사상체질의학회지 2004;16(3):85-95
J of Sasang Constitutional Medicine
Vol. 16, No. 3, 2004;85-95
http://www.esasang.com

Allergy 비염 환자에서 분리된 *Klebsiella pneumoniae* 289에 대한 少陰人 補中益氣湯, 藿香正氣散 및 芎歸香蘇散의 항균효과

서지용·서은희·박석준·구덕모

대구한의대학교 한의과대학 사상체질과

Abstract

The Antimicrobial Activity of Bojungikgi-tang, Gwakhyangjeonggi-san, and Gunggwihyangso-san to *Klebsiella pneumoniae* 289 extracted from Allergic Rhinitis Patients

Suh Ji-Yong, Seo Eun-Hee, Park Suk-Joon, Goo Deok-Mo

Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Haany Univ.

1. Objectives

Although the incidence of allergic rhinitis is increasing continually, Sasang Constitutional Medicine is showing favorable treatment outcomes. This study was aimed to test the antimicrobial effects of Bojungikgi-tang, Gwakhyangjeonggi-san, and Gunggwihyangso-san which are being applied to allergic rhinitis of Soeumin.

2. Methods

Klebsiella pneumoniae 289 was extracted from allergic rhinitis patients. Bojungikgi-tang, Gwakhyangjeonggi-san, and Gunggwihyangso-san were boiled down and concentrated, and the substances obtained were tested for the effects on stability to temperature and pH and on antimicrobial activity

3. Results

When measured the level of antimicrobial activity, the inhibition zones of Bojungikgi-tang, Gwakhyangjeonggi-san, and Gunggwihyangso-san were found 11.42, 11.07, and 10.63mm, respectively. The levels of MIC were 15 ㎕, 20 ㎕, and 10 ㎕ in that order.

The antimicrobial activities were increased 13.88% in Bojungikgi-tang, 16.63% in Gwakhyangjeonggi-san, and 10.72% in Gunggwihyangso-san. There was no influence of pH to antimicrobial activity of all three substances.

4. Conclusions

Bojungikgi-tang, Gwakhyangjeonggi-san, and Gunggwihyangso-san had a high level of antimicrobial activity to *Klebsiella pneumoniae* 289 even at a low concentration.

Key Words: Allergic rhinitis, *Klebsiella pneumoniae*, Bojungikgi-tang, Gwakhyangjeonggi-san, Gunggwihyangso-san

I. 서 론

알러지비염은 매년 증가하는 추세를 보이고 있으나 서양의학적인 접근이 한계에 직면함에 따라 근래에는 扶正祛邪라는 한의학적인 치료 방법이 알러지 질환 치료에 시도되고 있으며 또한 체질과의 관련성을 중요하게 생각하는 경향이 높아지고 있다[1].

한의학에서는 肺는 鼻를 주관하는 것으로서 肺가 外感六淫, 특히 風寒에 傷하면 鼻塞, 聲重, 流涕, 噴嚔의 증상이 발생하며 內鬱七情으로 臟腑氣血에 영향을 미쳤을 때도 역시 그와 같은 증상이 발생한다고 본다[2]. 유[3]는 噴嚔의 원인을 心火와 邪熱이

·접수일 2004년 10월 25일; 승인일 2004년 12월 3일
·교신저자 : 구덕모
경북 포항시 남구 대잠동 907-8번지 대구한의대부속 포항한방병원 사상체질의학과
Tel : +82-54-281-0055, Fax : +82-54-281-7464
E-mail : dolee999@yahoo.co.kr

www.kci.go.kr

陽明經에 침범하여 발생한다고 하여 그 원인으로 火를 위주로 설명하고 있다.

鼻塞이나 鼻流淸涕에 관해서는 『東醫寶鑑』[4]에 "鼻鼽者 鼻流淸涕也 傷風卽 快然鼻流淸涕者屬肺寒也"라 하고 "鼻塞皆屬肺 寒傷皮毛卽鼻塞不利 火鬱淸道卽香臭不和"라 하여 알러지성 비염의 주요한 원인이 風寒이며 肺가 風寒에 傷하면 鼻塞, 聲重, 流涕, 噴嚔 등의 증상이 발생한다고 보고 있다[5]. 治方에 있어서는 通關散[6], 加味通竅湯[7], 荊芥連翹湯 加味[8] 등이 알러지성 비염에 유효한 효과가 있다고 보고되고 있으며, 사상의학에서는 發散風寒하는 효능이 뛰어난 藿香正氣散과 芎歸香蘇散이나 脾陽을 補하면서 氣를 돋우는 補中益氣湯을 많이 사용하고 있다.

*Klebsiella pneumoniae*는 1883년 Friedlander에 의해 pneumoniae환자에서 처음 분리되어 호흡기 계통 감염증의 원인균으로 주목되어 왔다. 토양, 식물, 물 등의 환경 요인으로부터 많이 감염되고 기회감염과 병원성 감염을 일으켜 요도염이나 bacteremia를 유발시킬 수 있다고 보고 되어 왔다[9]. *Klebsiella pneumoniae*(K. pneumoniae)는 정상인의 장관이나 호흡기에 정상 세균총으로 존재하며, 면역기능이 억제된 환자, 신생아, 노인에게서 병원내 감염이나 기회 감염을 일으키며 호흡기 감염과 요로 감염에서 흔히 분리되고 패혈증과 피부 감염에서 간혹 분리되는 균이다[10-12].

또한 현재 임상에서는 알러지 비염을 앓고 있는 환자들 중에서도 이 *K. pneumoniae*균이 분리되는 경우가 많다.

이에 저자는 비염환자에게서 분리 동정한 *K. pneumoniae*289에 대한 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散의 항균활성에 대한 연구결과를 보고하고자 한다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 사용약재의 구성

少陰人 補中益氣湯, 少陰人 藿香正氣散, 少陰人 芎歸香蘇散은 이제마의 『東醫壽世保元』「新定 少陰人病 應用要藥 二十四方」에 수록되어 있으며 그 내용과 분량은 Table 1, Table 2, Table 3과 같다.

