

# 銀翹散과 Rofloxacin의 併用投與가 *Klebsiella pneumoniae* 呼吸器感染에 미치는 영향

하연귀 · 송광규\* · 박미연 · 최해윤 · 김종대

대구한의대 한의학과 폐계내과학교실

## Effects of in vivo Synergism of *Eunkyo-san*, a Poly-Herbal Formula and Rofloxacin against *Klebsiella pneumoniae* Respiratory Infections

Yen Guey Ho, Kwang Kyu Song\*, Mee Yeon Park, 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* with quinolone antibiotics, rufloxacin (RUFX), the viable bacterial numbers and histopathological changes were monitored after experimental respiratory infection with *Klebsiella pneumoniae* NCTC 9632. The obtained results were as follows : In RUFX group, the viable bacterial numbers were significantly decreased compared to those of control group and these were more dramatically decreased compared to those of single treatment with RUFX, 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 those of control group in RUFX group, and these were more dramatically decreased compared to those of single treatment with RUFX, respectively in concomitant treated groups with *Eunkyo-san*. In RUFX group, the LSA% (luminal surface of alveolar%) were significantly increased compared to those of control group and these were more dramatically decreased compared to those of single treatment with RUFX, respectively in concomitant treated groups with *Eunkyo-san*. According to these results, it is considered that *in vivo* antibacterial activity of RUFX group was dramatically increased by concomitant use of *Eunkyo-san* against *K. pneumoniae* NCTC 9632 infection of respiratory tract.

Key words : Rofloxacin(RUFX), *Mawhangyounpye-tang*, *Klebsiella pneumoniae*, Respiratory infection

### 서 론

환자들이 경험하는 질환 중에서 가장 발생빈도가 높은 질환이 호흡기질환이며, 그 중에서도 호흡기감염이 대다수를 차지한다<sup>1)</sup>. 호흡기감염 중에서 폐렴은 미국에서는 6번째의 사망원인을 차지하며<sup>2)</sup> 특히 개발도상국에서는 입원을 요하는 가장 흔한 원인이 되고 전세계적으로 5세이하에서 연간 500만명이나 사망하는 질환으로<sup>3,4)</sup> 지난 수십년간에 걸쳐 진단방법의 개선 및 새로운 항생제의 개발에도 불구하고 감염병 질환 중 사망률도 높은

것으로 되어 있다<sup>1)</sup>.

흔한 폐렴의 원인으로는 *Streptococcus pneumoniae*가 가장 흔하지만 그람 음성 간균의 대표적 균주인 *Klebsiella pneumoniae*(이하 *K. pneumoniae*)는 지역사회 획득 폐렴의 경우에는 2% 미만을 차지하나 대부분이 원내 감염의 원인이 되며 때로는 치명적일 수도 있다<sup>4)</sup>. 그람 음성 간균에 의한 폐렴은 건강한 성인에서는 드물고 보통 소아나 고령층, 알콜리즘 환자, 쇠약해진 상태나 면역저하 상태에서 잘 발생하며, 특히 백혈구 감소증 환자에서 잘 발생한다<sup>4,6)</sup>.

현재 quinolone계 항생제는 종류에 따라 다양한 항균력을 나타내므로 요로 감염증과 호흡기 감염증을 포함한 거의 모든 감염증에 적용될 수 있다고 알려져 있으며, 실제 임상에서도 매

\* 교신저자 : 송광규, 대구시 수성구 상동 165 대구한의대부속 대구한방병원

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

· 접수 : 2005/03/29 · 수정 : 2005/04/30 · 채택 : 2005/06/02

우 광범위하게 적용되어져 왔다<sup>7-9)</sup>. 하지만 이러한 quinolone계 항생제는 용량 의존적으로 소화기 장애 및 간독성, 심장독성, 신장독성과 같은 부작용을 초래하여 사용량을 극히 제한을 받고 있으며 이러한 독성을 완화시키기 위한 노력이 현재에도 계속 진행 중이며, 이 중 비교적 독성이 적은 신약의 개발과 또 다른 보조 약물을 동시에 사용하여 상승작용에 의한 사용 용량의 감소를 위한 노력이 진행되고 있으나 새로운 기전의 항생제 개발보다는 다른 약물과의 병용효과를 기대할 수 있도록 quinolone계 항생제의 사용량을 줄이는 방향으로 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

폐렴에 대한 치료에 있어서 서양의학은 대부분 항생제에 의존하지만 일반적으로 소아, 노령층 및 면역력이 저하된 상태에서 빈발하는 폐렴의 경우에 있어서는 항생제의 오·남용과 과량의 항생제 사용에 따른 심각한 부작용을 고려하지 않을 수가 없다. 銀翹散은 《溫病條辨<sup>10)</sup>》에 최초로 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 폐렴의 辨證施治에서 病邪가 肺衛를 침범했을 때 發熱惡寒, 頭痛胸悶, 無汗或少汗 咳嗽氣喘, 口微渴, 舌質紅, 苔白薄, 脈浮數<sup>11)</sup>의 경우에 응용하는 처방으로 오랫동안 호흡기계 감염성 또는 염증성 질환에 응용되어져 왔다.

