

## 黃連의 *Helicobacter pylori*에 대한 항균 효과

신정인, 서운교

동국대학교 한의과대학 내과학교실

### Antibacterial effects of *Coptis japonica* against *Helicobacter pylori*

Jeong-In Shin, Un-kyo Seo

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk University

Water and ethanol extracts of 67 species of medicinal plants were tested to determine antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. Among them, the extracts of *Coptis japonica* showed the best antibacterial activity. The extract of *C. japonica* showed four major spots on TLC plate and the Rf values of the spots were 0.07, 0.13, 0.21 and 0.73, respectively. Except for the spot of Rf 0.73, other three spots inhibited the cell growth of *H. pylori*. As shown in HPLC analysis, three antimicrobial spots contain berberine, major antimicrobial substance of *C. japonica*. However, the spot of Rf 0.13 had higher activity than berberine. The concentrated water extract of three prescribed medicines related with *C. japonica* showed good antibacterial activity against *H. pylori*.

**Key Words:** *Helicobacter pylori*, *Coptis japonica*, antibacterial activity, berberine

### 1. 緒 論

*Helicobacter pylori*(*H. pylori*)는 위점막 상피세포간 접합부에 서식하는 Gram음성, 미호기성, 나선형 간균으로 1983년 Warren과 Mashall이 처음으로 만성활동성위염 환자에서 분리해 낸 이후, 여러 연구를 통해 만성위염, 위·십이지장궤양, 위암 등을 유발하는 중요한 인자로 인식되고 있다<sup>1,2</sup>. 세계 인구의 약 반수가 *H. pylori*에 감염되어 있는 것으로 알려져 있으며<sup>3</sup>, 우리나라의 경우 감염율이 이보다 높은 것으로 보고되고 있다<sup>4</sup>.

따라서 위암이나 위·십이지장궤양의 발생을 사전에 예방하기 위해서는 *H. pylori*의 감염을 효과적으로 치료할 수 있는 수단이 마련되어야 한다. 이를 위한 방안으로 Rauws 등<sup>5</sup>이 bismuth 제제와 amoxicillin, metronidazole의 3가지 항균제를 동시에 투여하는 것을 발표하였고, Borody 등<sup>6</sup>은 bismuth제제와 tetracycline, metronidazole을 소화성 궤양환자에 동시에 투여하는 triple chemotherapy를 통해 80% 내외의 치료효과를 얻은 것으로 보고하였다. 그러나 이러한 항균제의 치료는 부작용 발생율이 높다는 점과 실패시 동반되는 높은 내성의 발생이 문제점으로 제기되어 왔다<sup>7</sup>.

한편, 한약재를 이용한 *H. pylori*에 대한 연구로 백리향, 차(tea), 蘇木, 蘇葉 등이 항균활성을 가지는 것으로 보고되었고<sup>8</sup>, 처방으로는 治瘡湯이 *H. pylori* 감

· 접수 : 2003년 3월 13일 · 채택 : 2003년 5월 2일  
· 교신저자 : 신정인, 경기도 성남시 분당구 수내동 87-2번지  
동국대학교 분당한방병원 6층 의국  
(Tel: 031-710-3734 Fax: 031-710-3780, E-mail:  
shindoli@hanmail.net)

염에 의한 cytokines 유전자 발현에 억제효과가 있으며, 寶豆甘草末<sup>10</sup>, 丹蔘飲<sup>11</sup>이 ammonia에 의해 유발된 소화성 궤양에서 항궤양 효과가 있음이 실험적으로 증명된 바 있으나 아직 미비한 실정이다.

韓醫學에서 소화성궤양은 胃脘痛, 胃痛, 心痛, 心腹痛, 噯氣, 吞酸, 吐酸, 嘈雜 등의 범주에 속하며, 脾胃虛寒, 肝胃不和, 胃陰不足, 脾胃濕熱, 瘀血阻絡 등으로 변증되는데<sup>12</sup> 危 등<sup>13</sup>은 脾胃濕熱, 瘀血阻絡型에서 *H. pylori*의 양성율이 높다고 보고한 바 있다.

본 연구에서는 항균특성을 가진 것으로 알려진 67종의 한약재를 대상으로 *H. pylori*에 대한 항균력을 조사하여 이중 黃連 추출물이 가장 우수한 항균력을 보이는 것으로 확인하였으며, 이를 토대로 黃連에 함유되어 있는 항균성분과 黃連이 포함된 처방전의 항균력에 대하여 조사하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

## II. 實驗 材料 및 方法

### 1. 實驗 材料

#### 1) 사용 한약

항균특성을 가진 것으로 알려진 갈근 등 건조되고 세절되어 포장된 67종의 한약재를 구입하여 사용하였다. 사용한 한약재의 종류, 학명 및 사용 부위는 Table 1에서 보는 바와 같다. 처방전은 黃連解毒湯(黃連 5g, 黃芩 6g, 黃柏 6g, 梔子 9g/l), 三黃瀉心湯(大黃 6g, 黃連 3g, 黃芩 9g/l) 및 酒蒸黃連丸을 사용하였으며, 黃連解毒湯 및 三黃瀉心湯은 구입한 한약재를 이용하여 제조하였고, 酒蒸黃連丸은 한방전문제조 회사인 신화제약(주)으로부터 제공받아 실험에 사용하였다.

#### 2) 시약, 균주 및 소모품

세균배양에 사용된 brucella medium은 Difco Co.제를 사용하였고, ethanol, DMSO(dimethyl sulfoxide), ethyl acetate 및 chloroform은 Sigma사제를 사용하였다. 배지에 첨가되는 혈청은 Gibco사의 FBS(fetal bovine serum)을 배지제조 직전에 막 여과 하여 사용하였다.

항균성분의 검색을 위하여 사용한 여과지는 일본 Toyo Roshi Kaisha의 Advantec paper disk(Thick, 8mm)를 구입 사용하였다.

한약재의 항균력 실험을 위하여 사용한 *Helicobacter pylori* KCCM 41351는 한국미생물보존센터(Korean Federation of Culture Collection)로부터 분양받아 계대배양(transfer)하여 사용하였다.

#### 3) 기기 및 장치

각 한약재의 추출물 제조를 위해서 감압농축기는 Eyla사의 Rotary evaporator(NE-1S)를 이용하여 농축하였고, Ilsin사의 Bondiro(FD5505)을 이용하여 동결건조하였다. 배지의 제조, 멸균, 배양과 한약재의 추출을 위하여 사용한 기기는 국산제작기기를 사용하였다.

*H. pylori*의 배양을 위한 미호기성 배양 장치는 Oxoid사의 Anaerobic jar를 사용하였으며, 동국대학교 생명과학과 미생물실험실에서 제작한 Gas mixture system을 이용하여 미호기성 대기 조건을 조성하였다.

박막 크로마토그래피법(Thin Layer Chromatography)을 위한 TLC판은 Merck사의 25 TLC aluminium sheets(Silica gel 60 F254)를 사용하였다.

### 2. 實驗 方法

본 실험에 수행된 방법의 절차는 Fig. 2와 같다.

1) 수용성, 에탄올 및 비극성 유기용매 용해성 항균 물질 시료의 제조

일반시험법에 따라 건조 한약재를 세절하였다. 각 한약재(Table 1)의 건조중량 100g에 증류수 300-900 ml를 첨가하여 121℃ 증탕기에서 3시간 동안 증탕, 추출하였다. 증탕액을 여과한 후, 감압농축기에서 여액이 50ml이 되도록 농축하였다. 동결건조(-50℃, 9mm Torr)하여 건조분말을 얻어 시료물질로 사용하였다.

추출 용매가 에탄올 및 비극성 유기용매일 경우 condenser가 부착된 soxhlet을 사용하였으며, 감압농축 후 동결건조(-50℃, 9mm Torr)하여 건조분말을 얻었다.