Table 1. Composition of Bojungikgi-tang

韓藥名	生藥名	重量
藿香	*Agastachis Herba*	6g
蘇葉	*Perillae Herba*	4g
蒼朮	*Atractylodis Rhizoma*	2g
白朮	*Atractylodis Rhizoma Alba*	2g
半夏	*Pinelliae Tuber*	2g
陳皮	*Aurantii Nobilis Pericarpium*	2g
靑皮	*Aurantii Immatri Pericarpium*	2g
大腹皮	*Arecae Pericarpium*	2g
桂皮	*Cinnamomi Cortex*	2g
乾薑	*Zingiberis Rhizoma*	2g
益智仁	*Alpiniae Fructus*	2g
甘草	*Glycyrrhizae Radix*	2g
生薑	*Zingiberis Rhizoma*	4g
大棗	*Zizyphi Fructus*	2g
合計		36g

Table 2. Composition of Gwakhyangjeonggi-san

韓藥名	生藥名	重量
人蔘	*Ginseng Radix*	12g
黃芪	*Astragali Radix*	12g
白朮	*Atractylodis Rhizoma Alba*	4g
當歸	*Angelicae Gigantis Radix*	4g
陳皮	*Aurantii Nobilis Pericarpium*	4g
甘草	*Glycyrrhizae Radix*	4g
藿香	*Agastachis Herba*	2g
蘇葉	*Perillae Herba*	2g
生薑	*Zingiberis Rhizoma*	4g
大棗	*Zizyphi Fructus*	2g
合計		50g

Table 3. Composition of Gunggwihyangso-san

韓藥名	生藥名	重量
香附子	*Cyperi Rhizoma*	8g
紫蘇葉	*Perillae Herba*	4g
川芎	*Cnidii Rhizoma*	4g
當歸	*Angelicae Gigantis Radix*	4g
蒼朮	*Atractylodis Rhizoma*	4g
陳皮	*Aurantii Nobilis Pericarpium*	4g
甘草	*Glycyrrhizae Radix*	4g
生薑	*Zingiberis Rhizoma*	4g
大棗	*Zizyphi Fructus*	2g
蔥白	*Allii Radix*	6g
合計		44g

2. 시료의 제조

시료는 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散을 사용하였다. 항균활성 측정을 위한 약물은 다음과 같이 제조하였다.

증류수 1ℓ에 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香

www.kci.go.kr

蘇散 각각을 2첩 분량씩 넣고 대웅약탕기로 2시간 30분간 추출한 후의 부피는 각각 220㎖, 190㎖, 250㎖였다. 추출액을 filter paper (whatman No.1 England)로 여과한 후 rotary vacuum evaporator (Büchi Rotavapor R-144, Büchi waterbath B480 Germany)에서 100㎖로 농축하여 냉동실과 냉장실에 보관하면서 항균 활성을 측정하는 시료로 사용하였다. 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散의 시료제조 후의 pH는 補中益氣湯 5.21, 藿香正氣散 5.17, 芎歸香蘇散 5.29로 나타났다. 시료제조 후의 pH를 측정한 것은 pH가 항균 활성과 관계가 있는가를 알아보기 위해서였다.

3. 사용균주

실험에 사용한 균주는 2001년 1월부터 2002년 1월까지 대구한의대학교 부속 한방병원에 내원한 알레르기성 비염 환자의 병소 부위를 면봉으로 도말하여 샘플을 수집하여 *Klebsiella pneumoniae*289로 순수분리 동정된 균주를 사용하였다.

4. 균주보관

순수분리된 *Klebsiella pneumoniae*289는 Brain Heart infusion agar plate에 접종하여 37℃ incubator에서 24시간 배양한 다음 냉장고에 보관하면서 실험에 사용하였으며 2일에 한번씩 새로운 Brain Heart infusion agar plate에 계대하였다.

5. *Klebsiella pneumoniae*289 분리 및 동정

가검물로부터 *Klebsiella pneumoniae*289에 대한 동정은 다음과 같다.

균의 분리를 위해 멸균 면봉으로 채취한 검체를 MacConkey agar 배지에 도말한 다음 37℃ incubator에서 24시간 배양 후 배지에서 생성된 집락을 관찰하여 윤택이 있는 점액성 집락만을 취한 후 Ewing's[13]의 분류기준에 따라 동정하였다. 선택된 집락을 Brain heart infusion agar에 접종용 loop로 획선하고 37℃에서 24시간 배양하여 TSI agar에서 A/AG를 확인하고 Voges proskauer test[14], citrate test[14], Indole test[14], urea test[14], motility test[14]를 하여 위의 여러 가지 결과를 종합하여 동정하였다. 증균용 배지로는 Brain Heart Infusion agar를 사용하여 37℃에서 배양하였다.

6. *Klebsiella pneumoniae*289의 Growth curve

500㎖의 삼각 플라스크에 Tryptic soy broth배지를 100㎖ 넣고 고압증기 멸균한 다음, 40℃ 이하로 식혀서 전 배양해 놓은 *Klebsiella pneumoniae*289를 1cc 접종하여 37℃ Shaking incubator(150rpm, LABTECH, KOREA)에서 배양하면서 시간대별로 660nm에서 O.D를 spectrophotometer로(UV-1601, UV-visible Spectrophotometer Shimadzu, Japan) 측정하여 *Klebsiella pneumoniae*289의 성장 곡선을 확인하였다.

7. *Klebsiella pneumoniae*289의 optimum PH

tryptic soy broth 배지를 각각 pH 5, 7, 9, 10으로 조정한 다음 100㎖ 삼각플라스크에 20㎖씩 배지를 분주한 후 고압증기 멸균하여 40℃이하로 식힌 다음 전 배양한 균체를 0.2cc 접종하여 37℃ shaking incubator에서 24시간 배양한 후 spectrophotometer로 660nm에서 O.D를 측정하였다.

8. *Klebsiella pneumoniae*289의 optimum Temperature

tryptic soy broth 배지를 만든 다음 100㎖ 삼각플라스크에 배지를 20㎖씩 분주하여 고압증기 멸균한 후 40℃이하로 식힌 다음 전 배양한 균체를 0.2cc 접종하여 27℃, 30℃, 37℃, 45℃ shaking incubator에서 24시간 배양한 후 spectrophotometer로 660nm에서 O.D를 측정하였다.

9. 항균활성측정

補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散의 *Klebsiella pneumoniae*289에 대한 항균활성 측정은 Zaika의 방법[15]과 NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard)의 방법[16]을 약간 변형하여 사용하였다. 방법은 한천 배지 확산법 (disc-agar plate diffusion method)으로 하였다. 먼저 Brain Heart Infusion agar plate에 보관중인 *Klebsiella pneumoniae*289의 전배양액을 제조한다. 전 배양액을 만들 때 사용되는 배지는 Mueller-Hinton broth(Difco Lab., Michigan) 이다.