이러한 항생제의 부작용을 줄이기 위한 노력으로, 한약과의 병용 투여는 항균력을 높여, 항생제의 사용량을 경감시킬 수 있을 것이라는 기대에 따라 안<sup>11)</sup>, 이<sup>12)</sup>, 서<sup>13)</sup> 등의 *S. pneumoniae*와 *K. pneumoniae* 호흡기감염에 麻黃潤肺湯과 銀翹散과의 병용효과에 대한 최근 많은 연구가 진행되고 있으며 銀翹散과 *K. pneumoniae*에 대한 항생제의 병용투여로 나타나는 동물적 실험에 대한 연구는 없었기에 이에 저자는 銀翹散과 대표적 quinolone계 항생제 중 rifloxacin (이하 RUFX)과의 병용효과를 *K. pneumoniae* NCTC 9632 균주를 이용한 호흡기 감염 mouse 모델을 통해 관찰하고자 하였다.

## 실 험

### 1. 재료

#### 1) 약재

銀翹散 처방의 각각 약물은 (주)한국신약 (Daejon, Korea)에서 구입하여 사용하였으며, 1첩 분량의 조성은 아래와 같다 (Table 1).

Table 1. The Amount and Composition of Eunkyo-san

藥物名	生藥名	用量 (g)
金銀花	<i>Lonicerae Flos</i>	40
連翹	<i>Forsythiae Fructus</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>Glycyrrhizae Radix</i>	20
淡竹葉	<i>Lophatheri Herba</i>	16
荊芥穗	<i>Schizonepetae Herba</i>	16
Total	9 types	224

### 2) 실험균주

미국 ATCC 보관 균주인 *Klebsiella pneumoniae* NCTC 9632를 사용하였다.

### 3) 실험동물

성숙한 수컷 ICR mouse (Charles River, Japan)를 사료 (삼양사, 서울)와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경에 1주일간 적응시킨 후, cyclophosphamide 100mg/kg (Sigma, USA)를 호흡기 감염 유발 4일전과 1일 전에 각각 복강내로 투여하여 면역력을 억제시켰다.

## 2. 방법

### 1) 실험군의 구분

정상군 (sham), 호흡기감염을 유발시킨 대조군 (control)과 대조약물로 RUFX (Merk, Darmstadt, Germany)을 사용하였으며 호흡기감염을 유발한 후 대조약물을 각각 6 및 30mg/kg (2개군)을 투여한 군, 호흡기감염을 유발한 다음 대조약물을 6 및 30mg/kg 투여한 다음 한약을 각각 50 및 100mg/kg (4개군)을 투여한 군의 총 8개 군으로 구분하였으며, 그룹별 특징은 Table 2에 기록하였다 (Table 2).

Table 2. Experimental Grouping *in vivo* Test Used in This Study

Group ID	Used quinolones		Dose of herbal drug*
	Type	Dose	
Sham	None	None	None
Control	None	None	None
RUFX6	Rufloxacin	6mg/kg	None
R6T1	Rufloxacin	6mg/kg	50mg/kg
R6T2	Rufloxacin	6mg/kg	100mg/kg
RUFX30	Rufloxacin	30mg/kg	None
R30T1	Rufloxacin	30mg/kg	50mg/kg
R30T2	Rufloxacin	30mg/kg	100mg/kg

\* Eunkyo-san extracts were used in this study. Sham: Non treated normal group, Control: Non treated after exposure to *K. pneumoniae* NCTC 9632 RUFX6: 6mg/kg of RUFX was treated after exposure to *K. pneumoniae* NCTC 9632 R6T1: 6mg/kg of RUFX and 50mg/kg Eunkyo-san was treated after exposure to *K. pneumoniae* NCTC 9632 R6T2: 6mg/kg of RUFX and 100mg/kg Eunkyo-san was treated after exposure to *K. pneumoniae* NCTC 9632 RUFX30: 30mg/kg of RUFX was treated after exposure to *K. pneumoniae* NCTC 9632 R30T1: 30mg/kg of RUFX and 50mg/kg Eunkyo-san was treated after exposure to *K. pneumoniae* NCTC 9632 R30T2: 30mg/kg of RUFX and 100mg/kg Eunkyo-san was treated after exposure to *K. pneumoniae* NCTC 9632

### 2) 검역조제

銀翹散 1첩 분량 224g에 정제수 2,000ml로 가열 추출한 후 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer를 사용하여 동결 건조시켜 1첩 당 3.50g (수율 1.56%)의 추출물을 본 실험에 사용하였다.

### 3) 검역투여

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

리식염수를 동일한 방법으로 투여하였다.

