

# 大黃抑制幽門螺旋桿菌及其 作用機轉之研究

## The Effect of Dahuang on the Growth Inhibition and the Mechanism of the *Helicobacter pylori*

王煌輝 鍾景光<sup>1</sup> 張永勳<sup>2</sup>

中國醫藥學院附設醫院消化內科

<sup>1</sup> 中國醫藥學院微生物學科

<sup>2</sup> 中國醫藥學院中藥研究所

### 摘 要

許多文獻已經證實幽門螺旋桿菌與上消化道疾病有密切關係，臨床上根除幽門螺旋桿菌可有效降低潰瘍的復發率及粘膜相關淋巴瘤的產生，因此抗幽門螺旋桿菌之療法成為治療上消化道疾病重要的方法。單一抗生素對抗幽門螺旋桿菌之效果欠佳。而中藥大黃被報告具有抑制幽門螺旋桿菌生長之作用。大黃酸、大黃素及蘆薈大黃素此三種游離型蒽 衍生物是大黃中抗菌之主成分。本研究是探討大黃酸、大黃素及蘆薈大黃素對幽門螺旋桿菌生長抑制之情形及可能之作用機轉，同時也比較臨床使用之抗生素 Amoxicillin、Tetracycline 及 Metronidazole 對該菌抑制之。實驗結果發現大黃三種主成分都可抑制幽門螺旋桿菌，而且隨著濃度的增加對此菌生長抑制也跟著增加，大黃素濃度在 925  $\mu\text{M}$  即可完全抑制幽門螺旋桿菌的生長，而三者對幽門螺旋桿菌抑制的強弱順序是大黃素 > 大黃酸 > 蘆薈大黃素 (73 $\pm$ 9%，70 $\pm$ 9%，67 $\pm$ 10%)。大黃素加大黃酸加蘆薈大黃素三者合併使用可達 87 $\pm$ 10% 之抑制作用。有關大黃抑制幽門螺旋桿菌作用機轉之研究，經由 DNA 抽取後跑電泳，發現大黃素能使



幽門螺旋桿菌的DNA破壞，而達到抑制幽門螺旋桿菌之作用，同時發現此三者成分也可抑制幽門螺旋桿菌N-乙醯轉移酵素(NAT)的活性。因此我們的結論認為大黃素、大黃酸及蘆薈大黃素的劑量對於幽門螺旋桿菌的生長抑制、DNA破壞及NAT活性的作用有關係。

關鍵詞：大黃素、大黃酸、蘆薈大黃素、乙醯轉移酵素、幽門螺旋桿菌。

## ABSTRACT

Studies were conducted to examine the dose effects of Dahuang components(emodin, rhein, and aloe-emodin) and clinical antibiotics (amoxicillin, metronidazole and tetra-cycline) on inhibition of growth, DNA damage events, N-acetyltransferase (NAT) activity in *H. pylori* from patients who had peptic ucler disease. Inhibition of growth study from *H. pylori* demonstrated that emodin, rhein, and aloe-emodin elicited dose-dependent growth inhibition in *H. pylori* cultures, i.e; the greater the concentration of emodin, aloe-emodin, and rhein, the greater the growth inhibition to *H. pylori*. Pronounced concentration dependent inhibition occurred in the presence of Dahuang components (emodin>rhein>aloe-emodin).Clinical antibiotic also induced dose dependent effecton the % inhibition in *H. pylori* growth. Pronounced concentration dependent inhibition occurred in the presence of clinical antibiotic (tetracycline> amoxicillin > metronidazole ). However, S1 nuclease sensitivity analysis studies revealed that emodin, rh-ein, and aloe-emodin induced dose-dependent DNA damage in *H. pylori*. Cytosols or suspensions of *H. pylori* with or without specific concentrations of emodin, rhein, and aloe-emodin co-treatment showed different percentages of 2-aminofluorene and paminobenzoic acid acetylation. The data indicate that there was decreased NAT activity associated with increased levels of emodin, rhein



and aloe-emodin in *H. pylori* cyt-osols and intact cells. Collectively, these results suggest that there was a possible relationship between the dose response to emodin, rhein and aloe-emodin and the inhibition of growth, DNA damage and NAT activity in *H. pylori*.

