

銀翹散과 Ciprofloxacin의 병용투여가 *Streptococcus pneumoniae* 호흡기감염에 미치는 영향

이상준 · 전귀옥 · 송광규* · 최해윤 · 김종대

대구한의대 한의학과 폐계내과학교실

Investigation Synergism of Eunkyo-san, a Poly-herbal Formula and Ciprofloxacin against *Streptococcus pneumoniae* Respiratory Infection

Sang Jun Lee, Kwi Ok Jeon, Kwang Kyu Song*, Hae Yun Choi, Jong Dae Kim

Division of Respiratory System, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

In order to evaluate the *in vivo* synergic effect of *Eunkyo-san* which was a traditional poly-herbal formula has been used in the treatment of respiratory diseases in Korea, with quinolone antibiotics, ciprofloxacin (CPFX), the viable bacterial number and histopathological changes were monitored after experimental respiratory infection with *S. pneumoniae* ATCC 6303. The obtained results were as follows: In CPFX groups, the viable bacterial numbers were significantly decreased compared to that of control group and these were more dramatically decreased compared to that of single treatment with CPFX, respectively in concomitant treated groups with *Eunkyo-san*. In control group, severe infiltration of inflammatory cells, hemorrhage and hypertrophy of alveolar linings were demonstrated at microscopical levels. However, these abnormal histopathological changes were significantly decreased compared to that of control group in CPFX groups, and these were more dramatically decreased compared to that of single treatment with CPFX, respectively in concomitant treated groups with *Eunkyo-san*. In CPFX groups, the LSA (luminal surface of alveoli %) were significantly increased compared to that of control group and these were more dramatically decreased compared to that of single treatment with CPFX, respectively in concomitant treated groups with *Eunkyo-san*. According to these results, it is considered as the *in vivo* antibacterial activity of CPFX was dramatically increased by concomitant use of *Eunkyo-san* against *S. pneumoniae* ATCC 6303 infection of respiratory tract.

Key words : *Eunkyo-san*, quinolone, Ciprofloxacin(CPFX), *S. pneumoniae*, infection of respiratory tract.

서 론

Streptococcus pneumoniae (이하 *S. pneumoniae*)는 여러 가지 호흡기 질환 특히 폐렴의 원인균으로 알려져 있고, Gordon¹⁾은 *S. pneumoniae*가 비병원 유래의 폐렴환자에서 가장 흔히 발견되는 병원균이라고 하였고, 미국에서 호흡기 감염에 의한 사망예의 가장 대표적인 원인균으로 알려져 있다²⁾. 또한 세균성 뇌막염³⁾과 중이염⁴⁾ 및 안면 봉와직염⁵⁾ (facial cellulites)의 원인균으로 알려져 있으며, 최근에는 penicilline에 내성을 보이는 *S. pneumoniae*

에 의한 폐렴의 유발이 급속히 확산되고 있는 실정이다⁶⁾.

Quinolone계 항생제는 다양한 개발에 따라 호흡기 감염증과 요로 감염증을 포함한 거의 모든 감염증에 적용될 수 있다고 알려져 있으며, 실제 임상에서도 매우 광범위하게 적용되어져 왔다⁷⁻⁹⁾. 하지만 퀴놀론계 항생제도 소화기 장애¹⁰⁾ 등의 가장 흔한 독성과 아울러 간독성, 심장독성, 신장독성¹⁰⁾ 및 광독성을 나타내고 있으며¹¹⁾, 내성균주의 출현 역시 문제로 대두되고 있다¹²⁻¹⁶⁾. 이러한 독성을 완화시키기 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 사용 용량의 감소를 위한 노력이 가장 활발히 진행되고 있다. Ciprofloxacin (이하 CPFX)은

* 교신저자 : 송광규, 대구시 수성구 상동 165 대구한의대부속 대구한방병원

· E-mail : silent95@hanmail.net, · Tel : 053-770-2082

· 접수 : 2005/05/20 · 수정 : 2005/06/24 · 채택 : 2005/07/27

gram(-) 및 gram (+) 세균에 대한 광범위한 항균력을 나타내고¹⁷⁾, 조직침투성이 좋으며¹⁸⁾, 근래에 들어서는 새로운 퀴놀론의 개발 중 효력평가의 기준이 되는 Reference drug로 가장 많이 사용되어지고 있다¹⁹⁻²⁰⁾. 그러나 CPFX 역시 자체의 독성^{10,21)}과 내성균주의 출현이 보고됨에 따라 그 사용량 조절 또는 오·남용의 방지에 대한 필요성이 대두되고 있다^{12-16,22-23)}.