4) 호흡기감염의 유발

*K. pneumoniae* NCTC 9632를 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 4시간 동안 배양하여, 증식이 잘된 세균 혼탁액 (bacteria suspension)을 준비하였다. 실험 동물은 ketamine 용액 (ketamine : xylazine = 60 : 2.5mg/kg)으로 마취한 후 준비한 세균 부유액 35µl를 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  $1.8 \times 10^5$ /mouse이었다.

5) 폐내 생균수 측정

감염 42시간 후에 모든 실험동물의 폐를 적출하여 좌, 우측엽을 구별한 다음 좌측엽을 일정량의 멸균된 생리식염수 (distilled saline)를 이용하여 균질화한 다음 10배 희석하여 한천배지 (nutrient agar; Difco, Detroit, USA)에서 37°C 조건 하에 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 LSA% (luminal surface of alveolar%)를 자동 조직분석장치 (analysis image processing; soft image system, Germany)를 이용하여 산출하였다.

7) 통계처리

생균 수는 log<sub>10</sub>CFU (colony forming unit)로 계산한 다음 실험동물 수에 따른 평균 ± 표준편차로 계산하였다. 銀翹散을 가한 군과 銀翹散을 첨가하지 않은 대조군을 평가하기 위하여, 각각의 비침가군과 비교하여, Mann-Whitney Wilcoxon's test로 유의성을 검증하였으며, p value가 0.05이하일 때 유의성을 인정하였다. 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) RUFX 6mg/kg 투여 시

Control 군에서의 생균수는  $12.48 \pm 3.71$  log<sub>10</sub>CFU로 관찰되어 전혀 관찰되지 않은 sham 군에 비해 현저히 생균수가 증가되

었다. RUFX6 군에서는  $8.03 \pm 1.60$  log<sub>10</sub>CFU로 관찰되어 control 군에 비해 유의성 (p<0.05) 있게 생균수가 감소되었다. R6T1과 R6T2 군에서는 각각  $5.43 \pm 1.84$ 와  $4.85 \pm 1.12$  log<sub>10</sub>CFU로 관찰되어 RUFX6 군 및 control 군에 비해 유의성 (p<0.01 또는 p<0.05) 있게 생균수가 감소되었다(Fig. 1).

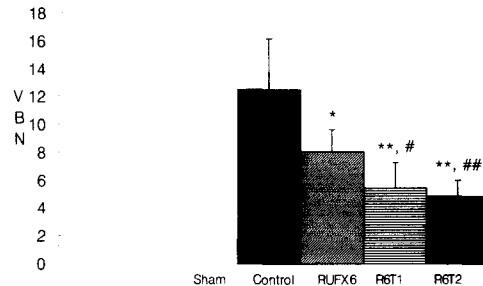


Fig. 1. Changes of VBN (viable bacterial numbers) after RUFX 6mg/kg and their concomitant treatment with *Eunkyo-san*. (Mean ± S. D., log<sub>10</sub>CFU) Group ID was listed in Table 2 \* p<0.05 compared to that of control, \*\* p<0.01 compared to that of control # p<0.05 compared to that of RUFX6, ## p<0.01 compared to that of RUFX6

2) RUFX 30mg/kg 투여 시

Control 군에서의 생균수는  $12.48 \pm 3.71$  log<sub>10</sub>CFU로 관찰되어 전혀 관찰되지 않은 sham 군에 비해 현저히 생균수가 증가되었다. RUFX30 군에서는  $6.69 \pm 1.25$  log<sub>10</sub>CFU로 관찰되어 control 군에 비해 유의성 (p<0.01) 있게 생균수가 감소되었다. R30T1과 R30T2 군에서는 각각  $4.28 \pm 0.70$ 과  $3.49 \pm 1.05$  log<sub>10</sub>CFU로 관찰되어 RUFX30 군 및 control 군에 비해 유의성 (p<0.01) 있게 생균수가 감소되었다(Fig. 2).

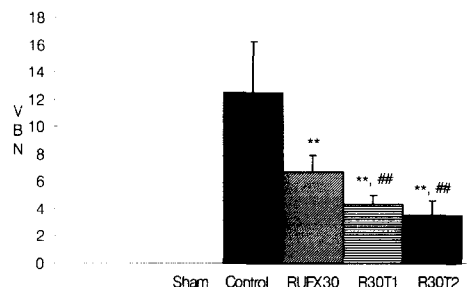


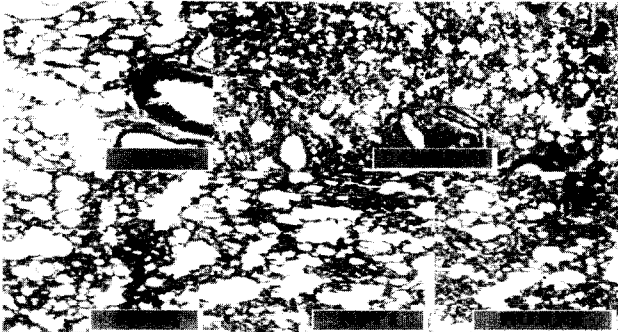
Fig. 2. Changes of VBN (viable bacterial numbers) after RUFX 30mg/kg and their concomitant treatment with *Eunkyo-san*. (Mean ± S. D., log<sub>10</sub>CFU) Group ID was listed in Table 2 \*\* p<0.01 compared to that of control ## p<0.01 compared to that of RUFX30

