

半夏泻心汤提取液对多重耐药性幽门螺杆菌的抑制作用^①

黄干荣¹, 莫小强¹, 黄衍强^{1②}, 赵丽娟¹, 周滢龙², 马豪², 吴红励², 张琦², 韦柳兴², 李小玲²

(1. 右江民族医学院, 广西 百色 533000 E-mail: hgryy@sohu.com;

2. 右江民族医学院临床学院 2012 级, 广西 百色 533000)

摘要: **目的** 探讨半夏泻心汤对幽门螺杆菌多重耐药菌株(Hp MDR)的抑制作用。**方法** 用二倍稀释法检测 Hp MDR, 制备半夏泻心汤提取液培养基, 检测半夏泻心汤提取液对 Hp MDR 的最低抑菌浓度(MIC), 并用黄连素和生理盐水分别作为阳性对照和阴性对照。**结果** 筛选出 2 株 Hp MDR, 半夏泻心汤提取液对 2 株 Hp MDR 的 MIC 分别为 6.25 mg/ml、12.5 mg/ml, 黄连素的 MIC 均为 12.5 mg/ml。**结论** 半夏泻心汤提取液对多重耐药性幽门螺杆菌有明显的抑制作用, 其作用略优于黄连素。

关键词: 半夏泻心汤提取液; 幽门螺杆菌多重耐药株; 抑制

中图分类号: R377 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2016)01-0012-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2016.01.004

Inhibitory effects of Banxia Xiexin Decoction Extracts on multidrug resistant *Helicobacter pylori*

Huang Ganrong¹, Mo Xiaoqiang¹, Huang Yanqiang¹, Zhao Lijuan¹, Zhou Yinglong², Ma Hao²,
Wu Hongli², Zhang Qi², Wei Liuxing², Li Xiaoling²

(1. Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China
E-mail: hgryy@sohu.com; 2. Grade 2012, College of Clinical Medicine, Youjiang
Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate the inhibitory effects of Banxia Xiexin Decoction Extracts on multidrug resistant *Helicobacter pylori* (MDR H. pylori). **Methods** A double dilution method was used to isolate MDR H. pylori strains. Banxia Xiexin Decoction Extracts culture media was prepared and the minimum inhibitory concentrations (MICs) of Banxia Xiexin Decoction Extracts on MDR H. pylori strains were measured. Berberine and normal saline were used as positive control and negative control, respectively. **Results** Two MDR H. pylori strains were isolated. The MICs of Banxia Xiexin Decoction Extracts against two strains were 6.25mg/ml, 12.5 mg/ml, respectively, and both MICs of berberine were 12.5 mg/ml. **Conclusion** Banxia Xiexin Decoction Extracts have obvious inhibitory effects on MDR H. pylori strains, and its effectiveness is slightly superior to berberine.

Key words: Banxia Xiexin Decoction Extracts; multidrug resistant helicobacter pylori strains; inhibition

克拉霉素、阿莫西林等抗生素对治疗幽门螺杆菌(Hp)感染疾病取得了较好的效果,但随着抗生素的长期使用或滥用, Hp 耐药越来越严重,导致根治失败^[1-2]。因此,非常有必要寻找其它治疗途径解决耐

药性问题。“半夏泻心汤”广泛用于消化道疾病治疗^[3],其对慢性溃疡和慢性萎缩性胃炎疗效优于一般西药治疗,这是否与根除幽门螺杆菌多重耐药菌株(Hp MDR)有关,其作用机制值得探讨。本课题组探

① **基金项目:** 广西重点学科(病原生物学)([2013]16); 广西重点实验室培育基地(桂教科研[2014]6); 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科能 1598025-33); 2013 年广西高校科学技术研究项目(2013YB186); 2015 年广西高校科学技术研究项目(KY2015ZD091)

② **通讯作者,** E-mail: hyq77615@163.com

讨半夏泻心汤提取液对 Hp MDR 的抑制作用。

1 材料和方法

1.1 材料 在右江民族医学院附属医院胃镜室取患有胃炎、消化性溃疡的患者胃黏膜获得 Hp。阿莫西林(批号 110807)购自四川制药制剂有限公司;甲硝唑(批号 10091544)购自浙江济民制药有限公司;克拉霉素(批号 111202)购自哈药集团制药六厂;四环素(批号 20110902)购自广东台城制药股份有限公司;左氧氟沙星(批号 120120)购自浙江医药股份有限公司新昌制药厂;半夏泻心汤方剂半夏 12 克(洗),黄芩、干姜、党参、甘草(炙)各 9 克,黄连 3 克,大枣 12 枚(擘)购自百色市生物药品连锁公司,97% 黄连素(批号 120810)购自陕西鼎盛生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 检测抗生素对 Hp 的最低抑菌浓度(MIC),筛选 Hp MDR 参照临床实验室标准委员会的方法^[4],采用对倍稀释法检测阿莫西林、克拉霉素、左氧氟沙星、四环素、甲硝唑对 Hp 的 MIC,能在含甲硝唑 $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ 、克拉霉素 $\geq 1 \mu\text{g/ml}$ 、阿莫西林 $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ 、左氧氟沙星 $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ 、四环素 $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ 中的 3 种或 3 种以上抗生素的培养基上生长的菌株为 Hp MDR。