건조분말을 DMSO를 이용하여 적정 농도로 희석시킨 후 사용하였다.

**Table 1.** The oriental medicines used in this study.

No	Medicinal name	Generic and Family name	Scientific name	Part
1	葛根	쑤 (콩과; Leguminosae)	<i>Pueraria thunbergiana</i>	根
2	葛花	쑤 (콩과; Leguminosae)	<i>Pueraria thunbergiana</i>	花
3	甘草	감초 (콩과; Leguminosae)	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	根狀莖
4	薑黃	생강과 (Zingiberaceae)	<i>Curcuma aromatica</i>	根莖
5	苦蓼	콩과 (Leguminosae)	<i>Sophora flavescens</i>	根
6	枸杞子	가지과 (Solanaceae)	<i>Lycium chinense</i>	果實
7	瞿麥	석죽과 (Caryophyllaceae)	<i>Dianthus sinensis</i>	全草
8	槐花	콩과 (Leguminosae)	<i>Sophora japonica</i>	花
9	桔梗	도라지과 (Campanulaceae)	<i>Platycodon grandiflorum</i>	根
10	桂枝	녹나무과 (Lauraceae)	<i>Cinnamomi ramulus</i>	嫩枝
11	蘿蔔子	십자화과 (Cruciferae)	<i>Raphani semen</i>	種子
12	當歸	미나리과 (Umbelliferae)	<i>Angelica gigas</i>	根
13	大黃	장군풀 (여뀌과; Polygonaceae)	<i>Rheum coreanum</i>	根莖
14	麻黃	마황과 (Ephedraceae)	<i>Ephedra sinica</i>	枝皮
15	烏梅	장미과 (Rosaceae)	<i>Prunus mume</i>	果實
16	木通	으름덩굴과 (Lardizablaceae)	<i>Akebia quinata</i>	木質莖
17	木香	당목향 (국화과; Compositae)	<i>Saussurea lappa</i>	根
18	斑猫	뽕 靑科(가뢰과;Meloidae)	<i>Mylabris phalerata</i> PALL	乾燥蟲體
19	半夏	천남성과 (Araceae)	<i>Pinelliae Rhizoma</i>	根
20	白頭翁	미나리아재비과 (Ranunculaceae)	<i>Pulsatilla chinensis</i>	根
21	白朮	국화과 (Compositae)	<i>Atractyloides croceophale</i>	根莖
22	莖朮	생강과 (Zingiberaceae)	<i>Curcuma zedoaria</i>	根莖
23	桑枝	뽕나무과 (Moraceae)	<i>Morus alba</i> LINNAEUS.	根莖
24	檳榔	종려과 (Palmae)	<i>Areca catechu</i>	種子
25	射干	鳶尾科 (붓꽃과;Iridaceae)	<i>Belamcanda chinensis</i>	根莖
26	山豆根	콩과 (Leguminosae)	<i>Sophorae Subprostratae Radix</i>	根
27	山查	장미과 (Rosaceae)	<i>Crataegus pimatifida</i> Bge.	果實
28	山藥	마과 (Dioscoreaceae)	<i>Dioscoreae Radix</i>	塊狀莖
29	三稜	사초과 (Cyperaceae) 매자기	<i>Scirpi Rhizoma</i>	塊根
30	桑白皮	뽕나무과 (Moraceae)	<i>Mori Cotex Radicis</i>	根皮
31	仙鶴草	장미과 (Rosaceae)	<i>Agrimoniae Herba</i>	全草
32	熟地黃	현삼과 (Scrophulariaceae)	<i>Rehmanniae Radix Preparata</i>	根莖
33	神麩			
34	蓮子肉	연꽃(Nelumbo nucifera Gaertn.)	<i>Nelumbinis Semen</i>	果實,種子
35	五加皮	두릅나무과 (Araliaceae)	<i>Acanthopanax Cortex</i>	莖皮,根
36	瓦松	돌나물과 (Crassulaceae)	<i>Orostachys japonicu</i>	全草
37	王不留行	석죽과 (Caryophyllaceae)	<i>Vaccaria segetalis</i> Garcke	種子
38	鬱金	생강과 (Zingiberaceae)	<i>Curcuma aromatica</i> Salisb.	塊根
39	榆根皮			
40	乳香	橄欖科 (Bursaceae)	<i>Olibanum</i>	樹幹
41	肉桂	녹나무과 (Lauraceae)	<i>Cinnamomi Cortex Spissus</i>	樹皮
42	威靈仙	미나리아재비과 (Ranunculaceae)	<i>Clematis fusca</i>	根,葉
43	益母草	골풀과 (Labiatae)	<i>Leonurus sibiricus</i>	全草
44	人蔘	두릅나무과 (Araliaceae)	<i>Panax schinseng</i>	根
45	薏苡仁	禾本科(벼과;Poaceae)	<i>Coixlachrma-jobi</i>	種仁
46	猪苓	구멍장이버섯 (Polyporaceae)	<i>Polyporus umbellatus</i>	菌核
47	赤芍藥	미나리아재비과 (Ranunculaceae)	<i>Clematis fusca</i>	根
48	全蝎	전갈과 (Buthidae)	<i>Buthus marthensi</i> Karsch	乾燥蟲體
49	前胡	미나리과 (Umbelliferae)	<i>Anthriscus sylvestris</i>	根
50	皂角刺	콩과 (Leguminosae)	<i>Gleditsia sinensis</i>	木
51	川芎	미나리과 (Umbelliferae)	<i>Cnidium officinale</i>	根莖
52	天花粉	하늘타리 (박과; Cucurbitaceae)	<i>Trichosanthus kirilowii</i>	塊根
53	穿山甲	천산갑과 (Manidae)	<i>Manitis squama</i>	鱗甲
54	澤蘭	골풀과 (Labiatae)	<i>Lycopus ramosissimus</i>	草

continued

**Table 1.** The oriental medicines used in this study.

No	Medicinal name	Generic and Family name	Scientific name	Part
55	破放紙	콩과 (Leguminosae)	<i>soralea corylifolia L.</i>	草
56	夏枯草	꿀풀과 (Labiatae)	<i>Prunella asiatica Nakai</i>	全草
57	杏仁	장미과 (Rosaceae)	<i>Prunus armeniaca</i>	種
58	虎杖根	여뀌과 (Polygonaceae)	<i>Reynoutria elliptica</i>	根莖
59	黃芪	콩과 (Leguminosae)	<i>Astragalus membranaceus</i>	根
60	茴香	회향목과 (Buxaceae)	<i>Buxus microphylla</i>	果實
61	日黃連	미나리아재비과 (Ranunculaceae)	<i>Coptis japonica</i>	根
62	黃柏	황벽나무 (산초과; Rutaceae)	<i>Phellodendron amurense</i>	樹幹皮
63	胡黃連	현삼과 (Scrophulariaceae)	<i>Picrorrhiza kurroa Benth.</i>	根莖
64	黃芩	속씨은풀 (꿀풀과; Labiatae)	<i>Scutellaria baikalensis</i>	根
65	大蒜	백합과	<i>Allium sativum L.</i>	根
66	馬兜鈴	쥐방울과 (Aristolochiae)	<i>Aristolochia contorta Bunge</i>	果實
67	柴胡	미나리과 (Umbelliferaeae)	<i>Bulpleurum chinense</i>	根



**Fig. 1.** Light microscopic morphology of *Helicobacter pylori* KCCM 41351.

2) 사용배지 및 세균배양 조건

*H. pylori*의 배양을 위해서는 brucella broth 배지를 사용하였다. 조성에 따라 제조된 배지는 1.0 N NaOH 또는 HCl을 이용하여 pH가 6.8-7.0이 되도록 조절하고 121℃에서 20분간 가압습열멸균기(autoclave)에서 멸균하여 사용하였다.

