

论著·临床研究

黄芩素、小檗碱、大黄酸、大黄素联合阿莫西林对
幽门螺杆菌诱导 GES-1 分泌 IL-8 的影响*彭洁¹, 唐芳^{2△}(1. 江西省人民医院/南昌医学院第一附属医院药学部, 江西 南昌 330006; 2. 南华大学衡阳
医学院附属南华医院药学部, 湖南 衡阳 421001)

[摘要] 目的 研究中药活性成分——黄芩素、小檗碱、大黄酸、大黄素与阿莫西林(AMC)联用时对幽门螺杆菌(Hp)诱导胃上皮细胞(GES-1)分泌白细胞介素-8(IL-8)的影响。方法 2022 年 10 月采用酶联免疫吸附测定法检测黄芩素、小檗碱、大黄酸、大黄素,以及与 AMC 联用时 GES-1 中 IL-8 的表达水平。结果 黄芩素、小檗碱、大黄酸、大黄素单独使用时均能明显降低 IL-8 表达水平,小檗碱、大黄素联合 AMC 均能明显降低 IL-8 表达水平,差异均有统计学意义($P < 0.05$);大黄素联用 AMC 时抑制 IL-8 分泌的效果最强。黄芩素联用 AMC 时 IL-8 表达水平与单独使用 AMC 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 小檗碱、大黄素均能通过降低 Hp 诱导 GES-1 分泌 IL-8 表达水平而增强 AMC 的抗 Hp 活性。黄芩素、大黄酸均不能通过降低 IL-8 表达水平而增加 AMC 的抗 Hp 活性。

[关键词] 黄芩素; 小檗碱; 大黄酸; 大黄素; 阿莫西林; 幽门螺杆菌; 胃上皮细胞; 白细胞介素-8

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2025.03.006

中图法分类号:R282.71

文章编号:1009-5519(2025)03-0604-04

文献标识码:A

Effects of baicalin, berberine, rhein, emodin combined with amoxicillin on
expressions of IL-8 in GES-1 cells with *Helicobacter pylori* infection*PENG Jie¹, TANG Fang^{2△}(1. Department of Pharmacy, Jiangxi Provincial People's Hospital/the First Affiliated
Hospital of Nanchang Medical College, Nanchang, Jiangxi 330006, China; 2. Department of
pharmacy, The Affiliated Nanhua Hospital, Hengyang Medical School,
University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[Abstract] **Objective** To study the effect of baicalin, berberine, rhein and emodin combined with amoxicillin (AMC) on expressions of Interleukin-8 (IL-8) in GES-1 cells with the treatment of *Helicobacter pylori* (Hp) infection. **Methods** The protocol was designed by ELISA methods, determined the expressions of IL-8 in GES-1 cells pretreated with baicalin, berberine, rhein, emodin and combined with AMC against Hp infection in October, 2022. **Results** Baicalin, berberine, rhein and emodin could reduce the expressions of IL-8. Rhein, emodin combined with AMC could reduce the expressions of IL-8 ($P < 0.05$). In the study, emodin combined with AMC has the strongest effect on the inhibition of IL-8 secretion in GES-1 cells. There was no significant difference between baicalin combined with AMC, compared with AMC alone ($P > 0.05$). **Conclusion** Berberine and emodin can significantly increase the anti-Hp activity of AMC by decreasing the secretion of IL-8 in GES-1 cells. However, baicalin and rhein could not increase the anti-Hp activity of AMC by decreasing the secretion of IL-8.