한약 중 특히 감염성 질환이나, 항염제로 사용되어온 한약은 생체 활성을 유발하거나 세균에 대한 저항성을 높여 어느 정도 유효한 효과를 나타낼 것으로 생각되며, 또한 직접적인 항균력을 나타내는 물질이 포함되어 있을 가능성도 있을 것으로 생각된다. 이와 같은 민간처방에 대한 항균력 실험은 오랫동안 진행되어져 왔으며, 각각의 항균력이 검증되기도 하였고, 천연알칼로이드를 분리하기도 하였다²⁴⁻³²⁾. 銀翹散³³⁻³⁴⁾은 《溫病條辨³⁵⁾》에 기재된 처방으로 金銀花, 連翹, 苦桔梗, 薄荷, 牛蒡子, 淡豆豉, 生甘草, 淡竹葉 및 荊芥穗의 9종의 한약재로 구성되어 있으며, 辛涼透表 清熱解毒의 效能으로 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 사용된다³³⁻³⁴⁾. 肺炎의 辨證論治 中 邪氣가 肺衛를 侵犯하였을 때 사용하는 처방³³⁾으로 오랫동안 호흡기계의 감염성 또는 염증성 질환에 응용되어져 왔으며, 퀴놀론계 항생제와의 병용시 상승작용에 의한 항생제 사용량을 경감시킬 수 있을 것으로 생각된다. 하지만 銀翹散의 실험적 연구는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 오랫동안 호흡기계 질환 특히 염증성 질환에 사용되어온 銀翹散³³⁻³⁴⁾과 대표적인 퀴놀론계 항생제 중 CPFX과의 병용효과를 *S. pneumoniae* ATCC 6303 균주를 이용한 호흡기감염 mouse 모델을 통해 관찰하고자 하였다.

실 험

1. 재료

1) 약재

藥材는 (주)한국신약 (Daejeon, Korea)에서 구입하여 사용하였으며, 銀翹散은 《溫病條辨³⁵⁾》에 기재된 처방으로 1貼 분량 조성은 Table 1과 같다(Table 1).

Table 1. Composition and Dosage of Eunkyo-san

韓藥名	生藥名	用量 (g)
金銀花	<i>Lonicerae Flos</i>	40
連翹	<i>Forsythiae Frucus</i>	40
苦桔梗	<i>Platycodi Radix</i>	24
薄荷	<i>Menthae Herba</i>	24
牛蒡子	<i>Arctii Fructus</i>	24
淡豆豉	<i>Sojae Semen preparatum</i>	20
生甘草	<i>Glycyrrhiza Radix</i>	20
淡竹葉	<i>Lophatheri Herba</i>	16
荊芥穗	<i>Nepetae Spica</i>	16
Total	9 types	224

2) 실험균주

미국 ATCC 보관 균주인 *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6303을 구입하여 사용하였다.

3) 실험동물

성숙한 수컷 ICR mouse (Charles River, Japan)를 사료 (삼양사, 서울)와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경에 1주일간 적응시킨 후 사용하였으며, cyclophosphamide (Sigma, USA)를 호흡기 감염 유발 4 및 1일 전에 복강 내로 투여하여 면역력을 억제 시켰다.

2. 방법

1) 호흡기감염의 유발

S. pneumoniae ATCC 6303을 본 실험에 사용하였으며, 균주를 한천배지 (nutrient agar; Difco, Detroit, USA)에서 37°C 조건 하에 18시간 계대한 후 액체배지인 nutrient broth (Difco, Detroit, USA)에서 37°C 조건 하에 다시 4시간동안 배양하여, 증식이 잘된 세균 혼탁액 (bacteria suspension)을 준비하였다. 실험동물은 Ketamine 용액 (ketamine : xylazine = 60 : 2.5mg/kg)으로 마취한 후 준비한 세균 부유액 35 μ l를 비강을 통해 감염시켰다. 비강을 통해 세균 부유액을 주입시킨 마우스는 절치 (incisor teeth)를 실에 걸어 수직으로 적어도 20분간 방치하여 호흡기 감염을 조장하였다. 본 실험에서 접종된 균수는 1.7 × 10⁴/mouse이었다.

2) 실험군의 구분

대조약물로 CPFX (Merk, Darmstadt, Germany)을 사용하였으며, 정상군 (normal), 호흡기감염을 유발시킨 대조군 (control) 및 호흡기감염을 유발한 후 대조약물을 각각 12 및 60mg/kg (2군)을 투여한 군, 호흡기감염을 유발한 다음 대조약물을 12 및 60mg/kg 투여한 다음 銀翹散을 각각 100 및 200mg/kg (4개군)을 투여한 군의 총 8개 군으로 구분하였으며, 각 그룹 당 5마리씩 사용하여 총 40마리를 사용하였다. 그룹별 특징은 Table 2에 기록하였다(Table 2).

Table 2. Experimental Grouping Used in This Study

Group ID	Used Quinolones		Dose of Herbal drug*
	Type	Dose	
Normal	None	None	None
Control	None	None	None
CPF12	Ciprofloxacin	12mg/kg	None
C12T1	Ciprofloxacin	12mg/kg	100mg/kg
C12T2	Ciprofloxacin	12mg/kg	200mg/kg
CPF60	Ciprofloxacin	60mg/kg	None
C60T1	Ciprofloxacin	60mg/kg	100mg/kg
C60T2	Ciprofloxacin	60mg/kg	200mg/kg

* Eunkyo-san/Han kook shin yak, Daejeon, Korea) extracts were used in this study. Normal: Non treated normal group Control: Non treated after exposure to *S. pneumoniae* ATCC 6303 CPF12: 12mg/kg of CPFX was treated after exposure to *S. pneumoniae* ATCC 6303 C12T1: 12mg/kg of CPFX and 100mg/kg Eunkyo-san was treated after exposure to *S. pneumoniae* ATCC 6303 C12T2: 12mg/kg of CPFX and 200mg/kg Eunkyo-san was treated after exposure to *S. pneumoniae* ATCC 6303 CPF60: 60mg/kg of CPFX was treated after exposure to *S. pneumoniae* ATCC 6303 C60T1: 60mg/kg of CPFX and 100mg/kg Eunkyo-san was treated after exposure to *S. pneumoniae* ATCC 6303 C60T2: 60mg/kg of CPFX and 200mg/kg Eunkyo-san was treated after exposure to *S. pneumoniae* ATCC 6303

3) 검액의 조제

銀翹散 1貼 분량 (224g)에 정제수 2000ml로 가열 추출한 후 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer를 사용하여 동결 건조시켜 1貼 당 3.50g(수율 1.56%)의 추출물을 본 실험에 사용하였다.

