

# 野艾组分对幽门螺杆菌的体外抑菌作用

戴小军, 刘延庆, 陈红菊, 陈群, 严华

戴小军, 扬州大学医学院中医系 江苏省扬州市, 225001  
刘延庆, 徐州工程学院 江苏省徐州市 221008  
陈红菊, 严华, 扬州大学医学院微生物学教研室 江苏省扬州市 225001  
陈群, 扬州大学医学院形态学教研室 江苏省扬州市 225001  
国家中医药管理局资助课题, NO. 04-05ZP35  
通讯作者: 刘延庆, 221008, 江苏省徐州市, 徐州工程学院.  
lyq@xzit.edu.cn  
电话: 0516-83105169 传真: 0516-83202744  
收稿日期: 2006-02-15 接受日期: 2006-03-20

## 摘要

**目的:** 分析中药野艾可能的抑制幽门螺杆菌(*H. pylori*)组分。

**方法:** 采用琼脂稀释法测定野艾的各种提取物的最小抑菌浓度。

**结果:** 四种野艾提取物最低抑菌浓度分别为: 正己烷提取物为10.24 g/L、乙酸乙酯提取物为2.56 g/L、正丁醇提取物为5.12 g/L, 野艾乙醇提取物的MIC>10.24 g/L。

**结论:** 野艾的乙酸乙酯提取物具有较强的抑制*H. pylori*生长的作用。为进一步开发野艾的药用价值提供了资料。

**关键词:** 野艾; 幽门螺杆菌; 药敏; 最低抑菌浓度

戴小军, 刘延庆, 陈红菊, 陈群, 严华. 野艾组分对幽门螺杆菌的体外抑菌作用. 世界华人消化杂志 2006;14(11):1115-1118  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/1115.asp>

## 0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是一种能特异定植于人胃黏膜上皮细胞表面的微需氧革兰阴性菌。现已明确*H. pylori*感染与慢性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤和胃癌密切相关<sup>[1-7]</sup>, 严重威胁着人类的健康。根除*H. pylori*已成为现代治疗一些常见*H. pylori*相关性的胃肠疾病的重要措施<sup>[8-12]</sup>, 虽然有多种药物联合疗法, 但因存在副作用及耐药性, 且价格昂贵, 应用受到一定的限制。为此寻求高效、低毒、价廉的药物治是是当前抗*H. pylori*研究的重大课题。中药在我国人民几千

年来与疾病斗争中发挥着不可替代的作用, 近十余年来国内外进行了大量中药抗*H. pylori*的研究, 取得了可喜的成果, 但中药研究的制剂大多为水煎剂<sup>[13-17]</sup>, 对中药抗*H. pylori*活性部位的筛选和相关实验研究报道还很罕见。野艾为菊科蒿属多年生草本植物*A. lavandulaefolia* DC的干燥叶, 分布于江苏、山东、东北、华北及安徽、浙江和江西等地, 常作“艾叶”入药, 有较好的抗菌作用, 且来自天然不易获得耐药性。我们观察了野艾活性部位对*H. pylori*的体外抑制作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** *H. pylori*标准菌株NCTC11637购于中国疾病预防控制中心传染病预防控制所, NCTC11638、26695由上海第二医科大学郭晓奎教授惠赠。另将江苏石油勘探局职工总医院胃镜室提供的慢性浅表性胃炎、胃溃疡和胃癌患者胃黏膜活检标本, 直接接种在脑心浸液血液琼脂平板上, 经过微氧环境培养, 分离出*H. pylori*菌落, 经观察菌落、细菌形态及尿素酶、触酶、氧化酶试验, 鉴定为幽门螺杆菌。依次编号为1, 2, 3, 保存备用。用NCTC11637(甲硝唑MIC为1 mg/L)作为标准的*H. pylori*质控菌株。采用脑心浸液琼脂(含80-100 mL/L的脱纤维羊血+万古霉素、两性霉素、TMP、多黏菌素B), pH 7.2。抽气换气法形成微氧环境(N<sub>2</sub> 850 mL/L, CO<sub>2</sub> 100 mL/L, O<sub>2</sub> 50 mL/L), 于恒温培养箱37℃条件下培养。脑心浸液琼脂培养基为美国Becton Dickinson产品。野艾端午节前后采于湖北蕲县。经南京中医药大学中药学院吴启南教授鉴定为野艾*A. lavandulaefolia* DC, 鉴定方法参照文献[18]。取野艾适量, 以950 mL/L乙醇浸渍后渗漉, 得到950 mL/L乙醇渗漉液和残渣。将950 mL/L乙醇渗漉液减压浓缩至稠膏, 得醇提总浸膏。将总浸膏依次用正己烷、乙酸乙酯、正丁醇、950 mL/L乙醇连续提取, 首次提取加入正己烷, 搅拌溶解后, 过滤, 不溶物再以正己烷连续提取

