

헬리코박터 파이로리균에 대한 약용식물의 항균 효과

이재혁¹, 김정숙², 박정숙^{2*}
¹남부대학교 응급구조학과 교수, ²남부대학교 간호학과 교수

Antibacterial effect of medicinal plants against *Helicobacter pylori*

Jae-Hyeok Lee¹, Jeong-Suk Kim², Jeong-Sook Park^{2*}
¹Prof., Dept. of Emergency Medical Rescue, Nambu University
²Prof., Dept. of Nursing, Nambu University

요 약 본 연구는 건강식품으로 많이 사용되는 32종의 약용식물에 대한 헬리코박터 파이로리 항균효과를 살펴보기 위해서 디자인되었다. 연구에 사용된 약용식물은 모든 사람들이 매일 먹을 수 있는 것으로 *H.pylori* 활성에 대한 디스크 확산법을 이용하여 32종의 약용식물 추출물을 사용하였고 Amoxicillin sodium (150mg/ml, 일동제약)과 메트로니다졸 (Metronidazol, 50mg/ml)을 대조군으로 사용하였다. 투명한 영역의 면적을 측정하고 그 면적이 더 큰 크기가 *H. pylori*에 많은 효과가 있다고 평가했다. 이 연구의 결과, 고련피 억제 값은 372.90mm²로 가장 높았고, 들깨, 오배자 358.30mm², 그리고 청호 348.32mm² 이었다. 양성 대조군인 Metronidazole (50mg / ml CJ) 값은 503.29mm²이었다. 향후 *H. pylori* 억제를 위해 다양한 약용식물의 항균소재개발이 가치가 있을 것으로 사료된다.

주제어 : 헬리코박터 파이로리, 약용식물, 메트로니다졸, 고련피, 오배자, 청호

Abstract The study was designed to investigate the antibacterial effect of *Helicobacter pylori* against 32 medicinal plants commonly used as health foods. The medicinal plants used in this study were 32 kinds of medicinal plant extracts using the disk diffusion method for *H. pylori* activity, which can be eaten every day by everyone. Amoxicillin sodium (150 mg / ml, Ildong Pharmaceutical) and Metronidazole 50 mg / ml) was used as a control group. We measured the area of the transparent area and evaluated that the larger the area, the more effective it is for *H. pylori*. As a result of this study, the clear zone of inhibition was highest at 372.90mm², second was 358.30mm², and Chungho was 348.32mm². The positive control group, Metronidazole (50 mg / ml CJ), was 503.29 mm². In the future, the development of antimicrobial materials of various medicinal plants is expected to be effective for the inhibition of *H. pylori*.

Key Words : *Helicobacter pylori*, Medicinal plants, Metronidazol, Melia azed-arach, Melaphis chinensis, Artemisia annua L.

1. 서론

헬리코박터 파일로리 (*Helicobacter pylori*, *H. pylori*) 박테리아는 한국인의 65%에서 발견되고[1,2], 사람의 위

상피와 관련된 점액층에 서식하는 그람 음성 나선형 세균으로 만성 위염 및 소화성 궤양의 주요 병원 인자로 알려진 가장 강력한 위험 인자다. 또한 *H. pylori*가 세균들 중에서 위암의 원인이 될 수 있는 유일한 병원체이다

*This study was supported(in part) by research funds from Nambu University, 2018.

*Corresponding Author : Jeong-sook park (pk0207@nambu.ac.kr)