[Key words] Baicalin; Berberine; Rhein; Emodin; Amoxicillin; *Helicobacter pylori*; Gastric epithelial cell; Interleukin-8

全球近一半以上的人口感染过幽门螺杆菌(Hp), Hp 是多种胃和十二指肠疾病的重要致病因

子,可长期定居于胃黏膜表面,与宿主形成一种持久的平衡,伴随人终生,可形成持续感染。Hp 感染的长

* 基金项目:江西省中医药管理局科技计划项目(2022B1081)。

作者简介:彭洁(1993—),硕士研究生,主管药师,主要从事中药药理学研究。△ 通信作者, E-mail:197471179@qq.com。

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1129.R.20250218.1715.016\(2025-02-19\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1129.R.20250218.1715.016(2025-02-19))

期后果之一是胃恶性肿瘤,已被国际癌症研究机构列为 I 类致癌因子^[1]。与 Hp 相关的致癌机制一方面是基于慢性炎症的发作;另一方面基于细菌特异性毒力因子,这些毒力因子可破坏胃上皮细胞(GES-1)DNA 并促进基因组的不稳定性^[2]。Hp 一旦定植于胃黏膜通过与 GES-1 的相互作用,GES-1 就会发生细胞骨架重组和酪氨酸磷酸化,进而激活细胞因子的转录基因,分泌白细胞介素-8(IL-8),趋化并激活中性粒细胞等炎症细胞,产生显著的炎症反应^[3-4]。有研究表明,IL-8 表达水平与炎症程度呈正相关^[5]。

Hp 感染胃部后若未治疗、治疗不彻底可出现耐药,由于抗生素耐药性逐渐增加,而中药具有耐药性小的优势,植物来源的小分子化合物具有抗菌增敏剂的应用前景。陈署洪^[6]研究中药成分的不同组合对 Hp 的抑制作用发现,大黄、黄连、黄芩等抗 Hp 效果最明显。有较多的研究发现,中药大黄、黄连、黄芩与抗生素联合用药能在一定程度上提高抗生素敏感性^[7-9]。池志芳等^[10]选取黄连、黄芩、大黄对 72 株 Hp 菌株进行了药敏试验,结果显示,黄连、黄芩、大黄对 Hp 均具有一定的抑制效果。黄连具有清热燥湿的功效,国内外学者在筛选抗 Hp 有效的天然药物中黄连具有较好的抑菌效果,其抑菌的有效成分为小檗碱。黄芩主要化学成分为黄酮类化合物,其中含量较高并具有明显药理作用的是黄芩苷,具有抗炎、抗变态反应等作用。大黄是我国常用的中药,具有泻下、抗菌、抗肿瘤、止血等作用,大黄中的蒽醌类化合物——大黄酸、大黄素均具有抗菌作用。本研究选取黄芩、黄连、大黄中的单一成分黄芩素、小檗碱、大黄酸、大黄素,分析其联合阿莫西林(AMC)抗 Hp 活性增敏的作用机制,探讨了不同中药活性成分联合 AMC 时对 Hp 诱导 GES-1 分泌 IL-8 的影响,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂 黄芩素(纯度大于或等于 98%,批号:ZL140725241)、小檗碱(纯度大于或等于 95%,批号:ZL141017521)、大黄酸(纯度大于或等于 98%,批号:ZL140522336)、大黄素(纯度大于或等于 98%,批号:ZL140813321)均购自南京泽朗生物科技有限公司, Hp SS1 菌株由中南大学药理实验室提供, GES-1 的细胞系由中南大学药理中心实验室提供。Hp 琼脂培养基基础、Hp 选择性添加剂、脑心浸液肉汤培养基均购自青岛日水生物技术有限公司,胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司,无菌脱纤维养血清自南京便诊生物科技有限公司,高糖培养基购自赛默飞世尔科技有限公司,微需氧袋购自日本三菱瓦斯化学株式会社。酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒购自伊莱瑞特生物科技有限公司。

1.1.2 仪器 双人当面垂直送风净化工作台购自苏州智净净化设备有限公司,多功能酶标仪购自美国

Beckman 公司, Thermo Forma 生化培养箱购自美国 Thermo 公司。

1.2 方法

1.2.1 试剂的配制

1.2.1.1 10%完全培养基 在超净工作台取经 56 °C 水浴 30 min 灭活处理后的胎牛血清 10 mL,加入杜氏改良 Eagle 培养基稀释至约 100 mL。

