



Original Article / 원저

황련과 *Pelargonium sidoides* 복합제제의 호흡기 감염 세균에 대한 항균 효과

이종록¹, 민병구², 박정아³, 김상찬³, 박숙자^{1*}

¹대구한의대학교 제약공학과, ²충남대학교, ³대구한의대학교 한의과대학

Anti-bacterial effect of fusion formulation of *Coptis rhizoma* and *Pelargonium sidoides* on the growth of bronchial diseases bacteria

Jong Rok Lee¹, Byung-Gu Min², Chung A Park³, Sang Chan Kim³, Sook Jahr Park^{1*}

¹Department of Pharmaceutical Engineering, Daegu Haany University,
²Chungnam National University and
³College of Korean medicine, Daegu Haany University

ABSTRACT

Objective : *Coptis rhizoma* is traditional herb in Korean medicine, and *Pelargonium sidoides* extract has been used for relief of acute bronchitis in Western medicine. The present study examined the antibacterial effect of fusion formulation of *Coptis rhizoma* extract and *Pelargonium sidoides* extract against bronchial diseases bacteria.

Methods : Test sample, fusion formulation of Korean and Western medicine, was prepared by mixing *Coptis rhizoma* extract and *Pelargonium sidoides* extract at a ratio of 1:2 (w/w). Antimicrobial properties of test sample were determined by agar diffusion assay and minimum inhibitory concentration (MIC) against bronchus diseases bacteria.

Results : In agar diffusion assay, the highest amount of test sample (4 mg/disk) exhibited antibacterial activity against all microorganisms tested. Test sample showed the high activity for *S. aureus* (19.5 mm), *C. diphtheriae* (16.5 mm), *A. fumigatus* (19.3 mm), *F. nucleatum* (22.7 mm) and *Mycobacterium* sp. (17.3 mm), whereas it showed a low activity for *K. pneumonia* (9.7 mm). The MIC value was determined as 250 µg/ml against *C. diphtheriae*. Test sample showed better growth inhibitory effects against *S. aureus* and *A. fumigatus* with the MIC value of 125 µg/ml.

Conclusion : These results suggest the possibility of application to chronic respiratory diseases of fusion formulation of Korean and Western medicine, which was prepared with *Coptis rhizoma* extract and *Pelargonium sidoides* extract.

Key words : antibacterial, fusion formulation, *Coptis rhizoma*, *Pelargonium sidoides*, bronchus diseases bacteria

I. 서론

산업의 발달과 더불어 점점 심각해지고 있는 대기 오염은 천식, 기관지염, 만성폐쇄성질환 등의 호흡기 질환의 주요한 원인으로 인류의 건강을 위협하고 있다. 특히 대기오염의 주요한 부분을 차지하고 있는 미세먼지는 호흡기에 염증을 일으키고 세균이나 바이러스, 곰팡이와 같은 병원체에 의한 감염을 일으킬 수 있으며, 인후염과 폐렴에서 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)와 *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) 등의 호흡기 세균이 분리되어 보고되었다¹⁾. 일반적인 호흡기 질환의 증상으로 기침과 가래를 동반한 호흡 곤란이 나타날 수 있으며, 과도한 기도 분비물과 폐기능 저하의 연관성이 보고되기도 하였다²⁾. 또한, 국내에서 급성 호흡기 감염증은 총 외래 진료건수 중 18.3%의 높은 비율을 차지하고 있으며³⁾, 의료비 지출에서도 상당한 부분을 차지하여 경제적, 사회적으로 문제가 되고 있다.