Received December 27, 2018

Revised January 29, 2019

Accepted February 20, 2019

Published February 28, 2019

[3,4]. 이에 헬리코박터 과일로리 제균요법에 관심이 높아지고 있으며 치료제인 항생제의 내약성과 부작용에 의료계의 관심이 높아지고 있다. 제균요법에서 사용되는 항생제로 amoxicillin 및 clarithromycin 추천되고 있으나 약제내성으로 인하여[5,6]. metronidazole, tetracycline, fluoroquinolones, rifamycins과 함께 다른 치료법도 제안되고 있다[7-9]. 그러나 이와 같은 항생제 치료의 경우 항생제 사용에 따른 내성균의 생성과 치료 환자의 약물에 대한 적응의 어려움등과 같은 다양한 문제로 효과적인 치료에 어려움이 있어 환자의 20%정도는 치료에 실패하는 것으로 보고되고 있다[10,11]. 이에 기존의 항생제 요법의 치료한계를 극복할 수 있는 효과적이며 새로운 제균요법이 요구되고 있다. 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있는 약용 식물 중 특히 우수한 항균활성을 갖고 있는 약용식물을 중심으로 *H. pylori*에 대한 항균 활성을 확인하고자 하는 연구들이 진행되고 있다. 다양한 항균력을 보이는 마늘(*Allium sativum*)[12,13]과 치자(*Gardeniae Fructus*)[14], 익모초(*Leonuri Herba*)[15,16] 등도 우수한 항균력을 나타내는 것으로 보고 되고 있다.

이에 본 연구는 32종의 약용식물과 제균요법에 사용되는 항생제의 *H. pylori*에 대한 항균력을 비교하여 의미 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

2. 연구방법

2.1 실험 재료

실험에 사용된 약용식물 중 우엉, 양배추, 당근, 무, 레드비트, 브로콜리, 흑미, 감자, 단호박, 표고버섯, 신선초, 케일 등은 유기농 원료를 시중에서 구입하여 사용하였으며 계피, 유백피, 뽕잎(상엽), 오이풀, 쇠비름, 매실, 연근, 소엽, 녹차잎, 참죽(애엽), 개뽕쑥(청호), 후박, 천마, 곽향은 세화당(광주 광역시)에서 규격품을 구입하여 정밀히 감정 후 사용하였다.

2.2 추출 및 시료

구입한 각 시료를 40°C에서 열풍 건조 후 상기에서 수득한 건조된 원료(1kg) 질량의 3배(v/w)에 해당하는 100% 에틸알콜을 가하여 50°C에서 48시간 추출 후 여과하고 이를 감압 농축한 후, 동결 건조하여 실험의 시료로 사용하였으며 각 sample 2g을 60% ethanol 15ml에 녹여

150mg/ml의 농도로 만들어 2°C 이하에서 냉장 보관 후 사용하였다.

대조군으로 Metronidazol (50mg/ml,CJ), Amoxicillin sodium (150mg/ml,일동제약), 시판 주사제를 희석이나 농도 조절 없이 그대로 사용하였다.

2.3 헬리코박터(*H. pylori*) 배양

H. pylori Sydney strain(SS1-Passed-4') 균주를 경상대학교 헬리코박터 균주은행으로부터 분양 받아 10% horse serum이 첨가된 Brucella Broth(BD, USA) 한천배지에 접종 후, 10% CO₂ 및 100% 습도가 유지되는 37°C incubator에서 배양한후 매 실험마다 1일간(24h)배양된 *H. pylori*를 1.0×10⁶ colony-forming unit(CFU)의 균수를 실험에 사용하였으며 매 실험 시 현미경으로 검경하여 오염의 여부를 확인하였다.

2.4 Paper Disc Diffusion

H. pylori 균주를 10% horse serum이 첨가된 브루셀라한천 배지 플레이트에 1.0×10⁶ colony-forming unit(CFU)의 균수를 도말(streak)하고 멸균된 종이디스크(지름0.8 mm)에 50μL씩 3회 흡수시킨 후 건조하여 디스크에 배치 한 후 10% CO₂, 100% 습도가 유지되는 항온기에서 48h 배양한 후 Imag J 프로그램을 이용하여 clear zone의 면적과 Paper Disc 면적을 측정하여 총면적에서 Paper Disc면적을 제외한 값을 비교하여 면적이 넓을수록 *H. pylori*에 대한억제력이 우수한 것으로 평가 하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 32종 약용식물의 *H. pylori*에 대한 항균효과

48시간 배양에서 32종 약용식물의 *H. pylori*에 대한 항균효과는 Table 1, Fig. 1과 같다.