Key words: emodin; rhein; aloe-emodin; DNA damage; N-cetyltransferase; *Helicobacter pylori*

## 壹、前 言

近年來幽門螺旋桿菌(*Helicobacter pylori*)被發現與許多上消化道疾病有密切關係，例如慢性胃炎、胃、十二指腸潰瘍、胃癌、粘膜相關性淋巴瘤等(1-5)，其中消化性潰瘍病人約90%有感染此幽門螺旋桿菌，臨床上消除此菌可明顯的降低潰瘍的復發(3-9)，故目前幽門螺旋桿菌的感染被認為是引起消化性潰瘍的一重要因子。因此如何選擇有效抗幽門螺旋桿菌作用的藥物治療成為重要的療效指標。單一抗生素包括 amoxicillin, tetracycline, metronidazole, cefspan, clarithromycin 等，已經被證實對幽門螺旋桿菌的生長有抑制作用，但其效果在5~30%左右而已(8)。而中藥大黃具有瀉下、消炎、抗菌、抗癌等作用(10-19,23,24)，近年大陸學者(12)提出38種中藥對於幽門螺旋桿菌具有不同程度的抑制作用，其中大黃具有最明顯的抑菌作用，宋等(20-22)報告單味大黃治療幽門彎曲菌陽性的消化性潰瘍臨床觀察發現精制大黃片對於幽門彎曲菌有90%的轉陰率。因此本研究將探討大黃抗菌的主成分大黃酸、大黃素及蘆薈大黃素對於幽門螺旋桿菌的生長抑制情形及其可能的作用機轉。

## 貳、材料與方法

### 一、幽門螺旋桿菌之取得

幽門螺旋桿菌的來源可分兩處，一處來自於美國 ATCC 菌種中心純菌種用來控制和對照。另一處來自於中國醫藥學院附設醫院，經胃



鏡檢查由患者胃粘膜切片培養分離純化而來，用來作為主要實驗研究用。這些菌事先接種於brain heart infusion的broth供應10%CO<sub>2</sub>的空氣，37°C在有振動的培養箱中培養。然後做革蘭氏染色及生化特性測定，確定該菌無誤再用來做進一步的研究。

## 二、幽門螺旋桿菌培養液PH值之測定

將菌種置於brain heart infusion broth於37°C振盪培養箱內培養四天，然後利用分光光度計來測其細菌混濁度，將0.5ml大約相等量的*H. pylori*置於不同PH值的試管內然後培養於10%CO<sub>2</sub>空氣，37°C振盪培養箱四天，測定其生長混濁度來決定生長之情形，由此即可得知何種PH值的培養液最適合此菌的生長。

## 三、抑制幽門螺旋桿菌生長之實驗

### (1) 大黃抗菌主成分rhein, emodin及aloe-emodin對於*H.pylori*生長抑制的實驗

由Sigma公司購得實驗用藥rhein, emodin及aloe-emodin將以上三種pure compound分別作對*H. pylori*抑菌之實驗，如同前面方法所提將菌種培養讓其繁殖到足夠的數量，然後分別取0.5ml之細菌接入不同藥物濃度之試管中，一組當對照組不含藥劑。培養於CO<sub>2</sub>，37°C的振盪培養基中四天，然後測其生長的混濁度，重複每組做三次得其平均值，由此結果得知大黃主成分的rhein, emodin及aloe-emodin在試管之實驗是否對*H. pylori*的生長有抑制的作用。

### (2) 臨床上的抗生素和大黃抑制*H.pylori*的生長試驗比較

實驗過程與1項同，除了檢測rhein, emodin, aloe-emodin amoxicillin, metronidazole, 和tetracycline對*H.pylori*生長抑制的比較，同時也檢測基原為掌葉大黃的醇提大黃生藥對*H. pylori*生長抑制的情形。

## 四、不同濃度的emodin, rhein, aloe-emodin可能引起不同程度幽門螺



## 螺旋桿菌DNA的破壞

首先把由病人分離出來的HP繁殖在brucella media，然後於每支試管(5ml)加 $1 \times 10^8$  Bacteria,接著分別加入不同濃度的試劑(emodin, rhein, aloe-emodin (例如：emodin濃度為0.0925, 0.925, 9.25, 92.5, 925  $\mu$ M)。控制組不加試劑，每一組實驗重複做三支，然後放入培養箱培養24小時之後，離心收集HP細菌。接著再由Phenol,Chloroform萃取每支實驗組和控制組的DNA，DNA再由分光光度計測其比值260/280，接著分別把每支DNA再分出二組，一支加S1Nuclease去分解有斷裂的DNA。最後再把每支及每支的二組分別加入10%agarose gel去跑DNA電泳，然後停止，再加入EtBr去染色，再移入U.V.光去照相，而比較其間的差異，就可了解該試劑對幽門螺旋桿菌DNA破壞的情形。