전 세계적으로 천연물 의약품 시장은 발전적인 성장률을 보이고 있으며, 특히 독일을 비롯한 유럽에서 생약제제를 활용한 의약품 개발을 주도하고 있다. 근래에는 중국이 국가적 지원 하에 천연물 의약품 시장에서 활발한 진출을 전개하고 있으며, 인류의 건강과 관련하여 생약 및 한약 제제에 대한 세계적인 관심은 날로 증대되고 있는 상황이다. 생약은 단일 제제로 병의 치료와 예방에 사용하기도 하지만 전통적으로 한의학에서는 방제라는 약물 복합 이론에 근거하여 질병을 치유하고자 하였다⁴⁾. 질병의 원인이 복합적일 경우에는 방제의 중요성이 더욱 커지며, 동일한 약제들을 사용하더라도 어떠한 약물들이 배합되는가에 따라 한약의 효능은 달라진다. 병증에 대한 한약의 약리 효능을 극대화하기 위해서는 약제의 장점을 올리고 단점은 낮출 수 있는 방제를 선택하는 것이 중요하다. 최근에는 이러한 방제의 우수성을 양방에 접목함으로써 한·양방 융합 의약품을 개발하고자 하는 시

도들이 이루어지고 있다⁵⁾.

黃連 (*Coptidis rhizoma*)은 미나리아재비과 (*Ranunculaceae*)의 여러해살이풀인 *Coptis japonica* Makino의 뿌리 줄기를 건조한 것으로서 濕熱을 제거하고 解毒효능이 있어 消化不良, 胃炎, 腸炎, 腹痛, 嘔吐, 結膜炎 및 角膜炎 등의 치료에 처방되어져 왔다⁶⁾. 黃連 추출물은 기도상피세포에서 mucin 유전자 발현 및 생성을 억제하며⁷⁾, 기도평활근 수축을 유발하는 PDE4를 억제하는 작용⁸⁾이 있어 만성기도질환 치료에 거담제로 활용될 가능성이 제시되고 있다. 펠라고니움 시도이데스 (*Pelargonium sidoides*)는 남아프리카공화국 내륙 및 연안의 고산지에서 자생하는 식물로 급성 기관지염과 같은 호흡기 질환에서 鎮咳 또는 祛痰효능을 가지는 것으로 알려져 있다⁹⁾. 현재, 펠라고니움 시도이데스의 추출물은 칼로민 (Kalomin), 움카민 (Umckamin) 시럽으로 급성 기관지염의 치료에 사용되고 있다¹⁰⁾. 하지만 움카민 계열 제품의 경우 급성 기관지염에 3주 이상 쓸 수 없으며 1세 미만의 영아에서 사용이 권장되지 않는 등 제약사항들이 있다. 이에 양방 의약품에 한의학적 지식을 접목함으로써 단점은 최소화하고 약리효능은 증대시키는 한·양방 융합제제를 개발할 필요성이 있다.

본 연구에서는 펠라고니움 시도이데스와 황련으로 구성된 혼합물이 호흡기 질환의 원인균에 대하여 항균 활성을 나타내는지 확인함으로써 한·양방 융합 의약품으로의 가능성을 평가하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시료의 준비

황련과 펠라고니움 시도이데스 추출물로 구성된 한·양방 융합제제 시료는 다음과 같이 준비하였다. 먼저, 분쇄된 건조 황련 50 g에 정제수 500 ml을 가해 80°C에서 3시간 열수추출하고 10 μm 여과필터 (Sartorius)로 여과한 다음 40-50°C 조건에서 100 ml까지 감압

* Corresponding author : Sook Jah Park, Department of Pharmaceutical Engineering, Daegu Haany University, 1, Hanuidae-ro, Gyeongsan-si, Gyeongsangbuk-do, 38610, Republic of Korea.

Tel : +82-53-819-1298, E-mail : haany@dhu.ac.kr

• Received : October 25, 2017 / Accepted : November 7, 2017



농축하였다. 이것을 분액깔때기 (Separatory funnel)에 넣고 동량의 핵산, 에틸아세테이트, 클로로포름 또는 디클로로메탄을 단독 또는 1종 이상으로 선택된 용매로 순차적으로 2회 용매 분획한 후 비극성 유기 용매층은 제거하였다. 마지막으로 남은 물층은 감압 농축 시킨 후 동결건조하여 최종 황련 분획물 7.5 g ± 1.6 g을 획득하였다. 펠라고니움 시도이데스는 11% 에탄올추출물로 칼로민을 시판중인 한국유나이티드 제약(주)으로부터 분양받았다. 상기에 준비된 황련 분획물과 펠라고니움시도이데스 추출물은 건조중량으로 1:2로 배합한 후에 100 mg/ml의 농도로 DMSO에 녹여서 stock으로 준비하였으며, EtOH로 희석하여 실험에 사용하였다.