*Melia azed-arach var.japonica Makino*가 372.90mm로 항균력이 가장 높았으며 그 다음으로 *Melaphis chinensis* (Bell) Baker가 358.30mm, *Artemisia annua L* 348.32mm², *Prunus mume Sieb. et Zucc.* 326.12mm², *Raphanus sativus var. hortensis for. acanthiformis MAKINO* 324.39mm², *Eugenia caryophyllata Thunb.(Merr. et Perry)* 292.63mm, *Ulmus davidiana*

planchon var. japonica Nakai 289.43mm², *Cinnamomum cassia* 262.13mm², *Brassica oleracea var. capitata* 247.40mm², *Solanum tuberosum* 239.02mm²순으로 나타났다.

특히 고련피 *Melialez edarach*는 청열조습(淸熱燥濕) 범주에 속하며 항균의 효과가 그리 크지 않은 것으로 보고 되고 있으나, 세균성, 진균성 및 기생충성 질환의 치료제로 사용하여 왔다[17]. 특히 고련피의 성분에는 toosendanin, triterpenes, kulinone, mersosin, fraxinellone gedunin 등이 있어 살충, 항원충효과가 탁월하여 항균 및 방충작용물의 필수 약재로 보고되고 있다[18]. 또한 오매자 *Melaphis chinensis* (Bell) Baker는 열수추출물과 에탄올 추출물이 구강미생물에 항균효과가 있으며[19], 그 외의 항균활성이 뛰어난 것으로 보고 되고 있다[20,21]. 오매 *Prunus mume* Sieb. et Zucc.는 인플렌자바이러스 억제와 항균효과가 강하며[22], 계피 *Cinnamomum cassia* 항균활성에 대한 연구도 보고 되고 있다[23].

Table 1. Antibacterial effect of 32 medicinal plants extracts as clear zone of inhibition (mm²) against *H. pylori* by paper disk diffusion methods for 48h

No.	Name	clear zone of inhibition(mm ²)
1	<i>Solanum tuberosum</i>	239.02
2	<i>Brassica oleracea var. capitata</i>	247.40
3	<i>Raphanus sativus var. hortensis for. acanthiformis</i> MAKINO	324.39
4	<i>Teucrium veronicoides</i>	176.05
5	<i>Camellia sinensis O.Kuntze</i>	155.40
6	<i>B. vulgaris var. rubra</i> D.C. non L.	120.67
7	<i>Daucus carota var. sativa</i>	177.96
8	<i>Brassica oleracea var. italica</i>	191.64
9	<i>Raphanus sativus L.(Leaves)</i>	147.33
10	<i>Lentinula edodes</i>	182.36
11	<i>Angelica keiskei</i>	192.28
12	<i>Arctium lappa</i>	197.73
13	<i>Cucurbita maxima</i>	154.46
14	<i>Brassica oleracea var. acephala</i>	105.88
15	<i>Rheum coreanum</i> NaKai	231.94
16	<i>Melia azedarach</i> L.	79.58
17	<i>Boswellia carterii</i> Birdw.	153.06
18	<i>commiphora myrrh</i>	132.91
19	<i>Artemisia capillaris</i>	171.81
20	<i>Melia azed-arach var. japonica</i> Makino	372.90
21	<i>Perilla frutescens</i> BRIT. var. <i>crispa</i> DECNE	218.62
22	<i>Jeffersonia dubia</i>	187.31
23	<i>Melaphis chinensis</i> (Bell) Baker	358.30
24	<i>Artemisia annua</i> L.	348.32
25	<i>Machilus thunbergii</i>	293.52

26	<i>Portulaca oleracea</i> L.	235.60
27	<i>Morus alba</i> L.	227.64
28	<i>Eugenia caryophyllata</i> Thunb.(Merr. et Perry)	292.63
29	<i>Prunus mume</i> Sieb. et Zucc.	326.12
30	<i>Ulmus davidiana planchon var. japonica</i> Nakai	289.43
31	<i>Cinnamomum cassia</i>	262.13
32	<i>Sanguisorba officinalis</i> L.	213.84

