일 때 유의성을 인정하였다. MIC₅₀과 MIC₉₀은 Probit 방법으로 계산하였고, 통계처리는 SPSS for Windows(Release 6.1.2, SPSS Inc., USA)를 사용하였다.

III. 結果

1. Escherichia coli MB4-01에 대한 MIC

E. coli MB4-01에 대한 MIC는 RUFX 단독 처리시 0.273 ± 0.107 μg/ml로 관찰되었으며, CPFX 단독 처리군에서는 0.064 ± 0.033 μg/ml로 관찰되어 RUFX 및 CPFX 모두 *E. coli* MB4-01 균주에 대해 강한 항균력을 나타내는 것으로 관찰되었다. 한편 RUFX

과 銀翹散을 농도별로 동시에 처리한 RT1과 RT2에서는 각각 0.391 ± 0.239 μg/ml로 관찰되어 RUFX 단독 처리군과 유사하게 관찰되었다. 또한 CPFX과 銀翹散을 농도별로 동시에 처리한 CT1과 CT2 군에서도 각각 0.108 ± 0.053과 0.074 ± 0.076 μg/ml로 관찰되어 CPFX 단독 처리군에 비해 다소 증가되었으나, 유의성은 인정되지 않았다.

MIC₅₀은 RUFX 및 CPFX 단독 처리시 0.52 ± 0.20과 0.11 ± 0.06 μg/ml로 관찰되었다. 한편 RT1과 RT2에서는 각각 0.72 ± 0.44와 0.64 ± 0.43 μg/ml로 관찰되어 RUFX 단독 처리군과 유사하게 관찰되었으며, CT1과 CT2 군에서도 각각 0.18 ± 0.11과 0.13 ± 0.14 μg/ml로 관찰되어 CPFX 단독 처리군에 비해 다소 증가되었으나, 유의성은 관찰되지 않았다.

MIC₉₀은 RUFX 및 CPFX 단독 처리시 0.99 ± 0.29와 0.23 ± 0.15 μg/ml로 관찰되었다. 한편 RT1과 RT2에서는 각각 1.19 ± 0.87과 1.05 ± 0.61 μg/ml로 관찰되어 RUFX 단독 처리군에 비해 다소 증가되었으나 유의성은 인정되지 않았고, CT1과 CT2 군에

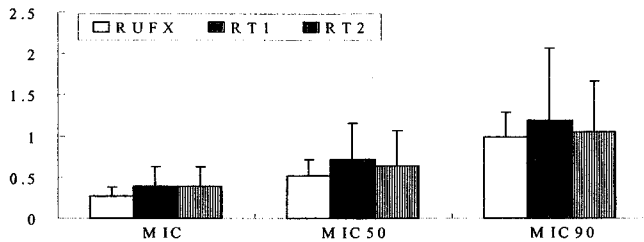


Fig. 1. MIC, MIC₅₀ and MIC₉₀ against *E. coli* MB4-01 of RUFX and their concomitant treatment with *Eunkyo-san* Mean ± S. E., μg/ml; Group ID was listed in Table 3

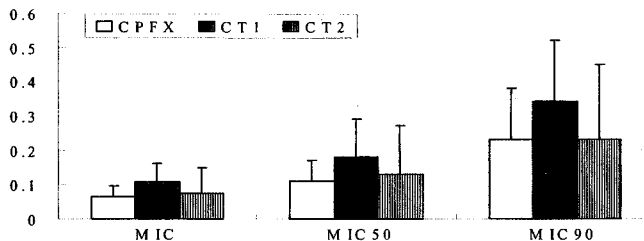


Fig. 2. MIC, MIC₅₀ and MIC₉₀ against *E. coli* MB4-01 of CPFX and their concomitant treatment with *Eunkyo-san* Mean ± S. E., μg/ml; Group ID was listed in Table 3

서도 각각 0.34 ± 0.18 과 $0.23 \pm 0.22 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 CPFX 단독 처리군과 유사하게 관찰되었다(Fig. 1, 2).