2. 폐의 조직학적 변화

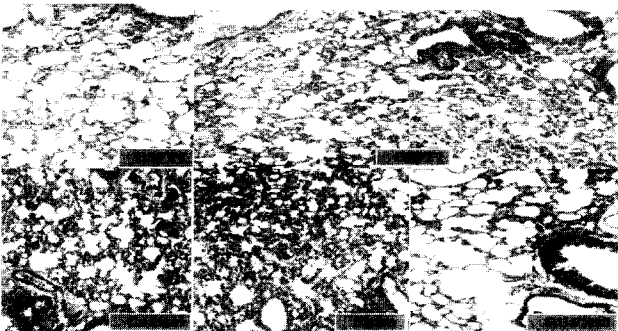
1) 염증세포의 침윤

Sham 군에서는 염증세포의 침윤이 거의 관찰되지 않은 (±) 반면 control 군에서는 매우 심한 (++++) 염증세포의 침윤이 기관과 기관지 주위 및 폐포 벽에서 관찰되었다. 이러한 염증세포의 침윤 소견은 RUFX6 군에서는 control 군에 비해 경감되었으나 여전히 매우 심한 (++++) 정도로 관찰되었다. 그러나, R6T1과 R6T2 군에서는 각각 경도 (+)와 경미 (±)하게 관찰되어 control 군 및 RUFX6 군에 비해 현저히 감소되었다. RUFX30 군에서도

control 군에 비해 경감되었으나 여전히 심한 (+++) 정도로 관찰된 반면, R30T1과 R30T2 군에서는 각각 경미 (±)하게 관찰되어 control 군 및 RUFX30 군에 비해 현저히 감소되었다(Table 3, Fig. 3, 4).



**Fig. 3. Histological profiles of lungs after RUFX 6mg/kg and their concomitant treatment with Eunkyo-san exposure to *K. pneumoniae* NCTC 9632.** Sham: Non treated normal group Control: Non treated after exposure to *K. pneumoniae* NCTC 9632 RUFX6: 6mg/kg of RUFX was treated after exposure to *K. pneumoniae* NCTC 9632 R6T1: 6mg/kg of RUFX and 50mg/kg Eunkyo-san was treated after exposure to *K. pneumoniae* NCTC 9632 R6T2: 6mg/kg of RUFX and 100mg/kg Eunkyo-san was treated after exposure to *K. pneumoniae* NCTC 9632 All hematoxylin-eosin stain × 60



**Fig. 4. Histological profiles of lungs after RUFX 30mg/kg and their concomitant treatment with Eunkyo-san exposure to *K. pneumoniae* NCTC 9632.** Sham: Non treated normal group Control: Non treated after exposure to *K. pneumoniae* NCTC 9632 RUFX30: 30mg/kg of RUFX was treated after exposure to *K. pneumoniae* NCTC 9632 R30T1: 30mg/kg of RUFX and 50mg/kg Eunkyo-san was treated after exposure to *K. pneumoniae* NCTC 9632 R30T2: 30mg/kg of RUFX and 100mg/kg Eunkyo-san was treated after exposure to *K. pneumoniae* NCTC 9632 All hematoxylin-eosin stain × 60

**Table 3. Changes of Abnormal Histological Index after RUFX 6mg/kg and Their Concomitant Treatment with Eunkyo-san**

Group ID	Abnormal histological changes		
	Infiltration of inflammatory cells	Hemorrhage	Hypertrophy of alveolar lining
Sham	±	-	-
Control	++++	++++	++++
RUFX6	++++	+++	+++
R6T1	+	++	+
R6T2	±	+	±
RUFX30	+++	++	++
R30T1	±	++	±
R30T2	±	+	-

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

2) 출혈소견

Sham 군에서는 폐 전반에 걸쳐 출혈소견이 인정되지 않은 (-) 반면 control 군에서는 매우 심한 (++++) 출혈이 폐 전반에 걸쳐 인정되었다. 이러한 출혈 소견은 RUFX6 군에서는 control 군에 비해 경감되었으나 여전히 심한 (+++) 관찰되었다. 그러나, R6T1과 R6T2 군에서는 각각 중등도 (++)와 경도 (+)로 관찰되어 control 군 및 RUFX6 군에 비해 현저히 감소되었다. RUFX30 군에서도 control 군에 비해 경감되었으나 여전히 중등도 (++)로 관찰된 반면, R30T1과 R30T2 군에서는 각각 중등도 (++)와 경도 (+)로 관찰되어 control 군 및 RUFX30 군에 비해 다소 감소되었다(Table 3, Fig. 3, 4).

