

# Study on the Effect of Berberine on the Proliferation of *Helicobacter pylori*

Jing Li<sup>1</sup>, Sen Li<sup>1</sup>, Shulin Li<sup>1</sup>, Chunxiao Liu<sup>1</sup>, Jiayi Li<sup>1</sup>, Hongyan Wang<sup>2\*</sup>, Shujuan Liang<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Clinical Medical College, Weifang Medical University, Weifang Shandong

<sup>2</sup>Department of Medical Microbiology, Weifang Medical University, Weifang Shandong

<sup>3</sup>Key Lab for Immunology in Universities of Shandong Province, Weifang Shandong

Email: 2690162529@qq.com, \*sdwfwwhy@163.com

Received: Dec. 28<sup>th</sup>, 2018; accepted: Jan. 11<sup>th</sup>, 2019; published: Jan. 18<sup>th</sup>, 2019

## Abstract

**Objective:** To study the inhibitory effect of berberine on the proliferation of *Helicobacter pylori* and its mechanism, so as to provide a new experimental basis for the treatment of gastritis. **Methods:** The minimal inhibitory concentration (MIC) of berberine against *Helicobacter pylori* and the inhibitory effect of berberine combined with metronidazole and clarithromycin at different concentrations on *Helicobacter pylori* were determined by incremental concentration method. **Results:** The MIC of *Helicobacter pylori* strains 26,695, S1 and 11,637 against berberine were 32 µg/ml, 32 µg/ml and 8 µg/ml, respectively. **Combined bacteriostasis:** MIC of *Helicobacter pylori* strain 26,695, strain Ss1 and strain 11,637 were berberine 16 µg/ml combined with metronidazole 4 µg/ml, berberine 8 µg/ml combined with metronidazole 4 µg/ml, and berberine 4 µg/ml combined with metronidazole 2 µg/ml, respectively. **Conclusion:** Berberine can successfully inhibit the proliferation of *Helicobacter pylori*, and the combination of drug resistance and bacteriostasis is obvious.

## Keywords

Berberine, Joint Bacteriostasis, Minimum Bacteriostasis Concentration

# 小檗碱抑制幽门螺旋杆菌增殖的作用相关研究

李 敬<sup>1</sup>, 李 森<sup>1</sup>, 李树林<sup>1</sup>, 刘春霄<sup>1</sup>, 李家仪<sup>1</sup>, 王红艳<sup>2\*</sup>, 梁淑娟<sup>3</sup>

<sup>1</sup>潍坊医学院临床医学院, 山东 潍坊

<sup>2</sup>潍坊医学院病原生物学教研室, 山东 潍坊

<sup>3</sup>山东省高校免疫学重点实验室, 山东 潍坊

Email: 2690162529@qq.com, \*sdwfwwhy@163.com

收稿日期: 2018年12月28日; 录用日期: 2019年1月11日; 发布日期: 2019年1月18日

\*通讯作者。

**文章引用:** 李敬, 李森, 李树林, 刘春霄, 李家仪, 王红艳, 梁淑娟. 小檗碱抑制幽门螺旋杆菌增殖的作用相关研究[J]. 生物医学, 2019, 9(1): 30-33. DOI: 10.12677/hjbm.2019.91005

## 摘要

目的：研究小檗碱抑制幽门螺旋杆菌增殖的作用及其机制，为胃炎的治疗提供新的实验依据。方法：采用药物浓度递增法测定小檗碱对幽门螺旋杆菌的最小抑菌浓度(MIC)和小檗碱联合甲硝唑、克拉霉素等药物不同浓度对幽门螺旋杆菌的抑制作用，寻找其MIC。结果：成功测得幽门螺旋杆菌26,695菌株、Ss1菌株和11,637菌株对小檗碱的MIC分别是32  $\mu\text{g/ml}$ 、32  $\mu\text{g/ml}$ 和8  $\mu\text{g/ml}$ ，联合抑菌：幽门螺旋杆菌26,695菌株、Ss1菌株和11,637菌株的MIC分别为小檗碱16  $\mu\text{g/ml}$ 联合甲硝唑4  $\mu\text{g/ml}$ 、小檗碱8  $\mu\text{g/ml}$ 联合甲硝唑4  $\mu\text{g/ml}$ 和小檗碱4  $\mu\text{g/ml}$ 联合甲硝唑2  $\mu\text{g/ml}$ ，结论：小檗碱能成功抑制幽门螺旋杆菌的增殖，联合耐药抑菌增殖明显。