2. *Klebsiella pneumoniae* NCTC 9632에 대한 MIC

K. pneumoniae NCTC 9632에 대한 MIC는 RUFX 단독 처리시 $0.703 \pm 0.509 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되었으며, CPFX 단독 처리군에서는 $0.215 \pm 0.107 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 RUFX 및 CPFX 모두 *K. pneumoniae* NCTC 9632 균주에 대해 항균력을 나타내는 것으로 관찰되었다. 한편 RUFX과 銀翹散을 농도별로 동시에 처리한 RT1과 RT2에서는 각각 0.156 ± 0.053 과 $0.054 \pm 0.027 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 RUFX 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 감소가 인정되었고, CPFX과 銀翹散을 농도별로 동시에 처리한 CT1과 CT2 군에서도 각각 0.049 ± 0.030 과 $0.014 \pm 0.009 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 CPFX 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.05$ 또는 $p < 0.01$) 감소를 나타내었다.

MIC₅₀은 RUFX 및 CPFX 단독 처리시 1.41 ± 1.09 와 $0.41 \pm 0.22 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되었다. 한편 RT1과 RT2에서는 각각 0.25 ± 0.08 과 $0.09 \pm 0.06 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 RUFX 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 감소가 인정되었고, CT1과 CT2 군에서도 각각 0.09 ± 0.05 와 $0.03 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 CPFX 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 감소가 인정되었다.

MIC₉₀은 RUFX 및 CPFX 단독 처리시 2.89 ± 2.39 와 $0.81 \pm 0.37 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되었다. 한편 RT1과 RT2에서는 각각 0.36 ± 0.11 과 $0.16 \pm 0.11 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 RUFX 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 감소가 인정되었고, CT1과 CT2 군에서도 각각 0.16 ± 0.10 과 $0.05 \pm 0.05 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 CPFX 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 감소가 인정되었다(Fig. 3, 4).

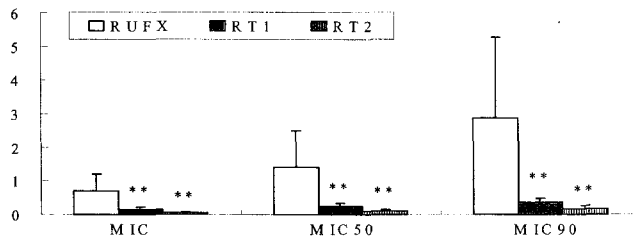


Fig. 3. MIC, MIC₅₀ and MIC₉₀ against *K. pneumoniae* NCTC 9632 of RUFX and their concomitant treatment with *Eunkyo-san*

Mean \pm S. E., $\mu\text{g/ml}$; Group ID was listed in Table 3

** $p < 0.01$ compared to that of RUFX

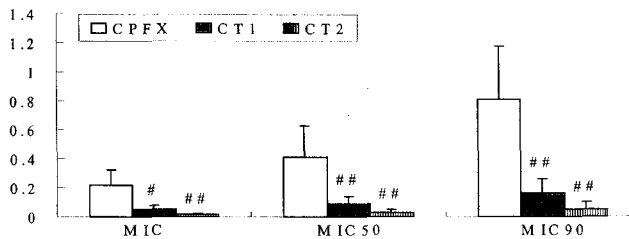


Fig. 4. MIC, MIC₅₀ and MIC₉₀ against *K. pneumoniae* NCTC 9632 of CPFX and their concomitant treatment with *Eunkyo-san*

Mean \pm S. E., $\mu\text{g/ml}$; Group ID was listed in Table 3

$p < 0.05$ compared to that of CPFX

$p < 0.01$ compared to that of CPFX

3. *Hemophilus influenzae* ATCC 9327에 대한 MIC

H. influenzae ATCC 9327에 대한 MIC는 RUFX 단독 처리시 $0.625 \pm 0.214 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되었으며, CPFX 단독 처리군에서는 $0.108 \pm 0.053 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 RUFX 및 CPFX 모두 *H. influenzae* ATCC 9327 균주에 대해 비교적 강한 항균력을 나타내는 것으로 관찰되었다. 한편 RUFX과 銀翹散을 농도별로 동시에 처리한 RT1과 RT2에서는 각각 0.586 ± 0.276 과 $0.742 \pm 0.524 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 RUFX 단독 처리군과 유사하게 관찰되었고, 銀翹散과 CPFX을 농도별로 동시에 처리한 CT1과 CT2군에서는 각각 0.127 ± 0.065 및 $0.137 \pm 0.144 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 CPFX 단독 처리군에 비해 다소 증가되었으나, 유의성은 인정되지 않았다.