1.2.2 半夏泻心汤提取液的制备 第一次将半夏泻心汤方剂中药粗粉与无菌蒸馏水按 1:10 的比例置于烧杯中,浸泡 4 h,加蒸馏水,煮沸 0.5 h,滤出药液;第二次将过滤药粉按 1:5 比例加蒸馏水,煮沸 20 min,滤出滤液;第三次重复第二次操作煮沸 5 min,滤出药液;三次药液合并,浓缩至含生药 1 g/ml,常压蒸发,灭菌后保存备用。

1.2.3 检测半夏泻心汤提取液对 Hp MDR 的 MIC

①制备对倍稀释的半夏泻心汤提取液培养基。把半夏泻心汤提取液与哥伦比亚琼脂液对倍稀释,同时用生理盐水作为药物阴性对照,黄连素作为药物阳性对照组。②检测 MIC。将过夜培养的 Hp MDR 稀释至 0.5 麦氏单位(相当于 $1.0 \times 10^8 \text{ CFU/ml}$),接种 $2 \mu\text{l}$ 菌液到已经制备好的含提取液的哥伦比亚琼脂平板,37℃ 孵育 20 h 后判断结果。以能完全抑制 Hp MDR 生长的药物最低浓度为 MIC。

2 结果

2.1 Hp MDR 耐药结果 筛选出 2 株 Hp MDR,共同点是均对阿莫西林、克拉霉素、四环素、甲硝唑耐药,不同点是菌株 1 同时对左氧氟沙星耐药,菌株 2 对左氧氟沙星敏感,见表 1。

2.2 半夏泻心汤提取液对 Hp MDR 抑制结果 半夏泻心汤提取液对 2 个 Hp MDR 菌株有明显的抑菌作用,其中对菌株 1 的抑制效果优于黄连素,对菌株 2 的抑制效果与黄连素相当,结果见表 2。

表 1 2 株 Hp MDR 对 5 种抗生素的耐药性

菌株	左氧氟沙星	阿莫西林	克拉霉素	四环素	甲硝唑
1	R	R	R	R	R
2	S	R	R	R	R

注:R 表示耐药,S 表示敏感,I 表示中介

表 2 半夏泻心汤提取液对 Hp MDR 菌株的 MIC 结果 (mg/ml)

菌株	半夏泻心汤	黄连素	生理盐水
1	6.25	12.5	—
2	12.5	12.5	—

注:“—”表示无作用

3 讨论

Hp 感染引起胃炎、十二指肠溃疡等消化道疾病属中医“胃脘痛”范畴。《伤寒论》说:“伤寒五六日,呕而发热者,……但满而不痛者,此为痞,柴胡不中与之,宜半夏泻心汤”;《金匱要略》说:“呕而肠鸣,心下痞者,半夏泻心汤主之”^[5-6],这明确提示半夏泻心汤可用于治疗 Hp 感染导致的消化道疾病。该方药物配伍合理,制方、制法严谨,遵循中医辨证论治法则,并通过现代药理学研究证实,方剂中半夏、黄芩、黄连属清热解毒类中药,具有抑制十二指肠运动和抗 Hp 作用;人参、干姜和甘草等有免疫调节功能,可提高胃黏膜防御功能,抑制有害因子对胃黏膜损伤,促进胃黏膜的再生,有利于肠腺化生和不典型增生的消失^[7-8]。虽然诸多实验证实半夏泻心汤可广泛用于治疗消化道疾病,并具有抗 Hp 作用,但尚未见有能抗 Hp MDR 的报道。

本实验通过采用对倍稀释方法研究半夏泻心汤提取液对 Hp MDR 的抑制作用,发现半夏泻心汤提取液对 Hp MDR 有明显的抑制作用,而且抑菌效果略优于其汤剂成分黄连素。这个实验结果或许可以解答“为什么半夏泻心汤在治疗慢性胃十二指肠溃疡和慢性萎缩性胃炎等难治性消化道疾病方面疗效优于一般西药”的问题,其原因可能是在长期使用抗生素治疗消化道疾病的过程中 Hp 产生了多药耐药,导致根治失败,从而发展为慢性萎缩性胃炎等难治性消化道疾病,半夏泻心汤对 Hp MDR 有较好的抑制作用,因此其疗效优于已产生耐药或中度敏感的抗生素。本实验研究虽然确定了半夏泻心汤提取液对 Hp MDR 有明显的抑制作用,有助于指导临床医生使用半夏泻心汤根治 Hp MDR,提高 Hp 感染相关疾病的根治率,但其作用机制尚未完全清楚,抑菌作用是否与免疫调节有协同作用还需要证明。因此,我们将进一步在动物体内研

(下转第 19 页)