우혈청이 첨가된 배지의 제조는 가압습열멸균 후 배지의 온도가 70-80℃ 정도 되었을 때 미리 막 여과된 우혈청을 10%(v/v)되게 첨가한 다음 사용하였다. 또한 한천평판배지의 제조를 위하여 각 배지에 한천(agar)을 최종농도가 1.5% 되도록 첨가하였다.

접종된 배지는 anaerobic jar에 넣고 gas mixture system을 이용하여 대기의 조성을 5% O<sub>2</sub>, 10% H<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, 75% N<sub>2</sub>으로 조절하여 37℃에서 약 3-5일간 배양하였다. 오염여부를 확인하기 위해서 배양된 *H. pylori*의 urease 활성과 현미경적 형태를 관찰하여

판단하였다(Fig. 1).

3) 한천배지를 이용한 한약재의 항균물질 탐색

미국 식품의약국(U.S Food and Drug Administration)에서 권장하는 Kirby-Bauer 변법을 이용하였다. 배양된 세균 균주를 멸균된 면봉을 이용하여 준비된 세균의 한천(agar 1.5%)배지상에 도말하였다. 미리 멸균하여 준비된 disk를 기 도말된 한천배지상에 적절히 위치하도록 하였다. 위치된 disk에 50μl의 미리 제조되어 멸균된 한약재의 검액을 micro pippet을 이용하여 투여하였다. 평판도말 후 disk가 위치한 plate를 세균 균주의 배양에 적절한 온도와 배양조건 하에서 3-5일 동안 배양한 후, 생육저지환의 직경이 큰 한약재를 탐색하였다.

4) 박막 크로마토그래피법(TLC)을 이용한 한약재의 항균물질 확인 및 분리

탐색된 한약재가 보유하고 있는 용매에 따른 특성을 확인하기 위하여 먼저 한약재의 열수, 에탄올, chloroform 및 ethyl acetate 추출물과 분말을 제조하였으며, 각 추출물에 DMSO를 첨가하여 10mg/ml로 조정된 다음 생육저지환의 크기를 확인 및 비교하였다.

또한 탐색된 한약재의 항균물질을 확인하기 위하여 박막 크로마토그래피법(TLC)을 이용하여 물질을 분리하였다. 분리에 사용된 이동상은 n-propanol : formic acid : water의 비율이 90 : 1 : 9가 되도록 제조하여 사용하였다. 준비된 각 추출물을 TLC판 위의

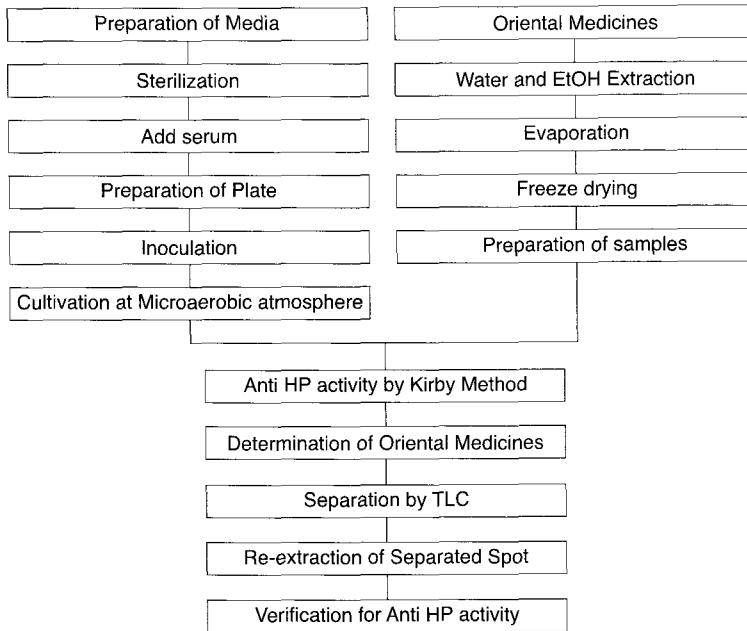


Fig. 2. Screening and determining scheme of oriental medicines against *Helicobacter pylori*.

미리 지정된 자리에 지름이 약 2mm되게 모세관을 이용하여 점적한 후 건조하였다. TLC chamber에 TLC 판을 비스듬히 정착시키고 전개용액이 6mm 잠기게 하였다. 충분히 전개가 일어나고 난 뒤 꺼내서 건조하고 UV-illuminator를 이용하여 365nm 파장의 빛을 조사하였으며, 반사되는 spot의 Rf 값, 종류, 크기 및 색을 관찰하고 표기하였다.

표기된 각 spot은 칼을 이용하여 TLC판에서 떼어내어 각각 1ml DMSO에 용해시킨 후 원심분리하여 상등액을 취하여 분리샘플을 준비하였다. 분리된 샘플을 이용하여 다시 생육저지환의 크기를 확인하여, 항균물질의 분리를 확인하였다. 대조군으로는 berberine을 사용하였다.

5) 박막 크로마토그래피법(TLC)을 통하여 분리된 spot의 HPLC 분석

TLC를 통하여 분리된 각 spot은 칼을 이용하여 TLC판에서 떼어내어 각각 1ml DMSO에 용해시킨

후 원심분리하여 상등액을 취하여 HPLC(High Pressure Liquid Chromatography) 분석을 위한 샘플로 사용하였다. HPLC 분석을 위한 컬럼은  $\mu$ -Bondapak C18 이었으며, 검출기는 UV 254nm, 이동상은 Acetonitrile :  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 = 25 : 75$  이었으며, 유속은 1.0 ml/min 이었다. 표준품으로는 berberine을 사용하였다.

6) 탐색된 한약재가 포함된 처방의 항-*H. pylori* 효과 및 최소생육저지농도(MIC) 측정

탐색된 한약재가 포함된 처방 중 黃連解毒湯, 三黃瀉心湯 및 酒蒸黃連丸을 사용하였다. 酒蒸黃連丸은 농도가 0-50mg/ml가 되도록 제조하여 사용하였으며, 그 외의 처방은 약재의 농도가 1-5배가 되도록 제조한 다음 실험에 사용하였다.

각각의 농도에 대한 항-*H. pylori* 효능을 디스크확산법을 통하여 생육저지환의 크기를 확인하고 최소생육저지농도(MIC)를 측정하였다.

### III. 實驗 結果

#### 1. 수용성 및 에탄올 추출물에 의한 한약재의 항-*H. pylori* 효과

사용한 67종 한약재의 열수 및 에탄올 추출물이 *H. pylori*에 대한 생육저지효과를 조사한 결과 黃連의 열수 및 에탄올 추출물이 10mg/ml의 농도에서 각각 30.0, 30.3mm의 높은 항-*H. pylori* 효과를 보여주었다(Fig. 3, 4). 그 외 다른 한약재(10mg/ml)에서는 *H. pylori*의 생육저지효과를 보여주지 못하였다.

#### 2. 黃連의 수용성, 에탄올 및 비극성 유기용매 추출물에 대한 항-*H. pylori* 효과

상기의 결과를 바탕으로 건조 黃連을 극성, 양쪽성 및 비극성 용매로 각각 추출하여 黃連의 항균물질이 극성 및 비극성의 성질 중 어떠한 특징을 가지는지 조사하였다. 극성용매는 물로 하였으며, 양쪽성 용매로 에탄올을, 비극성 용매로 chloroform과 ethyl acetate를 사용하였다. 4가지 용매추출물 모두에서 생육저지효과를 보여주었으며, 이중 열수 및 에탄올 추출물이 비극성용매에 비해서 높은 생육저지효과를

보여주었다(Fig. 4).

#### 3. 박막 크로마토그래피법(TLC)을 이용한 한약재의 물질 분리

黃連의 열수, 에탄올, chloroform 및 ethyl acetate 추출물을 박막 크로마토그래피법(TLC)을 이용하여 분리한 결과는 Fig. 5와 같다.

