

## 소함홍탕 에탄올 추출물 및 황련 알칼로이드의 헬리코박터 파이로리에 대한 항균활성

이바울 · 최명숙 · 임동술 · 최성숙\*  
삼육대학교 약학대학

### *In Vitro* Anti-*Helicobacter pylori* Activity of Ethanol Extract of Sohamhyoongtang and Coptidis Rhizoma Total Alkaloids

BaWool Lee, MyungSook Choi, DongSool Yim and SungSook Choi\*

College of Pharmacy, Sahmyook University, Seoul 139-742, Korea

**Abstract** – The aim of this study was to evaluate the anti-helicobacter activity of the ethanol extract of Sohamhyoongtang (Coptidis Rhizoma, Pinelliae Tuber and Trichosanthis Semen) and Coptidis Rhizoma total alkaloids, which is one of the components of Sohamhyoongtang. Crude ethanol extract of Sohamhyoongtang (ESHHT) and Coptidis Rhizoma total alkaloids (CRTA) were used for this experiment. Five different types of *H. pylori* (including *H. pylori* 26695) were used as test strain. To determine anti-helicobacter activity, minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by agar dilution method. The effect of ESHHT and CRTA on the gene expression of *H. pylori* was investigated by quantitative realtime-PCR (qRT-PCR). MICs of ESHHT against five *H. pylori* strains were 250–500 µg/ml and MICs of CRTA against five *H. pylori* strains were 50–200 µg/ml. Four representative virulence genes of *H. pylori*, *cagA*, *ureA*, *ureB* and *ureI* were tested as target genes for qRT-PCR. According to the qRT-PCR results, both ESHHT and CRTA markedly repressed the expression of *cagA* gene of *H. pylori* 26695 (6.91 and 20 folds respectively). These results showed that the ESHHT and CRTA demonstrated antihelicobacter properties, suggesting their potential use in gastritis or duodenal ulcer.

**Key words** – Anti-*Helicobacter* activity, Sohamhyoongtang, Coptidis Rhizoma alkaloids. qRT-PCR, *cagA*

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*)는 그람음성, 미호기성 간균으로 사람의 위점막 조직에 정착하여 살면서 만성 위염, 위궤양, 십이지장 궤양 및 위암을 일으키는 원인균으로 알려져 있으며 한국 성인중 40세 이상의 경우 *H. pylori* 보균율은 70% 이상으로 주요 상부소화기 질병과 밀접하게 연관되어 있는 것으로 보고되고 있다.<sup>1)</sup> *H. pylori* 감염의 1차 치료는 proton pump inhibitor (PPI), clarithromycin과 amoxicillin 조합의 3제 요법을 1주 내지 2주 투여하도록 되어 있으며 1차 치료가 실패했을 경우 PPI, bismuth, metronidazole 및 tetracycline 조합의 4제 요법으로 2차 치료를, 이것도 실패했을 경우는 PPI, amoxicillin 및 levofloxacin의 3차 치료를 하도록 되어 있다.<sup>2-4)</sup> 그러나 이와 같은 전형적인 항생제 치료의 경우 항생제 노출에 따른 내성균의 발달과 환자의 치료 약물에 대한 적응의 어려움등의 문제로 효과적인 치료

에 제약이 되어 치료 환자의 15% 정도는 치료에 실패하는 것으로 보고되고 있다.<sup>5-7)</sup> 따라서 기존의 항생제 요법의 한계를 극복할 수 있는 효과적인 제균법이 요구되고 있다. 약용 식물은 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있으며 특히 우수한 항균활성을 갖고 있는 약용식물을 중심으로 *H. pylori*에 대한 항균 활성을 확인하고자 하는 연구들이 진행되고 있다. 마늘(*Allium sativum*)<sup>8)</sup>, *Pteleopsis suberosa*<sup>9)</sup> 및 계피(*Cinnamomum cassia*)<sup>10)</sup>의 항균활성에 대한 연구 보고가 있으며 최근 우리나라 제주 자생식물 중 헬리코박터에 항균력을 보이는 식물을 검색한 연구 결과에 따르면<sup>11)</sup> 담팔수(*Elaeocarpus sylvestris* var. *ellipticus*), 호두나무(*Juglans sinensis*), 곰취(*Ligularia fischeri*), 함박꽃나무(*Magnolia sieboldii*), 굴피나무(*Platycarya strobilacea*), 검양웃나무(*Rhus succedanea*), 개웃나무(*Rhus trichocarpa*) 등의 식물 성분이 우수한 항균력을 나타내는 것으로 보고되었다. Lee 등의<sup>12)</sup> 연구 결과에 따르면 치자(*Gardeniae Fructus*), 파극