2. 사용 균주 및 배양 조건

Table 1. Microorganism for the experiment of antimicrobial activity

| Name | KCTC number | Medium |
|------------------------------------|-------------|-------------------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 1928 | Trypticase soy broth |
| <i>Corynebacterium diphtheriae</i> | 3075 | Trypticase soy broth |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> | 6145 | Trypticase soy broth |
| <i>Klebsiella pneumonia</i> | 2245 | Trypticase soy broth |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i> | 2488 | Reinforced clostridial medium |
| <i>Mycobacterium</i> sp. | 1829 | Nutrient broth with 1% starch |

3. 한천 확산법 (agar diffusion test)에 의한 생육저해환 (clear zone)의 측정

한천 확산법으로 항균활성을 조사하기 위하여 각 미생물을 10⁷ CFU/ml의 농도로 준비하여 45°C로 유지된 top agar 5 ml에 1 ml씩 가하여 잘 혼합한 후, agar plate (100 mm × 20 mm)에 도말하였다. 시료는 4, 2, 1, 0.5 mg/disk의 농도로 준비하여 8 mm 직경의 paper disk위에 올리고 대조군 (control) 위에는 EtOH를 올려서 건조시켰다. Top agar가 마른 후에 plate 위로 농도별로 시료가 적혀진 disk를 올리고 30°C에서 배양하였다. 4종의 호기성균은 24시간, 1종의 혐기성균은 48시간, 1종의 진균은 5일간 배양한 후에 생성된 생육저해환의 지름을 micrometer (Mitutoyo, Kawasaki, Japan)로 측정하였다.

4. 액체배지희석법 (broth dilution test)에 의한 최소생장저해농도 (MIC) 측정

최소저해농도 (MIC) 측정을 위해서 24시간 동안 전 배양된 4종의 호기성균을 10⁶ CFU/ml의 농도로 준비하여 96 well plate에 200 µl씩 분주하였다. 시료는

항균활성 측정을 위해 사용된 5종의 미생물은 기관지 질환의 원인균으로 한국생명공학연구원 생물자원센터 (Korean Collection for Type Cultures, KCTC)으로 부터 4종의 호기성균 (KCTC 1928, 3075, 6145, 2245)과 각 1종의 혐기성균 (KCTC 2488) 및 진균 (KCTC 1829)을 분양받아 각각 적합한 배지 조건에서 배양하였다 (Table 1). 배양된 균은 장기 보존을 위해 glycerol과 3:7의 비율로 잘 혼합하여 -70°C에 보관하였다. 냉동고에 보관된 stock 균주는 실험시작 3일 전에 2회 이상 계대 배양하여 활성화 시킨 후 30°C 조건하에서 배양하였다. 혐기성균은 anaerobic jar (2.5 L, Oxoid Co., USA)에 CO₂ gas generator pack (Oxoid Co., USA)을 같이 넣고 배양하였다.

최고농도를 1000 µg/ml으로 하여 0.5 µg/ml까지 2배씩 series로 희석 (stepwise 2-fold dilution)하여 첨가하였다. 24시간 배양 후에, 분광광도계 (TECAN, Crailsheim, Germany)로 600 nm에서 흡광도를 측정하였고 미생물의 생육이 억제된 최저의 농도를 최소저해농도로 결정하였다.

5. 통계적 검정

처치군간의 유의성은 윈도우용 SPSS 17.0을 사용하여 one way analysis of variance (ANOVA), LSD (least significant difference, 최소유의차) 방식으로 분석하였으며, p값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