## 关键词

小檗碱，联合抑菌，最小抑菌浓度

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

小檗碱[1]是黄连中发挥抗肠道细菌性感染治疗作用的主要成分。1969年，Amin等研究了硫酸小檗碱的体外抗菌活性，发现硫酸小檗碱在体外对多种革兰氏阳性菌(G+)，革兰氏阴性菌(G-)和真菌均有较强的抑制活性[2][3]。黄连及小檗碱在临床上已广泛应用于细菌性肠道感染疾病的治疗，小檗碱对人常见肠道感染菌的体内外抑制作用在上世纪80年代已经被广泛研究和证实。大量文献报道了小檗碱对霍乱弧菌和大肠埃希氏菌等致病菌的体外抑制活性，结果均认为小檗碱在体外对人肠道致病菌如霍乱弧菌和大肠埃希氏菌等具有直接的抑制作用[4]。Freile [5]等的研究发现，小檗碱在体外不但对金黄色葡萄球菌有很强的抑制作用，而且对多种人体分离的病原真菌白色念珠菌亦表现出较好的抑制作用。吴静[6][7]等采用纸片扩散法测量抑菌环大小和液体倍比稀释法测定最小抑菌浓度的方法研究了黄连及小檗碱对幽门螺旋杆菌的体外抗菌活性，结果发现黄连和小檗碱对幽门螺旋杆菌均具有一定的抗菌活性，提示黄连及黄连素可用于治疗幽门螺旋杆菌引起的胃病。因此，抗菌作用被认为是小檗碱发挥胃肠道感染治疗作用的主要机制。有研究发现，小檗碱与一般抗生素比较有不易产生耐药性的特点，因此推测小檗碱抗菌机制应与一般抗生素不同，这一特点使得研究小檗碱型新型抗菌药物具有一定科学价值[8]。

本实验研究小檗碱与临床胃炎常用药物甲硝唑、克拉霉素等联合应用对幽门螺旋杆菌的作用，探讨幽门螺旋杆菌耐药性的防御策略，为胃炎疾病的治疗提供新的实验依据。课题组前期研究发现黄连素主要成分小檗碱体外有明显抑制幽门螺旋杆菌增殖的作用，本课题以此为依据比较小檗碱与临床胃炎常用药物甲硝唑、克拉霉素等联合应用对幽门螺旋杆菌的作用，探讨幽门螺旋杆菌耐药性的防御策略，为胃炎疾病的治疗提供新的理论依据。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 材料

幽门螺旋杆菌：26,695 菌株、Ss1 菌株、11,637 菌株均来自于本实验室。小檗碱、甲硝唑、克拉霉素

购自中国药品生物制品检定所。新生牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司。布氏肉汤培养基及布氏肉汤 + 10% 蛋黄固体培养基由本实验室制成。

## 2.2. 方法

### 2.2.1. 幽门螺杆菌的培养

于细菌培养瓶中加入 9 ml 布氏肉汤培养基 + 1 ml 新生牛血清, 接种处于生长对数期的菌液 20  $\mu$ l, 将培养瓶置于含有 5% O<sub>2</sub> 10% CO<sub>2</sub> 85% N<sub>2</sub> 的混合气体的细菌罐中, 摇床恒温 37°C 振荡培养。

### 2.2.2. 小檗碱及甲硝唑和克拉霉素对幽门螺杆菌的生长抑制

培养幽门螺杆菌, 将处于生长对数期的幽门螺杆菌中加入小檗碱观察 0.25  $\mu$ g/ml、0.5  $\mu$ g/ml、1  $\mu$ g/ml、2  $\mu$ g/ml、4  $\mu$ g/ml、8  $\mu$ g/ml、16  $\mu$ g/ml、32  $\mu$ g/ml、64  $\mu$ g/ml、128  $\mu$ g/ml 浓度对幽门螺杆菌的抑制作用。由于培养基为黄色, 肉眼无法观察结果, 将培养至 72 h 的菌液取 100  $\mu$ l 涂于固体培养基上, 置于含有 5% O<sub>2</sub> 10% CO<sub>2</sub> 85% N<sub>2</sub> 的混合气体的细菌罐中观察, 以第一个出现细菌未生长或生长出稀疏单菌落的浓度为最小抑菌浓度。采用相同方法测定甲硝唑、克拉霉素的最小抑菌浓度。