MIC₅₀은 RUFX 및 CPFX 단독 처리시 각각 1.09 ± 0.28 과 $0.18 \pm 0.10 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되었다. 한편 RT1과 RT2에서는 각각 1.02 ± 0.48 과 $1.42 \pm 1.15 \mu\text{g/ml}$ 로

관찰되어 RUFX 단독 처리군과 유사하게 관찰되었고, CT1과 CT2군에서는 각각 0.22 ± 0.12 및 $0.23 \pm 0.26 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 CPFX 단독 처리군에 비해 다소 증가되었으나, 유의성은 인정되지 않았다.

MIC₉₀은 RUFX 및 CPFX 단독 처리시 각각 2.25 ± 0.63 과 $0.36 \pm 0.16 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되었다. 한편 RT1과 RT2에서는 각각 1.74 ± 0.68 과 $2.70 \pm 2.19 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 RUFX 단독 처리군과 유사하게 관찰되었고, CT1과 CT2군에서는 각각 0.37 ± 0.15 및 $0.44 \pm 0.45 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 CPFX 단독 처리군과 유사하게 관찰되었다(Fig. 5, 6).

4. *Citrobacter freundii* IFO 12681에 대한 MIC

C. freundii IFO 12681에 대한 MIC는 RUFX 단독 처리시 $0.098 \pm 0.060 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되었으며, CPFX 단독 처리군에서는 $0.041 \pm 0.034 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 RUFX 및 CPFX 모두 *C. freundii* IFO 12681 균주에

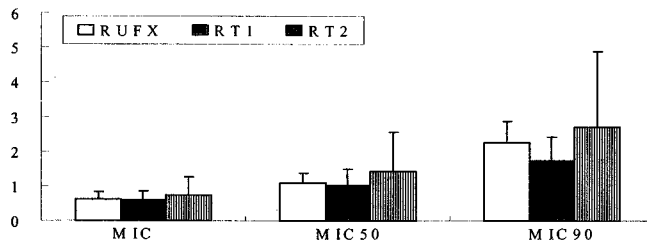


Fig. 5. MIC, MIC₅₀ and MIC₉₀ against *H. influenzae* ATCC 9327 of RUFX and their concomitant treatment with *Eunkyo-san*
Mean \pm S. E., $\mu\text{g/ml}$; Group ID was listed in Table 3

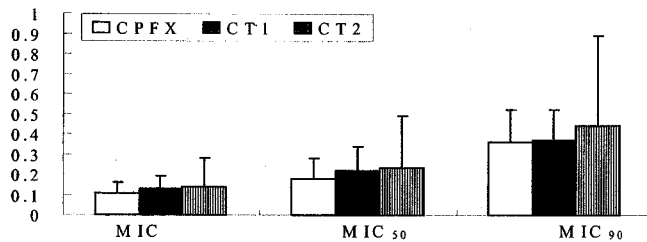


Fig. 6. MIC, MIC₅₀ and MIC₉₀ against *H. influenzae* ATCC 9327 of CPFX and their concomitant treatment with *Eunkyo-san*
Mean \pm S. E., $\mu\text{g/ml}$; Group ID was listed in Table 3

대해 매우 강한 항균력을 나타내는 것으로 관찰되었다. 한편 RUFX과 銀翹散을 농도별로 동시에 처리한 RT1과 RT2에서는 각각 0.054 ± 0.027 과 $0.029 \pm 0.019 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어, RT1은 RUFX 단독 처리군에 비해 현저히 감소하였으나, 유의성은 인정되지 않았다. 그러나 RT2는 RUFX 단독 투여군에 비해 유의성 있는($p < 0.05$) 감소가 인정되었다. 또한 銀翹散과 CPFX을 농도별로 동시에 처리한 CT1과 CT2 군에서도 각각 0.012 ± 0.007 과 $0.007 \pm 0.003 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어, CPFX 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.05$ 또는 $p < 0.01$) 감소를 나타내었다.

MIC₅₀은 RUFX 및 CPFX 단독 처리시 0.17 ± 0.12 와 $0.08 \pm 0.06 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되었다. 한편 RT1과 RT2에서는 각각 0.08 ± 0.04 와 $0.05 \pm 0.03 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어, $50 \mu\text{g/ml}$ 의 銀翹散을 처리한 RT1은 RUFX 단독 처리군에 비해 감소되었으나, 유의성은 인정되지 않았다. 그러나 $100 \mu\text{g/ml}$ 의 銀翹散을 처리한

RT2는 RUFX 단독 투여군에 비해 유의성 있는($p < 0.05$) 감소가 인정되었다. 또한 CT1과 CT2 군에서도 각각 0.02 ± 0.01 과 $0.01 \pm 0.01 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 CPFX 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.05$ 또는 $p < 0.01$) 감소를 나타내었다.