III. 실험결과

1. 생육저해환 (clear zone) 형성에 대한 효과

황련과 펠라고니움 시도이데스로 구성된 한-양방 융합제 시료가 호흡기 질환의 원인균에 대하여 항균활성을 나타내는지 조사하기 위하여 한천 확산법으

로 생육저해환의 크기를 측정하였다. 먼저 4종의 호기성 미생물에 대한 결과, *K. pneumonia*는 4 mg/disk의 농도에서 9.3 ± 0.5 mm의 생육저해환을 형성하였으나 다른 농도에서는 항균활성이 확인되지 않았다. 나머지 3종의 미생물(*S. aureus*, *C. diphtheriae*, *A. fumigatus*)에서는 실험에 사용된 시료의 전 농도에서 항균활성이 유의하게 확인되었다. 시료의 농도가 증가할수록 생육저해환의 크기도 커졌으며, 4 mg에서 0.5 mg과 비교하여 농도의존적으로 증가된 항균효과를 확인할 수 있었다(Fig.1). 각 미생물과 시료를 24시간 동안 배양하였을 때, 4 mg/disk의 농도에서 *S. aureus*, *C. diphtheriae*, *A. fumigatus*에 대하여 각각 19.5 ± 0.4 mm,

16.5 ± 0.4 mm, 19.3 ± 0.9 mm의 생육저해환이 형성되었다 (Table 2).

호흡기 질환의 원인균 중에서 혐기성균인 *F. nucleatum*과 진균인 *Mycobacterium* sp.에 대한 생육저해환 생성억제 효과도 확인이 되었다 (Fig 2.). *F. nucleatum*에서는 4, 2, 1, 0.5 mg/disk의 농도에서 22.7 ± 0.9 , 18.7 ± 1.2 , 14.3 ± 2.1 , 11.3 ± 1.2 mm의 생육저해환이 형성되었고, *Mycobacterium* sp.에서는 0.5 mg/disk의 농도에서 항균활성이 나타나지 않았으나 4, 2, 1 mg/disk의 농도에서 17.3 ± 0.9 , 12.7 ± 1.2 , 9.2 ± 0.2 mm의 생육저해환을 형성하여 농도별 항균활성이 확인되었다 (Table 2).

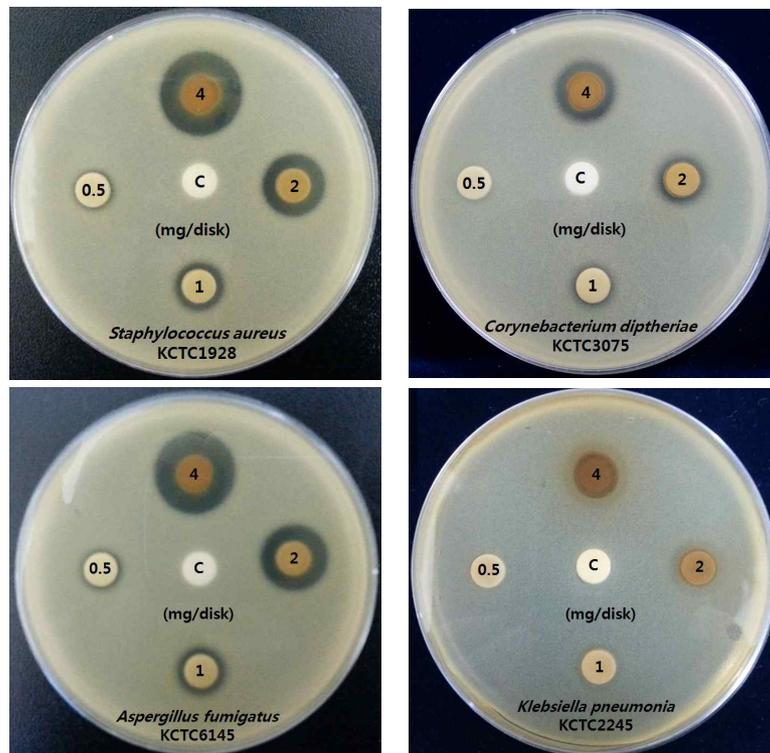


Fig. 1. Inhibitory effects of fusion formulation of *Coptis rhizoma* and *Pelargonium sidoides* on the growth of bronchus diseases bacteria.

Paper disk (8 mm) with sample was loaded on the trypticase soy agar plate spreaded with each bacteria, and then the bacteria were incubated at 30°C for 24 h.