## ■背景资料

幽门螺杆菌(*H. pylori*)感染与慢性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤和胃癌密切相关, 目前使用的治疗方案存在着耐药性的不断增加和首次感染治疗失败后的再治疗以及治疗过程中产生的副反应和病人的不顺从性等诸多问题, 寻找高效、低毒、廉价的抗*H. pylori*药物, 特别是从中药中寻找新型抗*H. pylori*药物引人注目。

## ■研发前沿

近年来, 随着大量广谱抗生素的广泛应用使得耐药的幽门螺杆菌菌株呈不断上升趋势, 开发抗*H. pylori*药物已经成为全球关注的课题。对中药抗*H. pylori*活性组分的筛选相关研究将成为热点。

## ■创新盘点

近十余年来国内外进行了大量中药抗*H pylori*的研究,取得了可喜的成果,但中药研究的制剂大多为水煎剂,对中药抗*H pylori*活性部位的筛选和相关实验研究报道还很罕见。本课题应用中药提取分离方法把野艾分成正己烷、乙酸乙酯、正丁醇、乙醇等4个组分,证实了野艾抗*H pylori*活性组分为野艾的乙酸乙酯提取物。

表 1 野艾提取物的体外抑制*H Pylori*的实验结果

药物	NCTC11637	NCTC11638	26695	1	2	3
YA-1	+	+	+	+	+	+
YA-2	-	+	+	+	-	-
YA-3	-	-	-	-	-	-
YA-4	-	-	-	-	-	-
YA-5	-	-	-	-	-	-
YA-6	-	-	-	-	-	-
YA-7	-	-	-	-	-	-
YA-8	-	-	-	-	-	-
YB-1	+	+	+	+	+	+
YB-2	-	-	-	-	+	-
YB-3	-	-	-	-	-	-
YB-4	-	-	-	-	-	-
YB-5	-	-	-	-	-	-
YB-6	-	-	-	-	-	-
YB-7	-	-	-	-	-	-
YB-8	-	-	-	-	-	-
YC-1	+	+	+	+	+	+
YC-2	+	+	+	+	+	+
YC-3	+	+	+	+	+	+
YC-4	-	-	+	-	+	-
YC-5	-	-	-	-	-	-
YC-6	-	-	-	-	-	-
YC-7	-	-	-	-	-	-
YC-8	-	-	-	-	-	-
YD-1	+	+	+	+	+	+
YD-2	+	+	+	+	+	+
YD-3	+	-	-	+	+	-
YD-4	-	-	-	-	-	-
YD-5	-	-	-	-	-	-
YD-6	-	-	-	-	-	-
YD-7	-	-	-	-	-	-
YD-8	-	-	-	-	-	-
YE-1	-	-	-	-	-	-
YE-2	-	-	-	-	-	-
YE-3	-	-	-	-	-	-
YE-4	-	-	-	-	-	-
YE-5	-	-	-	-	-	-
YE-6	-	-	-	-	-	-
YE-7	-	-	-	-	-	-
YE-8	-	-	-	-	-	-

“+” 菌株被抑制,“-” 菌株生长。

二次,合并滤液得到提取物的正己烷可溶性部分。不溶于正己烷的残留物按上述方法依次用乙酸乙酯、正丁醇、乙醇提取。将以上提取四部分减压除去有机溶剂,50℃真空干燥2 h,回收溶剂得正己烷提取物、乙酸乙酯提取物、正丁醇提取物、乙醇提取物。取各提取物适量,用生理盐水配成所需浓度,脂溶剂以二甲基亚砜(DMSO)助溶,DMSO最终浓度小于0.5 g/L。过滤除菌,4℃保存备用。野艾总浸膏、正己烷提取物、乙酸乙酯提取物、正丁醇提取物、乙醇提取物分别编号为YA, YB, YC, YD, YE。

1.2 方法 按照美国国家临床实验室标准化委员会(NCCLS)制定的琼脂稀释法<sup>[19-21]</sup>进行药敏试验。用*H pylori*培养基将野艾提取物YA, YB,