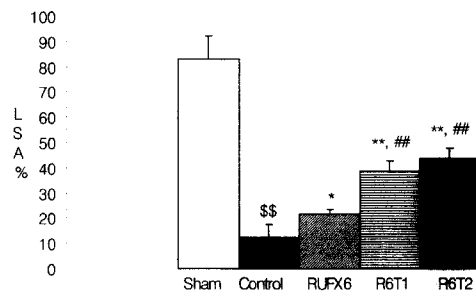
3) 폐포 벽의 비후

Sham 군에서는 폐 전반에 걸쳐 폐포 벽의 이상 비후 소견이 인정되지 않은 (-) 반면 control 군에서는 매우 심한 (++++) 폐포 벽의 비후가 폐 전반, 특히 기관, 기관자 주위 폐포에서 인정되었다. 이러한 폐포 벽의 비후 소견은 RUFX6 군에서는 control 군에 비해 경감되었으나 여전히 심한 (+++) 정도로 관찰되었다. 그러나, R6T1과 R6T2 군에서는 각각 경도 (+)와 경미 (±)하게 관찰되어 control 군 및 RUFX6 군에 비해 현저히 감소되었다. RUFX30 군에서도 control 군에 비해 경감되었으나 여전히 중등도 (++)로 관찰된 반면, R30T1에서는 경미 (±)하게 관찰되었고, R30T2 군에서는 비후소견이 인정되지 않아 (-), control 군 및 RUFX30 군에 비해 현저히 감소되었다. (Table 3, Fig. 3, 4)

3. LSA% (Luminal Surface of Alveolar%)의 변화

1) RUFX 6mg/kg 투여 시

Control 군에서의 LSA%는 12.31 ± 5.17%로 관찰되어, 83.24 ± 8.79%로 관찰된 sham 군에 비해 유의성 (p<0.01) 있게 감소되었다. RUFX6 군에서는 21.67 ± 1.90%로 관찰되어 control 군에 비해 유의성 있게 (p<0.05) 증가되었다. R6T1과 R6T2군에서는 각각 38.42 ± 4.37%와 43.80 ± 3.95%로 관찰되어 RUFX6 군 및 control 군에 비해 유의성 (p<0.01) 있게 LSA%가 증가되었다 (Fig. 5).



**Fig. 5. Changes of LSA% (luminal surface of alveolar%) after RUFX 6mg/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 sham, \*\* p<0.01 compared to that of control \* p<0.05 compared to that of control ## p<0.01 compared to that of RUFX6

2) RUFX 30mg/kg 투여 시

Control 군에서의 LSA%는 12.31 ± 5.17%로 관찰되어, 83.24

± 8.79%로 관찰된 sham 군에 비해 유의성 (p<0.01) 있게 감소되었다. RUFX30 군에서는 33.83 ± 4.58%로 관찰되어 control 군에 비해 유의성 (p<0.01) 있게 LSA%가 증가되었다. R30T1과 R30T2 군에서는 각각 46.44 ± 1.62와 52.71 ± 6.93%로 관찰되어 RUFX30 군 및 control 군에 비해 유의성 (p<0.01) 있게 LSA%가 증가되었다(Fig. 6).

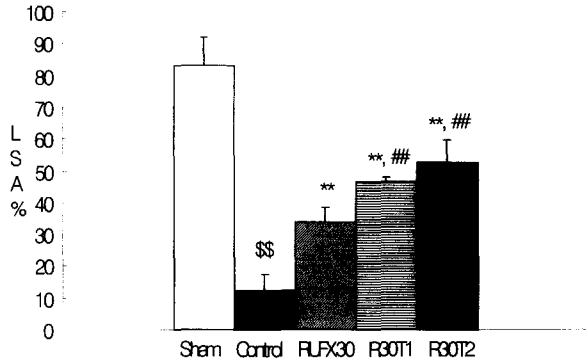


Fig. 6. Changes of LSA% (luminal surface of alveolar%) after RUFX 30mg/kg and their concomitant treatment with Eunkyo-san. (Mean ± S.D., %) Group ID was listed in Table 2 \$\$ p<0.01 compared to that of sham \*\* p<0.01 compared to that of control ## p<0.01 compared to that of RUFX30

## 고찰

폐렴은 환자관리가 개선되고 여러 항생제 및 백신의 개발에도 불구하고 여전히 흔한 호흡기 질환으로서, 감염성 질환으로 인한 사람의 첫 번째 원인이 된다<sup>14</sup>. 또한 과거에 비해 내성균의 수가 증가하고, 새로운 병원균의 발견과 감수성 집단의 변화 등으로 인해 새로운 관심을 가지게 되었다<sup>15</sup>. 폐렴은 중말세기관지의 원위부인 호흡세기관지, 폐포관, 폐포낭 및 폐포로 구성된 폐 실질의 염증으로서 주로 발열, 기침 및 흉부 방사선 소견상 병변을 보이는 급성감염을 일컫으며 한의학에서는 “咳嗽”, “風溫”, “春溫”, “冬溫”의 범주에 속한다<sup>1,16</sup>.