### 五、大黃主成分emodin, rhein, aloe-emodin對胃幽門螺旋桿菌乙醯轉移酵素活性的影響

胃幽門螺旋桿菌在加入emodin, rhein, aloe-emodin為實驗組而未加入者為控制組然後再加入不同濃度2-aminofluorene培養不同時間再各取培養液離心萃取乾燥，最後加入methanol而分析於高壓層析儀(HPLC)去檢測AF被乙醯化成N-acetyl-2-aminofluorene的量，即間接來決定此不同濃度大黃成分對幽門螺旋桿菌內乙醯轉移酵素乙醯化受質(2-aminofluorene)的影響。

## 參、結 果

### 一、大黃素(Emodin)，大黃酸(Rhein)和蘆薈大黃素(Aloe-emodin)對幽門螺旋桿菌生長的抑制

經由分別有無加入大黃素，大黃酸和蘆薈大黃素進入一定幽門螺旋桿菌的培養液中，(無加入則為控制組)，然後經過四天之後，分別測O.D.值來決定此三種大黃成份對此菌生長抑制的情形，結果呈現於表一,表二和表三中，由這些表中可發現隨著檢測的大黃成份濃度



增加則抑制幽門螺旋桿菌生長隨著增加，也就是說呈現出 dose-dependent effects 現象。此現象均出現於22株由附設醫院病人檢體培養出來的幽門螺旋桿菌，同時也利用二株非幽門螺旋桿菌，如#23a 大腸桿菌(E.Coli)和#24b 金黃色葡萄球菌(S.aureus)做比較。由結果顯示對此二菌抑制比較少。

表四是利用同株濃度來檢測此三種成分及混合成分對幽門螺旋桿菌生長的抑制。顯示 emodin>rhein>aloe-emodin，但是三者同時加入則抑制性最強，其次是 emodin + aloe-emodin，而較差的是 emodin+ rhein 和 aloe-emodin+rhein。

## 二、大黃與西藥抗生素對幽門螺旋桿菌生長抑制之比較

(Dahuang)醇提大黃來自於大陸學者提供基源為掌葉大黃。分別加入不同抗生素(amoxicillin, metronidazole 和 tetracycline)於幽門螺旋桿菌試管。經過四天之後再檢測O.D.而無加入者為控制組，來比較影響該菌生長抑制的情形。結果於表五，此四種藥都隨著濃度升高而抑制率增加，西藥抗生素在高濃度(500  $\mu$ M)大約是50%抑制率，由三株個別菌所得。而掌葉大黃在同樣濃度則可抑制超過70%，相較之下比西藥的抗生素效果好。

## 三、大黃成分對幽門螺旋桿菌DNA破壞的情形

檢測大黃主要成份 emodin、rhein 和 aloe-emodin 對幽門螺旋桿菌 DNA 抑制情形。經由培養的菌分別有無加入不同濃度的 emodin 然後經過四天抽取DNA 再跑 Agarose gel 電泳。結果如下圖1所示，隨著濃度增加DNA破壞情形也增加，由這圖很明顯的 emodin 可破壞幽門螺旋桿菌DNA。也許這就是抑制其生長分裂的主要原因，當然也檢測 aloe-emodin 和 rhein，結果與 emodin 相似；但根據此電泳膠片我們無法判斷此三種大黃成分那一個對DNA破壞情形比較強，僅知此三種成分確實可導致該菌DNA斷裂。

## 四、大黃成分 Emodin、Aloe-emodin、Rhein 對幽門螺旋桿菌的N-乙酰轉移酶活性的影響



經由結果顯示，隨著個別濃度加入此菌 Cytosol 中，再加入受質 2-aminofluorene 結果得知隨濃度上升此三種成分對該菌 N-乙醯轉移酵素活性抑制增加。同時也在整個培養的幽門螺旋桿菌中加入 2-aminofluorene 再加入不同濃度的 emodin, rhein 和 aloe-emodin 再檢測乙醯化 2-aminofluorene 的量，發現隨著濃度增加抑制 2-aminofluorene 乙醯化的產量也增強，由這兩方面結果可知大黃成分 emodin, rhein 和 aloe-emodin 確實可抑制胃幽門螺旋桿菌乙醯轉移酵素的活性。