4) 검액의 투여

감염 후 약 2 및 18시간에 대조약물을 2번에 걸쳐 금속제 존대를 이용하여 각각 6 또는 30mg을 10ml/kg의 용량으로 경구 투여하였으며, 檢液은 대조약물 투여 1시간 후 동일한 방법으로 50 및 100mg을 10ml/kg의 용량으로 투여하였다. Normal 군과 control 군에서는 대조약물 또는 檢液 투여시 동일한 양의 생리식염수를 동일한 방법으로 투여하였다.

5) 폐내 생균수 측정

감염 42시간 후에 모든 실험동물의 폐를 적출하여 좌, 우측엽을 구별한 다음 좌측엽을 일정량의 멸균된 생리식염수(distilled saline)를 이용하여 homogenized 한 다음 10배 희석하여 한천 배지 (nutrient agar; Difco, Detroit, USA)에서 37°C 조건하에 24시간 배양한 후 형성된 집락의 수를 평가하여 생균수를 측정하여 항생력을 평가하였다.

6) 조직표본의 제작 및 분석

적출한 폐의 우측엽을 Bouin액에 24시간 이상 고정하며, 통상적인 방법으로 ethanol 탈수를 거쳐 파라핀 포매를 실시하고, 3~4µm의 연속 절편을 제작한 다음, Hematoxylin-eosin 염색을 실시하여 폐, 특히 기관·기관지 주변과 폐포 벽에 형성된 세균성 폐렴 병변의 조직·병리학 변화를 관찰하였다. 또한 폐포 벽의 비후 정도를 평가하기 위해 폐포 내강이 폐 전체에 차지하는 percentage인 Luminal surface of alveolar (LSA)를 자동 조직분석장치 (analysis image processing; Soft Image System, Germany)를 이용하여 산출하였다.

7) 통계처리

생균 수는 log₁₀CFU (colony forming unit)로 계산한 다음 실험동물 수에 따른 평균 ± 표준편차로 계산하였다. 銀翹散을 병용한 군과 병용하지 않은 군을 평가하기 위하여, 각각의 대조약물 단독 투여군과 비교하여, Mann-Whitney Wilcoxon's test로 유의성을 검증하였다. 통계처리는 SPSS for Windows (Release 6.1.2, SPSS Inc., USA)를 사용하였다. 또한 조직학적 병변의 정도는 ++++ (매우 심함, Marked), +++ (심함, Severe), ++ (중등도, Moderated), + (경도, a few), ± (경미함, Rare) 및 - (관찰 안됨, not detect)의 6가지 등급으로 구분하였다.

결 과

1. 생균수의 변화

1) CFX 12mg/kg 투여 시

Control 군에서의 생균수는 9.07 ± 1.45 log₁₀CFU로 관찰되어 전혀 관찰되지 않은 normal 군에 비하여 현저한 생균수의 증가가 인정되었다. CFX12 군에서는 6.90 ± 0.91 log₁₀CFU로 관찰되어

control 군에 비하여 유의성 (p<0.05) 있는 생균수의 감소가 인정되었다. C12T1 군에서는 5.85 ± 0.46 log₁₀CFU로 관찰되어 CFX12 군 및 control 군에 비하여 유의성 (p<0.05) 있는 생균수의 감소가 인정되었으며, 또한 C12T2 군에서는 4.07 ± 1.01 log₁₀CFU로 관찰되어 CFX12 군 및 control 군에 비하여 유의성 (p<0.01) 있는 생균수의 감소가 인정되었다(Fig. 1).

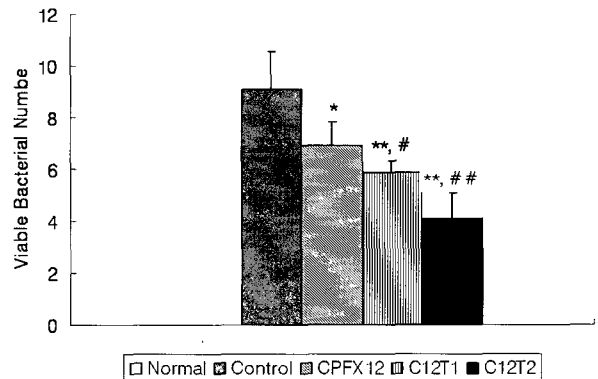


Fig. 1. Changes of viable bacterial numbers after CFX 12mg/kg and their concomitant treatment with *Eunkyo-san* (Mean ± S. D., log₁₀CFU). Group ID was listed in Table 2: * p<0.05 compared to that of Control; ** p<0.01 compared to that of Control; # p<0.05 compared to that of CFX12; ## p<0.01 compared to that of CFX12