전개용매를 n-propanol : formic acid : water(90 : 1 : 9)를 사용했을 때 모든 추출물에서 공통적으로 4종의 대표적 spot이 분리되었다. 각각의 추출물에서 분리된 spot의 Rf값 역시 같은 수치를 나타내었다(Table 2).

365nm의 파장의 빛을 조사하였을 때 Rf값이 낮은 spot의 순서대로 1. yellow, 2. yellow+green, 3. green, 4. blue 순으로 반사되는 색의 특징을 보여주었다. 또한 대조군인 berberine을 통해서 3번의 green spot이 berberine이라는 사실을 알 수 있었으며, chloroform의 경우 green spot과 blue spot사이에 Rf값이 0.33인 작은 green spot을 관찰할 수 있었다.

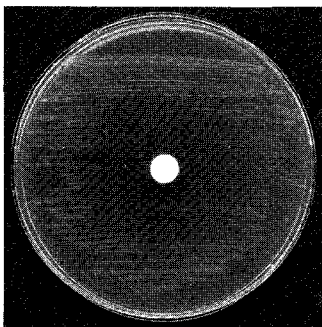


Fig. 3. Anti *Helicobacter pylori* effect of water extract of *C. japonica*.

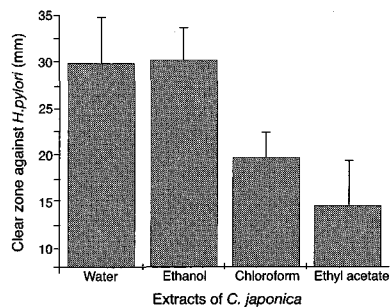
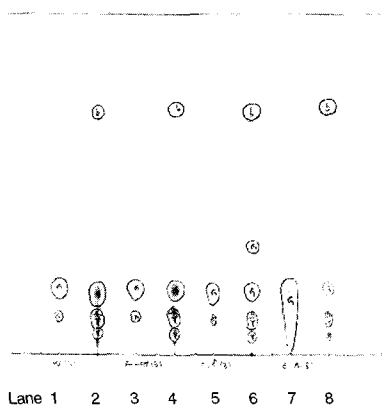


Fig. 4. Anti *H. pylori* effects of various extracts of *C. japonica*.

Extracts of <i>C. japonica</i>	Clear zone(mm, including 8 mm)						AVG	STD
	1	2	3	4	5	6		
Water	34	28	36	25	27	-	30.0	4.74
Ethanol	34	30	25	32	28	33	30.3	3.39
Chloroform	20	19	24	17	19	-	19.8	2.59
Ethyl acetate	20	13	11	-	-	-	14.7	4.73

**Table 2.** Rf values of each spots on TLC plate of extracts of *C. japonica*

Spots	Rf values of extracts of <i>C. japonica</i>				
	Water	Ethanol	Chloroform	Ethyl acetate	Berberine
1	0.07	0.07	0.07	0.07	0.12
2	0.13	0.13	0.13	0.13	0.22
3	0.21	0.21	0.21	0.21	-
4	0.73	0.73	0.33	0.73	-
5	-	-	0.73	-	-



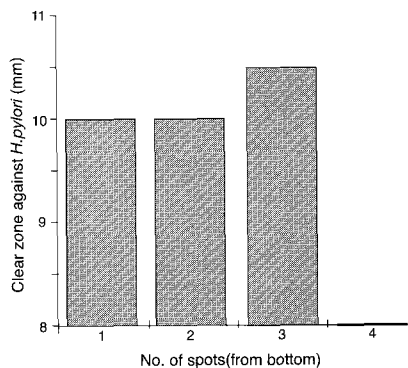
**Fig. 5.** Thin-layer chromatogram of water-(2), ethanol-(4), chloroform-(6), ethyl acetate-(8) soluble extracts of *C. japonica*. (1), (3), (5) and (7) were berberine as a control. Solvent system was n-propanol : formic acid : water(90 : 1 : 9). Symbols mean: b; Blue fluorescence at 365 nm, G; Green fluorescence at 365 nm, Y; Yellow fluorescence at 365 nm



**Fig. 6** Isolated 4 spots solution from the TLC plate. The Rf values of each solution were 0.07, 0.13, 0.21 and 0.73 from left, respectively. They were shown fluorescences at 365 nm.

4. 박막 크로마토그래피법(TLC)을 이용하여 분리된 물질의 항-*H. pylori* 효과

TLC를 이용하여 분리된 4종의 대표적인 spot을 칼로 끊어내어 DMSO에 용해시켜 4종의 분리물질 용액을 제조하였다(Fig. 6). 이들은 365nm 파장의 빛을



**Fig. 7.** Anti *H. pylori* effects of four isolated samples from TLC.

Isolated sample from TLC	Clear zone (mm, including 8 mm)		AVG	STD
	1	2		
1	10	10	10	0
2	10	10	10	0
3	10.5	10.5	10.5	0
4	8	8	8	0

조사하면 형광을 띄는 특징을 나타내었다.

분리된 샘플을 이용하여 *H. pylori*에 대한 생육저지효과를 관찰하였으며 결과는 Fig. 7과 같다. TLC plate의 아래쪽에서부터 1, 2, 3, 4의 순서로 번호를 부여하였으며, 1번 및 2번 spot에서 10mm의 항균력을 그리고 3번 spot에서 10.5mm의 항균력을 보여주었다.

항균력이 나타나는 샘플에 대한 HPLC 분석 결과는 Fig. 8과 같다. 항-*H. pylori* 활성을 나타낸 3종의 분리샘플 모두 공통적인 9.8-9.9의 Retention time을 가지는 peak를 관찰할 수 있었다. 이는 대조군으로 사용한 黃連의 대표 항균물질인 berberine의 peak로 확인되어 이들의 항균력이 berberine에 의한 것임을 확인할 수 있었다. 항균력이 나타나지 않은 4번 샘플

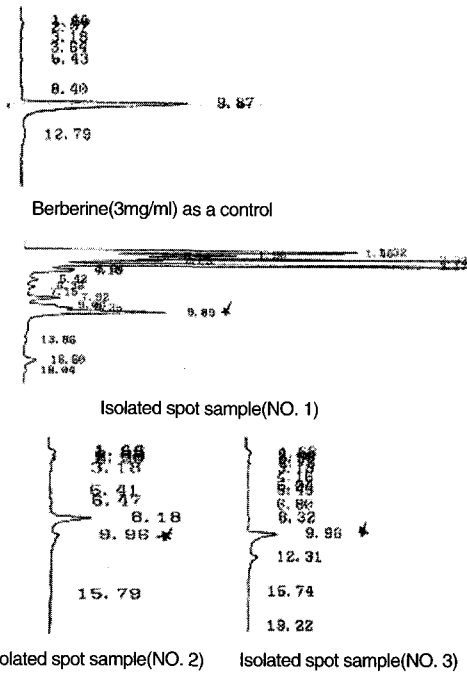


Fig. 8. HPLC diagram of isolated samples(No. 3) from TLC plate.

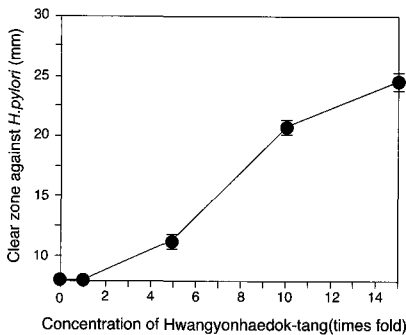


Fig. 10. Minimal inhibitory concentration of Samhwangsasim-tang against *H. pylori*

Conc.(배수)	Clear zone (mm, including 8 mm)		AVG	STD
	1	2		
0	8	8	8.00	0.00
1	8	8	8.00	0.00
5	19	18	18.5	0.71
10	19	22	20.5	2.12
15	25.5	20	22.75	3.89

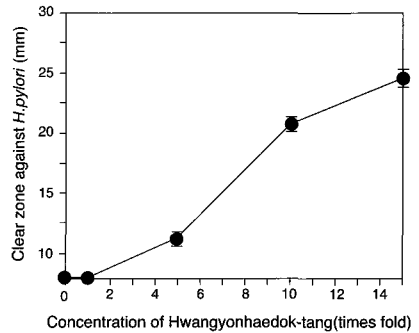


Fig. 9. Minimal inhibitory concentration of Hwangyonhaedok-tang against *H. pylori*

Conc.(배수)	Clear zone (mm, including 8 mm)		AVG	STD
	1	2		
0	8	8	8.00	0.00
1	8	8	8.00	0.00
5	19	18	18.5	0.71
10	19	22	20.5	2.12
15	25.5	20	22.75	3.89

의 경우 HPLC 분석결과 berberine이 확인되지 않았다(자료표기 안함).