\*교신저자 (E-mail): sschoi@syu.ac.kr  
(Tel): +82-2-3399-1606

(Morindae Radix), 홍화(Carthami Flos), 단삼(Salviae miltiorrhiae Radix), 목단피(Moutan Cortex Radicis), 익모초(Leonuri Herba) 등도 우수한 항균력을 나타내는 것으로 보고하였다. 한편 중국의 약용식물을 대상으로한 연구 결과에 따르면<sup>13)</sup> 황련(*Coptis chinensis*), 황금(*Scutellaria baicalensis*), 대청엽(*Isatis tinctoria*) 등의 약용식물이 우수한 항균력을 나타낸다고 보고되었다.

소함흉탕(小陷胸湯)은 고대 동양의학의 약물치료법인 상한론(傷寒論)에 수재된 처방으로 2000년 이상 심하(心下; 금상돌기아래)가 아픈 각종 병에 사용되어온 처방으로 그 구성은 황련 3g, 팔루인 12g, 반하 15g을 사용하며 임상적으로 흉복통(심하부 긴장압통), 위통, 위염과 급성 기관지염(폐렴, 늑막염, 늑간신경통)등에 사용하는 생약제제로 알려져 있다.<sup>14-16)</sup> 황련은 미나리아재비과에 속하는 식물로서 소함흉탕제 성분 중의 하나로 건위, 진정, 소염, 항균 등의 효능이 있어 소화불량, 위염, 장염, 복통, 구토, 이질, 인후종통(咽喉腫痛), 화상 등의 치료에 처방하는 약제이다.<sup>17-19)</sup> 본 연구자들은 항염효과가 알려진 소함흉탕의 에탄올추출물 및 소함흉탕의 재료 중 하나로 항균작용이 알려진 황련의 조알칼로이드 침전물을 실험재료로 하여 *H. pylori*에 대한 항균력을 규명하여 천연물 유래 *H. pylori* 항균물질 개발의 기초자료로 사용하고자 한다.

**재료 및 방법**

**사용 균주 및 배양** - 본 실험에 사용한 *H. pylori* 균주 5종은 Table I에 나타내었다. *H. pylori*의 배양은 brain heart infusion 배지(Difco, Sparks, MD, USA)에 7% horse serum (Sigma Co. St. Louis, USA), 0.4% isovitalax (BBL, Sparks, MD, USA), vancomycin (6 µg/mL), amphotericin B (8 µg/mL), trimethoprim (5 µg/mL)를 첨가하여 제조한 배지에(이하 BHI 배지로 칭함) 배양하였으며 배양조건은 37°C, 미호기성 환경(5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> 및 85% N<sub>2</sub> gas)에서 배양하였다.

**추출물의 조제** - 본 실험에 사용한 황련(*Coptidis Rhizoma*),

반하(*Pinelliae Tuber*), 팔루인(*Trichosanthis Semen*)은 경동 시장에서 구입하였다(주식회사 월드허브). 황련, 반하 그리고 팔루인을 소함흉탕의 비율에 맞게 혼합 후 90% 에탄올에 4시간씩 3회 water bath에서 증탕으로 추출하였으며, 여과 후 rotary evaporator를 사용하여 감압 농축하여 에탄올추출물(ESHHT)을 제조하였다. 황련 알카로이드는 3% HCl-acidic ethanol로 추출, 농축하여 생성되는 조알칼로이드(CRTA) 침전물을 사용하였다.