MacFarland tube No. 0.5 의 탁도로 맞춘 *Klebsiella pneumoniae*289 균액을 멸균된 면봉으로 빈틈없이 Mueller-Hinton agar plate에 접종한 다음 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散을 각각 60㎕씩 loading해서 미리 만들어서 건조시켜 놓은 paper disc (ø8mm, D0910606 Toyo Roshi kaisha, Ltd. Japan)를 *Klebsiella pneumoniae*289가 접종된 고체 배지 위에 올려 놓고 37℃에서 20시간 배양하여 paper disc 주위에 형성된 생육저해환(inhibition zone)을 Autocaliper

www.kci.go.kr

(CD-20CP, Absolute Digimatic Mitutoyo Corp, Japan)로 측정하였다. 즉 inhibiton zone의 직경을 mm 단위로 측정하여 항균력을 비교하였다.

항균활성을 측정한 결과 나타난 inhibition zone은 10회 이상 실험하여 얻은 평균치로 나타낸 것이다.

10. 추출물의 MIC 검색

Minimal Inhibitory concertration (MIC)측정은 한약재 추출물을 고압증기 멸균하여 제균시킨 후 전배양한 배양액으로부터 10㎖의 Mueller Hinton broth(Difco. Co., USA)를 함유하는 시험관에 105 CFU/㎖ 의 농도로 분주하였고 각각 적당량 농도(5, 10, 15, 20, 25, 30㎕)의 한약 추출물을 넣은 후 37℃에서 24시간 배양하여 탁도를 나타내지 않는 최소저해농도를 MIC로 나타내었다[17].

11. 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散의 熱에 대한 안전성 조사

補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散 두첩 분량을 증류수 1ℓ와 혼합하여 대웅약탕기에서 2시간 30분동안 추출한 다음 100㎖로 농축한 것과 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散 두첩분량을 증류수 1ℓ와 혼합하여 121℃, 1.5기압에서 15분 동안 고압증기 멸균하여 100㎖로 농축한 것 두가지를 비교하여 inhibition zone의 크기를 비교하였다. inhibition zone의 크기를 측정할 때 disc paper에 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散 추출물을 60㎕씩 loading 하였다.

12. 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散의 pH 안정성 조사

補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散 두첩 분량을 증류수 1ℓ와 혼합하여 대웅약탕기에서 2시간 30분 동안 추출한 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散 추출물을 염산이나 수산화나트륨으로 pH를 1-13까지 조절한 후 상온에서 1시간 방치한 다음, 다시 최적 pH인 7로 중화시켜서 inhibition zone의 크기를 생육저해환을 측정하여 비교하였다. inhibition zone의 크기를 측정할 때 disc paper에 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散 추출물을 60㎕씩 loading하였다.

13. 한약제제처리와 *Klebsiella pneumoniae*289 생존율과의 관계

Tryptic soy broth를 pH 7.0으로 맞추어 배지를 만든 다음 100㎖ 삼각플라스크에 배지를 20㎖씩 분주하여 고압증기멸균한후 40℃ 이하로 배지를 식힌 후 전 배양한 균체를 0.2cc접종하여 37℃에서 24시간 배양한 균체에 한약제제를 농도별로 첨가하고 pH와 온도도 일정범위에서 조절한 다음 시간의 경과에 따른 생존 균수를 측정하였다. 생균수 측정은 균체액을 적당히 희석한후 0.1㎖씩을 취하여 spread plate method[18]를 약간 변형하여 생존균수를 구하였다.

Ⅲ. 실험 성적

1. 균주의 특성과 동정

*Klebsiella pneumoniae*289는 MacConkey agar에 선상도말하여 20시간 배양한 후 관찰하면 colony의 중앙부분은 lactose를 분해하여 선명한 붉은 색을 나타내지만 주변은 lactose 분해가 늦어 투명한 동심원을 형성하였다. 분리한 균주는 생화학적 검사를 실시한 결과 urea test는 positive, indole test는 negative, citrate test는 positive, Voges proskauer test는 positive였으며 motility는 negative로 나타났다. 생물화학적 감별 배지의 성상에 있어서는 TSI agar 배지에 *Klebsiella pneumoniae*를 접종하였더니 A/AG로 나타났다. 즉 gas가 생성되었으며 산도 생성되어서 사면배지가 갈라지고 밀려서 올라가는 현상이 생겼다. 폐렴간균은 혈액한천상이든 MacConkey 배지상이든 꽤 큰 점질성 집락으로 나타나며 광택이 나타난다. *K. pneumoniae*의 접근성 시험을 하면 즉 점질성 있는 폐렴간균 집락을 loop로 떠올리면 실같이 딸려온다.

위의 여러가지 생화학적 방법에 의해 동정된 *Klebsiella pneumoniae*289를 API kit를 사용하여 재차 확인하였다.

2. *Klebsiella pneumoniae*289의 Growth curve

*Klebsiella pneumoniae*289의 Growth curve는 배양시간이 45시간이상 경과하여도 O.D가 급격하게 감소하지는 않았으며 *Klebsiella pneumoniae*289는 20시간 가까이 배양하면 log phase에 도달하는 것으로 나타났다(Figure 1).

www.kci.go.kr

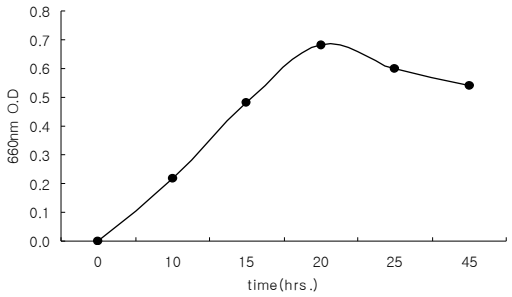

Figure 1. Time Course of Selected *Klebsiella pneumoniae*289

3. *Klebsiella pneumoniae*289의 optimum pH

분리된 *Klebsiella pneumoniae*289의 최적 pH는 Figure 2와 같이 pH 7로 나타났다.