YC, YD, YE试验液进行倍比稀释成终浓度为10.24 g/L、5.12 g/L、2.56 g/L、1.28 g/L、0.64 g/L、0.32 g/L、0.16 g/L、0.08 g/L,制备成含不同浓度中药的血琼脂平板,并分别编号YA-1~YA-8, YB-1~YB-8, YC-1~YC-8, YD-1~YD-8, YE-1~YE-8。同时以空白不含中药的培养基作为对照。按0.25 mg/L、0.5 mg/L、1 mg/L、2 mg/L、4 mg/L、8 mg/L的甲硝唑终浓度制备*H pylori*血琼脂平板。将受试菌在*H pylori*培养基血平板上传种3次以保证其纯度及活力,得到的72 h菌龄的菌株,将各菌株用生理盐水洗下,稀释成10<sup>11</sup>CFU/L(1麦氏浓度)浓度菌液,取菌液1 μL涂布药物平皿,每一菌株重复3块平板。其中,含甲硝唑琼脂平板只涂布NCTC11637菌株。于37℃微需氧环境下培养3 d。观察细菌生长情况,以不出现菌落的平板上的最低药物浓度为最低抑菌浓度(MIC)。

## 2 结果

NCTC11637菌株对甲硝唑的MIC为1 mg/L;空白对照组6种菌株均生长良好。野艾总浸膏的MIC为10.24 g/L,野艾正己烷提取物的MIC为10.24 g/L,野艾乙酸乙酯提取物的MIC为2.56 g/L,野艾正丁醇提取物5.12 g/L,野艾乙醇提取物的MIC>10.24 g/L(表1)。

## 3 讨论

*H pylori*是慢性胃炎、消化性溃疡和胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤的重要致病因子,*H pylori*与胃癌的发生有关,根除*H pylori*能使胃黏膜炎症消退、溃疡愈合、MALT缓解。目前常用的一线治疗方案大体上可分为质子泵抑制剂(PPI)为基础和铋剂为基础的两种方案。通常由一种PPI或一种铋剂配上克拉霉素、阿莫西林或甲硝唑三种抗生素中的两种组成三联疗法<sup>[22-24]</sup>。但*H pylori*的西药治疗副作用发生率高(5%-20%),依从性差,停药后复发率高,长期联合应用抗生素的安全性值得重视,易引起肠道菌群紊乱,而且由于治疗*H pylori*感染方案的广泛使用,*H pylori*耐药性趋势也在增长,研究显示不同国家和地区分离出的*H pylori*菌株均已产生不同程度的耐药<sup>[25-28]</sup>。

艾叶芳香,其性味辛、苦、温,归肝、脾、肾经,具有散寒止痛、温经止血、理气安胎的功能。最早见于汉代张仲景《金匱要略》中的芎归胶艾汤(后改为胶艾四物汤)用以治疗妇女“崩漏”病,一直沿用至今。随后历代医家对艾叶的

使用范围越来越宽, 包括虚寒性子宫出血, 月经不调, 胎漏下血, 痛经, 带下, 腹痛, 皮肤瘙痒, 消化道肿瘤, 肺癌, 甲状腺肿瘤, 胰腺癌等症. 艾叶经加工成“艾绒”是针灸治病的好材料. 民间还用艾叶温汤洗浴, 驱除蚊蝇, 熏蒸治病, 包粽子, 蒸饼, 做饺子, 制青团以及制茶<sup>[29]</sup>.

现代药物化学分析, 艾叶含有软性树脂, 挥发性精油, 鞣酸, 葡萄糖, 氯化钾和维生素B、C等成分. 大量的药理研究表明艾叶对金黄色葡萄球菌、乙型溶血性链球菌、大肠杆菌、白喉杆菌、伤寒及副伤寒杆菌、绿脓杆菌、枯草杆菌以及结核杆菌等多种细菌均有杀灭或抑制作用<sup>[29]</sup>. 但艾叶提取物对*H pylori*的研究国内外报道还很罕见. 对艾叶抑制*H pylori*的活性部位的研究还处于空白.

为研究*H pylori*对艾叶的敏感性, 给患者提供较为理想的*H pylori*根除药物, 必须进行药物敏感性试验. 药物敏感性试验常使用MIC这一指标, 较低的MIC表示此种药物更容易抑制此种微生物. 目前*H pylori*的药物敏感性试验方法很多, 常用的方法有琼脂稀释法、纸片扩散法和E试验, 在这些试验技术中琼脂稀释法是要求最高的, 也是唯一被美国国家临床实验室标准化委员会(NCCLS)和美国食品及药品管理局(FDA)批准的试验方法.