## 肆、討 論

由以上之實驗資料結果(表一、二、三)顯示，游離型大黃蘗 衍生物之主成分大黃酸、大黃素及蘆薈大黃素具有抑制幽門螺旋桿菌生長的作用，此與大陸學者苟等(11)提出之報告一致。且其抑制幽門螺旋桿菌生長之作用隨著濃度之增加而增強，另外實驗研究發現若此三種成分兩種兩種合併使用或三種合併使用將可增加 10-20% 左右之幽門螺旋桿菌生長抑制作用。1994 年王緒霖等(12)提出中藥大黃煎液具有抑制幽門螺旋桿菌之作用(表四)。本研究結果顯示醇提大黃比對照組 amoxicillin, tetracycline, metronidazole 具有較好的抑制 *H. pylori* 之作用(74% vs 48% vs 49% vs 44%)(表五)，此更進一步證實大黃具有良好的抗幽門螺旋桿菌之作用。文獻報告單一抗生素 amoxicillin tetracycline 及 metronidazole 在人體內對幽門螺旋桿菌之治癒率分別只有 15%、5% 及 5%(8)；醇提大黃在人體是否比這些單一抗生素有較好的作用，則需更進一步的臨床研究。

大黃抑制幽門螺旋桿菌作用機轉之研究則透過 S1 Nuclease 去分解有斷裂的 DNA，然後加入 10% agarose gel 去跑 DNA 電泳比較其間的差異。斷裂愈多則 DNA 在 gel 移動愈多，相對顯示此大黃成分破壞 DNA 也愈多。本實驗之研究結果(圖一)顯示在給予大黃素過程的幽門螺旋桿菌之 DNA 曾發生單鍵破壞，且其破壞程度隨著大黃素濃度之增加而顯著。

另外經由檢測的此菌細胞內乙醯轉移酵素 (N-acetyltransferase, NAT)。乙醯化受質 2-aminofluorene 成為 N-acetyl-2-



aminofluorene 的量也發現隨著此大黃成分濃度的增加抑制酵素活性的情形也愈大。文獻也指出外來藥物如提昇 NAT 酵素的活性則會導致個體暴露到化學致癌物(2-AF)後引起更大機會得到癌症(25,27)。文獻也已指出改變個體肝中人的 NAT 酵素之活性則該個體罹患乳癌和膀胱癌有直接相關連(26)。目前本研究的結果顯示大黃三個成分 emodin, aloe-emodin 和 rhein 確實可降低幽門螺旋桿菌乙醯化 2-Aminofluorene 的量，相對的也降低此 DNA 控制該酵素的活性。雖然文獻尚未證實個人乙醯轉移酵素活性降低，是否可減少癌症的產生或可防止癌症的發生，也是目前專家學者正在研究的主要方向。

## 伍、結論與建議

綜合以上各項的分析，大黃主要成分 emodin, aloe-emodin 和 rhein 可抑制幽門螺旋桿菌的生長，造成該菌 DNA 破壞和抑制該菌乙醯轉移酵素的活性，將來更進一步要持續有關抑制機轉和 DNA 破壞的關連性研究。然而本研究結果已可提供一些基本資訊有關大黃抑制幽門螺旋桿菌的作用機轉。

## 陸、參考文獻

1. NIH Consensus Development Panel on Helicobacter pylori in Peptic Ulcer Disease. Helicobacter pylori in Peptic Ulcer Disease. JAMA. 1994;272:65-69
2. Parsonnet J. Friedman GD. Vandersteen DP et al. Helicobacter pylori eradication and the risk of gastric carcinoma. N Engl J Med 1990;335:1233-1235
3. Rauns WAJ. Tytgat GNT. Cure of duodenal ulcer associated with eradication of Helicobacter pylori. Lancet 1990;335: 1233-1235
4. David Y. Graham, Ginger M. Lew, Dolores G. Evans et al. Triple Therapy (antibiotics plus bismuth) on duodenal ulcer healing. A