表2 扁担藤对 CCl₄ 肝损伤小鼠肝脏匀浆生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	数 量	剂 量 (g · kg ⁻¹)	MDA (U · L ⁻¹)	SOD (U · L ⁻¹)	肝指数 (%)
正常对照组	10	—	6.52 ± 1.25	537.77 ± 100.43	4.86 ± 0.50
模型组	10	—	13.33 ± 4.29 ^a	189.33 ± 82.99 ^a	5.57 ± 0.66 ^a
联苯双酯组	10	0.12	8.06 ± 1.59 ^c	416.18 ± 88.40 ^c	4.87 ± 0.41 ^c
扁担藤高剂量组	10	15	8.16 ± 1.58 ^c	533.28 ± 127.29 ^c	4.71 ± 0.36 ^c
扁担藤中剂量组	10	10	10.67 ± 2.00 ^b	368.58 ± 110.79 ^c	4.59 ± 0.52 ^c
扁担藤低剂量组	10	5	11.72 ± 2.13	308.81 ± 116.03 ^b	5.48 ± 0.52

注:与正常对照组比较,a: $P < 0.01$;与模型组比较,b: $P < 0.05$,c: $P < 0.01$

2.3 扁担藤醇提物对小鼠肝损伤的观察 在光学显微镜下,CCl₄ 模型组小鼠肝小叶结构混乱,肝索排列紊乱,细胞界限模糊,其中多见块状炎症细胞浸润,点状组织坏死,中央静脉淤血和细胞水肿样变性;与模型组比较,扁担藤各剂量组、联苯双酯组均对以上肝组织损伤有明显改善作用。

3 讨论

CCl₄ 是一种对肝细胞有严重毒性作用的化学物质^[3],其作用机制为 CCl₄ 在肝内导致肝微粒体细胞色素 P450 分解活化,生成三氯甲基自由基和氯自由基,导致肝微粒体的脂质过氧化,自由基增加,使得质膜磷脂分子过氧化,增加细胞膜通透性,使肝细胞内大量转氨酶 ATL 和 AST 进入血液中;同时当肝细胞持续受到自由基攻击时,SOD 过度消耗而表现为活性降低,失去了对自由基启动脂质过氧化反应的抑制,导致 MDA 大量产生,破坏细胞膜,致细胞破裂,变性坏死^[4-5]。因此自由基和活性氧化物是引起肝损伤的重要因素之一,故清除自由基是抗肝损伤的重要途径^[5]。本次结果亦显示扁担藤醇提物能够显著降低 CCl₄ 肝损伤小鼠血清 ALT 和 AST 的活性,能显著增加血清

SOD 并减少血清 MDA 含量,前期我们研究发现扁担藤就有较高的抗氧化活性^[2],说明扁担藤醇提物对 CCl₄ 急性肝损伤小鼠的保护作用与其抗氧化密切相关,这为我们进一步研究扁担藤的有效成分奠定基础。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海人民出版社, 1986:1744.
- [2] 潘乔丹,熊圆圆,陈文东,等. 扁担藤不同极性成分抗氧化活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(1): 232—235.
- [3] 胡宗礼,黄晓萍. 虎杖方剂对四氯化碳致大鼠肝损伤的保护作用研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(3): 657—658.
- [4] 闫冰,丁安伟,张丽. 二至丸提取物对小鼠四氯化碳急性肝损伤的保护作用[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(22): 3080—3083.
- [5] 周军,张福华. 桑黄酮对四氯化碳诱导的小鼠急性肝损伤保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(15): 269—272.

收稿日期:2015-10-19;修回日期:2015-12-28

(上接第13页)

究半夏泻心汤根治 Hp MDR 的作用机制,为研制和应用半夏泻心汤系列产品提供有力的实验依据。

参考文献:

- [1] 刘晓群,陈元旺,谢勇. 细菌 AcrAB-TolC 外排泵在幽门螺杆菌耐药中的作用[J]. 中华消化杂志, 2015, 35(1): 68—70.
- [2] 李晓华,黄赞松,黄衍强,等. 桂西地区幽门螺杆菌多重耐药现状和治疗方案分析[J]. 重庆医学, 2013, 42(14): 1578—1579.
- [3] 刘刚. 半夏泻心汤辨证要点及应用发挥探讨[J]. 辽宁中医药大学学报, 2013, 15(12): 33—35.
- [4] CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility

Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Ninth Edition[S]. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.

- [5] 贺万涛,李艳蓉,魏文玲. 半夏泻心汤的临床应用[J]. 中医临床研究, 2014, 6(23): 49—50.
- [6] 秦立伟,刘桂英. 半夏泻心汤加减治疗慢性胃炎 62 例[J]. 光明中医, 2010, 25(12): 2228—2229.
- [7] 张琳,杨连文,杨李君,等. 幽门螺杆菌与慢性萎缩性胃炎发病关系及防治研究[J]. 中国中西医结合杂志, 1992, 12(9): 521—523.
- [8] 毛亮,李中宇. 李中宇教授应用半夏泻心汤治疗胃脘痛经验[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(10): 2307—2308.

收稿日期:2015-11-23;修回日期:2015-12-31