그러나 2번 샘플의 경우 berberine peak인 9.96의 Rt값 이전에 8.18의 Rt값을 가지는 peak를 확인할 수 있었다. 이 peak는 HPLC 분석 결과 전체 2번 샘플의 약 60% 정도를 차지하는 물질임을 알 수 있었고(자료 표기 안함) berberine과는 다른 물질로 판단되며, 함유 비율로 미루어 2번 샘플의 항균 효과가 berberine이 아닌 새로운 물질에 의한 것임을 간접적으로 추측해 볼 수 있었으나, 이는 추후 연구과제이다.

또한 HPLC 분석 결과 3종의 샘플에서 모두 berberine이 검출되는 것으로 미루어 볼 때, TLC에 의한 黃連 추출물의 분리가 완벽하지 않음을 알 수 있었다.

### 5. 黃連이 포함된 처방의 항-*H. pylori* 효과 및 최소 생육저지농도(MIC)

黃連의 항-*H. pylori* 효과를 토대로 黃連이 포함된



처방의 항-*H. pylori* 효과를 기대하였으나 처방의 기본농도에서는 생육저지효과를 관찰할 수 없었다. 따라서 본 저자는 처방의 농도를 기본으로 5, 10, 15배의 고배율의 농도로 처방을 제조하여 농도배율에 따른 생육저지효과를 관찰하고 그 적용범위를 측정하였다.

黃連解毒湯 및 三黃瀉心湯의 경우 기준의 5배 이상의 농도에서부터 생육저지효과를 관찰할 수 있었다(Fig 9, 10). 따라서 본 2가지 처방의 경우 열수 추출하여 1/5정도 되도록 농축하여 복용할 경우 *H. pylori*의 생육저지효과를 얻을 수 있을 것으로 판단된다. 또한 酒蒸黃連丸의 경우 5mg/ml 이상의 농도에서 생육저지효과를 얻을 수 있었으므로 적용농도는 5mg/ml 이상으로 판단된다(Fig. 11).

#### IV. 考 察

*Helicobacter pylori* 는 그람음성, 미호기성, 나선형 간균으로서 1983년 Marshall과 Warren<sup>1,2</sup>에 의해 인체

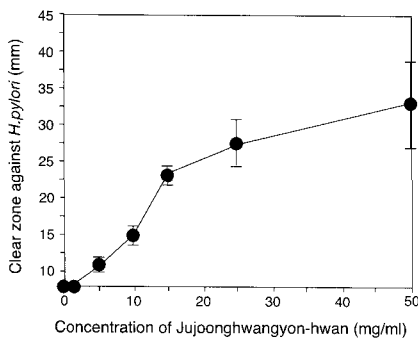


Fig. 11. Minimal inhibitory concentration of Jujoonghwangyon-hwan against *H. pylori*.

Conc. (mg/ml)	Clear zone(mm, including 8 mm)						AVG	STD
	1	2	3	4	5	6		
0.1	8	8	8	-	-	-	8.00	0.00
1	8	8	8	-	-	-	8.00	0.00
5	11	10	11	11.5	10.5	11.5	10.92	0.58
10	14	14	14	15	17.5	15	14.92	1.36
15	24	22	24	-	-	-	23.33	1.15
25	28	32	22	28	28	27	27.50	3.21
50	38	40	37	28	28	27	33.00	5.93

위 점막조직에서 처음으로 분리되고 배양되었다.

*H. pylori*가 처음 분리되었을 때에는 병원성 여부가 확실하지 않았다. 그러나 여러 연구진들에 의해서 수행된 다양한 연구 즉, 위질환 환자에서의 균보유율 조사<sup>14</sup>, 무균 신생돈을 이용한 실험동물 감염시험<sup>15</sup>, 자원자를 대상으로 한 감염시험<sup>16</sup> 및 혈청학적 조사<sup>14</sup> 등을 통하여 *H. pylori*가 병원성 세균임이 명확히 입증되었다. 또한 B형 위염의 원인균임이 증명되었으며<sup>17</sup>, 소화성 궤양<sup>18</sup> 및 위암<sup>19</sup>의 가장 중요한 발병인자의 하나로 간주되고 있다.

*H. pylori*의 생태학적 서식처는 위점막 상피세포간 접합부이며 감염부위는 유문부 점막으로 알려져 있다. 미호기성 간균으로 크기는 1.8-7.7 × 0.4-1.25 μm 정도이고, 배양시 습기가 충분한 미호기성 대기상태가 조성되어야 하며, 사용되는 배지에는 전혈, 혈액 및 혈청 등이 첨가되어야 한다. 강산성인 위내공의 점막에 기생하는 세균이기 때문에 흔히 내산성일 것으로 생각되지만 *H. pylori*의 최적성장에 필요한 pH는 7.0-7.4이다.

*H. pylori*의 가장 특이한 생화학적 성상은 매우 강한 urease 생성능이다. *Proteuse*가 생산하는 urease 생성능의 100배 이상이며<sup>20</sup>, 이로 인하여 다량의 ammonia를 생성하는 것으로 알려져 있다<sup>21</sup>. 이렇게 생성된 ammonia는 직·간접적으로 점막세포에 독성을 나타내기도 하나, 그 작용기전은 충분히 밝혀져 있지 않다<sup>22</sup>.

*H. pylori*의 또 다른 특징은 한쪽 혹은 양쪽에 편모를 가지고 있는 것으로 이것은 *H. pylori*가 점막 내에서 자유자재로 다닐 수 있는 활동성을 부여하여

끈적끈적한 환경에서도 움직일 수 있도록 해 준다. Hazell 등<sup>23</sup>은 *H. pylori*가 지닌 나선형태와 강력한 운동성 때문에 끈끈한 위점막층을 자유로이 투과하거나 헤엄쳐 다닐 수 있다고 설명하면서 그 증거로 methylcellulose 인공점막을 이용한 운동성 실험에서 *E. coli*가 겨우 움직일 수 있는 점도보다도 20배 이상 높은 점도에서도 운동성을 나타낸다고 하였다.

한국인은 10세 이상 전 국민의 90%가 *H. pylori*의 만성 보유자이며 20 이와 같은 보유율은 호주, 영국, 미국 등의 선진국과 비교해 볼 때 2배에 가까운 수치를 나타낸다. 한국인에서 선진국 국민에 비하여 위·십이지장 질환이 많은 점과 특히 우리 나라에서의 위암 발생율이 이들 선진국보다 10배 이상 높은 이유가 한국인의 *H. pylori*의 보유율과 무관하지 않을 것으로 추정된다.

따라서 위암이나 위·십이지장 궤양의 발생을 사전에 예방하기 위해서는 *H. pylori*의 감염을 효과적으로 치료할 수 있는 수단이 마련되어야 한다. 이를 위한 방안으로 Rauws 등<sup>4</sup>이 bismuth 제제와 amoxicillin, metronidazole의 3가지 항균제를 동시에 투여하는 것을 발표하였고, Borody 등<sup>5</sup>은 bismuth제제와 tetracycline, metronidazole을 소화성 궤양환자에 동시에 투여하는 triple chemotherapy를 통해 80% 내외의 치료효과를 얻은 것으로 보고하였다. 그러나 이러한 항균제의 치료는 부작용 발생율이 높다는 점과 실패시 동반되는 높은 내성의 발생이 문제점으로 제기되어 왔다.