MIC₉₀은 RUFX 및 CPFX 단독 처리시 0.31 ± 0.24 와 $0.18 \pm 0.14 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되었다. 한편 RT1과 RT2에서는 각각 0.15 ± 0.07 과 $0.06 \pm 0.03 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어, $50 \mu\text{g/ml}$ 의 銀翹散을 처리한 RT1은 RUFX 단독 처리군에 비해 감소되었으나 유의성은 인정되지 않았고, $100 \mu\text{g/ml}$ 의 銀翹散을 처리한 RT2는 RUFX 단독 투여군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 감소가 인정되었다. 또한 CT1과 CT2 군에서도 각각 0.04 ± 0.02 와 $0.02 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 CPFX 단독 처리군에 비해 유의성 있는($p < 0.05$) 감소를 나타내었다(Fig. 7, 8).

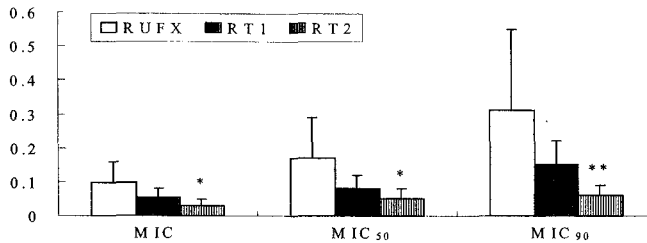


Fig. 7. MIC, MIC₅₀ and MIC₉₀ against *C. freundii* IFO 12681 of RUFX and their concomitant treatment with *Eunkyo-san*

Mean ± S. E., $\mu\text{g/ml}$; Group ID was listed in Table 3

* $p < 0.05$ compared to that of RUFX

** $p < 0.01$ compared to that of RUFX

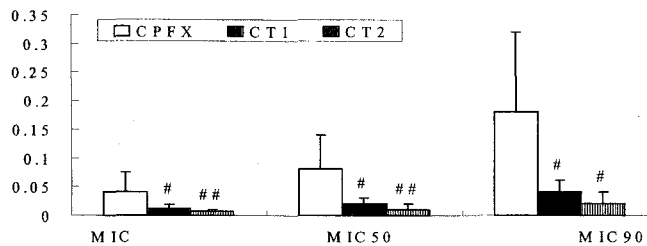


Fig. 8. MIC, MIC₅₀ and MIC₉₀ against *C. freundii* IFO 12681 of CPFX and their concomitant treatment with *Eunkyo-san*

Mean ± S. E., $\mu\text{g/ml}$; Group ID was listed in Table 3

$p < 0.05$ compared to that of CPFX

$p < 0.01$ compared to that of CPFX

5. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145에 대한 MIC

P. aeruginosa ATCC 10145에 대한 MIC는 RUFX 단독 처리시 $12.500 \pm 7.655 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되었으며, CPFX 단독 처리군에서는 $0.313 \pm 0.107 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 RUFX은 비교적 낮은 항균력을 나타내었으나, CPFX은 *P. aeruginosa* ATCC 10145 균주에 대해 비교적 강한 항균력을 나타내는 것으로 관찰되었다. 한편 RUFX과 銀翹散을 농도별로 동시에 처리한 RT1과 RT2에서는 각각 9.063 ± 4.990 과 $10.000 \pm 3.423 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 RUFX 단독 처리군에 비해 다소 감소되었으나 유의성은 인정되지 않았고, CPFX과 銀翹散을 농도별로 동시에 처리한 CT1과 CT2 군에서도 각각 0.254 ± 0.131 과 $0.273 \pm 0.107 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 CPFX 단독 처리군에 비해 다소 감소되었으나, 유의성은 인정되지 않았다.

MIC₅₀은 RUFX 및 CPFX 단독 처리시 각각 25.68 ± 15.71 과 $0.55 \pm 0.23 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되었다. 한편 RT1과 RT2에서는 각각 19.84 ± 10.87 과 $21.21 \pm 7.37 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 RUFX 단독 처리군에 비해 다소 감소되었으나, 유의성은 인정되지 않았고, CT1과 CT2 군에서도 각각 0.43 ± 0.23 과 $0.42 \pm 0.19 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 CPFX 단독 처리군에 비해 다소 감소되었으나 유의성은 인정되지 않았다.