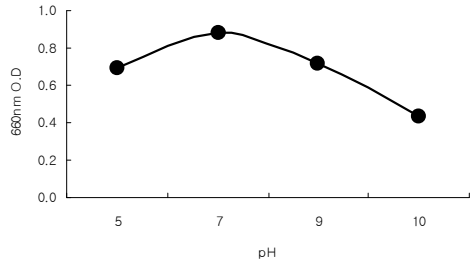

Figure 2. Optimum pH of Isolated *Klebsiella pneumoniae*289

4. *Klebsiella pneumoniae*289의 optimum Temperature

분리된 *Klebsiella pneumoniae*289는 37℃에서 최적의 성장을 보여주었고 45℃ 에서보다는 27℃에서 균체 성장량이 많은 것으로 나타났다(Figure 3).

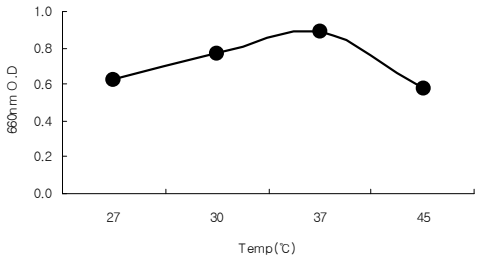

Figure 3. Optimum Temperature of Isolated *Klebsiella pneumoniae*289

5. 항균활성 측정

항균활성을 측정한 결과 inhibition zone의 크기는 보중익기탕은 11.42mm, 곽향정기산 11.07mm, 궁귀향소산 10.63mm로 나타났다.

Table 4. Antimicrobial Activities of Extracts from Bojungikgi-tang, Gwakhyangjeonggi-san, Gunggwihyangso-san against *Klebsiella pneumoniae*289

Extract	Inhibition zone(mm)
補中益氣湯	11.42 ± 0.008165
藿香正氣散	11.07 ± 0.008165
芎歸香蘇散	10.63 ± 0.008165

6. 추출물의 MIC(Minimal Inhibitory Concentration)

Table 7은 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散의 MIC를 나타내었으며 *Klebsiella pneumoniae*289에 대한 MIC가 15, 20, 10㎕로 나타났다.

항생제에 대한 세균의 감수성 측정에 가장 널리 사용되는 것은 MIC(Minimum inhibitory concentration)이다[19].

Table 5. Minimum Inhibitory Concentration of Bojungikgit-ang, Gwakhyangjeonggi-san, Gunggwihyangso-san against *Klebsiella pneumoniae*289

extracts	MIC(㎕)
補中益氣湯	15 ± 0.816497
藿香正氣散	20 ± 0.707107
芎歸香蘇散	10 ± 0.816497

7. 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散의 熱에 대한 안정성 조사

補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散을 대웅제약 약탕기에 추출하여 농축시킨 것과 고압증기 멸균하여 농축시킨 것 두 가지를 비교하여 inhibition zone의 크기를 비교하였다. 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散의 inhibition zone은 대웅약탕기에서 2시간 30분간 추출한 것은 각각 11.51 ± 0.008165, 11.12 ± 0.008165, 10.82 ± 0.008165 mm로 나타났고, 121℃에서 15분간 추출한 것은 13.12 ± 0.008165, 12.97 ± 0.008165, 11.98 ± 0.008165 mm로 나타났다. 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散 모두 고압증기 멸균하여 농축시킨 것이 inhibition zone이 크게 나타난 것으로 보아 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散 추출물은 열에 매우 안정함을 알 수 있었다(Figure 4).

www.kci.go.kr

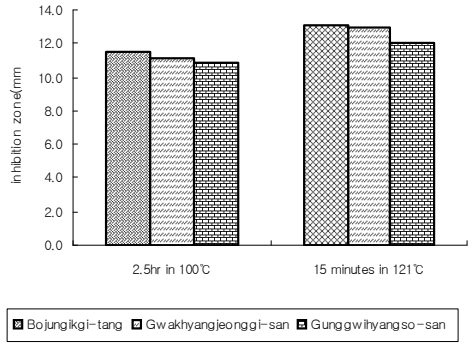

Figure 4. Effect of Heat Treatment on the Growth Inhibitory Activity of Bojungikgi-tang, Gwakhyangjeonggi-san, Gunggwihyangso-san for *Klebsiella pneumoniae*289

8. 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散의 pH 안정성 조사

대웅약탕기에서 추출한 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散의 pH 안정성을 조사한 결과 pH 1-13까지도 항균활성의 변화가 거의 없었다(Figure 5).

즉 inhibition zone 측정결과 pH에 따른 한약재의 항균력의 차이는 거의 없는 것으로 나타났으며 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散은 다양한 pH 범위에서 안정성이 있는 것으로 나타났다.

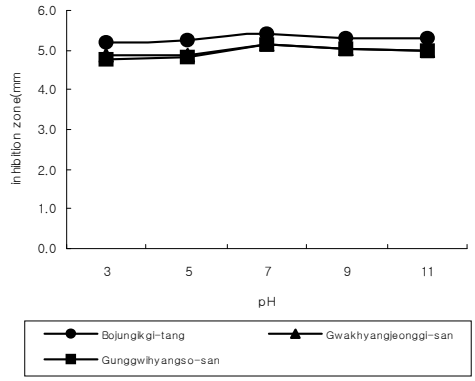

Figure 5. Effect of pH Treatment on the Growth Inhibitory Activity of Bojungikgitang, Gwakhyangjeonggisan, Gunggwihyangsosan for *Klebsiella pneumoniae*289

9. 한약제제 처리와 *Klebsiella pneumoniae*289 생존율과의 관계

균체 배양액에 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散을 첨가하였을때 시간이 지남에 따라 생존균수가 감소하는 것으로 나타났으며 농도가 5%일때 생존균수가 가장 작은 것으로 나타났다. 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散 모두 5% 농도에서는 50분이 경과하면 생균수가 관찰되지 않았다. 생존균수의 실험 결과는 inhibition znoe과 거의 일치하는 것으로 나타났다. 37℃에서는 20분 경과했을 때 芎歸香蘇散이 생존균수가 가장 많았으며 補中益氣湯이 생존균수가 가장 적었다. 45℃에서는 20분 경과했을 때 藿香正氣散이 생존균수가 가장 적었다.

한약제제의 농도가 높을수록 생존균수가 작은 것으로 나타났으며 37℃보다는 45℃에서 생존균수가 적게 나왔다(Figure 6,7,8).