1.2.1.2 磷酸盐缓冲液 称取磷酸氢二钾 3.49 g、磷酸二氢钾 0.24 g、氯化钠 8.0 g、氯化钾 0.2 g 置于洁净玻璃瓶中,加双蒸水 800 mL 使其完全溶解,用氯化氢调节 pH 至 7.4,再加双蒸水定容至 1 000 mL,高压蒸汽灭菌 30 min,4 °C 密封保存备用。

1.2.2 药物溶液的配制 (1)精密称定黄芩素 10 mg 置于 10 mL 容量瓶中,加适量 5% 的甲醇溶解后再加入纯水稀释至刻度线,摇匀,即得质量浓度为 1 mg/mL 的黄芩素对照品储备溶液,用 0.22 μm 滤器滤过除菌,置于 4 °C 保存。(2)精密称定小檗碱 10 mg 置于 10 mL 容量瓶中,加适量纯水,加热溶解后加入纯水稀释至刻度线,摇匀,即得质量浓度为 1 mg/mL 的小檗碱对照品储备溶液,用 0.22 μm 滤器滤过除菌,置于 4 °C 保存。(3)精密称定大黄酸 10 mg 置于 10 mL 容量瓶中,加适量碳酸氢钠溶液溶解后再加入纯水稀释至刻度线,摇匀,即得质量浓度为 1 mg/mL 的大黄酸对照品储备溶液,用 0.22 μm 滤器滤过除菌,置于 4 °C 保存。(4)精密称定大黄素 10 mg 置于 10 mL 容量瓶中,加适量碳酸钠溶液溶解后加入纯水稀释至刻度线,摇匀,即得质量浓度为 1 mg/mL 的大黄素对照品储备溶液,用 0.22 μm 滤器滤过除菌,置于 4 °C 保存。(5)精密称定 AMC 10 mg 置于 10 mL 容量瓶中,加适量纯水溶解后再加入纯水稀释至刻度线,摇匀,即得质量浓度为 1 mg/mL 的 AMC 对照品储备溶液,用 0.22 μm 滤器滤过除菌,置于 4 °C 保存。

1.2.3 Hp 的培养 2022 年 10 月将 Hp SS1 菌株接种于脑心浸液肉汤培养基于 37 °C、5% 氧气、10% 二氧化碳条件下培养。Hp 从 -80 °C 快速解冻复苏,接种于 Hp 琼脂培养基,将培养皿置于低氧培养箱中(5% 氧气、10% 二氧化碳)37 °C 培养 3~4 d,取其培养 3 代后的菌株进行实验。Hp 接种于 Hp 琼脂培养基平板 37 °C 培养 3 d 后以脑心浸液肉汤制成菌悬液,用分光光度计调整菌悬液,在 600 nm 波长下测定细胞活力,吸光度(OD) = 1,对应的菌落数约为 2×10^8 cfu/mL。

1.2.4 GES-1 的细胞培养 采用含 10% 胎牛血清的杜氏改良 Eagle 培养基,37 °C、5% 二氧化碳条件下进行 GES-1 的细胞培养。

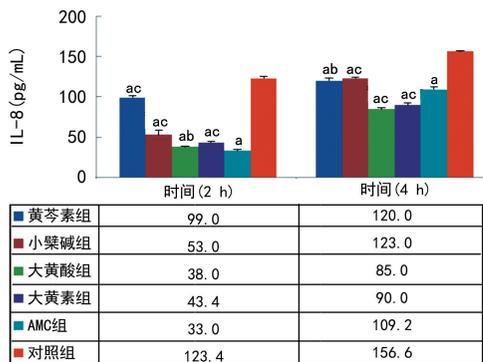
1.2.5 药物分组 高峰等^[11]研究表明,黄芩素的半数抑制浓度为 51.38 μg/mL,小檗碱为 98.64 μg/mL,大黄酸为 67.31 μg/mL,大黄素为 67.33 μg/mL,AMC 为 47.47 μg/mL,且 50 μg/mL 的黄芩素、小檗碱、大