MIC₉₀은 RUFX 및 CPFX 단독 처리시 각각 53.26 ± 25.78 과 $1.10 \pm 0.48 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되었다. 한편 RT1과 RT2에서는 각각 36.67 ± 20.03 과 $38.20 \pm 12.01 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 RUFX 단독 처리군과 유사하게 관찰되었고, CT1과 CT2 군에서도 각각 0.87 ± 0.41 과 $0.78 \pm 0.39 \mu\text{g/ml}$ 로 관찰되어 CPFX 단독 처리군에 비해 다소 감소되었으나 유의성은 인정되지 않았다(Fig. 9, 10.).

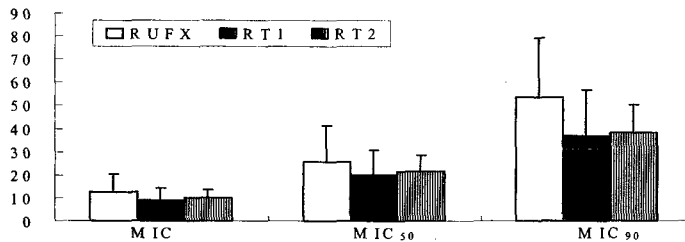


Fig. 9. MIC, MIC₅₀ and MIC₉₀ against *P. aeruginosa* ATCC 10145 of RUFX and their concomitant treatment with Eunkyo-san v5
Mean \pm S. E., $\mu\text{g/ml}$; Group ID was listed in Table 3

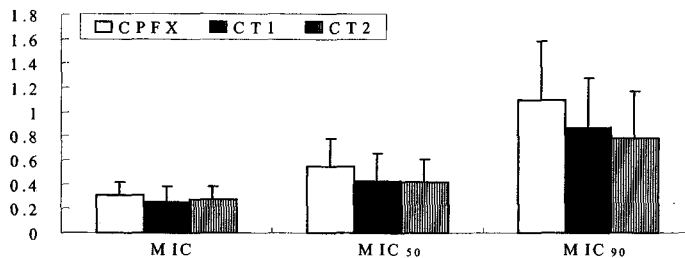


Fig. 10. MIC, MIC₅₀ and MIC₉₀ against *P. aeruginosa* ATCC 10145 of CPFX and their concomitant treatment with Eunkyo-san
Mean \pm S. E., $\mu\text{g/ml}$; Group ID was listed in Table 3

IV. 考 察

최근들어 사람의 수명연장과 만성질환, 악성종양 등의 증가에 따른 우수한 항생제의 계속적인 개발로 많은 생명을 구할 수 있게 되었지만 반면 항생제를 지나치게 사용하여 이에 많은 부작용이 생기고 내성균도 많아지면서 중증감염이 증가되어 여러 가지의 새로운 문제점들에 직면하게 되었다¹.

Quinolone계 항생제는 종류에 따라 다양한 항균력을 나타내므로 요로감염증과 호흡기 감염증을 포함한 거의 모든 감염증에 적용될 수 있다고 알려져 있으며, 실제 임상에서도 매우 광범위하게 적용되어져 왔다²⁻⁴.

그러나 가장 흔한 quinolone계 항생제의 부작용은 소화기 장애로 환자에게 투여했을 때 매스꺼움, 구토 및 설사와 같은 증상을 초래하는 것으로 알려져 있으며, 이러한 독성은 용량의존성을 나타내는 것으로 알려져 있다¹¹. 또한 모든 항생제에서 가장 문제시되고 있는 내성균주의 출현 역시 quinolone계 항생제에서도 문제로 대두되고 있다¹²⁻⁷.

따라서 이러한 부작용을 완화시키고 내성균 출현을 감소시키기 위한 노력이 현재에도 계속 진행 중이며, 이중 새로운 광범위 항균력을 가지는 동시에 비교적 독성이 적은 신약의 개발과 또 다른 보조 약물을 동시에 사용하여 상승작용(synergic effect)에 의한 사용량의 감소를 위한 노력이 가장 활발히 진행되고 있으나 새로운 기전의 항생제 개발보다는 다른 약물과의 병용효과를 기대할 수 있도록 quinolone계 항생제의 사용량을 줄이는 방향으로 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

이러한 노력으로 천연물을 이용한 한약과의 병용 투여시 항균력을 높여 항생제의 사용량을 경감시킬 수 있을 거라는 기대에 따라 최근 많은 연구가 진행되고 있는 실정이며 본 연구에서는 현대에 폐렴과 같은 염증질환에 사용하는 銀翹散^{9,10}과 대표적인 quinolone계 항생제 중 rifloxacin(이하 RUFX)과 ciprofloxacin(이하 CPFX)과의 병용효과를 알아보기 위해 본 연구를 실시하게 되었다.