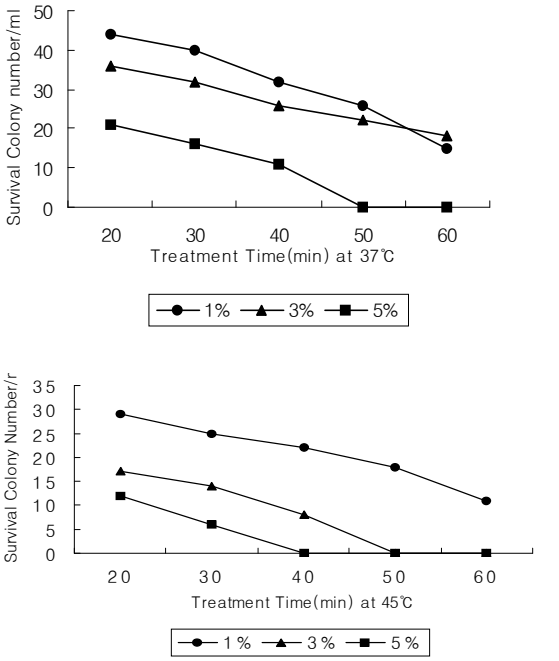

Figure 6. Survival Colony Number of *Klebsiella pneumoniae*289 Treated Bojungikgitang at 37℃ & 45℃

www.kci.go.kr

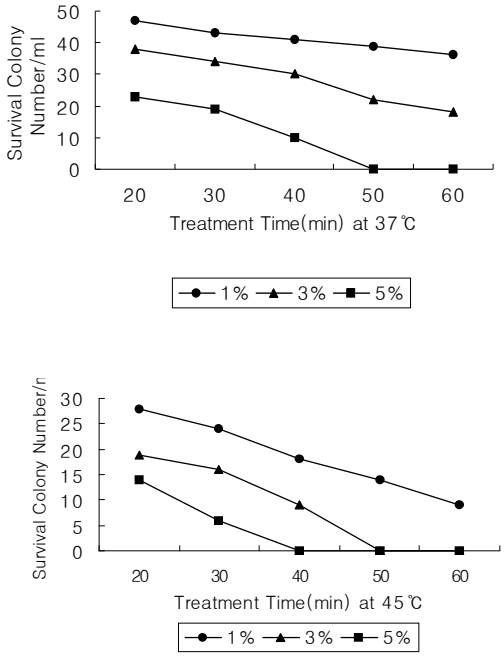

Figure 7. Survival Colony Number of *Klebsiella pneumoniae*289 Treated Gwakhyangjeonggi-san at 37℃ & 45℃

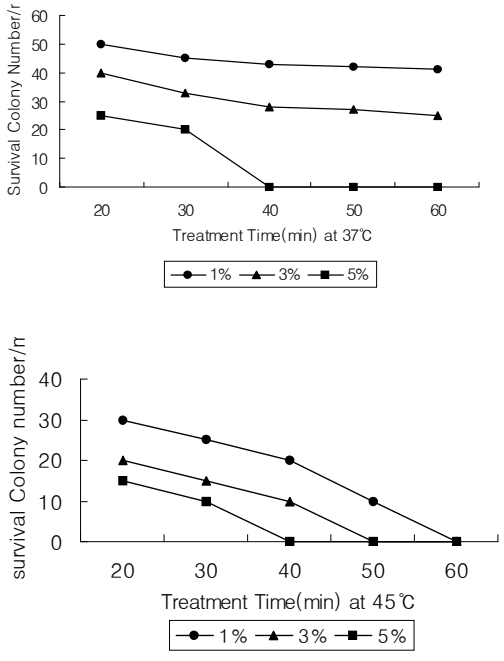

Figure 8. Survival Colony Number of *Klebsiella pneumoniae*289 Treated Gunggwihyangso-san at 37℃ & 45℃

Ⅳ. 고 찰

Klebsiella는 Gram음성간균으로 장내세균과의 Klebsiella 속에 속하며 직경은 0.3~1.0㎛, 길이는 0.6~6.0㎛이고, 편모나 포자 및 운동성이 없다. 균체 주위에 두꺼운 협막을 형성하며 일반적인 특성이나 분류학적인 체계는 krieg와 Holt[20], Ewing[13], Cowan과 Steel[21] 등에 의해서 비교적 잘 이루어져 있다. *Klebsiella pneumoniae*는 혈액환천상이든 Mac-Conkey 배지상이든 꽤 큰 점질성 집락으로 나타나며 광택이 나타난다. 이 점질성 있는 폐렴간균 집락을 loop로 떠올리면 실같이 딸려온다[22].

*Klebsiella pneumoniae*는 큰 다당체 협막을 가지고 있는 통성 형기성 그람음성 간균으로 비운동성이다. 서식처는 인체의 상부 호흡기계와 장관계이다. 세균은 상부 호흡기로 부터의 호흡 연무질의 흡입에 의해 폐로 감염된다. 이것은 분변 상재균의 상승 확산에 의해 비뇨기계로 감염된다[23]. *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*)는 1883년 Fredlander에 의해 pneumonia 환자에서 처음 분리되어 호흡기 계통 감염증의 원인균으로 주목되어 왔으며, 토양, 식물, 물 등의 환경요인으로부터 많이 감염되며, 면역력이 약해진 어린이나 노약자 또는 수술환자들에게 폐렴, 창상감염, 축농증, 중이염, 균혈증 등 중증 감염을 일으키는 기회 감염균이다[9]. 원내 감염에 관한 역학조사에서 환자 자신의 장내에 존재하던 K. pneumoniae에 의해 발생하며 병원체와 동일한 균주가 장내에 존재하는 경우가 많다고 Darfeuille-Michaud 등[24]은 보고하였다.

K. pneumoniae의 병원성 결정인자로 알려진 중요한 것은 지질다당질(LPS)과 협막다당체등 두가지인데 전자는 보체와 관련된 살균에 관계하고 후자는 탐식세포에 의한 탐식에 저항하는 역할에 관련한다[25]. 다약제 항균제의 내성에 관여하는 전달성 R plasmid와 장내상피세포와의 접합에 관여하는 각종 섬모와 비섬모성 부착소, 철흡수능과 관계된 iron chelator 생산능 등도 K. pneumoniae의 병원성 결정인자로 알려져 있다[26].