이런 이유로 한약재의 *H. pylori*에 대한 항균활성 연구가 진행되어 백리향, 차(tea), 蘇木, 蘇葉 등이 항균활성을 가지는 것으로 보고되었고<sup>8</sup>, 처방으로는 治瘍湯<sup>9</sup>이 *H. pylori* 감염에 의한 cytokines 유전자 발현에 억제효과가 있으며, 寶豆甘草末<sup>10</sup>, 丹蔘飲<sup>11</sup>이 ammonia에 의해 유발된 소화성 궤양에서 항궤양 효과가 있음이 실험적으로 증명된 바 있으나 항균활성을 가지는 한약재 탐색에 관한 구체적인 실험은 아직 이루어지지 않은 실정이다.

본 연구는 항-*H. pylori* 효과가 우수한 한약재를 실험적으로 탐색하여 *H. pylori* 감염에 효과적으로 대

처할 수 있는 보다 적극적인 한의학적 치료방법을 모색하기 위한 목적으로 착수하게 되었다.

항균특성을 가진 것으로 알려진 67종 한약재를 열수 및 에탄올로 추출하여 디스크확산법을 통하여 *H. pylori*에 대한 생육저지효과를 조사하였다. 그 결과 黃連의 열수 및 에탄올 추출물이 10mg/ml의 농도에서 각각 30.0, 30.3mm의 높은 항-*H. pylori* 효과를 보여주었으며, 그 외 다른 한약재에서는 *H. pylori*의 생육저지효과를 보여주지 못하였다.

黃連은 毛柳科(미나리아재비과)에 속한 多年生 草木인 黃連 및 同屬 近緣植物의 根莖으로 한국에서는 日黃連, 川黃連, 毛黃連 세 종류가 通用되고 있는데, 일반적으로 일본산을 日黃連, 중국산을 川黃連, 黃連의 수염뿌리나 小檗科(매자나무과)에 속한 多年生 草木인 罌榔이풀의 根莖을 毛黃連이라 칭한다<sup>24</sup>.

歷代 本草書에 기재된 黃連의 氣味는 苦, 寒, 無毒하며 心, 肝, 胃, 大腸經으로 入한다고 하였으며, 淸熱 燥濕, 淸心除煩, 瀉火解毒, 殺蟲의 要藥<sup>25</sup>으로 煩熱神昏, 心煩失眠, 濕熱痞滿, 嘔吐, 腹痛瀉痢, 目赤腫痛, 口舌生瘡, 濕疹, 蕩傷, 吐血, 衄血 등에 활용되어 왔다<sup>25</sup>.

지금까지 밝혀진 黃連의 주요성분은 berberine(약 7%)이며, 기타 성분으로 palmatine, coptisine, worenine 등의 알칼로이드가 각각 0.5% 이하로 함유되어 있는 것으로 알려져 왔다<sup>26</sup>. Berberine은 isoquinoline계 alkaloid로서 그람 양성 및 음성균과 곰팡이 등에 대한 광범위한 항균작용을 가지며 抗炎 症作用, 止血作用, 血壓降下作用, 抗癌作用 등이 있는 것으로 알려져 있어서 皮膚炎症, 化膿症, 口內炎, 鼻出血 등에 광범위하게 사용되고 있다<sup>27</sup>.

黃連의 抗菌 spectrum은 상당히 그 폭이 넓는데 특히 赤痢菌에 대한 抗菌作用이 가장 강해서 sulfa제보다 우수하다고 알려져 있으며, 그 외에도 黃色葡萄狀球菌(*Staphylococcus aureus*), 티푸스균(*Salmonella typhi*), 肺炎雙球菌(*Streptococcus pneumoniae*), 大腸菌(*Escherichia coli*), 腦膜炎球菌(*Neisseria meningitidis*), 百日咳菌(*Bordetella pertussis*), 디프테리아균(*Corynebacterium diphtheriae*), 連鎖狀球菌(*Streptococcus* 네.), 人形結膜菌을 억제한다고 보고되고 있다<sup>28</sup>.

黃連의 抗菌作用에 대한 구체적 실험으로는 Otsuka와 Tsukui<sup>29</sup>, Otsuka와 Fujimura<sup>30</sup>, 禹<sup>31-33</sup> 등의 연구가 있어 왔다. 특히 李<sup>33</sup>는 黃連 추출물 중 berberine 성분이 안질환을 유발하는 세균에 탁월한 효과가 있음을 입증하였고, 禹<sup>31</sup>는 日黃連, 川黃連, 毛黃連 중 berberine 함량이 가장 많은 日黃連의 항균작용이 가장 우수함을 보고한 바 있다. 따라서 본 실험에서도 3종 黃連 중 日黃連을 사용하였다.

본 연구에서는 *H.pylori* 균에 대해서 항균특성이 기대되는 67종 한약재를 탐색한 후 黃連의 항균효과가 유효함을 실험적으로 확인하게 되었다.

상기의 결과를 바탕으로 건조 黃連을 극성, 양쪽성 및 비극성 용매로 각각 추출하여 黃連의 항균물질이 극성 및 비극성의 성질 중 어떠한 특징을 가지는지 조사하였다. 극성용매는 물로 하였으며, 양쪽성 용매로 에탄올을, 비극성 용매로 chloroform과 ethyl acetate를 사용하였다. 디스크확산법을 통하여 생육저지효과를 비교하였으며, 그 결과 열수, 에탄올, chloroform, ethyl acetate가 각각 30.0, 30.3, 19.8, 14.7 mm의 항 *H.pylori* 효과를 보여주었다. 즉, 4가지 용매 추출물 모두에서 생육저지효과가 있었으나, 이 중 열수 및 에탄올 추출물이 비극성용매에 비해서 높은 생육저지효과를 보임을 알 수 있었다.

黃連의 항균물질을 확인하기 위하여 黃連의 열수, 에탄올, chloroform, ethyl acetate 추출물을 TLC법을 이용하여 분리하였다. 그 결과 모든 추출물에서 공통적으로 4종의 대표적 spot이 분리되었으며, 각각의 추출물에서 분리된 spot의 Rf값 역시 같은 수치를 나타내었다. 365nm의 파장의 빛을 조사하였을 때 Rf값이 낮은 spot의 순서대로 1. yellow, 2. yellow+green, 3. green, 4. blue 순으로 반사되는 색의 특징을 보여주었다. 또한 대조군으로 黃連의 대표 항균물질인 berberine을 이용하였는데, 그 결과 3번의 green spot이 berberine이라는 사실을 알 수 있었다. chloroform의 경우 green spot과 blue spot 사이에 Rf값이 0.33인 작은 green spot을 관찰할 수 있었다.

TLC법으로 분리된 4종의 대표적인 spot을 칼로 긁어내어 DMSO에 용해시켜 4종의 분리물질 용액을

제조하였다. 이들은 365nm 파장의 빛을 조사하면 형광을 띄는 특징을 나타내었다.

분리된 샘플을 이용하여 다시 *H. pylori*에 대한 생육저지효과를 관찰하였다. 그 결과 TLC plate의 아래 쪽에서부터 1, 2, 3, 4의 순서로 번호를 부여하였을 때, 1번 및 2번 spot에서 10 mm의 항균력을, 그리고 3번 spot에서 10.5mm의 항균력을 보여주었으며, 4번 spot은 항균력을 보여주지 못했다.

보다 정밀한 항균물질의 분리를 위하여 항균력이 나타나는 샘플에 대한 HPLC 분석을 실시했으며 그 결과 항-*H. pylori* 활성을 나타낸 3종의 분리샘플 모두 공통적인 9.8-9.9의 Retention time을 가지는 peak를 관찰할 수 있었다. 이는 대조군으로 사용한 黃連의 대표 항균물질인 berberine의 peak로 확인되어 이들의 항균력이 berberine에 의한 것임을 확인할 수 있었다. 항균력이 나타나지 않은 4번 샘플의 경우 HPLC 분석결과 berberine이 확인되지 않았다.