Table 2. Effects on the growth of bronchus diseases bacteria

| Microorganism | Diameter of clear zone ^a (mm) | | | | (mg/disk) |
|--------------------------|--|----------|----------|----------------|-----------|
| | 4 | 2 | 1 | 0.5 | |
| <i>S. aureus</i> | 19.5±0.4 ^b | 15.2±0.6 | 12.7±0.5 | 10.3±0.5 | |
| <i>C. diphtheriae</i> | 16.5±0.4 | 12.3±0.5 | 9.7±0.5 | — ^c | |
| <i>A. fumigatus</i> | 19.3±0.9 | 15.7±0.5 | 12.3±0.9 | 9.3±0.5 | |
| <i>K. pneumonia</i> | 9.7±0.5 | — | — | — | |
| <i>F. nucleatum</i> | 22.7±0.9 | 18.7±1.2 | 14.3±2.1 | 11.3±1.2 | |
| <i>Mycobacterium</i> sp. | 17.3±0.9 | 12.7±1.2 | 9.2±0.2 | — | |

a Diameter of clear zone including disk diameter of 8.0 mm.

b All data were expressed as mean±SD (n=3) and were significant (p < 0.01) as compared to control that showed no clear zone.

c '—' (not detected).

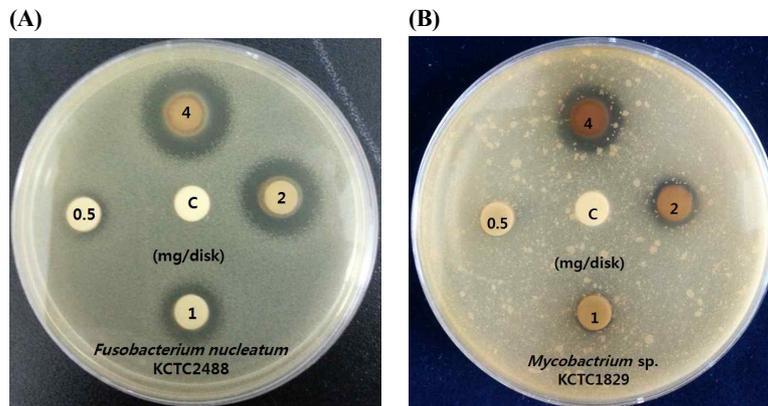


Fig. 2. Inhibitory effects of fusion formulation of *Coptis rhizoma* and *Pelargonium sidoides* on the growth of *F. nucleatum* (A) and *Mycobacterium* sp. (B).

(A) *F. nucleatum* was incubated at 30°C for 48 h under anaerobic condition as described in Methods. (B) *Mycobacterium* sp. was incubated at 30°C for 5 days.

2. 최소저해농도 (MIC) 측정

액체 배지 희석법 (broth dilution method)을 이용하여 미생물의 생육을 저해하는데 필요한 최소농도인 MIC 값을 결정하였다. 한·양방 융합제제 시료는 최고 농도 1000 µg/ml에서부터 최저농도인 0.5 µg/ml까지 2배씩 series로 희석하여 4종의 호기성 호흡기 감염 원인균에 처리하였다. 30°C에서 24시간 동안 배양한 후에 배양액의 혼탁도를 육안으로 확인하였으며 600 nm에서 흡광도를 측정하여 최종적으로 미생물의 생육이 억제된 MIC 값을 결정하였다. *K. pneumonia*에 대한 MIC 값은 실험에 사용한 전 농도범위(1000 ~ 0.5 µg/ml)에서 미생물 생육이 억제되지 않아 결정할 수 없었다. 하지만 *S. aureus*, *C. diphtheriae*, *A. fumigatus*에

대하여 각각 125 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml의 최소저해농도를 나타내었다 (Table 3). 이러한 결과는 생육저해환의 크기로 항균활성을 살펴본 결과와 동일한 것으로 한·양방 융합제제 시료는 *K. pneumonia* 보다는 *S. aureus*, *C. diphtheriae*, *A. fumigatus*에 대하여 월등한 항균활성을 가지는 것으로 확인되었다. *K. pneumonia* (호기성, 24시간 배양)에 비하여 더 큰 생육저해환을 형성하였던 *F. nucleatum* (혐기성, 48시간 배양)과 *Mycobacterium* sp. (호기성, 5일 배양)에 대한 한·양방 융합제제 시료의 MIC 값도 향후에는 결정함으로써 두 미생물에 대한 항균활성을 명확히 할 필요가 있다고 사료된다.