2) CFX 60mg/kg 투여 시

Control 군에서의 생균수는 9.07 ± 1.45 log₁₀CFU로 관찰되어 전혀 관찰되지 않은 normal 군에 비하여 현저한 생균수의 증가가 인정되었다. CFX60 군에서는 4.95 ± 0.78 log₁₀CFU로 관찰되어 control 군에 비하여 유의성 (p<0.01) 있는 생균수의 감소가 인정되었다. C60T1과 C60T2 군에서는 각각 3.82 ± 0.37과 2.80 ± 0.42 log₁₀CFU로 관찰되어 CFX60 군 및 control 군에 비하여 유의성 (p<0.01) 있는 생균수의 감소가 인정되었다(Fig. 2).

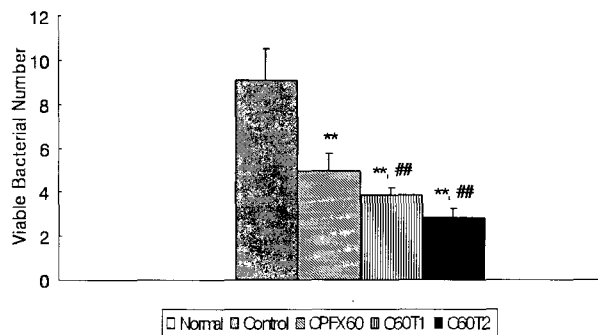


Fig. 2. Changes of viable bacterial numbers after CFX 60mg/kg and their concomitant treatment with *Eunkyo-san* (Mean ± S. D., log₁₀CFU). Group ID was listed in Table 2: ** p<0.01 compared to that of Control; ## p<0.01 compared to that of CFX60

2. 조직학적 변화

1) 염증세포의 침윤

Normal 군에서는 염증세포의 침윤이 거의 (±) 관찰되지 않

았으나, control 군에서는 심한 (++++) 염증세포의 침윤이 기관과 기관지 주위 및 폐포 벽에서 관찰되었다.

이러한 염증세포의 침윤 소견은 CPFX12 군에서는 control 군에 비하여 경감되었으나 여전히 심한 (+++) 정도로 관찰되었다. 그러나, C12T1과 C12T2 군에서는 각각 경도 (+)와 경미한 (±) 정도로 관찰되어 control 군 및 CPFX12 군에 비하여 현저히 감소되었다. 또한 CPFX60 군에서도 control 군에 비하여 감소되어 중등도 (++)로 관찰된 반면, C60T1과 C60T2 군에서는 각각 경미 (±)하게 관찰되어 control 군 및 CPFX60 군에 비하여 현저히 감소되었다 (Table 3, 4)

2) 출혈소견

Normal 군에서는 폐 전반에 걸쳐 출혈소견이 인정되지 않은 (-) 반면 control 군에서는 매우 심한 (++++) 출혈이 폐 전반에 걸쳐 인정되었다. 이러한 출혈 소견은 CPFX12 군에서는 control 군에 비하여 경감되었으나 여전히 중등도 (++)로 관찰되었다. 그러나, C12T1과 C12T2 군에서는 출혈 소견이 인정되지 않아 (-), control 군 및 CPFX12 군에 비하여 현저히 감소되었다. 또한 CPFX60 군에서도 control 군에 비하여 경감되었으나 여전히 경도 (+)로 관찰된 반면, C60T1 군에서는 경미 (±)하게 관찰되었고, C60T2 군에서는 출혈 소견이 인정되지 않아 (-), control 군 및 CPFX60 군에 비하여 현저히 감소되었다 (Table 3, 4)

Table 3. Changes of Abnormal Histological Index after CPFX 12mg/kg and Their Concomitant Treatment with *Eunkyo-san*

Group ID	Abnormal histological changes		
	Infiltration of inflammatory cells	Hemorrhage	Hypertrophy of alveolar lining
Normal	±	-	-
Control	++++	++++	++++
CPFX12	+++	++	+++
C12T1	+	-	±
C12T2	±	-	-

Group ID was listed in Table 2: ++++ (Marked), +++ (Severe), ++ (Moderated), + (a few), ± (Rare) and - (not detected)

Table 4. Changes of Abnormal Histological Index after CPFX 60mg/kg and Their Concomitant Treatment with *Eunkyo-san*

Group ID	Abnormal histological changes		
	Infiltration of inflammatory cells	Hemorrhage	Hypertrophy of alveolar lining
Normal	±	-	-
Control	++++	++++	++++
CPFX60	++	+	++
C60T1	±	±	±
C60T2	±	-	-

Group ID was listed in Table 2: ++++ (Marked), +++ (Severe), ++ (Moderated), + (a few), ± (Rare) and - (not detected)