**최소저지농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)의 측정** - 소함흉탕 에탄올 추출물(ESHHT)과 황련 총 알카로이드(CRTA)의 *H. pylori*에 대한 최소저지농도의 측정은 Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI)의 guide line을 따라 실시하였다.<sup>20)</sup> ESHHT 및 CRTA 를 최고농도 500 µg/mL 농도부터 최저 농도 25 µg/mL 농도로 함유하도록 계열 희석한 BHI 배지를 만들고 *H. pylori*을 10<sup>7</sup> CFU/mL 농도로 접종하고 미호기적 조건에서 3일간 배양 후 균의 성장을 확인할 수 없는 농도를 MIC로 하였다. 실험의 정도관리를 위해 표준 항생제로 amoxicillin을 사용하여 *H. pylori* ATCC 43504에 대한 MIC값을 측정하였다.

***H. pylori* ATCC 700392의 RNA 분리 및 cDNA 합성** - ESHHT 및 CRTA의 항균활성을 확인한 후 이러한 성분이 *H. pylori*의 병독인자들과 어떠한 상호 작용을 하는지 확인하고자 하였다. 요소분해효소 유전자인 *ureA*, *ureB*, *ureI* 및 염증관련 유전자 *cagA*를 선택하여 ESHHT 및 CRTA 성분이 유전자 발현에 끼치는 영향을 보고자 하였으며 *H. pylori* 균주의 유전적 다양성 때문에 본 실험에서는 유전적 배경이 가장 잘 알려진 균주인 *H. pylori* ATCC 700392(*H. pylori* 26695)균주를 사용하여 실험하였다. 균의 성장을 억제하지 않는 것으로 확인된 ESHHT 50 µg/mL 및 CRTA 10 µg/mL 농도로 함유하는 조건에서 *H. pylori* ATCC 700392를 액체 배양하고 Hybrid-R™ (GeneAll, 서울) kit을 사용하여 total RNA를 분리하였다. RNA 정량 후 total RNA 1 µg을 template로 AccuPower CycleScript RT premix (dN12) (Bioneer, 대전) 시약을 사용하여 cDNA를 합성하였다.

**Table I.** *H. pylori* strains that used for this experiment

Strains	Related characteristics	Sources
<i>H. pylori</i> ATCC 700392 (HP 26695)	Sequenced clinical isolate ( <i>cagA</i> <sup>+</sup> , <i>vacA</i> <sup>+</sup> , reference strain)	KCTC (Korean Culture Type Collection)
<i>H. pylori</i> ATCC 43504	Sequenced clinical isolate ( <i>cagA</i> <sup>+</sup> , <i>vacA</i> <sup>+</sup> , reference strain)	KCTC (Korean Culture Type Collection)
<i>H.pylori</i> SS1	Murine passaged isolate ( <i>cagA</i> <sup>+</sup> , <i>vacA</i> <sup>+</sup> )	Gyeongsang National University ( <i>H. pylori</i> Korean Type Culture Collection)
<i>H.pylori</i> CMC28		clinical isolate
<i>H.pylori</i> CMC37		clinical isolate

**Table II.** Primer sequences that used for this experiment

Target gene	Sequence (5'-3')	T <sub>m</sub> (°C)
<i>cysS</i>	AGA CGC TAT GGT GGG CAT GAT TGA	60.5
	CTT GCA CCA AAC CAA TAC GGC CAA	60.5
<i>cagA</i>	CAA TCG TTG ATA AGA ACG ATA GGG	59.3
	CAA ATT TCT GAA AGC TCT TTG TGG	59.7
<i>ureA</i>	CCA CTT CAT GGA TCA TGC TTG CCA	59.9
	CTG AAT TGA TGC AAG AAG GGC GCA	60.3
<i>ureB</i>	TAG GAG TCA GAG CTG GTG ATT GAG	61.2
	CAG AAG CAG AAC ACA TGG ACA TGC	60.7
<i>ureI</i>	CCA ACC AAA TGA TCG CCC ACC AAT	60.3
	TTG GTT TGG ATT GGA GGC CCT ACT	60.4