黄酮、大黄酸均能明显增加 AMC 在菌体内的聚集。故统一采用 50 μg/mL 的药物浓度进行研究,便于单因素分析比较。将单独使用黄芩素、小檗碱、大黄酸、大黄素、AMC 预处理 Hp 设为单独药物组,黄芩素、小檗碱、大黄酸、大黄素与 AMC 联用预处理 Hp 设为联合用药组,未处理 Hp 设为对照组。

1.2.6 细胞分泌物 IL-8 收集 (1)将 Hp 暴露于上述各组药物后感染细胞,培养细胞 2、4 h;(2)收集上清液,按 ELISA 试剂盒操作说明书测定 IL-8 表达水平;(3)将 IL-8 标准品稀释成 500.000、250.000、125.000、62.500、31.250、15.625、7.800 pg/mL,并绘制标准曲线;(4)将样本加入 IL-8 试剂盒多孔板中,37 °C 恒温孵育 90 min 后洗板 5 次,加入生物素化抗体工作液,37 °C 孵育 60 min,洗板 5 次,清洗后加酶结合工作液,37 °C 避光孵育 30 min,洗板 5 次,加入显色底物,37 °C 避光孵育 15 min,加终止液终止反应;(5)采用酶标仪(波长 450 nm)分析测量记录。

2 结 果

2.1 黄芩素、小檗碱、大黄酸、大黄素、AMC 单独使用时对 Hp 诱导 GES-1 分泌 IL-8 的影响 各单独药物组预处理 Hp 与 GES-1 共培养 2 h 时 IL-8 表达水平明显低于对照组,小檗碱、大黄酸、大黄素组 IL-8 表达水平明显低于黄芩素组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);其中大黄酸组 IL-8 表达水平下降最明显。小檗碱组 IL-8 表达水平与大黄素组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与对照组比较,各单独药物组预处理 Hp 与 GES-1 共培养 4 h 时 IL-8 表达水平也会出现明显下降,大黄酸组、大黄素组 IL-8 表达水平较黄芩素组和小檗碱组下降更明显,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);黄芩素组 IL-8 表达水平与小檗碱组比较,大黄酸组 IL-8 表达水平与大黄素组比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 1。

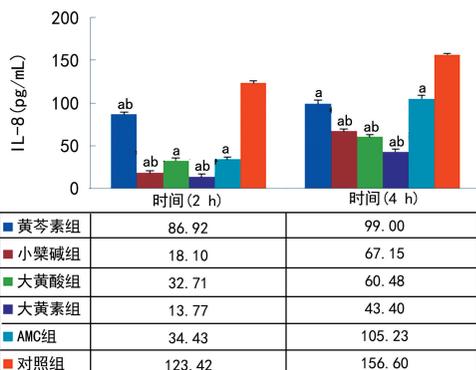


注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 AMC 组比较,^b $P < 0.05$,^c $P < 0.01$ 。

图 1 黄芩素、小檗碱、大黄酸、大黄素、AMC 单独使用时对 Hp 诱导 GES-1 分泌 IL-8 的影响

2.2 黄芩素、小檗碱、大黄酸、大黄素与 AMC 联合使用时对 Hp 诱导 GES-1 分泌 IL-8 的影响 各联合用药组、AMC 组预处理 Hp 与 GES-1 共培养 2 h 时 IL-

8 表达水平明显低于对照组,AMC 组 IL-8 表达水平明显低于黄芩素联合用药组,小檗碱、大黄素联合用药组 IL-8 表达水平明显低于 AMC 组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);大黄酸联合用药组 IL-8 表达水平与 AMC 组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。小檗碱、大黄酸、大黄素联合用药组预处理 Hp 与 GES-1 共培养 4 h 时 IL-8 表达水平明显低于 AMC 组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);AMC 组 IL-8 表达水平与黄芩素联合用药组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 2。