銀翹散은 『溫病條辨』에 “但熱不惡寒而渴者 辛涼平劑銀翹散主之”, “太陰溫病 惡風寒 服桂枝湯已 惡寒解 餘病不解者 銀翹散主之”라고 처음 수록된 邪在衛分 表熱證의 대표적인 처방이다. 連翹, 金銀花, 苦桔梗, 薄荷, 竹葉, 生甘草, 荊芥穗, 淡豆豉, 牛蒡子으로 구성되어 있으며 辛涼透表 清熱解毒의 효능으로 溫病初期에 發熱無汗하거나 혹은 汗出하되 不暢하고 微惡風寒하며 頭痛口渴, 咳嗽咽痛하고 舌尖이 紅하고 舌苔가 薄白 혹은 薄黃하며, 脈象이 浮數한 증상에 쓰인다^{10,18}.

方中에 金銀花와 連翹는 性味가 辛涼하여 透邪清熱하고 또한 芳香은 辟穢解毒시키는 효능이 있어 主症을 치료하는 君藥이 되고 薄荷와 牛蒡子는 君藥이 風熱을 疏散시켜 咽喉를 清利하는 藥力을 증강시키고 荊芥穗와 淡豆豉는 비록 辛溫한 약물이나 약성이 비교적 和平하여 溫하되 燥하지 않아 君藥과 배합되어 透邪解毒시키는 작용을 보조하여 臣藥이 되며, 竹葉은 性味가 甘寒하여 生津시키고 清熱止渴케하고 桔梗은 肺氣를 升提시켜 止咳利咽하게 하므로 佐藥이 되고 甘草는 諸藥을 調和하므로 使藥으로 하였고, 아울러 桔梗과 배합되어 利咽祛痰하는 功效를 얻게 된다¹⁰.

RUFX은 1980년대 말에 개발된 합성 fluoroquinolone으로 대부분의 장내 세균주와 *Staphylococcus*에 탁월한 효과를 보이나, *Pseudomonas aeruginosa*에는 별 다른 효과를 나타내지 않는 것으로 알려져 있으며 체내 축적이 없고, 생체내 반감기가 길고, 생체 이용율이 높아 현재 가장 많이 선택되는 quinolone계 항생제 중 하나이다¹⁹⁻²¹. CPFX은 1980년대 말에 개발된 2세대 quinolone 항생제로 조직침투성이 좋으며, quinolone계 항생제 중 가장 광범위한 항균력을 나타내는 것으로 알려져 있다. 따라서 CPFX은 현재에도 성인에 있어서 요로 감염증, 호흡기 감염증, 피부 및 연부조직 감염증과 골 및 관절 감염증 등에 가장 먼저 선택, 사용되어지는 항생제 중 하나로 알려져 있으며²², 특히 quinolone 이외의 다른 항생제 특히 methicillin에 내성을 보이는 세균에 대해서도 광범위한 항균력을 나타낸다고 알

려져 있다²³.

RUFX의 독성에 대한 보고는 극히 드무나, 다른 quinolone계 항생제에 비해 현저한 세포독성을 나타내고²⁴, 또 내성균의 출현²⁵ 역시 우려 시 되고 CPFX은 비교적 독성이 강한 항생제로 아급성 심장 독성²⁶, 광독성을 포함한 피부 발적과 신장독성²⁷, 미성숙 동물에서의 연골독성²⁸ 및 건조염과 건과열²⁹ 등의 독성이 초래되며, 또 근래에 들어 내성균의 출현^{25,30} 역시 우려되므로 RUFX과 CPFX 모두 사용량의 조절이 필요할 것으로 생각된다.

본 실험의 결과, RUFX의 경우에는 호기성 그람 음성균 중 *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Hemophilus influenzae* 및 *Citrobacter freundii*에 대해서는 비교적 강한 항균력을 나타낸 반면, *Pseudomonas aeruginosae*에 대해서는 별 다른 항균력을 나타내지 않았다. 그리고 CPFX의 경우에서도 본 실험에 사용한 5종의 호기성 그람음성균 즉, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Hemophilus influenzae*, *Citrobacter freundii* 및 *Pseudomonas aeruginosae*에 대해서 모두 강한 항균력을 나타내었다.