3) 폐포 벽의 비후

Normal 군에서는 폐 전반에 걸쳐 폐포 벽의 이상 비후 소견

이 인정되지 않은 (-) 반면 control 군에서는 매우 심한 (++++) 폐포 벽의 비후가 폐 전반, 특히 기관, 기관지 주위 폐포에서 인정되었다. 이러한 폐포 벽의 비후 소견은 CPFX12 군에서는 control 군에 비하여 경감되었으나 여전히 심한 (+++) 정도로 관찰되었다. 그러나, C12T1에서는 경미 (±)한 폐포벽의 비후가 인정되었고, C12T2 군에서는 폐포벽의 비후가 인정되지 않아, control 군 및 CPFX12 군에 비하여 현저히 감소되었다. 또한 CPFX60 군에서도 control 군에 비하여 경감되었으나 여전히 중등도 (++)로 관찰된 반면, C60T1 군에서는 경도 (±)로 관찰되었고, C60T2 군에서는 폐포 벽의 비후가 인정되지 않아 (-), control 군 및 CPFX60 군에 비하여 현저히 감소되었다 (Table 3, 4)

3. LSA (luminal surface of alveolar)의 변화

1) CPFX 12mg/kg 투여 시

Control 군에서의 LSA는 24.01 ± 6.53%로 관찰되어, 83.24 ± 8.79%로 관찰된 normal 군에 비하여 유의성 (p<0.01) 있는 LSA의 감소가 인정되었다. CPFX12 군에서는 40.22 ± 2.63%로 관찰되어 control 군에 비하여 유의성 (p<0.01) 있는 LSA의 증가가 인정되었다. C12T1과 C12T2 군에서는 각각 51.83 ± 9.79와 54.01 ± 5.04%로 관찰되어 control 군에 비하여 유의성 (p<0.01) 있는 LSA의 증가가 인정되었으며, C12T1 군에서는 CPFX12 군 비하여 유의성 (p<0.05) 있는 LSA의 증가와 C12T2 군에서는 CPFX12 군 비하여 유의성 (p<0.01) 있는 LSA의 증가가 인정되었다(Fig. 3).

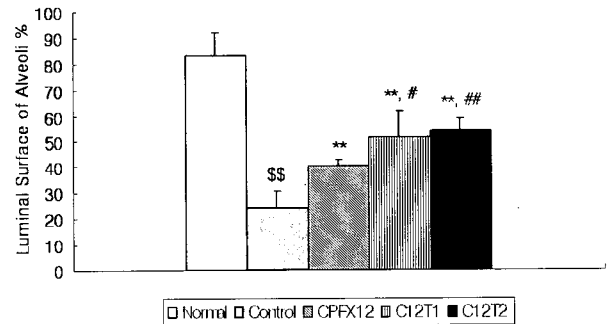


Fig. 3. Changes of LSA after CPFX 12mg/kg and their concomitant treatment with *Eunkyo-san* (Mean ± S. D., %) Group ID was listed in Table 2: \$\$ p<0.01 compared to that of Normal; ** p<0.01 compared to that of Control; # p<0.05 compared to that of CPFX12; ## p<0.01 compared to that of CPFX12

2) CPFX 60mg/kg 투여 시

Control 군에서의 LSA는 24.01 ± 6.53%로 관찰되어, 83.24 ± 8.79%로 관찰된 normal 군에 비하여 유의성 (p<0.01) 있는 LSA의 감소가 인정되었다. CPFX60 군에서는 52.32 ± 6.32%로 관찰되어 control 군에 비하여 유의성 (p<0.01) 있는 LSA의 증가가 인정되었다. C60T1과 C60T2 군에서는 각각 61.97 ± 5.66과 72.46 ± 9.00%로 관찰되어 control 군에 비하여 유의성 (p<0.01) 있는 LSA의 증가가 인정되었으며, C60T1 군에서는 CPFX60 군 비하여 유의성 (p<0.05) 있는 LSA의 증가와 C60T2 군에서는 CPFX60 군 비하여 유의성 (p<0.01) 있는 LSA의 증가가 인정되었다(Fig. 4).

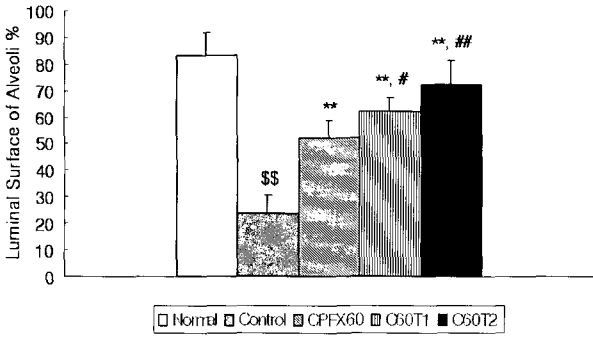


Fig. 4. Changes of LSA after CPF60 mg/kg and their concomitant treatment with Eunkyo-san (Mean ± S. D., %). Group ID was listed in Table 2; \$\$ p<0.01 compared to that of Normal; ** p<0.01 compared to that of Control; # p<0.05 compared to that of CPF60; ## p<0.01 compared to that of CPF60

고찰

*S. pneumoniae*는 여러 가지 호흡기 질환 특히 폐렴의 원인균으로 알려져 있고, 이외에도 Givner 등⁵⁾은 안면 봉와직염 (facial cellulites)의 원인균으로 보고하였으며, Gordon¹⁾은 *S. pneumoniae*가 비병원 유래의 폐렴환자에서 가장 흔히 발견되는 병원균이라고 하였고, 미국에서 호흡기 감염에 의한 사망의 가장 대표적인 원인균으로 알려져 있다²⁾. 또한 세균성 뇌막염³⁾과 중이염⁴⁾의 원인균으로 알려져 있으며, 최근에는 penicilline에 내성을 보이는 *S. pneumoniae*에 의한 폐렴의 유발이 급속히 확산되고 있는 실정이다⁶⁾. 폐렴은 종말세기관지의 원위부인 호흡세기관지, 폐포관, 폐포낭 및 폐포로 구성된 폐실질의 염증으로서 주로 발열, 기침 및 흉부방사선 소견상의 병변을 보이는 급성감염을 일컫으며 한의학에서는 “咳嗽”, “風溫”, “春溫”, “冬溫”의 범주에 속한다^{33,36)}.