qRT-PCR – 위에서 설명한 방법으로 합성한 cDNA를 template로 *H. pylori*의 대표적인 병원 유전자인 *cagA*, *ureA*, *ureB* 및 *ureI* 유전자 발현의 변화를 qRT-PCR 반응을 실시하여 ddCt 법으로 결과를 분석하여 비교하였다. 본 실험에 house keeping 유전자는 *cysS* 유전자를 사용하였으며 각 유전자 증폭에 사용한 primer는 IDT (Integrated DNA Technology, San Diego, CA, USA) 에서 합성하여 사용하였으며 primer의 염기서열은 Table II에 나타내었다. PCR 반응은 2 X PowerSYBR Green PCR Mastermix (Life Technologies Pty Ltd, NY, USA) 10 µL, cDNA 1 µL, primer 각 5 pmole 및 RNase free water를 넣어 최종 반응 부피가 20 µL가 되도록 하여 StepOne realtime PCR system (Life Technologies Pty Ltd, NY, USA) 기기를 사용하여 다음과 같은 조건에서 반응하였다. 95°C에서 10분간 denaturation 후, 95°C에서 15 초, 60°C에서 60초 반응을 40 회 반복수행 후 95°C에서 초당 온도를 0.3°C 씩 낮추며 생성된 PCR 산물의 melting curve 분석을 실시하였다. 최종 실험결과의 분석은 정상적인 배지에서 배양한 대조군의 house keeping 유전자인 *cysS*를 기준으로 각 배양 조건별 각 유전자별 상대정량분석을 하는 ddCt 분석을 실시하여 분석하였다.

**Urease Assay** – CRTA 성분에 의한 *ureA* 유전자 발현 억제효과를 효소 수준에서 확인하기 위하여 다음과 같이 urease 효소 활성을 *in vitro*에서 측정하였다.<sup>21)</sup> qRT-PCR을 실시하였던 것과 동일한 조건으로 *H. pylori* ATCC 700392를 배양 후 균체를 수확하여 2 mL PBS에 현탁하고 30초간 sonication 하여 세포를 파쇄한 후 10,000 rpm 원심분리 후 상등액을 crude enzyme solution으로 사용했다. 각 enzyme solution 0.1 mL에 5M urea 0.05 mL를 가하고 37°C에서 10분간 반응 후 1N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 mL를 가하여 반응을 중지하

였다. Solution I (phenol 5 g, Sod. nitroprusside 25 mg, DW 249 mL) 1 mL 및 Solution II (NaOH 2.5 g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O 26 g, NaOCl 5 mL, DW 495 mL) 1 mL를 넣어준 후 60°C에서 20분간 반응 후 600 nm에서 흡광도를 측정하여 효소 활성을 측정하였다.

## 결과 및 고찰

**ESHHT 및 CRTA의 *H. pylori*에 대한 항균력** – ESHHT 과 CRTA를 최고농도 500 µg/mL 농도부터 최저농도 25 µg/mL 농도로 함유하도록 BHI 배지를 만들고 *H. pylori*를 10<sup>7</sup> cfu/ml 농도로 접종하고 미호기적 조건에서 3일간 배양 후 균의 성장을 확인할 수 없는 농도를 MIC로 하였다. 실험조건외의 정도관리를 위한 대조군으로는 *H. pylori* ATCC 43504의 amoxicillin 대한 MIC 값을 측정하였다. 그 결과 ESHHT의 MIC 값은 균종에 따라 250 µg/mL~500 µg/mL 농도를 나타냄을 알 수 있었다. 한편 소함홍당성분 중 하나인 황련의 총 알카로이드인 CRTA의 MIC 값은 균종에 따라 50 µg/mL~200 µg/mL 농도를 나타냄을 알 수 있었다 (Table III). Ma<sup>13)</sup> 등의 중국의 전통 약용식물을 대상으로 한 연구결과에서도 황련의 열수 추출물의 효과가 가장 우수하다는 보고를 하였는데 총 열수 추출물을 사용한 결과 3.9 mg/mL~7.8 mg/mL 농도에서 MIC 값을 나타낸다는 보고를 하였다. 이 결과에서 나타난 MIC 값보다 본 연구자들의 MIC 값이 낮은 것은 본 연구자들은 황련의 조알카로이드를 사용하였고 Ma<sup>13)</sup> 등의 연구에서는 총 열수추출물을 사용한 결과로 사료되고, 균 접종량이 본 연구자들이 사용한 10<sup>7</sup> CFU/mL 보다 고농도인 10<sup>8</sup> CFU/mL을 접종한 접종량의 차이에도 기인할 것으로 판단된다. CRTA 성분의 MIC 값이 ESHHT 에 비하여 2.5배에서 5배정도 낮은 농도에서 살균력을 나타내는 것으로 보아 소함홍당 성분중 황련 알카로이드가 실제적인 항균활성 물질로 추정되었다. 따라서 추후 CRTA를 더 분리 정제하여 단일 알카로이드 수준에서의 항균력 측정도 필요할 것으로 사료된다.