본 실험의 결과 銀翹散을 동시에 처리한 경우, 호기성 그람음성균에 있어서, *Klebsiella pneumoniae* 및 *Citrobacter freundii*에 대한 RUFX과 CPFX의 MIC, MIC₅₀ 및 MIC₉₀을 감소시키는 것으로 관찰되어 이들 세균주에 대한 RUFX과 CPFX의 항균력을 증가시키는 것으로 관찰되었으나, *Escherichia coli*, *Hemophilus influenzae*와 *Pseudomonas aeruginosae*에 대한 RUFX과 CPFX의 항균력에는 별 다른 영향을 미치지 않는 것으로 관찰되었다. 따라서 銀翹散은 RUFX과 CPFX에 대한 항균력에 상관없이 그 항균력을 증가시키는 것으로 생각되어 모든 감수성이 있는 세균주에 대해 그 항균력을 증가시키지는 않고, 어느 정도 균주에 따른 선택성이 있는 것으로 관찰되었다.

이상에서 銀翹散은 *in vitro*에서 일부 호기성 그람음성 세균주에 대한 RUFX 및 CPFX의 항균력을 매우 증가시키는 것으로 생각되나, 세균주에 대한 선택성은 RUFX 또는 CPFX의 항균력에 상관없이

銀翹散에 의해 결정되는 것으로 생각된다. 따라서 銀翹散은 일부 균주에 대해 RUFX 및 CPFX의 항균력을 증가시켜 이들의 사용량을 경감시킬 수 있을 것으로 기대되었다. 향후 한약단독 투여균에 대한 실험설계와 함께 항균력 실험과 관련된 개별 한약제에 대한 연구도 더욱 활발히 이루어져야 할 것으로 생각된다.

V. 結 論

호흡기계 질환 특히 폐렴같은 염증성 질환에 사용되어 온 銀翹散과 quinolone계 항생제 중 rufloxacin (RUFX)과 ciprofloxacin(CPFX)의 병용사용이 항균력에 미치는 효과를 평가하기 위하여 시험관내에서 *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Hemophilus influenzae*, *Citrobacter freundii* 및 *Pseudomonas aeruginosae*의 5종의 호기성 그람음성균 주에 대한 최소발육저지농도(MIC), 50% 발육저지농도(MIC₅₀) 및 90% 발육저지농도 (MIC₉₀)을 측정하였던 결과, 다음과 같은 결과를 얻었다.

銀翹散이 *Klebsiella pneumoniae* 및 *Citrobacter freundii*에 대한 RUFX 및 CPFX의 MIC, MIC₅₀ 및 MIC₉₀을 감소시키는 것으로 관찰되어 이들 세균주에 대한 RUFX 및 CPFX의 항균력을 증가시키는 것으로 관찰되었으나, *Escherichia coli*, *Hemophilus influenzae* 및 *Pseudomonas aeruginosae*에 대한 RUFX 및 CPFX의 항균력에는 별 다른 영향을 미치지 않는 것으로 관찰되었다.

參考文獻

1. 정희영. 항생제의 길잡이. 서울: 수문사; 1990, p.11,108-9.
2. Ball P. Quinolone generations: natural history or natural selection? J Antimicrob Chemother. 2000;46:17-24.
3. Farker K, Naber KG, Funfstuck R. Fluoroqui-