임상에서는 1980년대 이후 장내세균 중 Klebsiella와 Escherichia coli에서 plasmid 매개성 Extend-spectrum β-lactamase(ESBL) 생성 균주가 출현된 이후, 임상적으로 중요한 문제로 대두되고 있

www.kci.go.kr

으며[27,28] 최근 우리나라에서도 제3세대 cephalosporin 계열의 항균제에 내성인 Extend- spectrum β-lactamase(ESBL)생성 *Klebsiella pneumoniae*의 분리가 자주 보고되고 있어 임상적으로 그 중요성이 증대되고 있다[29,30]. 일반적으로 그람 음성세균에서 cephalospoin계 항균제에 대한 내성의 증가는 균의 외막에서의 투과성의 감소와 세포질막 주위공간에 존재하는 β-lactamase에 의한 β-lactam계 항생제의 가수분해에 의한다고 한다[31]. Lee 등[32]은 *Klebsiella pneumoniae*를 136균주를 분리하여 생화학적 특성과 항생물질 내성유형에 대하여 보고하였다.

한의학에서는 알러지의 원인을 外因(風, 寒, 濕, 熱 등)과 內因(脾虛, 肝旺, 血虛, 血熱 등)으로 나누어 치료한 반면, 사상의학에서는 알러지 질환에 대해 선천적으로 타고난 네 가지 체질을 바탕으로 각 체질의 결함상태, 즉 정기의 부족상태에서 먼지나 찬 공기 등의 유발요인이 과민반응을 일으킨다고 할 수 있다. 그러므로 사상의학에서는 체질에 따른 장부의 상호관계를 정상화시켜 균형을 회복하면 면역계의 다양성이 충분히 발휘되어 항병력을 증강시키고 病邪에 대항할 수 있다 하여 면역과 알러지 질환에 대한 치료의 근거를 제시하고 있다[33].

補中益氣湯은 A.D. 1232년 元代의 李東垣의 『東垣十種醫書』에 처음으로 수록된 처방으로 대개 飮食失節하고 損耗元氣하며 脾胃氣衰로 陽氣下陷한 증에 사용되는 처방으로 氣虛로 인한 諸疾患에 사용되고 있다[34]. 少陰人 補中益氣湯은 A.D. 1894년 이제마의 『東醫壽世保元』 「少陰人腎受熱表熱病論」에 처음으로 소개된 처방으로 李東垣의 補中益氣湯을 변방한 것이다. 이는 少陰人이 腎大脾小함으로 인하여 升陽되지 못하는 것은 항상 陰氣가 太過하기 때문이며, 또 陽氣가 過亢할 이유가 없기 때문에 寒凉之劑를 사용하여 陽氣過亢을 미리 방지할 필요는 없다고 여겼으며, 柴胡, 升麻로 淸陽之氣를 상승시키는 대신에 藿香, 蘇葉으로 行氣寬中하는데 의의를 두었고, 여기에 人蔘, 黃芪를 重用하여 少陰人 補中益氣湯을 制方하였다[35]. 본 처방은 人蔘 黃芪 各 三錢, 白朮 當歸 陳皮 炙甘草 各 一錢, 藿香 蘇葉 各 五分, 生薑 三片 大棗 二枚의 내용으로 구성되어 있으며, 人蔘과 黃芪가 君藥이 되어 大補元氣, 健脾益氣, 生津止渴하고 發散작용이 있는 藿香 蘇葉을 加함으로써 약 기운을 위로 끌어올려 주는 작용을 하여 少陰人의 腎受熱表熱病에서 太陽病의 亡陽初證에 쓰며, 勞倦虛弱身熱 心煩 自汗 등의 증상에 응용된다[36]. 한의학적으로 알러지성 비염은 鼻鼽 鼻嚏등의 개념에 속하며 鼻塞 鼻流淸涕症과도 연관된다. 鼻塞이나 鼻流淸涕에 관해서는 『東醫寶鑑』[4]에 "鼻鼽者 鼻流淸涕也 傷風卽 快然鼻流淸涕者屬肺寒也"라 하고 "鼻塞皆屬肺 寒傷皮毛卽鼻塞不利 火鬱淸道卽香臭不和"라 하여 알러지성 비염의 주요한 원인이 風寒이며 肺가 風寒에 傷하면 鼻塞, 聲重, 流涕, 噴嚏 등의 증상이 발생한다고 보고 있다[5]. 少陰人의 경우에는 腎大脾小하여 쉽게 陽虛하고 寒症에 빠질 염려가 있기 때문에 肺寒으로 인한 알러지성 비염이 발생한다고 할 수 있으며 이는 後天의 근본이 되는 脾의 약화와 연관될 수 있다. 따라서 少陰人의 알러지성 비염에 補中益氣湯을 투여하여 病因이 되고 있는 약한 장기인 脾의 기능을 보강하여 체력이 강화됨으로써 肺의 기능의 회복을 도모할 수 있다[2,37].

少陰人 藿香正氣散은 이제마의 『東醫壽世保元』「新定 少陰人病 應用要藥 二十四方」에 수록되어 있으며, 龔信의 『古今醫鑑』에 기재된 藿香正氣散에서 桔梗 白芷 厚朴 茯苓을 빼고 蒼朮 靑皮 桂皮 乾薑 益智仁을 추가하여 少陰人 裏病 太陰腹痛症을 주로 치료하는 처방이다. 이 처방은 藿香 一錢五分 蘇葉 一錢 蒼朮 白朮 半夏 陳皮 靑皮 大腹皮 桂枝 乾薑 益智仁 炙甘草 各五分 生薑 三片 大棗 二枚로 구성되어 있으며 藿香은 君藥으로서 辛味는 風寒을 發散하고 芳香性이 濕濁을 化해주며 醒脾和胃 升淸降濁하게 하여 外感과 內傷을 동시에 다스리는 역할을 한다[38]. 少陰人 腎受熱表熱病에서 太陽病과 陽明病, 胃受寒裏寒病에서 太陰病에 사용되는 것으로 기재되어 있으며[39], 少陰人의 表病과 裏病에 두루 사용하여 升陽益氣와 裏陰降氣의 작용을 동시에 발휘하면서 장부의 불균형을 조절해주는 치료기전으로 볼 때 면역조절기능이 있을 것으로 추측할 수 있으며, 癮疹 咳嗽 등 알러지 질환에도 사용되어 왔다는 점을 고려할 때 면역조절기능 실조로 인한 질환과 각종 알러지 질환에 광범위하게 사용할 수 있을 것이다[40].