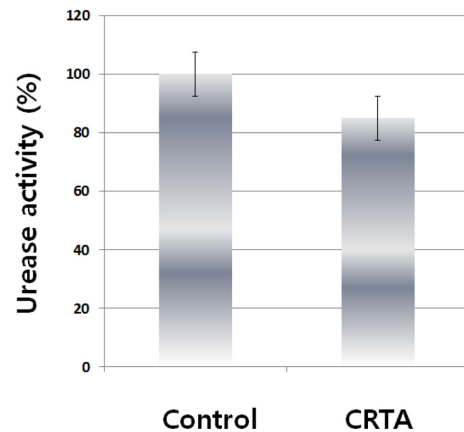
**Table III.** Minimum inhibitory concentration of ESHHT and CRTA against five *H. pylori* strains

Strains	MIC (µg/mL)	
	ESHHT	CRTA
<i>H. pylori</i> ATCC 700392	250	50
<i>H. pylori</i> ATCC 43504	250	50
<i>H. pylori</i> SS1	500	200
<i>H. pylori</i> CMC28	250	50
<i>H. pylori</i> CMC37	500	100

MIC of amoxicillin against *H. pylori* ATCC 43504 was < 0.1 µg/mL

**H. pylori ATCC 700392 cagA 유전자 발현의 억제** – ESHHT 및 CRTA의 항균활성을 확인한 후 이러한 성분이 *H. pylori*의 병독인자들과 어떠한 상호 작용을 하는지 알아보고자 하였다. *H. pylori*의 병독인자로는 균주가 위내 환경에 정착하는데 관여하는 정착인자와 실제 염증 반응등을 유발하는 질병관련 인자로 구분할 수 있다.<sup>22,23)</sup> 위점막 환경 정착인자로는 요소분해효소(urease), 운동성 관련 인자, catalase, 부착 인자(adhesion)등이 있으며 질병관련인자로는 *cagA*, *vacA* 등이 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 정착에 관여하는 요소분해효소 유전자인 *ureA*, *ureB* 및 *ureI*와 질병인자중 염증반응, 십이지장 궤양 및 위선암과 관련이 있는 *cagA* 유전자를 선택하여 ESHHT 및 CRTA성분에 의한 유전자발현의 변화를 보고자 하였다. 균의 성장을 영향을 주지 않는 것으로 확인된 ESHHT 50 µg/mL와 CRTA 10 µg/mL 농도로 함유하는 조건에서 각각 *H. pylori* ATCC 700392를 액체 배양하고 Hybrid-R™ (GeneAll, 서울) kit을 사용하여 total RNA를 분리 후 cDNA를 합성하였다. 이 cDNA를 template로 ESHHT 및 CRTA 존재시 *H. pylori*의 대표적인 병인 유전자인 *cagA*, *ureA*, *ureB* 및 *ureI*유전자 발현의 변화를 qRT-PCR 반응을 실시하여 ddCt 법으로 결과를 분석하여 비교하였으며 1.5배 이상의 차이를 유의적인 발현 억제로 판단하였다. 그 결과 ESHHT의 경우 정착인자인 요소분해효소 관련 유전자 발현은 대조군과 비교하여 차이가 없었으나 질병유전자중 염증관련 유전자 *cagA*의 발현이 대조군과 비교하였을 때 6.91 배 정도 억제된 것을 확인하였다. 또한 CRTA 성분의 경우 약 20 배 정도 *cagA* 유전자의 발현을 억제함을 확인할 수 있었다(Table IV). 즉 ESHHT 및 CRTA 성분이 *H. pylori*의 질병 유전자인 *cagA*의 발현을 현저히 억제함을 확인하였으며 이는 위염 및 위 궤양 치료제로서 개발 가능성을 보여주는 결과로 사료되며 추후 세포배양실험을 실시하여 이러한 *in vitro* 실험 결과를 확인할 필요가 있는 것으로 판단된다. 한편 CRTA 성분의 경우 요소분해효소 관련 유전자중 하나인 *ureA*의 발현을 약 2배 정도 억제하는 것이 확인되었다.