注:与对照组比较,^a $P < 0.05$,与 AMC 组比较,^b $P < 0.01$ 。

图 2 黄芩素、小檗碱、大黄酸、大黄素与 AMC 联合使用时对 Hp 诱导 GES-1 分泌 IL-8 的影响

3 讨 论

Hp 可诱导胃和十二指肠的感染部位产生炎症反应和免疫反应,引起胃黏膜感染部位炎症细胞浸润,胃黏膜细胞变性、坏死,从而造成胃黏膜屏障的损害,导致一系列病理生理变化,其虽然是一种非侵袭性细菌,但却可通过定植于 GES-1 引起其发生细胞骨架重组和酪氨酸磷酸化,从而激活细胞因子的转录基因,分泌 IL-8、单核细胞趋化蛋白-1、肿瘤坏死因子-α 等趋化因子,趋化并激活中性粒细胞等炎症细胞,从而产生炎症反应。

IL-8 作为一种促炎趋化因子在胃肠道的炎症反应中具有非常重要的作用^[12]。RAMIS 等^[13]发现,IL-8 基因-251 位的 A/A 基因型与 Hp 感染致消化道溃疡风险增加相关。有研究表明,Hp 高毒力菌株感染患者血清 IL-8、肿瘤坏死因子-α 水平高于 Hp 低毒力菌株感染者和未感染者,胃癌患者黏膜 IL-8 表达水平明显高于健康者,且预后情况与 IL-8 表达水平呈负相关^[14]。IL-8 的生成受许多因素调控。有研究表明,Hp CagA 阳性菌株诱导 IL-8 的分泌能力显著大于 Hp CagA 阴性菌株^[15]。IL-8 可通过自分泌或旁分泌促进胃癌组织新生血管生成,其在人类胃癌的发生、发展中具有一定的作用^[16-17]。

本研究结果显示,采用黄芩素、小檗碱、大黄素、大黄酸、AMC 预处理 Hp 后 GES-1 分泌 IL-8 能力下降,黄芩素、小檗碱、大黄酸、大黄酸对 Hp 的体外抑制作用可能通过降低 IL-8 表达水平而实现;小檗碱、

大黄素与 AMC 联合使用时能显著降低 IL-8 表达水平,其中大黄素与 AMC 联用使用后抑制 IL-8 分泌的效果最强,黄芩素与 AMC 联合使用 IL-8 表达水平与 AMC 单独使用无显著差异。表明小檗碱、大黄素可能通过降低 Hp 诱导 GES-1 分泌 IL-8 表达水平而增强 AMC 的抗 Hp 活性。黄芩素、大黄酸不能通过降低 IL-8 表达水平而增加 AMC 的抗 Hp 活性。本研究还发现,黄芩素与 AMC 联合使用与 AMC 单用使用比较,降低 IL-8 表达水平的作用不明显,黄芩素与 AMC 联合使用是否产生拮抗作用尚有待于进一步研究。

参考文献

- [1] WANG F, MENG W, WANG B, et al. Helicobacter pylori-induced gastric inflammation and gastric cancer [J]. *Cancer Lett*, 2014, 345(2):196-202.
- [2] SALVATORI S, MARAFINI I, LAUDISI F, et al. Helicobacter pylori and gastric cancer: pathogenetic mechanisms [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3):2895.
- [3] ALZHRANI S, LINA T T, GONZALEZ J, et al. Effect of helicobacter pylori on gastric epithelial cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(36):12767-12780.
- [4] KIM H S, LIM J W, KIM H. Korean red ginseng extract inhibits IL-8 expression via Nrf2 activation in helicobacter pylori-infected gastric epithelial cells [J]. *Nutrients*, 2022, 14(5):1044.
- [5] LOPES A I, QUIDING-JARBRINK M, PALHA A, et al. Cytokine expression in pediatric helicobacter pylori infection [J]. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2005, 12(8):994-1002.
- [6] 陈署洪. 基于数据挖掘探究幽门螺旋杆菌相关性胃炎的中医药文献证治规律 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2023.
- [7] 耿聪, 李岩, 姚鑫洁. 三黄泻心汤三味药联合抗生素对幽门螺旋杆菌的体外抑菌实验研究 [J]. *实用药物与临床*, 2021, 24(4):307-311.
- [8] 董凤. 中药成分对多重耐药性幽门螺旋杆菌的体外抑菌作