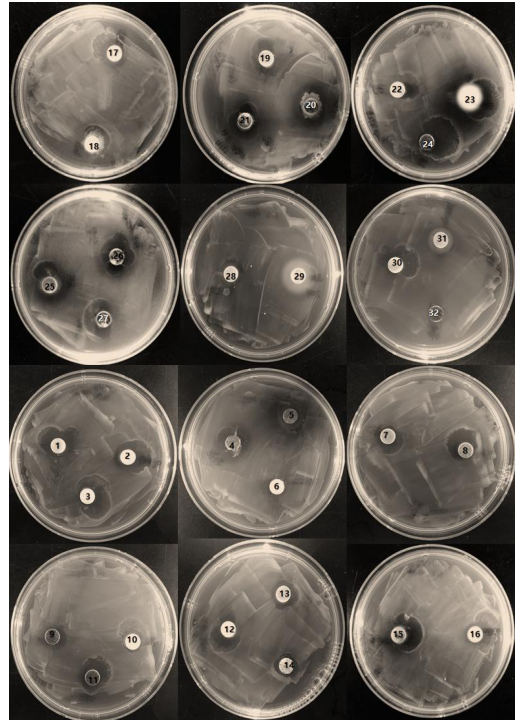


Fig. 1. Antibacterial effect of 32 medicinal plants extracts as clear zone of inhibition (mm²) against *H. pylori* by paper disk diffusion methods for 48h.

3.2 항균제의 항균효과

일반적으로 *H. pylori*에 대한 제균요법은 proton pump inhibitor, amoxicillin, clarithromycin 조합의 3제를 1주에서 2주 정도 투여하고 1차 치료가 실패하면 proton pump inhibitor, bismuth, metronidazole 및 tetracycline 조합의 4제로 2차 치료를 한다[24].

대조군으로 사용한 Amoxicillin sodium (150mg/ml, 일동제약)은 97.65mm²로 *Melia azedarach* L.79.58mm²보다 약간 높았으나 약제내성에 의해 유의할만한 억제력이 나타나지 않았으며, Metronidazol (50mg/ml, CJ)은 503.29mm²로 나타났으며 Table 2와 같다. Amoxicillin

내성은 penicillin binding proteins (PBPs)의 변이 또는 beta-lactamase라는 효소에 의해서 나타난다. 국내 보고에 따르면 amoxicillin 내성균 연구에서 *pbp1A* 유전자 돌연변이가 *H. pylori*의 amoxicillin 내성 발현에 기여한다고 보고하고 있다[25].

Table 2. Antibacterial effect of Antibiotics as clear zone of inhibition (mm²) against *H. pylori* by paper disk diffusion methods for 48h.

Antibiotics	clear zone of inhibition (mm ²)
Amoxicillin (AMX)	97.65
Metronidazol (MTZ)	503.29

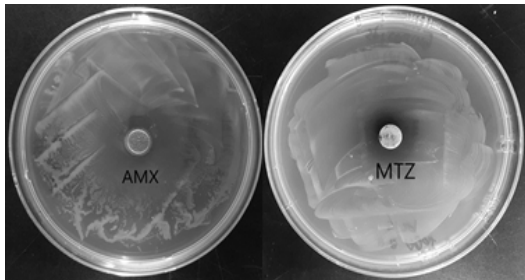


Fig. 2. Antibacterial effect of 32 Antibiotics as clear zone of inhibition (mm²) against *H. pylori* by paper disk diffusion methods for 48h.

4. 결론

32종의 약용식물의 *H. pylori*에 대한 항균 효과를 연구한 결과 *Melia azed-arach var. japonica Makino*가 372.90mm로 항균력이 가장 높았으며 그 다음으로 *Melaphis chinensis* (Bell) Baker가 358.30mm, *Artemisia annua L.* 348.32mm로 MTZ의 억제력 503.29mm에 비해 74.09%, 71.11%, 69.20%의 *H. pylori*의 억제력을 보여주었다. 특히 AMX는 *H. pylori* 억제력이 내성에 의해 거의 나타나지 않았다. *H. pylori*를 억제하는 제균요법이 항생제와 같은 전문의약품에 의존하고 있는 시점에서 약용식물을 이용한 건강식품을 통하여 *H. pylori* 억제 소재로서 개발 가치가 있으며, 좀 더 심도 있는 연구가 이어져야 한다고 사료된다.