Table 3. Minimal inhibitory concentration (MIC) of fusion formulation of *Coptis rhizoma* and *Pelargonium sidoides*

| Microorganism | MIC ($\mu\text{g/ml}$) |
|-----------------------|--------------------------|
| <i>S. aureus</i> | 125 ^a |
| <i>C. diphtheriae</i> | 250 |
| <i>A. fumigatus</i> | 125 |
| <i>K. pneumonia</i> | >1000 |

^a Values represent an average of three determinations.

IV. 고찰

최근 들어 미세먼지가 자주 발생하면서 대기오염이 심각해지고 있으며 다양한 병원체와 미세먼지로 인한 호흡기질환으로 인체의 건강 피해가 증가되고 있다. 특히, 세균이나 바이러스와 같은 병원체에 의한 호흡기계의 감염은 흔해진 병원체가 원인이 되어 나타날 수도 있고 감염원을 구분하기도 어렵기 때문에 항생제 남용과 같은 문제를 야기할 수 있다. 호흡기 질환의 주요 원인균에는 *S. aureus*, *K. pneumoniae* 등이 있으며¹¹⁾, *Mycobacterium* sp., *S. aureus*, *C. diphtheriae*, *A. fumigatus*, *K. pneumonia*, *F. nucleatum* 등은 기관지 질환자의 객담에서 분리되는 대표적인 균들이다¹²⁾. 최초의 항생제인 penicillin을 비롯하여 임상적으로 사용되고 있는 항생제들은 세균성 감염질환에 효과적이었으나 무분별한 사용증가로 인한 저항성이 나타나고 있으며¹³⁾, *S. aureus*의 경우는 penicillin에 대해 약 90% 정도의 내성률을 나타내었다는 보고도 있었다¹⁴⁾.

급성 호흡기질환의 치료에 사용되고 있는 진해거담제에는 acetylcystaine, levodropropizine 같은 합성의약품과 아이비엽, 펠라고니움 시도이테스 추출물 등의 천연물 유래 의약품 등이 있으며, 합성의약품의 부작용을 우려하는 환자일수록 천연물 생약성분에 기인한 진해거담제를 선호하는 것으로 나타나고 있다. 천연물 유래 양약에 대한 관심은 약품사용에 있어 제한사항은 최소화하고 약리효능은 최대화할 수 있는 방향으로 향상된 치료제 개발로 연결되고 있으며, 시판중인 양약에 한약재를 첨가하여 약효를 증진시키고자 하는 연구 등이 활발히 진행되고 있다⁵⁾. 아이비엽 단일제제로 시판되던 푸로스판 시럽에 청열조습(淸熱燥濕)의 역할을 하는 한약재인 황련을 더하여 담을 제거하는 효능을 향상시킨 시네츄라 시럽이 한 예가

될 수 있을 것이다.