芎歸香蘇散은 『東醫寶鑑』의 芎芷香蘇散에서

www.kci.go.kr

白芷 대신 當歸를 넣은 처방이고 芎芷香蘇散은 『得效方』의 香蘇散에 川芎 白芷를 가한 처방이다. 『東醫壽世保元』에서는 "太陽傷風 發熱惡寒而無汗者 當用 桂枝湯 川芎桂枝湯 香蘇散 芎歸香蘇散 藿香正氣散"이라 하였으며 『得效方』에서는 "四時瘟疫 當用 香蘇散"이라 하였다. 少陰人 芎歸香蘇散은 危亦林의 香蘇散을 기원으로 만들어 졌는데, 香蘇散의 용량을 바꾸고 川芎 當歸 各一錢을 추가한 처방으로 太陽證 四時瘟疫을 주로 치료하며 民魚脯를 가하여 脫陰을 치료한다. 이 처방은 香附子 二錢 紫蘇葉 川芎 當歸 蒼朮 陳皮 炙甘草 各一錢 生薑 三片 大棗 二枚 蔥白 五莖으로 구성되어 있으며, 香附子가 君藥이 되어 氣鬱증상이 있는 七情內傷을 다스리고 發汗解表시키는 蘇葉이 外感風寒을 다스리고 發汗解表하는 蔥白 五莖을 넣어서 發汗이 더 잘되도록 했으며 陳皮 蒼朮도 氣鬱을 해소하도록 도와주고 當歸와 川芎을 加하여 血分의 熱을 제거하여 少陰人 熱症의 氣病을 다스리게 하였다. 조[40]는 임상적으로 肝陽不升으로 인한 傷肺疾患, 즉 鼻塞症, 알레르기성 鼻炎, 咽喉乾燥, 蓄膿症, 短喘에 응용된다 하였다.

최근까지 한의학계에서는 한약재에 대한 항균활성의 검색은 많이 이루어져 왔으나 한약제제에 대한 항균활성의 검색에 대해서는 연구가 미진한 편이었다. 본 연구에서는 알레르기성 비염환자에게서 분리한 *Klebsiella pneumoniae* 289에 대한 少陰人 補中益氣湯, 少陰人 藿香正氣散, 少陰人 芎歸香蘇散의 항균 효과를 검색하였다.

분리 동정된 *Klebsiella pneumoniae* 289에 대하여 항균활성을 측정한 결과 少陰人 補中益氣湯이 가장 활성이 높은 것으로 나타났으며, MIC는 少陰人 芎歸香蘇散이 가장 적은 것으로 나타났다.

少陰人 補中益氣湯, 少陰人 藿香正氣散, 少陰人 芎歸香蘇散 모두 열에 안전한 것으로 나타났으며 少陰人 補中益氣湯, 少陰人 藿香正氣散 , 少陰人 芎歸香蘇散 모두 높은 온도에서 추출하여도 항균활동에는 영향이 없는 것으로 보인다.

한약제제 처리와 *Klebsiella pneumoniae* 289 생존율과의 관계에 있어서는 少陰人 補中益氣湯, 少陰人 藿香正氣散, 少陰人 芎歸香蘇散의 농도를 1% 첨가하여 시간이 30분경과 후부터는 균의 생존율이 감소하는 것으로 나타났으며 한약제제를 5% 첨가하였을 때는 少陰人 補中益氣湯은 37℃에서 처리시간이 50분이 지났을 때 생존하는 균이 없는 것으로 나타났고 45℃에서는 少陰人 補中益氣湯을 5% 첨가하여 40분이 지나면 생존하는 균이 없었다. 少陰人 藿香正氣散은 37℃에서 5% 첨가하여 50분이 지나면 생존하는 균이 없었고 45℃에서는 40분이 경과하니 생존하는 균이 없었다. 少陰人 芎歸香蘇散은 37℃에서 5% 첨가하여 40분이 지나면 생존하는 균이 없었고 45℃에서는 1%를 첨가하여 60분이 지나면 생존하는 균이 없었고 3%에서는 50분, 5%에서는 40분이 경과하니 생존하는 균이 없었다.

본 연구결과로 보아 알레르기성 비염 환자로부터 분리 동정된 *Klebsiella pneumoniae* 289에 대하여 少陰人 補中益氣湯, 少陰人 藿香正氣散, 少陰人 芎歸香蘇散은 높은 항균활성을 보여 주었으며 적은 농도에서도 균 성장 억제 효과가 뛰어난 것으로 나타났다. 이러한 연구 결과를 바탕으로 하여 少陰人 補中益氣湯, 少陰人 藿香正氣散, 少陰人 芎歸香蘇散의 항균활성에 대하여 더 많은 연구가 필요하리라 사료된다.

V. 결 론

알레르기성 비염 환자에서 분리한 *Klebsiella pneumoniae*289에 대한 少陰人 補中益氣湯, 少陰人 藿香正氣散, 少陰人 芎歸香蘇散의 항균효과를 糾明하기 위하여 實驗한 結果 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 항균활성 측정결과 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散의 inhibition zone은 11.42, 11.07, 10.63 mm였다.

2. 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散의 MIC는 15, 20, 10㎕였다.

3. 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散 추출물의 항균력에 대한 pH의 영향은 없는 것으로 나타났다.

4. 121℃에서 15분간 추출하여 補中益氣湯, 藿香正氣散, 芎歸香蘇散을 만들었을 때 항균력이 補中益氣湯 13.88%, 藿香正氣散 16.63%, 芎歸香蘇散 10.72% 증가하였다.

www.kci.go.kr

이상과 같은 결론으로 알레르기성 비염 환자로부터 분리 동정된 *Klebsiella pneumoniae* 289에 대하여 少陰人 補中益氣湯, 少陰人 藿香正氣散, 少陰人 芎歸香蘇散은 높은 항균활성을 보여 주었다.

Ⅵ. 參考文獻

1. 송일병. 사상체질의학과 Allergy 질환. 사상체질학회지. 2002;14(2):18-24.

2. 황경식. 알레르기 비염에 대한 사상의학적 치료. 대한한의학회지. 1993;14(2):414-417.

3. 유완소. 하간삼육서. 성보사, 서울, 1988: 275-276.

4. 許浚. 東醫寶鑑. 법인문화사, 서울, 1999: 590-591.