이로써 黃連의 항-*H.pylori* 효과가 berberine 성분에 의해 이루어짐을 실험적으로 증명할 수 있었다.

그러나 2번 샘플의 경우 berberine peak인 9.96의 Rt값 이전에 8.18의 Rt값을 가지는 peak를 확인할 수 있었다. 이 peak는 HPLC 분석결과 전체 2번 샘플의 약 60% 정도를 차지하는 물질임을 알 수 있었는데 berberine과는 다른 물질로 판단되며, 함유 비율로 미루어 2번 샘플의 항균효과가 berberine이 아닌 새로운 물질에 의한 것임을 간접적으로 추측해 볼 수 있었다. 이는 추후 더 연구해 볼 필요가 있을 것으로 사료된다.

또한 HPLC 분석 결과 3종의 샘플에서 모두 berberine이 검출되는 것으로 미루어 볼 때, TLC에 의한 黃連 추출물의 분리가 완벽하지 않음을 알 수 있었다.

黃連의 항-*H. pylori* 효과를 토대로 黃連이 주약재로 함유된 처방전으로 黃連解毒湯, 三黃瀉心湯, 酒蒸黃連丸에 대한 항-*H. pylori* 효과를 알아보았다.

黃連解毒湯은 葛<sup>33</sup>의 肘後備急方에 處方名 없이 傷寒時氣溫病方으로 처음 수록된 처방으로 黃連, 黃芩, 黃柏, 梔子로 구성되어 있으며, 清熱瀉火解毒의

方義가 있어 一切 火熱症에 활용되는 方劑이다<sup>34</sup>. 王<sup>35</sup>의 外臺秘要에는 唐代의 崔가 創方한 것이라 하며 方劑構成의 意義와 病症을 詳論하였고, 劉<sup>36</sup>는 本方의 약재를 丸으로 만들어 大金花丸이라 하였으며, 張<sup>37</sup>은 解毒湯이라 하여 모든 火證에 사용하였다. 실험적 연구로 杜<sup>38</sup>는 黃連解毒湯이 藥理學的으로 解熱, 鎮痛, 鎮靜, 血糖抑制, 血壓降下作用이 있음을 報告한 바 있다.

三黃瀉心湯은 張仲景<sup>39</sup>의 金匱要略에 처음으로 수록된 처방으로 瀉心湯 혹은 大黃黃連瀉心湯이라고도 하고 大黃, 黃連, 黃芩으로 구성되어 있으며, 心氣不足으로 인한 吐血, 衄血과 心下痞를 치료한다 하였다<sup>40</sup>. 孫<sup>41</sup>은 瀉心湯은 心實熱에 사용하며 心包蘊熱을 풀어주는 효능이 있다고 하였고, 陳<sup>42</sup>은 三焦積熱을 치료한다 하였으며, 李<sup>43</sup>는 心氣가 부족한데 邪熱이 침입, 營血을 충동하여 衄血吐血이 되니 寒冷之氣로 熱邪를 消滅하고 苦味로써 心을 補하는 것이라 설명하였다.

酒蒸黃連丸은 黃連 4兩을 淸酒 七合에 하루밤 동안 담갔다 꺼서 햇볕에 말린 다음 麵糊로 丸을 만든 것으로 一名 小黃龍元이라고도 한다<sup>44</sup>. 危亦林的 世醫得效方에서는 酒毒으로 말미암아 積熱하고 便血, 吐血하며 肛門까지 뜨거운 데 쓴다고 하였고, 朱肱의 南陽活人書에서는 伏暑에 口渴, 惡心하고 해가 오래 된 暑毒이 낫지 않는 症을 다스린다 하였으며<sup>45</sup>, 雜病源類犀燭·六淫門 卷十七方에서는 腸胃積熱 및 酒毒으로 인해 下血, 腹痛이 발생하고 갈증이 나며 脈이 弦數한 경우를 치료한다고 하였다<sup>46</sup>.

黃連解毒湯, 三黃瀉心湯, 酒蒸黃連丸 중 우선 黃連解毒湯, 三黃瀉心湯을 처방전의 기본농도에서 디스크 확산법을 이용하여 생육저지환의 크기를 측정하였으나 효과를 관찰할 수 없었다. 이에 저자는 처방전의 농도를 기본으로 5, 10, 15배의 고배율의 농도로 처방전을 제조하여 농도배율에 따른 생육저지효과를 관찰하였으며, 그 결과 黃連解毒湯은 11.25mm, 20.75mm, 24.50mm, 三黃瀉心湯은 18.5mm, 20.5mm, 22.75mm의 적용범위를 각각 나타냄을 확인할 수 있었다. 따라서 본 2가지 처방전의 경우 열수 추출하여 1/5정도 되도록 농축하여 복용할 경우 *H. pylori*의 생육저지 효과

를 얻을 수 있을 것으로 판단된다.

酒蒸黃連丸은 농도가 0-50mg/ml가 되도록 제조하여 사용하였는데 0.1mg/ml, 1mg/ml의 농도에서는 생육저지효과를 관찰할 수 없었으며, 5mg/ml, 10mg/ml, 15mg/ml, 25mg/ml, 50mg/ml의 농도로 하였을 때 각각 10.92mm, 14.92mm, 23.33mm, 27.50mm, 33.00mm의 적용범위를 나타냄을 알 수 있었다. 따라서 酒蒸黃連丸의 경우 적용농도를 5mg/ml 이상으로 할 때 *H. pylori*의 생육저지 효과를 볼 수 있을 것으로 판단된다.

이상의 실험으로 黃連 추출물의 항-*H. pylori* 효과를 실험적으로 증명하고, 黃連의 대표 항균물질인 berberine을 분석했으며, 黃連이 포함된 처방인 黃連解毒湯, 三黃瀉心湯, 酒蒸黃連丸 역시 일정 농도 이상으로 할 때 항-*H. pylori* 효과가 나타남을 알 수 있었다.

그러나 HPLC 분석을 통해 확인된 berberine 이외의 물질에 대한 항균력, 임상 분리 균주들에 대한 항균력 등은 향후 지속적인 연구가 필요하며, 黃連 관련 처방전의 in vivo 실험 역시 조속한 시일 내에 이루어질 필요가 있을 것으로 사료된다. 본 실험을 근거로 黃連의 單味方, 혹은 黃連 포함 처방이 위암이나 위·십이지장궤양의 발생을 예방할 목적으로 *H. pylori* 감염에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 판단되며, 이는 한의학적으로도 큰 의의가 있다 하겠다.

## V. 結 論

항균특성을 가진 것으로 알려진 67종의 한약재를 대상으로 *H. pylori*에 대한 항균력을 조사하여 이중 黃連 추출물이 가장 우수한 항균력을 보이는 것으로 확인하였으며, 이를 토대로 黃連에 함유되어 있는 항균성분과 黃連이 포함된 처방전의 항균력에 대하여 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 사용한 67종 한약재의 열수 및 에탄올 추출물이 *H. pylori*에 대한 생육저지효과를 조사한 결과 黃連의 열수 및 에탄올 추출물이 10mg/ml의 농도에서 각각 30.0, 30.3mm의 높은 항-*H. pylori* 효과를 보여주었다.
2. 물, 에탄올, chloroform 및 ethyl acetate를 사용하

여 黃連 추출물을 제조하였을 때 4가지 용매추출물 모두에서 생육저지효과를 보여주었으며, 이중 열수 및 에탄올 추출물이 비극성용매에 비해서 높은 생육 저지효과를 보여주었다.