**요소분해효소 활성 억제** – qRT-PCR 결과 *ureA*유전자 발



**Fig. 1.** Inhibitory effect of CRTA on the urease activity of *H. pylori* ATCC 700392 (*H. pylori* 26695). control: *H. pylori* ATCC 700392 was cultured without CRTA, CRTA: *H. pylori* ATCC 700392 was cultured with 10 µg/mL of CRTA.

현을 약 2배 정도 억제하는 것으로 확인된 CRTA 성분의 효과를 단백질 수준에서 확인하기 위하여 urease assay를 실시하였다. 그 결과 정상배양한 *H. pylori*의 효소활성을 100%로 하였을 때 CRTA 10 µg/mL 함유한 배지에서 배양한 *H. pylori*의 경우 약 85±0.34% 정도의 효소 활성이 유지됨을 확인하였다(Fig. 1). 이는 요소분해효소 자체가 *H. pylori*가 합성하는 단백질 중 가장 많이 만들어 지는 단백질이며 따라서 RNA 합성이 2배 정도 억제되었어도 소량의 단백질을 갖고 실험한 효소 활성 실험에서 효소 활성의 차이는 크게 없는 것을 알 수 있었다.

최근 항생제 내성 세균의 증가와 치료 약물에 대한 환자의 부작용 등에 따른 치료 실패는 임상에서 헬리코박터 치료에 어려움을 가중시키고 있으며 따라서 새로운 치료법이 절실히 요구되고 있다. 이러한 현실에서 새로운 항헬리코박터 효과를 나타내는 약물을 천연물에서 찾고자 하는 노력들이 활발하게 이루어지고 있다.<sup>11-13,24)</sup> 본 연구에서 사용한 소화흡당은 흥복통(심허부 긴장압통), 급성 기관지염(폐렴, 늑막염, 늑간신경통)등에 사용되었으며 황련은 진정, 소염, 항균 등의 효능이 있어 소화불량, 위염, 장염, 복통, 구토,

**Table IV.** Comparison of relative gene expression in the presence of the ESHHT and CRTA

Sample	Gene	<i>cagA</i>		<i>ureA</i>		<i>ureB</i>		<i>ureI</i>	
		ddCt	Relative value	ddCt	Relative value	ddCt	Relative value	ddCt	Relative value
Control		0	1	0	1	0	1	0	1
ESSHT (50 µg/mL)		2.79	-6.91	-0.05	1.03	0.03	-1.02	-0.06	1.04
CRTA (10 µg/mL)		4.34	-20.25	1.23	-2.35	0.05	-1.03	-0.04	1.02

*cysS* was used as a house keeping gene  
 Relative values were calculated by equation 2<sup>-ddCt</sup>  
 Repression was defined as ≥ 1.5-fold decrease in the expression of the gene