K. pneumoniae는 여러 가지 호흡기 질환 중 특히 폐렴의 원인균으로 알려져 있고<sup>17</sup>, 이외에도 眼炎의 원인균으로 보고되기도 하였으며<sup>18</sup>, Lukas는 K. pneumoniae가 자발성 세균성 복막염과 급성 偽性 장폐쇄 증후군의 가장 흔한 원인 균이라고 하였고<sup>14</sup>, Akindele와 Rotilu는 신생아 패혈증을 일으키기도 한다고 하였다<sup>19</sup>. Carpenter는 폐렴을 일으키는 그람음성균 중 K. pneumoniae가 가장 흔한 원인균이라고 지적하였다<sup>20</sup>. 또한 Jarvis 등은 병원성 폐렴의 가장 흔한 원인균이라고 보고하였으며<sup>21</sup>, Carden과 Gibb은 폐렴과 함께 폐농양을 일으키는 원인균이라고 하였다<sup>22</sup>. 비교적 근래에는 여러 가지 항생제에 내성을 보이는 K. pneumoniae 감염증 치료에 ciprofloxacin (이하 CPFX) 등의 quinolone계 항생제를 사용해 왔으나<sup>23</sup>, 최근에는 CPFX에 내성을 보이는 K. pneumoniae가 급증하고 있으며<sup>24-25</sup>, 특히 quinolone계 항생제에 내성을 보이는 K. pneumoniae에 의한 폐렴의 유발이 급속히 확산되고 있는 실정이다<sup>26</sup>.

이처럼 여러 감염 치료에서와 마찬가지로, 우리나라의 여건

상 항생제 과·남용에 따른 부작용에 대한 대처와 항생제의 효력을 높일 수 있는 방법의 개발이 시급한 실정이다. 따라서 감염성 질환이나, 항염제에 응용되어온 한약은 생체 활성을 유발하거나 세균에 대한 저항성을 높여 어느 정도 유효한 효과를 나타낼 것으로 생각되며, 또 한약 성분 중에 포함된 어떤 성분은 직접적인 항균력을 나타내는 물질이 포함되어 있을 가능성이 매우 높으므로 이들 한약과 비교적 잘 알려진 quinolone계 항생제의 병용시 항생제의 항균력을 높여, 사용되는 항생제의 양을 경감시킬 수 있을 것으로 생각되어 본 연구를 실시하게 되었다.

銀翹散은 《溫病條辨<sup>10</sup>》에 최초로 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 폐렴의 辨證施治에서 病邪가 肺衛를 침범했을 때 發熱惡寒, 頭痛胸悶, 無汗或少汗 咳嗽氣喘, 口微渴, 舌質紅, 苔白薄, 脈浮數<sup>11</sup>의 경우에 사용하는 처방으로 오랫동안 호흡기계 감염성 또는 염증성 질환에 응용되어져 왔으며 안<sup>11</sup>, 이<sup>12</sup> 등의 麻黃潤肺湯과 銀翹散의 Streptococcus pneumoniae에 대한 연구<sup>22</sup>에서 이미 그 병용효과에 대한 유의성이 인정되었고 원내 감염에서 치명적인 원인균으로 대두되는 K. pneumoniae에 대한 병용효과에 대해서도 서<sup>13</sup> 등은 麻黃潤肺湯과의 병용투여에서 유의성 있는 효과를 나타내었다.

銀翹散은 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 사용된다<sup>1,27</sup>. 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 약물이거나 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 된다<sup>27</sup>.

Rifaxacin (이하 RUFX)은 비교적 근래인 1980년대 말에 개발된 합성 fluoroquinolone으로 대부분의 장내세균주와 Staphylococcus에 탁월한 효과를 보이나, Pseudomonas aeruginosa에는 별 다른 효과를 나타내지 않는 것으로 알려져 있다. 그러나 최소발육저지농도 (MIC; minimal inhibitory concentration)는 다른 quinolone, 특히 2세대 quinolone인 CPFX에 비해 뛰어나지 않지만 체내 축적이 없고, 생체내 반감기가 길고, 생체 이용률이 높아 현재 가장 많이 선택되는 quinolone계 항생제 중의 하나이다<sup>28-30</sup>. 또한 RUFX의 독성에 대한 보고는 극히 드물지만, 다른 quinolone계 항생제에 비해 현저한 세포독성을 나타내고<sup>31</sup>, 또 내성균의 출현<sup>32</sup> 역시 우려 되므로 사용량의 조절이 필요할 것으로 생각된다.

본 실험의 결과 K. pneumoniae에 노출시킨 실험동물에서는 세균수의 증가와 폐포 내강 면적의 감소, 폐내 염증세포의 침윤 증가와 폐포벽의 비후 및 출혈과 같은 전형적인 세균성 폐렴의

조직학적 소견이 인정되었다.