用 [J/CD]. *中西医结合心血管病电子杂志*, 2017, 5(15):78.

- [9] 覃俊媛, 彭成, 孙晨, 等. 中药抗幽门螺杆菌感染的研究进展 [J]. *中国现代应用药学*, 2022, 39(5):710-716.
- [10] 池志芳, 耿巧英, 席菊兰. 三种常见中药对山西地区幽门螺杆菌的药物敏感性实验 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2012, 7(9):760-761.
- [11] 高峰, 周培根, 余鹏. 黄芩素、小檗碱、大黄酸、大黄素与阿莫西林联合抗幽门螺杆菌的药敏实验研究 [J]. *四川中医*, 2017, 35(10):141-144.
- [12] MATSUSHIMA M, SUZUKI T, MASUI A, et al. Cranberry extract suppresses interleukin-8 secretion from stomach cells stimulated by helicobacter pylori in every clinically separated strain but inhibits growth in part of the strains [J]. *J Funct Foods*, 2013, 5(2):729-735.
- [13] RAMIS I B, VIANNA J S, GONÇALVES C V, et al. Polymorphisms of the IL-6, IL-8 and IL-10 genes and the risk of gastric pathology in patients infected with Helicobacter pylori [J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2017, 50(2):153-159.
- [14] DENG J S, QIN P, LI X X, et al. Association between interleukin-1 β C (3953/4) T polymorphism and chronic periodontitis: evidence from a meta-analysis [J]. *Hum Immunol*, 2013, 74(3):371-378.
- [15] HELD M, ENGSTRAND L, HANSSON L E, et al. Is the association between Helicobacter pylori and gastric cancer confined to caga-positive strains? [J]. *Helicobacter*, 2004, 9(3):271-277.
- [16] LIN Y, WANG S M, HUANG R P. Angiogenic effect of interleukin-8 in breast cancer and its association with estrogen receptor [J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2005, 85(20):1419-1423.
- [17] WAUGH D J J, WILSON C. The interleukin-8 pathway in cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(21):6735-6741.

(收稿日期:2024-05-29 修回日期:2024-09-17)

(上接第 603 页)

- [25] 何婉苹, 王焕丽, 毕超, 等. 2018—2019 年广州市性病门诊就诊者淋球菌和生殖道沙眼衣原体感染现状及危险因素 [J]. *河南预防医学杂志*, 2022, 33(1):53-57.
- [26] ELWELL C, MIRRASHIDI K, ENGEL J. Chlamydia cell biology and pathogenesis [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14(6):385-400.
- [27] 郑文爱, 闫薇臣, 王芳乾, 等. 772 例支原体患者衣原体检测及支原体感染药敏结果分析 [J]. *海南医学*, 2014, 25(2):216-217.
- [28] 魏碧娜, 彭臻菲, 过丹丹, 等. 宫颈病变患者 hr-HPV 感染

基因分型及其影响因素模型构建 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2023, 33(11):1700-1704.

- [29] BÉBÉAR C, DE BARBEYRAC B. Genital chlamydia trachomatis infections [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2009, 15(1):4-10.
- [30] JENSEN J S, CUSINI M, GOMBERG M, et al. 2021 European guideline on the management of mycoplasma genitalium infections [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2022, 36(5):641-650.

(收稿日期:2024-08-07 修回日期:2024-12-03)