

## *Forsythia suspensa*로부터 *Helicobacter pylori*의 urease 활성억제물질 분리

신승정, 박찬엘, 박창호  
경희대학교 일반대학원 화학공학과  
전화 (031) 201-2975, FAX (031) 202-1946

### 1. 서론

각종 만성 위질환의 원인균으로 알려진 *Helicobacter pylori*는 위점막 상피세포간 접합부에 서식하는 미호기성의 Gram 음성 간균으로 만곡형 또는 S자형의 간균으로 관찰되며, 생육의 최적 온도는 30~37°C이다. *Helicobacter pylori*의 가장 특이적인 생리학적 특성은 아주 강한 urease 생산능을 가지고 있어 위점막의 혈장 삼출액이나 조직액 내에 존재하는 요소를 암모니아와 중탄산염으로 분해하여 균체 주위를 알칼리성으로 만듦으로써 위장내에서 살아간다. 이의 치료를 위해 많은 항생제들이 사용되고 있지만 단일 항생제에 의한 치료에는 성공하지 못했으며, 최근 다양한 천연물 소재들을 이용한 *Helicobacter pylori*항균 실험이 시도되고 있다.

### 2. 재료 및 방법

· **실험재료** : 본 실험에 사용한 *Forsythia suspensa*는 쌍떡잎식물 용담목 물푸레나무과의 낙엽 관목으로 한열(寒熱)·발열·화농성질환·림프선염·소변불리·종기·신장염·습진 등에 처방하고 추출물에는 항균 성분이 있는 것으로 알려져 있으며 한국(함경남도·함경북도를 제외한 전국)·중국 등지에 널리 분포한다.

· **사용균주** : 실험에 사용한 균주는 위·십이지장궤양 및 위암의 원인균인 *Helicobacter pylori*로서 표준균주인 ATCC 43504 균주와 경상대학교 의과대학 미생물학교실에서 분양받은 *Helicobacter pylori* 26695, HPSS1를 본 연구에 사용하였으며 이중 대표균주로는 *Helicobacter pylori* ATCC 43504를 사용하였다.

· **Urea broth test** : Potassium phosphate monobasic (Sigma, USA) 0.2 g/ml와 sodium chloride (Sigma, USA) 0.5 g/ml, 0.1% phenol red (Difco, USA) 1.2 ml을 혼합한 용액 90 ml (DW)에 urea (Difco, USA) 0.2 g/ml를 혼합하여 100 ml로 만든 후 이것을 1 ml 씩 e-tube에 분주하여 냉장보관 하였고 이 tube에 *Helicobacter pylori*를 접종시켜 색이 붉게 변화하는 것으로 균주의 오염여부를 확인하였다.

· **추출 및 분리** : *Forsythia suspensa* 4.8kg을 80% methanol로 72시간 추출한 후 농축 등의 조작을 거쳐 Methanol 농축액을 만들고 water, butanol, ethylacetate로 fraction을

나누어 100 mg/ml로 시료를 만들었다. 세 가지 fraction을 대상으로 Urease test를 실시하고 효능이 좋은 ethylacetate fraction을 column chromatography 방법을 반복 실시하면서 urease 활성억제에 효능이 좋은 성분을 분리하였다(fig 1).

· Urease 활성억제 효과 측정 : 분획물에 대하여 urease 활성억제능을 측정하였다. urease 활성억제능은 bacterial suspension 20  $\mu$ l을 monopotassium phosphate (Difco, USA) 91 mg/L, 3 mmol phosphate buffer solution (Difco, USA) 1.0 mL, phenol red (Difco, USA) (7  $\mu$ g/ml) 0.1 ml, urea (Difco, USA) (330  $\mu$ g/ml) 0.4 mL, 각각의 분획물 20  $\mu$ l를 함유하는 cuvette에 첨가하여 urea의 분해에 따른 color intensity의 변화를 spectrophotometer 560 nm에서 측정하였다.

### 3. 결과 및 고찰

*Forsythia suspensa*의 Methanol 추출물을 분획을 실시하여 얻은 ethylacetate 분획을 column chromatography를 반복하여 *Helicobacter pylori*의 urease 활성억제에 효능이 좋은 Terpenoids계 성분을 단리하였다(Fig 2).

Terpenoids계 물질은 항염작용, 항혈전 작용을 하는 것으로 알려져 있으며 구조적으로나 기능적으로 매우 다양한 2차화합물이 보고되고 있다.

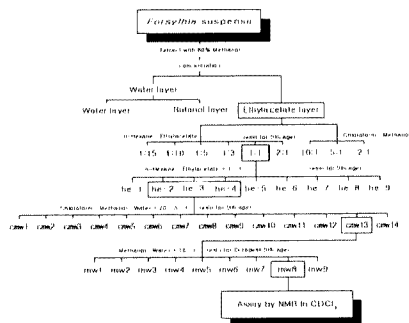


Fig 1 *Forsythia suspensa*의 분리모식도

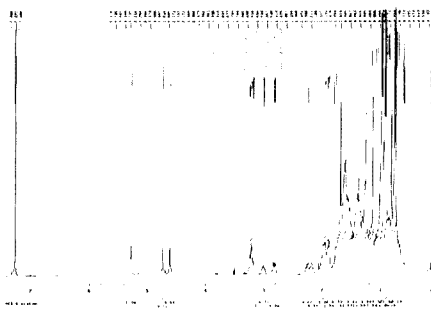


Fig 2 *Forsythia suspensa*로부터 분리한 물질의 <sup>1</sup>H-NMR 분석 결과

### 참고문헌

1. Warren, J.R. and Marshall, B.J. (1983) Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet, 1, 1273-1275
2. Lee, A. and Hazell, S.L.(1988) Campylobacter pylori in health and disease : An ecological perspective. microbial Ecology in health and Disease. 1, 1-16
3. A. S. Shamsur Rouf, Yukihiro Ozaki, Mohammad A. Rashid and Jing Rui(2001), Dammarane derivatives from the dried fruits of *Forsythia suspensa*, Phytochemistry, Volume 56, Issue 8, 815-818