RUFX의 *in vivo* 항균력에 대해 Edlund와 Nord<sup>33)</sup>는 RUFX은 그람음성균 중 특히 호기성균에 대해 강력한 항균력을 나타내며, 호기성 그람양성균에 대해서는 비교적 약한 항균력을 나타낸다고 하였으며, Marchese 등<sup>34)</sup>은 RUFX의 투여에 의해 *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* 및 *Streptococcus pyogenes*는 약 50%의 증식억제 효과가 있고, *Hemophilus influenzae*에 대해서는 100%의 증식억제 효과가 있다고 보고하였다. 또한 Gismondo 등<sup>35)</sup>은 RUFX 투여에 의해 호기성 균의 수적 감소는 관찰되지 않으나, *Enterobacteriaceae*, *Enterococci*, *Staphylococci* 등의 세균이 현저히 감소된다고 보고하였고, Cuffini 등<sup>36)</sup>은 *Candida albicans*를 감염시킨 마우스에서 RUFX 투여에 의해 생존률이 증가된다고 보고하였다. 따라서 RUFX은 동물체내에서 충분한 항균력을 발휘하는 것으로 알려져 있다. 본 실험의 결과, 이전의 보고들<sup>33-36)</sup>과 유사하게 호기성 그람음성균 *K. pneumoniae* NCTC 9632 균주의 호흡기 감염에 유효한 것으로 관찰되었다. 또한 銀翹散을 동시에 처리한 경우, RUFX 6 및 30mg/kg을 단독 투여한 실험군보다 더욱 현저한 생균수의 감소, 폐포 내강 면적의 증가, 폐내 염증세포의 침윤과 폐포벽의 비후 및 출혈이 용량의존성으로 완화되었으며 서 등<sup>19)</sup>의 기존연구 麻黃潤肺湯과 RUFX과의 병용효과에서 보다 銀翹散과의 병용투여에서 더 나은 효과를 나타내었다.

따라서 銀翹散은 RUFX의 항균력을 매우 증가시키는 것으로 생각되나, 그 정확한 기전은 알 수 없다. 따라서 이 방면으로의 연구가 더 수행되어야 할 것으로 생각된다.

## 결 론

銀翹散이 quinolone계 항생제 중 RUFX의 호흡기 감염 *in vivo* 항균력에 미치는 병용효과를 평가하기 위하여 *K. pneumoniae* NCTC 9632 균주를 이용한 국소 호흡기감염 mouse 모델에서 생균수와 폐의 조직·병리학적 변화를 관찰하였던 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다. 생균수는 RUFX 단독 투여군에서 control 군에 비해 유의성 있게 감소되었으며, 銀翹散과 RUFX 병용 투여군에서는 각각의 단독 투여군에 비해 유의성 있게 감소되었다. 폐내 염증세포의 침윤, 출혈 및 폐포 벽의 비후상태가 control 군에서는 조직학적으로 현저한 상태로 관찰되었으나, RUFX 단독 투여군에서는 control 군에 비해 현저하게 감소되었으며, 銀翹散과 RUFX 병용 투여군에서는 각각의 단독 투여군에 비해 더욱 감소되었다. LSA% (luminal surface of alveolar%)는 control 군에서는 sham 군에 비해 현저히 감소된 반면, RUFX 단독 투여군에서는 control 군에 비해 유의성 있게 증가되었으며, 銀翹散과 RUFX 병용 투여군에서는 각각의 단독 투여군에 비해 유의성 있게 증가되었다.

## 참고문헌

1. 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, 299, 311. 한문화사, 서울, 2002.

2. Waldemar, G., Johanson, Jr. Chapter 55. Overview of pneumonia : Bennett J.C., Plum F., editors. Cecil Textbook of Medicine 20th ed. Philadelphia:Saunders, Co., p 411-413, 1996.

3. Macfarlane, J.T. Pneumonia. Medicine 4. p 3732, 1991.

4. 우준희. 폐렴의 이해. p 15, 울산대학교출판부, 서울, 1998.

5. 강병철. The Merck Manual. p 650, 한우리, 서울, 2002.

6. 장준. 지역사회 폐렴. 대한내과학회지. 58, 129-145, 2000.

7. Ball P. Quinolone generations: natural history or natural selection? J Antimicrob Chemother 46, 17-24, 2000.

8. Farker, K., Naber, K.G., Funfstuck, R. Fluoroquinolones : utilization in renal and urogenital tract infections. Med Klin 96, 383-390, 2001.

9. Paladino, J.A. Is more than one quinolone needed in clinical practice? Ann Pharmacother 35, 1085-1095, 2001.

10. 吳鞠通(楊進 編). 溫病條辨. p 47-48, 中國醫藥科技出版社, 北京, 1996.

11. 인태호. 銀翹散과 quinolone계 항생제의 병용투여가 *Streptococcus pneumoniae* 호흡기감염에 미치는 영향. 대구한의대학교 대학원 박사학위논문. 2002.