3. 박막 크로마토그래피법(TLC)을 통하여 분리된 黃連의 모든 추출물에서 공통적으로 4종의 대표적 spot이 분리되었으며, 이 중 1번 및 2번 spot에서 10mm, 그리고 3번 spot에서 10.5mm의 *H. pylori*에 대한 항균력을 보여주었다.
4. HPLC 분석을 통해 항-*H. pylori* 활성을 나타낸 3종의 분리샘플에서 모두 공통적인 9.8-9.9의 Retention time을 가지는 peak를 관찰할 수 있었다. 이는 대조군으로 사용한 黃連의 대표 항균물질인 berberine의 peak로 확인되어 이들의 항균력이 berberine에 의한 것임을 확인할 수 있었다.
5. TLC 분리 2번 샘플의 경우 berberine peak인 9.96의 Rt값 이전에 8.18의 Rt값을 가지는 새로운 peak를 확인할 수 있었다. 이 peak는 HPLC 분석결과 전체 2번 샘플의 약 60%정도를 차지하였고, 함유 비율로 미루어 2번 샘플의 항균효과가 berberine이 아닌 새로운 물질에 의한 것임을 알 수 있었다.
6. 黃連과 관련된 처방의 항균활성에서 黃連解毒湯 및 三黃瀉心湯의 경우 기준의 5배 이상의 농도에서부터 생육저지효과를 관찰할 수 있었으며, 酒蒸黃連丸의 경우 5mg/ml이상의 농도에서 생육저지효과를 얻을 수 있었다.

### 參考文獻

1. Marshall B.J. and J.R. Warren. Unidentified curved bacilli and gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*. 1983;1:1273-1275.
2. Marshall B.J. and J.R. Warren. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*. 1984;1:1311.
3. Malfertheiner P, Megraud F, O' Morain C. Current European concepts in the management of *H.pylori* infection; the Maastricht Consensus report. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1997;9:1-2.
4. 최종영 외. 한국에서의 *Helicobacter pylori* 감염의 유병율. *대한내과학회지*. 1995;47(1).
5. Rauws E.A.J., W. Langenberg, J.H. Houthoff, H.C. Zanen, G.H.J. Tytgat. *Campylobacter pyloridis*-associated chronic active antral gastritis: a prospective study of its prevalence and the effects of antibacterial and antiulcer treatment. *Gastroenterol*. 1988;94:33-40.
6. Borody T., J. Lenne, D. Moore-Jones. Is doxycycline more effective than tetracycline HCl in triple therapy of *H. pylori*? *Gastroenterol*. 1990;98:A24.
7. 김나영 외. 소화성궤양에서 *H.pylori* 박멸을 위한 치료방법의 비교. *대한소화기학회지*. 1996;28(2):117.
8. Tabak M., R. Armom, I. Potasman, I. Neeman. In vitro inhibition of *H. pylori* by extracts of thyme. *J. Appl. Bacteriol*. 1996;80:667-672.
9. 李炯柱. 治瘍湯이 *Helicobacter pylori* 감염에 의한 Cytokines 유전자 발현에 미치는 영향. *圓光大學校 大學院*;1999.
10. 鄭智天 外. 寶豆甘草末 抽出物이 흰쥐의 消化性潰瘍에 미치는 影響. *大韓韓方內科學會誌*. 1999;20(2): 392-403.
11. 田昌敏 外. 丹參飲이 흰쥐의 消化性潰瘍에 미치는 影響. *大韓韓方內科學會誌*. 2000;21(4):597-604.
12. 陳貴延, 楊思樹. 實用中西醫結合診斷治療學. 서울:一中社;1992,p.437.
13. 危北海 外. 宏觀辨證和微觀辨證結合的研究. *中國中西醫結合雜誌*. 1997;11(5):301-303.
14. Kaldor J., W. Tee, P. McCarthy, J. Watson, B. Dwyer. Immune response to *Campylobacter pyloridis* in patients with peptic ulceration. *Lancet*. 1985;1:921.
15. Eaton E.A., D.R. Morgan, S. Krakowka. *Campylobacter pylori* virulence factors in gnotobiotic piglets. *Infect. Immun*. 1989;57:1119-1125.
16. McNulty C.A.M. The treatment of *Campylobacter*-associated gastritis. *Am. J. Gastroenterol*. 1987;82:245-247.
17. McNulty C.A.M., D.M. Watson. Spiral bacteria of the gastric antrum. *Lancet*. 1984;1:1068.
18. Pettross C.W., H. Cohen, M.D. Appleman, J.E. Valenzuela, P. Chandrasoma. *Campylobacter pyloridis*: relationship to peptic disease, gastric inflammation and other conditions. *Gastroenterol*. 1986;90: 1585.

19. Rhee K.H. *Campylobacter pylori* as a major determinant in hypothetical carcinogenesis of stomach cancer. *J. Kor. Soc. Microbiol.* 1988;23:550-552.
20. 백승철 외. 한국인 정상성인의 *H. pylori* 보균율. 대한 미생물학회지. 1990;25:455-462.
21. Mobley HLT, Cortesia MJ, Rosenthal LE, Jones BD. Characterization of urease from *Campylobacter pylori*. *J.Clin. Microbiol.* 1988;26:831-836.
22. Hazell S, Lee A. *Campylobacter pyloridis*, urease, hydrogen ion back diffusion and gastric ulcers. *Lancet.* 1986;2:15-17.
23. Hazell S.L., A. Lee, W. Hennesy. *Campylobacter pyloridis* and gastritis: association with intercellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factors in colonization of the gastric epithelium. *J. Infect. Dis.* 1986;153:658-663.
24. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編著. 本草學. 서울:永林社;1994,p.180-181.
25. 李時珍. 本草綱目(上). 北京:人民衛生出版社;1982,p.771-778.
26. 崔樹德. 中藥大全. 하얼빈:黑龍江科學技術出版社;1989,p.274-276.
27. 山原條仁. Berberine형 알칼로이드의 행동약리학적 연구(제 1판), 황련 및 그의 함유성분의 중추억제작용. *日藥理誌.* 1976;899-908.
28. 陸昌洙, 金成萬 외 4人 共著. 漢藥의 藥理, 成分, 臨床應用. 1984,p.404-411,775-780, 885-886.
29. Otsuka H., M. Tsukui. *Yakugaku Zasshi.* 1972;94:796-801.
30. Otsuka H., H. Fujimura. *Yakugaku Zasshi.* 1981;101:883-890.
31. 禹元洪. 三種 黃連의 抗菌力 比較 實驗. 圓光大學校 大學院;1982.
32. 李眞我. 黃連類의 眼疾患 誘發 病原性 微生物 抑制效果에 關한 研究. 東國大學校 大學院;1994.
33. 葛洪. 肘後備急方. 集文書局;1978,p.38-39.
34. 尹吉永. 東醫方劑學. 서울:高文社;1971,p.81.
35. 王燾. 外臺秘要方. 서울:大成文化社;1992,p.47.
36. 劉完素. 劉河間三六書. 서울:成輔社;1968,p.168.
37. 張介賓. 景岳全書. 서울:동양종합출판사;1978,p.1171.
38. 杜鎬京. 黃連解毒湯의 藥理學的 研究. 慶熙大學校 大學院. 1988.
39. 張仲景. 金匱要略(仲景全書中). 서울:杏林出版社;1984,p.397-398.
40. 張仲景著 蔡仁植譯. 金匱要略精解. 서울:韓林院;1986,p.97-98.
41. 孫思邈. 備急千金要方. 臺北:自由出版社;1976,p.236-237.
42. 陳師文. 和劑局方. 서울:慶熙大學校 韓醫科大學;1974,p.179.
43. 李杲. 東垣十種醫書. 서울:大成文化社;1983,p.124-125,397-399.
44. 許浚. 東醫寶鑑. 서울:南山堂;1996,p.70,605,642.
45. 傳統醫學研究所 編. 東洋醫學大辭典. 서울:成輔社;2000,p.2103.