銀翹散³³⁻³⁴⁾은 《溫病條辨³⁵⁾》에 기재된 처방으로 金銀花, 連翹, 苦桔梗, 薄荷, 牛蒡子, 淡豆豉, 生甘草, 淡竹葉 및 荊芥穗의 9종의 한약재로 구성되어 있으며, 肺炎의 辨證論治 中 病邪가 肺衛를 侵犯하였을 때 사용하는 처방³³⁾으로 오랫동안 호흡기계의 감염성 또는 염증성 질환에 응용되어져 왔으나 실험적 연구는 거의 없는 실정이다.

辛涼透表 清熱解毒의 效能으로 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 사용된다³³⁻³⁴⁾. 처방 구성 중 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 牛蒡子は 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 藥물이나 藥성이 비교적 平和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 된다³⁴⁾.

우리나라의 여건상 항생제 남용이 현재 가장 큰 문제점으로

부각되고 있으며, 이중 과량의 항생제 사용에 따른 내성균주의 출현이 가장 우려되고 있는 실정이다. 따라서 항생제의 오·남용을 방지하고 항생제의 효력을 높일 수 있는 방법의 개발이 시급한 실정이다. 한약 중 특히 감염성 질환이나, 항염제로 사용되어 온 한약은 생체 활성을 유발하거나 세균에 대한 저항성을 높여 어느 정도 유효한 효과를 나타낼 것으로 생각되며, 또 한약 중에 포함된 성분 중 직접적인 항균력을 나타내는 물질이 포함되어 있을 가능성이 매우 높으므로 이들 한약과 비교적 잘 알려진 Quinolone계 항생제의 병용시 상승작용으로 항생제 사용량을 경감시킬 수 있을 것으로 생각되어 본 연구를 실시하였다.

본 실험의 결과, 생균수의 변화에서 normal 군에서는 발견되지 않았으나 control 군에서는 $9.07 \pm 1.45 \log_{10}CFU$ 로 관찰되어 생균수의 증가가 인정되었다(Fig. 1, 2). 조직학적 변화에서 normal 군에서 비교적 잘 발달된 폐포와 기관 및 기관지 조직이 관찰되었고, 특히 기관, 기관지 주위의 염증세포 침윤과 폐포 벽의 비후와 같은 이상 소견이 인정되지 않았다 (Table 3, 4) 그러나 control 군에서는 심한 염증세포의 침윤이 기관 및 기관지 주위와 폐포 벽에서 관찰되었으며, 이로 인한 폐포 벽의 비후 및 폐포 내강의 위축소견이 인정되었고, 출혈 소견 역시 인정되었다 (Table 3, 4). LSA의 변화에서 normal 군의 $83.24 \pm 8.79\%$ 에 비하여 유의성 ($p<0.01$) 있는 $24.01 \pm 6.53\%$ 로 관찰되어 현저한 LSA의 감소가 인정되었다.(Fig. 3, 4). 이는 *S. pneumoniae*에 노출시킨 실험동물에서 생균수의 증가와 폐포 내강 면적의 감소, 폐내 염증세포의 침윤 증가와 폐포벽의 비후 및 출혈과 같은 전형적인 세균성 폐렴의 조직학적 소견이 인정되었음을 의미한다.

CPF60은 1980년대 말에 개발된 2세대 퀴놀론 항생제로 조직 침투성이 좋으며, 퀴놀론 항생제 중 가장 광범위한 항균력을 나타내는 것으로 알려져 있다. 이들 CPF60의 *in vivo* 항균력에 대해 Gillespie 등³⁷⁾은 *Mycobacterium fortuitum*에 감염 모델에서 CPF60 2 mg/kg의 농도에 의해 현저한 생균수의 감소가 초래된다고 하였으며, Berry 등³⁸⁾은 *S. pneumoniae*와 *Hemophilus influenzae*를 기관내로 감염시킨 호흡기 감염 모델에서 CPF60이 다른 항생제들과 유사하게 매우 효과적이라고 보고하였다. 또한 이러한 CPF60의 생체내 약효는 *S. pneumoniae*를 이용하여 실험적으로 패혈증을 유발시킨 마우스 모델³⁹⁾, *Escherichia coli*와 *S. pneumoniae*를 복강으로 주입하여 감염시킨 마우스 감염 모델⁴⁰⁾, 폐렴구균성 뇌막염을 유발시킨 토끼 모델⁴¹⁾, *Mycobacterium fortuitum*과 *M. chelonae*를 이용한 국소 감염 모델⁴²⁾, *Pseudomonas aeruginosa*를 이용한 근육감염 모델⁴³⁾ 및 *Klebsiella pneumoniae*를 이용한 국소 호흡기 감염 모델⁴⁴⁾ 등을 통해 매우 잘 밝혀져 있다.