5. 김윤자 외. 알레르기성 비염에 관한 문헌적 고찰. 대한 한방 소아과 학회지. 1996;10(1):17-34.

6. 채병윤. 알레르기성 비염에 이용되는 통관산의 약효학적 연구. 대한한의학회지. 1990;11: 165-179.

7. 채병윤. 가미통규탕 투여 환자의 임상적 연구. 경희의학(2). 1986:255-260.

8. 신경숙 외. 형개연교탕 가미가 알레르기성 비염에 미치는 효과에 대한 임상보고. 혜화의학. 1994;1(3):185-196.

9. Hoeprich, P. D. Infectious disease. Harper and Row publishers, Philadelphia, 1983;1: 509-522.

10. 이상화, 김정민, 우영훈, 이제철, 이유철, 김정완, 설성용, 조동택. klebsiella의 SOD 활성과 대식세포내 생존과의 상관성. 대한미생물학회지. 1995; 30:345-358.

11. Wilson WR, Cockerill FR3rd, Rosenow EC3rd. Pulmonary disease in the immunocompromised host(2). Mayo Clin proc. 1985;60:610-631.

12. Camprubi S, Smith MA, Tomas JM, and Williams P. Modulation of surface antigem expression by *Klebsiella pneumoniae* in response to growth environment. Microb pathogen. 1992;13:145-155.

13. Ewing, W. H. Identification of Enterobacteriaceae, 4th ed., The Genus Klebsiella. Elsevier Science publishing Co. Ind. N. Y. 1986: 365-380.

14. 장재열, 허창문. Atlas of clinical microbiology. 대학서림, 서울, 1997:116-121.

15. Zaika, L. L. Spices and herbs. Their antimicrobial activity and it's determination, J. Food Safety. 1988; 9:97.

16. NCCLS. Performance Standards for antimicrobial disk susceptibility tests. National committee for clinical laboratory standards. Villanova Pa. 1984.

17. 오덕환, 함승시, 박부길, 안철, 유진영. 식품부패 및 병원 미생물에 대한 천연 약용 식물 추출물의 항균효과, Korean J. FOOD SCI. TECHNOL. 1998;30(4):957-963.

18. 유주현, 양융, 양한철, 정동효. 식품공학 실험서Ⅱ. 탐구당, 서울, 1975: 179.

19. Flan drois, J. & Carret, G. les Systemes experts at l' antibiogramme. Ann. Biol. 1991;49:166-171.

20. Krieg NR and Holt JG. Bergey's manual of systematic bacteriology. Williams and Wilkins Co. Baltimore. 1984;1: 461-465.

21. Cowan ST and Steel KJ. Manual for the identification of medical bacteria. 2nd ed. *Cambridge University Press*. 1974:103-116.

22. 장재열, 허장문 공저. Color Atlas 임상 미생물학도감. Atlas of clinical Microbiology. 대학서림, 서울, 1997:103-104.

23. 김태운, 김영권, 권혁한, 박경희, 박성화, 백태현, 이애경, 윤의수. 의학 미생물과 감염질환. 수문사, 서울, 2000:167-168.

24. Darfeuille-Michaud A, Jallat C, Aubel D, Sirot D, Rich C, Sirot J, and Joly B. R-plasmid-encoded adhesive factor in *Klebsiella pneumoniae* strains responsible for human nosocomial infections. Infect Immun. 1992;60: 44-55.

25. Tomas, J.M, Benedi, V.J, Ciurana, B. and Jofrt, J. Role of capsule and O antigen in resistance of *Klebsiella pneumoniae* to serum bactericidal activity. Infect. Immun. 1986;54:85-89.

26. Podschun R, and Sahly H. Hemagglutinins of *Klebsiella pneumoniae* and K. oxytoca isolated from different sources. Zentralbl Hyg Umweltmed. 1991;191: 46-52.

27. 이선화, 정재심, 이수연, 배현주, 나준, 박성종, 피수영, 배직현. Extended-spectrum β-lactamase

www.kci.go.kr

를 생산하는 *Klebsiella pneumoniae* 패혈증 집단발생의 분자역학적 조사. 병원감염관리. 1997;2:13-28.

28. Palucha, A., B. Mikiewicz, and M. Gniadkowski. :Diversification of *Escherichia coli* expressing an SHV-type extended-spectrum β-lactamase(ESBL) during a hospital outbreak. emergence of an ESBL-hypeproducing strain resistant to expanded spectrum cephalosporins. Antimicrob. Agents chemother. 1999;43:393-396.

29. 배현주, 김정민, 권영미, 이경원, 정윤섭, 김의종, 조동택. 한국에서 분리된 *Klebsiella pneumoniae*가 생성하는 extended-spectrum β-lactamase의 유형 및 특징. 감염. 1997;29:93-103.

30. 설성용, 김광만, 신행섭, 장희경, 이유철, 조동택. 항균제 내성의 분석에 의한 klebsiella의 역학조사. 대한미생물 학회지. 1997;32:467-485.

31. Nikaido H. Role of permeability barriers in resistance to beta-lactam antibiotics. pharmacol Ther. 1985;27:197-231.

32. Lee, HK, Kim KS, Lee BK, Chung TH and Lee HH. Biochemical characteristics and antibiotic resistant patterns of *Klebsiella pneumoniae*. J. Korean Soc. Microbiol. 1987;22:427.

33. 김경요. 난치병과 면역 그 사상의학적인 접근. 사상체질의학회지. 1995;7(2):113-128.

34. 이고. 동원십종의서. 대성문화사, 서울, 1983:35-37,86-87.

35. 윤상협. 소음인 보중익기탕의 효능에 관한 실험적 연구. 경희대논문집. 1987;10:531-545.

36. 전국한의과대학사상의학교실. 사상의학. 집문당, 서울, 1997:444-445,449, 457-462.

37. 고우석. 알러지성 비염환자의 사상체질 분류와 치료에 대한 임상적 고찰. 맥진학회지. 2001;6:75-87.

38. 김윤범. 곽향정기산과 가미방이 위장관기능 및 항 알레르기에 미치는 영향. 한의학회지. 1993;14(1):9-23.

39. 안보국, 송정모. 소음인 곽향정기산의 항 알러지 작용. 사상체질의학회지. 2001;13(3):75-88.

40. 조황성. 사상의학의 원리와 방제. 집문당, 서울, 203:213

www.kci.go.kr