이질등에 사용되어왔던 약제이다.<sup>14-19)</sup> 특히 황련의 경우 몇몇 세균에 대한 항균력이 우수함이 보고되었으나<sup>25,26)</sup> *Helicobacter pylori*에 대한 항균 효과등에 관한 연구는 활발하지 않은 것으로 조사되었다.<sup>13)</sup> 따라서 본 연구는 이러한 면에서 소함홍탕 및 황련알칼로이드의 새로운 생리활성을 규명한 것으로 가치가 있는 연구 결과로 사료된다. 추후 본 시료를 사용하여 세포 배양 수준에서의 항균 및 항염등의 효과를 확인한다면 천연물 유래 *H. pylori* 항균물질 및 *H. pylori*에 기인한 위염, 위궤양 및 십이지장궤양 치료제로서의 개발 가능성이 충분할 것으로 사료된다.

## 결 론

본 연구 결과를 종합해 볼 때 소함홍탕의 에탄올 추출물 (ESHHT) 및 황련의 총 알칼로이드(CRTA) 성분은 헬리코박터에 대해 ESHHT는 항균력이 약간 인정되었으며 CRTA는 비교적 유의성이 있는 항균 활성을 나타냄을 알 수 있었다. 한편 이 두 성분은 헬리코박터의 질병인자중 하나인 염증관련 인자 *cagA* 유전자의 발현을 현저하게 억제함을 확인하였으며 따라서 천연물 유래 *H. pylori* 항균물질 및 *H. pylori*에 기인한 위염, 위궤양 및 십이지장궤양 치료제로서의 개발 가능성이 있음을 확인하였다.

## 인용문헌

- Kim, N. Y., Kim, J. K., Kim, J. H., Kim, H. Y., Kim, S. W., Kim, J. J., Noh, I. H., Shim, J. K., Ahn, H. S., Yoon, B. C., Lee, S. W., Lee, Y. C., Cheong, I. S. and Cheong, H. Y. (2000) Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in asymptomatic people in Korea. *Kor. J. Int. Med.* **59**: 388-392.
- Bell, G. D., Bate, C. M., Axon, A. T., Tildesley, G., Kerr, G. D., Green, J. R., Emmas, C. E. and Taylor, M. D. (1995) Addition of metronidazole to omeprazole/amoxicillin dual therapy increases the rate of *Helicobacter pylori* eradication: a double-blind, randomized trial. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **9**: 513-520.
- Spinzi, G. C., Boni, F., Bortoli, A., Colombo, E., Ballardini, G., Venturelli, R. and Minoli, G. (2000) Seven-day triple therapy with ranitidine bismuth citrate or omeprazole and two antibiotics for eradication of *Helicobacter pylori* in duodenal ulcer: a multicentre, randomized, single-blind study. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **14**: 325-330.
- Misiewicz, J. J., Harris, A. W., Bardhan, K. D., Levi, S., O'Morain, C., Cooper, B. T., Kerr, G. D., Dixon, M. F., Langworthy, H. and Piper, D. (1997) One week triple therapy for *Helicobacter pylori*: a multicentre comparative study. *Gut* **41**: 735-739.
- Williamson, R., Pipkin, G. A. and Wood, J. R. (1998) New options in *Helicobacter pylori* eradication: efficacy, resistance and synergy. *Scand. J. Gastroenterol. Suppl.* **225**: 36-40.
- Eagan, B. J., Marzio, L., O'Conner, H. and O'Morain, C. H. (2008) Treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter Suppl.* **13**: 35-40.
- Romano, M., Iovene, M. R., Russo, M. I., Rocco, A., Salerno, R., Cozzolino, D., Piloni, A. P., Tufano, M. A., Vaira, D. and Nardone, G. (2008) Failure of first-line eradication treatment significantly increases prevalence of antimicrobial-resistant *Helicobacter pylori* clinical isolates. *J. Clin. Pathol.* **61**: 1112-1115.
- Cellini, L., Di Campli, E., Masulli, M., Di Bartolomeo, S. and Allocati, N. (1996) Inhibition of *Helicobacter pylori* by garlic extract (*Allium sativum*). *FEMS Immuno. Med. Microbiol.* **13**: 273-277.
- German, M. P., Sanogo, R., Guglielmo, M., De Pasquale, R., Crisafi, G. and Bisignano, G. (1998) Effects of *Pteleopsis suberosa* extracts on experimental gastric ulcers and *Helicobacter pylori* growth. *J. Ethnopharmacol.* **59**: 167-172.
- Tabak, M., Armon, R. and Neeman, I. (1999) Cinnamon extracts' inhibitory effect on *Helicobacter pylori*. *J. ethnopharmacol.* **67**: 269-277.
- Lee, H. K., Lee, H. B., Kim, C. S. and Ahn, Y. J. (2004) Anti-helicobacter pylori activity of methanol extracts from Korean native plant species in Jeju island. *Agric. Chem. Biotechnol.* **47**: 91-96.
- Lee, H. A. and Kim, O. K. (2013) Study on the antimicrobial activities of herbal extracts against *Helicobacter pylori*. *Kor. J. Vet. Res.* **53**: 117-123.
- Ma, F., Chen, Y., Li, J., Qing, H. P., Wang, J. D., Zhang, Y. L., Long, B. G. and Bai, Y. (2010) *World J. gastroenterol.* **28**: 5629-5634.
- Hsu, H. Y. and Peacher, W. G. (1981) Shang Han Lun 22, Oriental Healing Arts Institute, California.
- 李心機編著 (2003) 傷寒論通釋. 190, 人民衛生出版社, 北京.
- 한외과대학 방제학교수 공편저 (1999) 방제학, 535-536. 영림사, 서울.
- Tang, J., Feng, Y., Tsao, S., Wang, N., Curtain, R. and Wang, Y. (2009) Berberine and Coptidis Rhizoma as novel anti-neoplastic agents: A review of traditional use and biomedical investigations. *J. Ethnopharmacol.* **126**: 5-17.
- Wang, B., Guan, S. M. and Li, X. D. (2007) Effects of micrometer compound rhizoma coptidis on nuclear factor-kappaB and inflammatory factors in rabbit fed with high lipid diet. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* **32**: 1207-1210.
- Park, E. K., Rhee, H. I., Jung, H. S., Ju, S. M., Lee, Y. A., Lee, S. H. and Hong, S. J. (2007) Antiinflammatory effects of a combined herbal preparation (RAH13) of *Phellodendron amurense* and *Coptis chinensis* in animal models of inflammation. *Phytother. Res.* **21**: 746-750.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*, 19<sup>th</sup> Informational Supplement (2009) Document M100-S19,