남아프리카 지역에서 자생하는 펠라고니움 시도이테스는 민간요법에서 상처, 위장장애, 호흡기 질환을 다스리는데 사용되어져 왔으며, 병원성 세균이 점막 세포에 점착하는 것을 억제하고 담의 배출을 촉진하는 효과로 시럽제, 정제의 형태로 개발되어 졌다⁹⁾. 황련은 열기를 식히고 습기를 제거하는 효능을 지닌 한약재로^{6,15)} 항염¹⁶⁾, 항균¹⁷⁾, 항산화¹⁸⁾, 피부재생 활성¹⁹⁾ 등이 보고되어져 있다. 황련의 항균작용은 광범위한 미생물에 대하여 확인되고 있으며, 황련의 증량에 따른 전탕액이 *S. aureus*에 대하여 농도의존적인 항균활성을 가진다는 연구결과도 발표되었다²⁰⁾. 황련에는 berberine, coptisine, palmatine, worenine, jateorrhizine, magnoflorine 등의 성분이 포함되어 있으며²¹⁾, 항균작용에 관련된 대표적 성분은 berberine이다. 황련 물추출물에서 분리된 구성성분 화합물 중에서 berberine이 대장균에 대해 가장 강력한 항균활성을 보였으며²²⁾, 사람의 장내 세균들인 *C. perfringens*과 *C. paraputrificum*에 대한 berberine의 항균 효과도 알려져 있다²³⁾. 또한 berberine이 기관지 표면의 뮤신 (mucin)을 분비하는 세포에서 뮤신의 분비를 직접적으로 억제시킨다는 연구도 발표되었다⁷⁾. 따라서 펠라고니움 시도이테스 단일제제에 황련 추출물을 융합함으로써 호흡기 질환의 원인균에 대한 항균활성을 관찰할 수 있을 것으로 사료되나 아직까지 수행된 바가 없었다. 본 연구에서는 펠라고니움 시도이테스 추출물과 황련 추출물을 융합한 시료를 사용하여 6종의 호흡기 질환 원인균에 대한 항균활성을 확인하였다. 특히, *S. aureus*와 *A. fumigatus*에 대한 항균활성이 우수하였다. 펠라고니움 시도이테스와 황련 융합시료는 2 종의 균에 대하여 모두 125 $\mu\text{g/ml}$ 의 MIC를 나타내었다.

펠라고니움 시도이테스와 황련으로 구성된 융합시료는 한의학의 약물배합 이론인 方劑에 기반하고 있



다. 방제는 君臣佐使의 약물배합 원리에 따라 독성은 감하고 약효는 올림으로써 최적의 치료효과를 창출하는 것을 목표로 하고 있다⁴⁾. 펠라고니움 시도이데스 단일제제는 급성 기관지염에만 처방해야 되고 치료기간이 3주 이내로 제한되며 1세 미만의 영아에게는 사용하면 안 되는 제한사항들이 있다. 여기에 淸熱燥濕藥인 黃連을 배합함으로써 호흡기 질환에 대한 약리 효능 증진 및 제한사항 개선 등을 기대해 볼 수 있다. 본 연구의 결과는 펠라고니움 시도이데스와 황련의 융합 시료가 호흡기 질환에 관여하는 원인균들에 대해 항균활성을 나타냄을 보여주는 것으로서, 급성 기관지염 뿐만 아니라 좀 더 확장된 호흡기 질환에 사용될 수 있는 가능성을 보여주고 있다하겠다.

V. 결론

본 연구에서는 황련과 펠라고니움시도이데스로 구성된 한-양방 융합제제 시료가 호흡기 질환의 원인균에 대하여 항균작용을 나타내는지 살펴보았다. 한-양방 융합제제 시료는 실험에 사용된 6종의 미생물에 대하여 농도의존적인 생육저해환을 형성함으로써 항균활성을 나타내었다. 또한, *S. aureus*, *C. diphtheriae*, *A. fumigatus*에 대한 최소저해농도 (MIC)는 각각 125 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml로 측정되어 *K. pneumoniae*에 비하여 항균활성이 우수하였다. 이상의 결과는 황련과 펠라고니움시도이데스로 구성된 한-양방 융합제제의 만성호흡기 질환에 대한 활용 가능성을 보여주고 있다.

Acknowledgments

This study was supported by the Convergence of Conventional Medicine and Traditional Korean Medicine R&D Program funded by the Ministry of Health & Welfare through the Korea Health Industry Development Institute (KHIDI) (grant number: HI15C0185).

References

1. Kim SW. Bacterial upper respiratory infections. *Infect Chemother.* 2011;43(5):383-389.

2. Vestbo J, Prescott E, Lange P. Association of chronic mucus hypersecretion with FEV1 decline and chronic obstructive pulmonary disease morbidity. Copenhagen City Heart Study Group. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;153(5):1530-1535.

3. Jung SW, Kim SH. Analysis of antimicrobial resistance of bacterial respiratory pathogens isolated from patients shown respiratory infections in south Korea. *Public Health Weekly Report (KCDC).* 2014;7(24):513-518.