REFERENCES

- [1] J. Parsonnet, G. D. Friedman, D. P. Vandersteen, Y. Chang, J. H. Vogelmann, N. Orentreich & R. K. Sibley. (1991). *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma, *New England Journal of Medicine*, 325(16), 1127-1131.
- [2] H. A. Lee, S. Hong, H. G. Oh, S. H. Park, Y. C. Kim, G. S. Jeong & O. Kim. (2010). In vitro and in vivo Antibacterial Activities of Cinnamomum cassia Extracts Against *Helicobacter pylori* *Laboratory Animal Research*, 26(1), 21-29.
- [3] A. Morris & G. Nicholson. (1987). Ingestion of *Campylobacter pylori* did caused gastritis and raised fasting gastric pH *Am. J. Gastroenterol.*, 82, 192-199.
- [4] J. B. Park, C. K. Lee & H. J. Park. (1997). Anti-*Helicobacter pylori* effect of costatolide isolated from the stem bark of *Magnolia Diebold's*. *Archives of Pharmacol Research*, 20(3), 275-279.
- [5] S. K. Lam & N. J. Talley. (1998). Report of the 1997 Asia Pacific Consensus Conference on the management of *Helicobacter pylori* infection. *J. Gastroenterol Hepatol*, 13(1), 12 .
- [6] R. Williamson, G. A. Pipkin & J. R. Wood. (2009). New options in *Helicobacter pylori* eradication: efficacy resistance and synergy. *Scand. J. Gastroenterol. Suppl*, 33, 36-40
- [7] C. McNulty, R. Owen, D. Tompkins, P. Hawtin, K. McColl, A. Price & L. Teare. (2002). *Helicobacter pylori* susceptibility testing by disc diffusion. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49(4), 601-609.
- [8] B. J. Eagan, L. Marzio, H. O'Connor & C. H. O'Morain. (2008). Treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter Suppl*. 13.
- [9] J. H. Lee, J. G. Sim & J. S. Park. (2015). Anti-*Helicobacter pylori* effects of common vegetable ethanol extracts by disc diffusion method. *International Journal of Applied Engineering Research*, 10, 669-671
- [10] M. Romano, M. R. Iovene, M. I. Russo, A. R. Salerno, D. Cozzolino, A. Pilloni, M. Tufan, A. Rocco, D. Vaira & G. Nardone. (2008). Failure of first-line eradication treatment significantly increases prevalence of antimicrobial resistant *Helicobacter pylori*. *clinical isolates, J. Clin. Pathol*, 61(10), 112-1115.
- [11] F.]. Megraud. (2004). *H. pylori* antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. *Gut*, 53(9), 1374-1384.
- [12] L. Cellini, E. Di Campli, M. Masulli, Di S. Bartolomeo

& N. Allocati. (1996). Inhibition of Helicobacter pylori by garlic extract (*Allium sativum*). *FEMS Immuno. Med. Microbiol.* 13(4), 1564-1605.

[13] G. P. Sivam. (2001). Protection against Helicobacter pylori and other bacterial infections by garlic. *The Journal of Nutrition*, 131(3), 1106-1108.

[14] H. A. Lee & O. K. Kim. (2013). Study on the antimicrobial activities of herbal extracts against Helicobacter pylori. *Kor. J. Vet. Res.* 53(11) 7123.

[15] F. Ma, Y. Chen, J. Li, H. P. Qing, J. D. Wang, Y. L. Zhang, B. G. Long & Y. Bai. (2010). *World J. gastroenterol.* 285629563410.3748 /wjg.v16.i44.5629 .