### 2.2.3. 小檗碱对幽门螺杆菌常用药物的联合作用

联合应用小檗碱与甲硝唑、克拉霉素等, 观察联合用药后, 几种常用药物的抑菌情况, 方法同 2.2.2。

## 3. 结果

### 3.1. 成功测得幽门螺杆菌对小檗碱、甲硝唑和克拉霉素的最小抑菌浓度

按照 2.2.2 种方法测得幽门螺杆菌 26695 菌株、Ss1 菌株和 11637 菌株对小檗碱的 MIC。结果见表 1。

**Table 1.** The minimum inhibitory concentration of three strains to berberine, metronidazole and clarithromycin was not obtained because clarithromycin also killed bacteria at very low concentration

**表 1.** 三种菌株对小檗碱、甲硝唑和克拉霉素的最小抑菌浓度, 因克拉霉素浓度很小时也杀灭细菌所以未得其最小抑菌浓度

MIC $\mu$ g/ml	细菌	26,695	Ss1	11,637
小檗碱		32	32	8
甲硝唑		8	8	4

### 3.2. 成功测得的联合用药的最小抑菌浓度

按照 2.2.2 种方法测得幽门螺杆菌 26695 菌株、Ss1 菌株和 11637 菌株的 MIC 分别为小檗碱 16  $\mu$ g/ml 联合甲硝唑 4  $\mu$ g/ml、小檗碱 8  $\mu$ g/ml 联合甲硝唑 4  $\mu$ g/ml 和小檗碱 4  $\mu$ g/ml 联合甲硝唑 2  $\mu$ g/ml。

## 4. 讨论

幽门螺杆菌自发现以来, 已有大量证据已经证实幽门螺杆菌感染是多种胃肠道疾病的重要病因之一。目前采用多种抗生素联合来治疗幽门螺杆菌感染是最主要的方法, 虽然能够达到比较理想的疗效, 但是联合的抗生素越多, 耐药菌株及副作用的发生频率也越来越高[9] [10] [11]。小檗碱对幽门螺杆菌具有良好的抑制作用, 耐药性也相对较低, 但是其机制尚不明确。因此, 我们通过实验得出幽门螺杆菌对小檗碱及其他药物的最小抑菌浓度和联合用药最小抑菌浓度, 为日后的临床治疗和科学研究提供理论基础。

## 基金项目

山东省医药卫生科技发展计划项目(2017ws246), 潍坊医学院大学生科技创新基金项目(KX2014027),

潍坊医学院大学生科技创新基金项目(201810438018)。

## 参考文献

- [1] 张瑞芬, 苏和. 黄连的药理研究进展[J]. 内蒙古中医药, 2010(3): 114-117.
- [2] 李波, 朱维良, 陈凯先. 小檗碱及其衍生物的研究进展[J]. 药学学报, 2008(8): 773-787.
- [3] 钟慈平, 蹇宇, 舒畅, 索化夷, 李林. 小檗碱及其衍生物抑菌作用研究进展[J]. 食品科学, 2013(7): 321-325.
- [4] 蒋红艳, 杨元娟, 兰作平, 江尚飞, 谭涛. 小檗碱治疗消化系统疾病的药理学研究[J]. 中国生化药物杂志, 2014(1): 145-146.
- [5] 吴静, 王克霞, 李朝品, 王健, 朱玉霞, 胡友莹. 黄连与盐酸小檗碱对幽门螺杆菌的体外抗菌活性[J]. 中药药理与临床, 2006, 02: 37-38.
- [6] 吴静, 王克霞, 胡联华. 黄连对幽门螺杆菌的体外抗菌活性研究[J]. 时珍国医国药, 2006(12): 2486-2487.
- [7] 杨勇, 雷志英, 吴方评, 黄刚. 小檗碱的抗菌作用研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2010(9): 1783-1785.
- [8] 华国强. 小檗碱抑菌特点及抑菌机制的初步研究[D]: [硕士学位论文]. 济南: 山东大学, 2005.
- [9] 李斌. 盐酸小檗碱治疗消化性溃疡的临床研究[J]. 中国当代医药, 2011(24): 62-63.
- [10] 刘晓华, 薛玲珑. 盐酸小檗碱片联合四联疗法根治幽门螺杆菌的疗效观察[J]. 临床医药实践, 2014(8): 576-578.
- [11] 吴静. 中药对幽门螺杆菌的体外抗菌活性研究[D]: [硕士学位论文]. 淮南: 安徽理工大学, 2007.

### 知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2161-8976, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: [hjbm@hanspub.org](mailto:hjbm@hanspub.org)