CLSI, Wayne, PA.

21. Bauerfeind, P., Garner, R., Dunn, B. E. and Mobley, H. L. (1997) Synthesis and activity of *Helicobacter pylori* urease and catalase at low pH. *Gut* **40**: 25-30.
22. Atherton, J. C. (1988) *Helicobacter pylori* virulence factors. *Br. Med. Bull* **54**: 105-120.
23. Graham, D. Y. and Yamaoka, Y. (2000) Disease-specific *Helicobacter pylori* virulence factors. *Helicobacter* **5**: S3-S9.
24. Xie, J. H., Chen, Y. L., Wu, Q. H., Wu, J., Su, J. Y., Cao, H. Y., Li, Y. C., Li, Y. S., Liao, J. B., Lai, X. P., Huang, P. and Su, Z. R. (2013) Gastroprotective and anti-*Helicobacter pylori* potential of herbal formula HZJW: safety and efficacy assessment. *BMC Complement. Altern. Med.* **13**: 119-137.
25. Hu, J. P., Takahashi, N. and Yamada, T. (2000) *Coptidis rhizoma* inhibits growth and protease of oral bacteria. *Oral Dis.* **6**: 297-302.
26. Lee, J. H. and Stein, B. D. (2011) Antimicrobial activity of a combination of *Mume fructus*, *Schizandrae fructus*, and *Coptidis rhizoma* on enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26, O111, and O157 and its effect on Shiga toxin releases. *Foodborne Pathog. Dis.* **8**: 643-646.

(2014. 5. 14 접수; 2014. 6. 5 심사; 2014. 6. 11 게재확정)