野艾常作“艾叶”入药, 我们选取野艾为研究对象, 通过琼脂稀释法观察了野艾提取物抑制*H pylori*的最低抑菌浓度, 明确了野艾的乙酸乙酯提取物具有较强的抑制*H pylori*生长的作用. 野艾的毒性较低<sup>[30]</sup>, 以及野艾制剂在肿瘤临床的应用, 为我们进一步研究野艾活性成分在抗*H pylori*的领域研究创造了可能.

#### 4 参考文献

- van Amsterdam K, van Vliet AH, Kusters JG, van der Ende A. Of microbe and man: determinants of *Helicobacter pylori*-related diseases. *FEMS Microbiol Rev* 2006; 30: 131-156
- Malfertheiner P, Peitz U. The interplay between *Helicobacter pylori*, gastro-oesophageal reflux disease, and intestinal metaplasia. *Gut* 2005; 54: i13-i20
- Peek RM Jr, Crabtree JE. *Helicobacter* infection and gastric neoplasia. *J Pathol* 2006; 208: 233-248
- Ma JL, Zhang L, Pan KF, Liu WD, Feng GS, You WC. *Helicobacter pylori* and the progression of gastric cancer: a 10-year cohort study. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2005; 85: 2758-2761
- Chen LT, Lin JT, Tai JJ, Chen GH, Yeh HZ, Yang SS, Wang HP, Kuo SH, Sheu BS, Jan CM, Wang WM, Wang TE, Wu CW, Chen CL, Su IJ, Whang-Peng J, Cheng AL. Long-term results of anti-*Helicobacter pylori* therapy in early-stage gastric high-grade transformed MALT lymphoma. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1345-1353
- Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Hungin AP, Jones R, Axon A, Graham DY, Tytgat G. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 167-180
- 中华医学会消化病学分会. 对幽门螺杆菌若干问题的共识意见(2003·中国). *中华医学杂志* 2004; 84: 522-523
- 姜英杰, 李瑜元, 聂玉强, 王红, 沙卫红. 根除幽门螺杆菌疗效与细胞色素氧化酶P450 2C19基因多态性的关系. *中华消化杂志* 2005; 25: 458-461
- 盛颖, 吴力军, 董国芳, 宗春华. 艾司奥美拉唑、克拉霉素和阿莫西林三联疗法根除幽门螺杆菌的疗效. *中国新药与临床杂志* 2004; 23: 820-822
- Winter TA, Kidd M, Kaye P, Marks IN. Gastric and duodenal mucosal protein fractional synthesis and growth factor expression in patients with *H pylori*-associated gastritis before and after eradication of the organism. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 925-930
- Lu B, Chen MT, Fan YH, Liu Y, Meng LN. Effects of *Helicobacter pylori* eradication on atrophic gastritis and intestinal metaplasia: a 3-year follow-up study. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6518-6520
- Pregun I, Herszenyi L, Juhasz M, Miheller P, Tulassay Z. Is successful *Helicobacter pylori* eradication sufficient to heal peptic ulcer? *Orv Hetil* 2006; 147: 435-439
- 蒋振明, 徐国纓, 张存钧, 蒋勇, 张镜人. 中药复方对幽门螺杆菌抑菌作用的体外实验. *中国中西医结合消化杂志* 2001; 9: 101-102
- 杜平华, 朱世真, 吕品. 20种中药材对幽门螺杆菌体外抗菌活性的研究. *中药材* 2001; 24: 188-189
- 刘波, 李雪松, 徐和利, 王海岩, 赵静玫, 孙艳, 杨晓明, 谷源平, 杨玉龙. 5种中药制剂杀灭幽门螺杆菌的实验研究. *中国新药杂志* 2002; 11: 457-459
- 李长军, 李国成, 黄祎, 罗树星. 健脾益气中药对消化性溃疡患者*H pylori*及HSP60的影响. *中国临床医学* 2002; 9: 101-102
- 唐小梅, 伍参荣. 中药抗幽门螺杆菌感染的研究. *中医药学刊* 2003; 21: 1707-1708
- 陈宗良, 张慧芳. 艾叶、野艾及细叶艾的比较鉴别. *中药材* 1999; 22: 235-237
- 胡伏莲, 周殿元. 幽门螺杆菌感染的基础与临床. 第1版. 北京: 中国科学技术出版社, 2002: 309-310
- Best LM, Haldane DJ, Keelan M, Taylor DE, Thomson AB, Loo V, Fallone CA, Lyn P, Smaill FM, Hunt R, Gaudreau C, Kennedy J, Alfa M, Pelletier R, Veldhuyzen Van Zanten SJ. Multilaboratory comparison of proficiencies in susceptibility testing of *Helicobacter pylori* and correlation between agar dilution and E test methods. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 3138-3144
- 王辉, 高屹, 陈民钧. 简介美国NCCLS药敏试验法规范(1999年1月版)的变动部分. *中华医学检验杂志* 1999; 22: 318-320
- Scarpignato C. Towards the ideal regimen for *Helicobacter pylori* eradication: the search continues. *Dig Liver Dis* 2004; 36: 243-247
- Bytzer P, O'Morain C. Treatment of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2005; 10: 40-46
- 周殿元, 陈焱. 幽门螺杆菌感染的药物治疗新进展. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 157-159