4. Park HS, Lee BW, Lee BK. A study on the comparative method of prescription using gunsinjwasa theory. *Herb Formula Sci.* 2014;22(2):45-54.

5. Kim SJ, Jang SK, Jung HJ, Jung SK, Lee BJ. A study on the fever of unknown origin indicated by Janggam disease. *J Physiol & Pathol Korean Med.* 2014;28(6):683-688.

6. Korea food and drug administration. The Korean pharmacopoeia tenth edition. Seoul : Korea food and drug administration. 2007: 995-996.

7. Sikder MA, Lee HJ, Lee SY, Bae HS, Kim JH, Chang GT, Lee CJ. Effect of berberine on MUC5AC mucin gene expression and mucin production from human airway epithelial cells. *Biomol Ther.* 2011;19(3):320-323.

8. Zhou L, Wang X, Yang Y, Wu L, Li F, Zhang R, Yuan G, Wang N, Chen M, Ning G. Berberine attenuates cAMP-induced lipolysis via reducing the inhibition of phosphodiesterase in 3T3-L1 adipocytes. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1812(4):527-535.

9. Brendler T, van Wyk BE. A historical, scientific and commercial perspective on the medicinal use of *Pelargonium sidoides* (Geraniaceae). *J Ethnopharmacol.* 2008;119:420-433.

10. Kim SK, Chang J. Respiratory symptoms relievers - Antitussives, mucolytics, antihistamines. *Tuberc Respir Dis.* 2006;60(3):261-269.

11. Rosenfeld RM, Andes D, Bhattacharyya N, Cheung D, Eisenberg S, Ganiats TG, et al.

- Clinical practice guideline: adult sinusitis. Otolaryngol Head Neck Surg 2007;137(3 Suppl): S1-31.
12. Lee IS, Choi MC, Moon HY. Effect of Platycodon grandiflorum A. DC extract on the bronchus diseases bacteria. Korean J Biotechnol Bioeng, 2000;15(2):162-166.
 13. Song JH. Current status and future strategies of antimicrobial resistance in Korea. Korean J Med. 2009;77(2):143-151.
 14. Lee EK. Analysis of the changes in antibiotic use and resistance. Health and Welfare Policy Forum. 2003;77:72-82.
 15. The Korean association of university professors of herbology. Herbology. Seoul : Younglimsa. 2008: 218-220.
 16. Yoon KR, Kim YJ, Lee E, Lee JM. Anti-inflammatory effect of Coptidis rhizoma. Kor J Herbology. 2009;24(3):79-86.
 17. Shin JI, Seo YK. Antibacterial effects of Corptis japonica against *Helicobacter pylori*. Korean J Orient Int Med. 2003;24(2):269-282.
 18. Kim YJ, Lee MJ, Park JW, Kim JK, Choi DY, Kim CH. Antioxidant activity of water-extract from *Coptis chinensis* Franch. Korean J Life Sci. 2000;10(3):241-246.
 19. Kim HK, Hong SU. The anti-inflammatory effects of Huang-Lyun (Coptidis rhizoma, CR) on injured tissue after burn elicitation. J Korean Oriental Med. 2011;32(2):1-13.
 20. Seo HS. The Experimental Study on Anti-bacterial Potency of Coptidis rhizoma extract compare with quantity on Staphylococcus aureus. J Pharmacopunct. 2007;10(3): 47-52.
 21. Kim KB, Lee HT, Ku KH, Hong JW, Cho SI. Review of pharmacological effects of Coptidis rhizoma and its bioactive compounds. J Korean Oriental Med. 2012;33(3):160-183.
 22. Yan D, Jin C, Xiao X, Dong X. Antimicrobial properties of berberines alkaloids in *Coptis chinensis* Franch by microcalorimetry. J Biochem Biophys Methods. 2008;70(6):845-849.
 23. Sin KH, An DK, Woo ER, Park HK, Lee JS, Yun WS. A study on extraction efficiency of berberine in Coptidis rhizoma. J Kor Analycal Sci. 1997; 10(2):83-91.