[16] C. A. González, G. Pera, A. Agudo, Buen H. B. Mesquita, M. Ceruti, H. Boeing & E. Riboli. (2006). Fruit and vegetable intake and the risk of stomach and oesophagus adenocarcinoma in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC - EURGAST). *International journal of cancer*, 118(10), 2559-2566.

[17] J. B. Hibbs, Z. T. Vavrin & R. R. aintor. (1987). Macrophage cytotoxicity: Role for L- arginine deaminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. *Science* 157, 87-94.

[18] O. Z. Li, X. T. Shi, Z. H. Xu, G. Z. Sun & B. Y. Qin. (1982). Pharmacological and toxicological studies on toosedanin. *Chin T rad Herb Drug*, 13, 29-32.

[19] B. I. Park, W. C. Jung, S. J. You, C. W. Lee, J. S. Kim, S. Y. An, B. H. Jeon, Y. O. You & K. J. Kim. (2015). Inhibitory Effects of Galla Chinensis Extract on Cariogenic Properties of Streptococcus mutans. *Journal of physiology & pathology in Korean Medicine*, 29(2), 189-194.

[20] B. J. An, A. R. Son & J. T. Lee. (1999). Studies on the Antimicrobial Activity of Extracts of Korean Medicinal Plants. *J. Life Resources & Industry*, 4, 146-58.

[21] M. C. Lee, G. P. Kim, S. H. Kim, N. H. Choung & M. H. Yim. (1997). Antimicrobial Activity of Extract from Gall-nut and Red-grape Husk. *Korean J Food& Nutr*, 10(2), 174-179.

[22] S. Nongluk & S. Yasuo. (2012). Japanese Apricot: a Natural Source for Anti-Helicobacter pylori, Anti-hyperglycemic and Anti-influenza Virus Agents *Food science and industry*, 45(2), 20 - 28.

[23] M. Tabak, R. Armon & I Neeman. (1999). Cinnamon extracts inhibitory effect on Helicobacter pylori. *J. ethnopharmacol.* 67(3), 269-277.

[24] G. D. Bell, C. M. Bate, A. T. Axon, G. Tildesley, G. D. Kerr, J. R. Green, C. E. Emmas & M. D. Taylor. (1995).

Addition of metronidazole to omeprazole/amoxicillin dual therapy increases the rate of Helicobacter pylori eradication: a double-blind, randomized trial. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 1365-2036.

[25] J. M. Kim, J. S. Kim, N. Kim, S. G. Kim, H. C. Jung & I. S. Song. (2006). Comparison of primary and secondary antimicrobial minimum inhibitory concentrations for Helicobacter pylori isolated from Korean patients. *Int J Antimicrob Agents* 28, 6-13.

이 재 혁 (Lee, Jae Hyeok) [정회원]



- 1989년 2월 : 우석대학교 약학과 (약학석사)
- 2005년 2월 : 우석대학교 약학과 (약학박사)
- 2005년 3월 : 남부대학교 한방제약 개발학과 교수
- 2018년 3월 ~ 현재 : 남부대학교 응급구조학과 교수
- 관심분야 : 생약학, 약물학
- E-Mail : jhlee@nambu.ac.kr

김 정 숙 (Kim, Jeong Suk) [정회원]



- 2009년 2월 : 전남대학교 간호학과 (간호학석사)
- 2012년 2월 : 전남대학교 간호학과 (간호학박사수료)
- 2016년 3월 ~ 현재 : 남부대학교 간호학과 조교수
- 관심분야 : 만성질환, 지역사회정신보건, 정신건강
- E-Mail : fshiche79@nambu.ac.kr

박 정 숙 (Park, Jeong Sook) [정회원]



- 1996년 2월 : 원광대학교 약학과 (약학석사)
- 2002년 2월 : 원광대학교 약학과 (약학박사)
- 2006년 3월 : 남부대학교 대체의학 과교수
- 2014년 9월 ~ 현재 : 남부대학교 간호학과교수
- 관심분야 : 생약학, 대체의학
- E-Mail : pk0207@nambu.ac.kr