본 실험의 결과, 이전의 보고들³⁷⁻⁴⁴⁾과 유사하게 호기성 그람 양성균인 *S. pneumoniae* ATCC 6303 균주의 호흡기 감염에 유효한 것으로 관찰되었다. 특히 銀翹散을 동시에 처리한 경우가 CPF60 12 및 60mg/kg을 단독 투여한 실험군 보다 더욱 현저한 생균수의 감소, 폐포 내강 면적의 증가, 폐내 염증세포의 침윤과 폐포벽의 비후 및 출혈이 용량의존성으로 완화되었다. 따라서 銀翹散은 CPF60의 항균력을 매우 증가시키는 것으로 생각되나, 그 정확한 기전은 알 수 없다. 따라서 이 방면으로의 연구가 더 수행

되어야 할 것으로 생각된다.

이상에서 銀翹散은 *S. pneumoniae*에 대한 CPFIX의 항균력을 증가시켜 이들의 사용량을 경감시킬 수 있을 것으로 기대되었다.

결 론

銀翹散이 퀴놀론계 항생제 중 CPFIX이 호흡기 감염의 *in vivo* 항균력에 미치는 併用效果를 평가하기 위하여 *S. pneumoniae* ATCC 6303을 이용한 국소 호흡기 감염 마우스 모델에서 생균수와 폐의 조직·병리학적 변화를 관찰하였던 결과, 다음과 같은 결과를 얻었다.

생균수는 銀翹散과 CPFIX과 병용 투여군에서 각각의 단독 투여군에 비하여 유의성 있게 감소되었다. 銀翹散과 CPFIX과 병용 투여군에서는 control 군에서 관찰된 심한 폐내 염증세포의 침윤, 출혈 및 폐포 벽의 비후 등의 현상이 각각의 단독 투여군에 비하여 더욱 감소되었다. LSA (luminal surface of alveoli %)는 銀翹散과 CPFIX과 병용 투여군에서는 각각의 단독 투여군에 비하여 유의성 있게 증가되었다.

참고문헌

- Gordon, R.C. Community-acquired pneumonia in adolescents. *Adolesc Med* 11(3):681-695, 2000.
- File, T.M. The epidemiology of respiratory tract infections. *Semin Respir Infect* 15(3):184-294, 2000.
- Roos, K.L. Acute bacterial meningitis. *Semin Neurol* 20(3): 293-306, 2000.
- Moreillon, P., Wengner, A., Caldelari, I. Pneumococcal antibiotic resistance. *Rev Med Suisse Romande* 120, 651-659, 2000.
- Givner, L.B., Mason, E.O. Jr, Barson, W.J., Tan, T.Q., Wald, E.R., Schutze, G.E., Kim, K.S., Bradley, J.S., Yogeve, R., Kaplan, S.L. Pneumococcal facial cellulitis in children. *Pediatrics* 106(5), E61, 2000.
- Cosentini, R., Blasi, F. New pathogens for respiratory infections. *Curr Opin Pulm Med* 2(3):174-180, 1996.
- Ball, P. Quinolone generations: natural history or natural selection? *J Antimicrob Chemother* 46, 17-24, 2000.
- Farker, K., Naber, K.G., Funfstuck, R. Fluoroquinolones: utilization in renal and urogenital tract infections. *Med Klin* 96, 383-390, 2001.
- Paladino, J.A. Is more than one quinolone needed in clinical practice? *Ann Pharmacother* 35(9):1085-1095, 2001.
- Rubinstein, E. History of quinolones and their side effects. *Chemotherapy* 47, 3-8, 2001.
- Ball, P. Future of the quinolones. *Semin Respir Infect* 16(3): 215-224, 2001.
- Fitzgibbon, J.E., Nahvi, M.D., Dubin, D.T., John, J.F. Jr. A sequence variant of *Staphylococcus hominis* with a high prevalence of oxacillin and fluoroquinolone resistance. *Res Microbiol* 152(9):805-810, 2001.
- Bachoual, R., Ouabdesselam, S., Mory, F., Lascols, C., Soussy, C.J., Tankovic, J. Single or double mutational alterations of *gyrA* associated with fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Microb Drug Resist* 7(3):257-261, 2001.
- 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* 7(6):996-1003, 2001.
- Janoir, C., Varon, E., Kitzis, M.D., Gutmann, L. New mutation in *parE* in a pneumococcal *in vitro* mutant resistant to fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother* 45(3):952-955, 2001.
- Ruiz, J., Sierra, J.M., De Anta, M.T., Vila, J. Characterization of sparfloxacin-resistant mutants of *Staphylococcus aureus* obtained *in vitro*. *Int J Antimicrob Agents* 18(2):107-112, 2001.
- Appelbaum, P.C., Hunter, P.A. The fluoroquinolone antibacterials : past, present and future perspectives. *Int J Antimicrob Agents* 16(1):5-15, 2000.
- Bergan, T. Extravascular penetration of ciprofloxacin. A review *Diagn Microbiol Infect Dis* 13, 103-114, 1990.
- Joyanes, P., Pascual, A., Gimenez, M.J., 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* 47(6):409-414, 2001.
- Weller, T.M., Andrews, J.M., Jevons, G., Wise, R. The *in vitro* activity of BM-284756, a new des-fluorinated quinolone. *J Antimicrob Chemother* 49(1):177-184, 2002.
- Stahlmann, R., Lode, H. Toxicity of quinolones. *Drugs* 58, 37-42, 1999.
- Cunha, B.A. Antibiotic resistance. *Med Clin North Am* 84(6):1407-1429, 2000.
- McGee, L, Goldsmith, C.E., Klugman, K.P. Fluoroquinolone resistance among clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* belonging to international multiresistant clones. *J Antimicrob Chemother.* 49(1):173-176, 2002.
- Lopez, A., Hudson, J.B., Towers, G.H. Antiviral and antimicrobial activities of Colombian medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 77(2):189-196, 2001.
- Elgayyar, M., Draughon, F.A., Golden, D.A., Mount, J.R. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *J Food Prot* 64(7):1019-1024, 2001.
- Ho, K.Y., Tsai, C.C., Chen, C.P., Huang, J.S., Lin, C.C.