- nolones: utilization in renal and urogenital tract infections. *Med Klin.* 2001;96:383-90.
4. Paladino JA. Is more than one quinolone needed in clinical practice? *Ann Pharmacother.* 2001; 35:1085-95.
 5. 박미연, 김대준, 김종대. 麻黃潤肺湯의 병용이 Quinolone계 항생제중 Rufloxacin의 호기성 Gram(+) 세균주에 대한 시험관내 항균력에 미치는 영향. *대한본초학회지.* 2003;18(4):65-72.
 6. 김대준, 김종대. 麻黃潤肺湯과 Ciprofloxacin 병용이 Gram(+)중 혐기성 균주 7종에 대한 시험관내 항균력에 미치는 영향. *대한본초학회지.* 2003;18(3):161-8.
 7. 신창호. 銀翹散과 Ciprofloxacin 병용이 Gram(+) 세균주에 대한 시험관내 항균력에 미치는 영향. *대구한의대 대학원 석사학위논문.* 2003.
 8. 신호필. 銀翹散과 Rufloxacin 병용이 호기성 Gram(+) 세균주에 대한 시험관내 항균력에 미치는 영향. *동의생리병리학회지.* 2004;18(6):1740-5.
 9. 吳瑭. 溫病條辨(溫病八大名著中). 北京:中國中醫藥出版社; 1995, p.547-50.
 10. 김상찬, 김선희 외 9명. 방제학. 서울:영림사; 1999, p.83-4.
 11. Rubinstein E. History of quinolones and their side effects. *Chemotherapy.* 2001;47:3-8.
 12. MMWR Morb Mortal Whky Rep editorial board. Resistance of *Streptococcus pneumoniae* to fluoroquinolones—United States, 1995-1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2001;50: 800-4.
 13. Fitzgibbon JE, Nahvi MD, Dubin DT, John JF Jr. A sequence variant of *Staphylococcus hominis* with a high prevalence of oxacillin and fluoroquinolone resistance. *Res Microbiol.* 2001; 152:805-10.
 14. Bachoual R, Ouabdesselam S, Mory F, Lascols C, Soussy CJ, Tankovic J. Single or double mutational alterations of *gyrA* associated with fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Microb Drug Resist.* 2001;7:257-61.
 15. Hakanen A, Kotilainen P, Huovinen P, Helenius H, Siitonen A. Reduced fluoroquinolone susceptibility in *Salmonella enterica* serotypes in travelers returning from southeast Asia. *Emerg Infect Dis.* 2001;7:996-1003.
 16. Janoir C, Varon E, Kitzis MD, Gutmann L. New mutation in *parE* in a pneumococcal *in vitro* mutant resistant to fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45:952-5.
 17. Ruiz J, Sierra JM, De Anta MT, Vila J. Characterization of sparfloxacin-resistant mutants of *Staphylococcus aureus* obtained *in vitro*. *Int J Antimicrob Agents.* 2001;18:107-12.
 18. 葉天士. 外感溫熱編(溫病八大名著中). 北京:中國中醫藥出版社; 1995, p.157.
 19. Ravizzola G, Pinsi G, Pirali F, Colombrita D, Foresti I, Peroni L, Turano A. Rufloxacin (MF-934): *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity. *Drugs Exp Clin Res.* 1989;15(1):11-5.
 20. Segre G, Cerretani D, Cerri D, Moltoni L. A new tricyclic fluoroquinolone, rufloxacin(MF-934), with interesting antibacterial and pharmacokinetic characteristics. *Drugs Exp Clin Res.* 1988;14 (12):747-54.
 21. Mattina R, Cocuzza CE, Cesana M, Bonfiglio G. *In vitro* activity of a new quinolone, rufloxacin, against nosocomial isolates. *Chemotherapy.* 1991;37(4):260-9.
 22. Weisman LR, Balfour JA. Ciprofloxacin. A review of its pharmacological profile and therapeutic use in the elderly. *Drugs Aging.* 1994;4:145-73.
 23. Fass RJ. Ciprofloxacin. Best use of this new broad-spectrum antibiotic. *Postgrad Med.* 1990; 87:117-22.

24. Pessina A, Gribaldo L, Mineo E, Neri MG. *In vitro* short-term and long-term cytotoxicity of fluoroquinolones on murine cell lines. *Indian J Exp Biol.* 1994;32:113-8.
25. Cunha BA. Antibiotic resistance. *Med Clin North Am.* 2000;84:1407-29.
26. Pispirigos K, Chrysanthopoulos K. Evaluation of cardiac subacute toxicity of ciprofloxacin in rats using serum biochemical parameters. *Arzneimittelforschung.* 2001;51:582-7.
27. Pons R, Escutia B. Ciprofloxacin-induced vasculitis with cutaneous and renal involvement. *Nefrologia.* 2001;21:209-12.
28. Egerbacher M, Edinger J, Tschulenk W. Effects of enrofloxacin and ciprofloxacin hydrochloride on canine and equine chondrocytes in culture. *Am J Vet Res.* 2001;62:704-8.
29. Williams RJ III, Attia E, Wickiewicz TL, Hannafin JA. The effect of ciprofloxacin on tendon, paratenon, and capsular fibroblast metabolism. *Am J Sports Med.* 2000;28:364-9.
30. Joyanes P, Pascual A, Gimenez MJ, Garcia I, Aguilar L, Perea E. Differences between two new quinolones(gemifloxacin and trovafloxacin) and ciprofloxacin in their concentration-dependent killing of *Streptococcus pneumoniae*. *Chemotherapy.* 2001;47:409-14.