12. 이상준. 銀翹散과 quinolone계 항생제의 병용투여가 *Streptococcus pneumoniae* 호흡기감염에 미치는 영향. 대구한의대학교 대학원 박사학위논문. 2003.

13. 서정임. 麻黃潤肺湯과 Rofloxacin의 병용투여가 *Klebsiella pneumoniae* 호흡기감염에 미치는 영향. 대한본초학회지. 19(4):81-89, 2004.

14. Lukas, K. Acute states in gastroenterology : spontaneous bacterial peritonitis and the acute intestinal pseudoobstruction syndrome. Cas Lek Cesk 140, 427-429, 2001.

15. Marrie, T.J., Durant, H., Yates, L. Community-acquired pneumonia requiring hospitalization : 5-year prospective study. Rev Infect Dis 11, 586-599, 1989.

16. 韓鏞徹. 임상호흡기학. p 137, 149, 一潮閣, 서울, 2000.

17. Scannapieco, F.A., Mylotte, J.M. Relationships between periodontal disease and bacterial pneumonia. J Periodontol 67, 1114-1122, 1996.

18. Andriole, V.T. The future of the quinolones. Drugs 58, 1-5, 1999.

19. Akindele, J.A., Rotilu, I.O. Outbreak of neonatal *Klebsiella* septicaemia : a review of antimicrobial sensitivities. Afr J Med Med Sci 26, 51-53, 1997.

20. Carpenter, J.L. *Klebsiella* pulmonary infections : occurrence at one medical center and review. Rev Infect Dis 12, 672-682, 1990.

21. Jarvis, W.R., Munn, V.P., Highsmith, A.K., Culver, D.H., Hughes, J.M. The epidemiology of nosocomial infections caused by *Klebsiella pneumoniae*. Infect control 6, 68-74, 1985.

22. Carden, D.L., Gibb, K.A. Pneumonia and lung abscess. Emerg Med Clin North Am 1, 345-370, 1983.

23. Khaneja, M., Naprawa, J., Kumar, A., Piecuch, S. Successful treatment of late-onset infection due to resistant *Klebsiella pneumoniae* in an extremely low birth weight infant using ciprofloxacin. *J Perinatol* 19, 311-314, 1999.
24. Anderl, J.N., Franklin, M.J., Stewart, P.S. Role of antibiotic penetration limitation in *Klebsiella pneumoniae* biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 44, 1818-1824, 2000.
25. Brisse, S., Milatovic, D., Fluit, A.C., Verhoef, J., Schmitz, F.J. Epidemiology of quinolone resistance of *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 19, 64-68, 2000.
26. Lautenbach, E., Strom, B.L., Bilker, W.B., Patel, J.B., Edelstein, P.H., Fishman, N.O. Epidemiological investigation of fluoroquinolone resistance in infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Infect Dis* 33, 1288-1294, 2001.
27. 김상찬, 김선희외 9명. 방제학. p 83-84. 영림사, 서울, 1999.
28. Ravizzola, G., Pinsi, G., Piralì, F., Colombrita, D., Foresti, I., Peroni, L., Turano, A. Rofloxacin (MF-934) : in vitro and in vivo antibacterial activity. *Drugs Exp Clin Res* 15, 11-15, 1989.
29. 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* 14, 747-754, 1988.
30. Mattina, R., Cocuzza, C.E., Cesana, M., Bonfiglio, G. In vitro activity of a new quinolone, rufloxacin, against nosocomial isolates. *Chemotherapy* 37, 260-269, 1991.
31. Pessina, A., Gribaldo, L., Mineo, E., Neri, M.G. In vitro short-term and long-term cytotoxicity of fluoroquinolones on murine cell lines. *Indian J Exp Biol* 32, 113-118, 1994.
32. Cunha, B.A. Antibiotic resistance. *Med Clin North Am* 84, 1407-1429, 2000.
33. Edlund, C., Nord, C.E. Effect of quinolones on intestinal ecology. *Drugs* 58, 65-70, 1999.
34. Marchese, A., Debbia, E.A., Pesce, A., Schito, G.C. Bactericidal activity, morphological alterations, and synergistic interactions of rufloxacin, a new fluoroquinolone, alone and in combination with its N-desmethylate D derivative (MF 922). *Chemotherapy* 42, 90-99, 1996.
35. Gismondo, M.R., Drago, L., Lombardi, A., Fassina, C., Cesana, M. Impact of rufloxacin and ciprofloxacin on the intestinal microflora in a germ-free mice model. *Chemotherapy* 41, 281-288, 1995.
36. Cuffini, A.M., Tullio, V., Allocco, A., Paizis, G., De Leo, C., Carlone, N.A. Effect of rufloxacin upon non-specific immune defences : in-vitro, ex-vivo and in-vivo results. *J Antimicrob Chemother* 34, 545-553, 1994.