- Antimicrobial activity of honokiol and magnolol isolated from *Magnolia officinalis*. *Phytother Res* 15(2):139-141, 2001.
27. Ojala, T., Remes, S., Haansuu, P., Vuorela, H., Hiltunen, R., Haahtela, K., Vuorela, P. Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. *J Ethnopharmacol* 73(1-2):299-305, 2000.
 28. Satoh, K., Sakagami, H., Ida, Y., Komatsu, N., Fujimaki, M., Nakashima, H., Kanbara, K., Gupta, M., Sarma, D.N., Mitra, S.K. Antimicrobial and radical modulation activity of AV-07, a poly-herbal formula. *In Vivo* 14(2):351-355, 2000.
 29. Mahasneh, A.M., El-Oqlah, A.A. Antimicrobial activity of extracts of herbal plants used in the traditional medicine of Jordan. *J Ethnopharmacol* 64(3):271-276, 1999.
 30. Desta, B. Ethiopian traditional herbal drugs. Part II: Antimicrobial activity of 63 medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 39(2):129-139, 1993.
 31. Van Puyvelde, L., Geiser, I., Rwangabo, P.C., Sebikali, B. Rwandese herbal remedies used against gonorrhoea. *J Ethnopharmacol* 8(3):279-286, 1983.
 32. Kim, C.M., Heo, M.Y., Kim, H.P., Shin, K.S., Pachaly P. Pharmacological activities of water extracts of Umbelliferae plants. *Arch Pharm Res* 14, 87-92, 1991.
 33. 全國韓醫科大學肺系內科學教室編著. 東醫肺系內科學. p.85, 98, 140, 263, 282, 311, 한문화사, 서울, 2002.
 34. 김상찬, 김선희외 9명. 방제학. 영림사, 서울, p 83-84, 1999.
 35. 楊進 編. 溫病條辨. 中國醫藥科技出版社, 北京, 1996.
 36. 韓鏞徹. 임상호흡기학. 一潮閣, 서울, p 139, 146, 47-81, 1997.
 37. Gillespie, S.H., Morrissey, I., Everett, D. A comparison of the bactericidal activity of quinolone antibiotics in a *Mycobacterium fortuitum* model. *J Med Microbiol* 50(6): 565-570, 2001.
 38. Berry, V., Page, R., Satterfield, J., Singley, C., Straub, R., Woodnutt, G. Comparative in vivo activity of gemifloxacin in a rat model of respiratory tract infection. *J Antimicrob Chemother* 45, 79-85, 2000.
 39. Onyeji, C.O., Bui, K.Q., Owens, R.C. Jr, Nicolau, D.P., Quintiliani, R., Nightingale, C.H. Comparative efficacies of levofloxacin and ciprofloxacin against *Streptococcus pneumoniae* in a mouse model of experimental septicaemia. *Int J Antimicrob Agents* 12(2):107-114, 1999.
 40. Martinez, F.F., Carabias, M.L., Izquierdo, J.I., Centelles, M.L., Prieto, J.P. Comparison of the in vitro and in vivo effects of meropenem and ciprofloxacin on the morphology of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Rev Esp Quimioter* 11(3):238-244, 1998.
 41. Nau, R., Schmidt, T., Kaye, K., Froula, J.L., Tauber, M.G. Quinolone antibiotics in therapy of experimental pneumococcal meningitis in rabbits. *Antimicrob Agents Chemother* 39(3):593-597, 1995.
 42. Lin, R., Holland, G.N., Helm, C.J., Elias, S.J., Berlin, O.G., Bruckner, D.A. Comparative efficacy of topical ciprofloxacin for treating *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium chelonae* keratitis in an animal model. *Am J Ophthalmol* 117(5):657-662, 1994.
 43. Mattie, H., Hoogeterp, J.J., Terporten, P. The activity of ciprofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* in normal and granulocytopenic mice. *Pharm Weekbl Sci* 11, S26-529, 1987.
 44. Roosendaal, R., Bakker-Woundenberg, I.A., van den Berghe-van Raffe M, Vink-van den Berg, J.C., Michel, M.F. Comparative activities of ciprofloxacin and ceftazidime against *Klebsiella pneumoniae* in vitro and in experimental pneumonia in leukopenic rats. *Antimicrob Agents Chemother* 31(11):1809-1815, 1987.