#### ■应用要点

野艾的乙酸乙酯提取物抑制幽门螺杆菌的最低抑菌浓度为2.56 g/L, 具有较强的抑制*H pylori*生长的作用, 为进一步开发野艾的药用价值提供了资料.



## ■同行评价

有关幽门螺杆菌的基础和临床研究是消化系疾病的研究热点之一。由于幽门螺杆菌对很多抗生素存在耐药性,其治疗的根除率、清除率等近年来呈下降趋势。目前,深入探讨幽门螺杆菌的耐药机制、寻找有效的治疗幽门螺杆菌感染的药物,是有关幽门螺杆菌基础和临床研究所急需解决的问题。本研究提取中药艾叶的有效活性成分,用于幽门螺杆菌体外抑制实验,具有一定的创新性。

- 25 McMahon BJ, Hennessy TW, Bensler JM, Bruden DL, Parkinson AJ, Morris JM, Reasonover AL, Hurlburt DA, Bruce MG, Sacco F, Butler JC. The relationship among previous antimicrobial use, antimicrobial resistance, and treatment outcomes for *Helicobacter pylori* infections. *Ann Intern Med* 2003; 139: 463-469
- 26 成虹, 胡伏莲. 北京地区幽门螺杆菌耐药情况及其变化趋势. *中华医学杂志* 2005; 85: 2754-2757
- 27 Elviss NC, Owen RJ, Xerry J, Walker AM, Davies K. *Helicobacter pylori* antibiotic resistance patterns and genotypes in adult dyspeptic patients from a regional population in North Wales. *J Antimicrob Chemother* 2004; 54: 435-440
- 28 Fallone CA. Epidemiology of the antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* in Canada. *Can J Gastroenterol* 2000; 14: 879-882
- 29 郑汉臣, 魏道智, 黄宝康, 辛海量, 秦路平. 艾叶的民俗应用与现代研究. *中国医学生物技术应用杂志* 2003; 2: 35-39
- 30 梅全喜. 艾叶的药理作用研究概况. *中草药* 1996; 27: 311-314

电编 李琪 编辑 潘伯荣

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

## • 消息 •

## 专家门诊

本刊讯 《世界华人消化杂志》特设“专家门诊”固定专栏为广大消化病患者搭建一个信息平台, 欢迎副主任医师以上的消化内科、普通外科专家为专栏撰稿(附单位介绍信), 免收出版费, 写作格式如下:

胃溃疡诊断和治疗

个人简介(附3.5 cm × 5 cm照片一张)

通信作者(包括邮政编码、工作单位、部门、科室、机构全称、地址、所在省市、E-mail)

0 引言; 1 诊断; 2 治疗; 3 特色; 4 门诊时间

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

## • 消息 •

## 技法与经验

本刊讯 《世界华人消化杂志》2006年设置“技法与经验”专栏, 及时报道微创、内镜下治疗消化病新的技术方法和成熟的经验。我们热烈欢迎各位作者踊跃投稿, 免费刊登照片。写作格式如下:

结肠镜下黏膜剥离切除术

0 引言

1 技术方法: 1.1 原理; 1.2 适应证; 1.3 器材准备; 1.4 步骤; 1.5 实例

2 结果

3 讨论: 3.1 并发症; 3.2 优点和缺点; 3.3 经验与技巧

4 参考文献