- Randomized controlled trial. *Annals of Internal Medicine*. 1991;115:266-269
5. Graham DY. Treatment of peptic ulcers caused by *Helicobacter pylori*. *N Engl J Med* 1993;328:349-350
  6. Jin TT, Wang JT. Prospective, randomized study of H2-blocker and triple therapy for duodenal ulcer treatment and the eradication of *Helicobacter pylori*. *J Formos Med Assoc* 1994;96:68-373
  7. Hwang-Huei Wang, Chung-Hu Hsu, Hsu-Ping Tseng, Jong-Yee Lin, Keh-chang Huang, Fu-Tzann Jwo, Ken-Sheag Cheng, Jenq-Her Chang. A comparison of the efficacy between Denol-based and Zantac-based triple therapy for recurrent duodenal ulcer accompanied with *Helicobacter pylori* infection. *Chin Med Coll J*.1996.5(2):63-68.
  8. Marshall BJ. Treatment strategies for *Helicobacter pylori* in: *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology Clinics of North America*. W.B.Saunders Company. Philadelphia.1993;22(1)183-198,
  9. Labenz J, Grenes E, Ruhl GH et al. Omeprazole plus Amoxicillin: Efficacy of various treatment regimens to eradicate *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 1993;8:491-495
  10. Dahuang: in Huang HM, But. PPH, *Pharmacology and applications, of Chinese Materia Medica*. World Scientific Singapore 1986
  11. 苟奎斌、孫麗華、婁衛寧、冷傳剛、大黃蕙 抑制幽門螺杆菌的實驗研究、新消化病學雜誌 1997;5(8):495-496.
  12. 王緒霖、繳穩玲、呂宗舜等：抑制幽門螺旋菌中藥的初步篩選中國中西醫結合雜誌 1994;14(9):534-536
  13. 岳仁宗：大黃的實驗研究與臨床應用；中西醫結合雜誌 1990;10(5),310-313
  14. 大黃的研究， 陳可驥、張之南、梁子鈞、徐理納：血瘀證與舌血化瘀研究 台北知音出版社 1995;587-594
  15. 大黃專輯 北京醫科大學學報 25:5.supp(增刊)。1993



16. 高曉山、陳馥馨：大黃 北京，中國醫藥科技出版社 1988
17. 劉慶增：大黃的化學成分及藥理作用，中草藥 1987;18(1):41
18. 翁維良等：大黃醇提片對微循環的影響，山西醫藥雜誌 1985;14(6):339
19. 吳絨中、李士忠、裴德愷：急腹症研究，台北知音出版社 1995
20. 宋希仁、張伯銘、施仁孝等：大黃治療幽門彎曲菌陽性的消化性潰瘍臨床觀察 中醫誌 1991;(5),281-828
21. 焦東海等：單味大黃治療三種消化道急症1000例的臨床小結 中西結合雜誌 1982;2(2):85
22. 焦東海、章顧龍、阮直吾等：大黃醇提片治療急性上消化道出血的臨床療效分析 中西醫結合雜誌 1988;8:6,344-346
23. 滕佳琳、米杰：試論大黃的雙向調節作用 山東中醫學院學報 1993;17:2,16-17.
24. 大黃：陰健、郭力弓 中藥現代研究與臨床應用I 學苑出版社 北京 1994,61-86
25. W.W. Weber and D.W. Hein, N-Acetylation pharmacogenetics. Pharmacol. Rev. 1985;37, 25-79.
26. J. G. Chung, G. N. Levy and W.W. Weber, Distribution of 2-aminofluorene and p-aminobenzoic acid N-acetyltransferase activity in tissues of C57/BL/6J rapid and B6.A-Nats slow acetylator congenic mice. Drug Metab. Dispos. 21, 1993;1057-1063.
27. J.G. Chung, H.M.Kuo, T.H. Lin, C.C. Ho, J.H. Lee, J.M. Lai, G.N. Levy and W.W. Weber, Evidence for arylamine N-acetyltransferase in the nematode *Anisakis simplex*. Cancer Lett. 1996;106, 1-6.



表一  
大黃素對幽門螺旋桿菌生長抑制作用

Strains	Concentrations of emodin ( $\mu\text{M}$ )					
	0	0.0925	0.925	9.25	92.5	925
	% inhibition					
1	0	2	12	86	90	98
2	0	1	11	80	88	94
3	0	0	19	74	88	98
4	0	2	13	79	89	98
5	0	2	23	67	92	99
6	0	0	24	80	87	98
7	0	1	15	82	89	99
8	0	3	18	81	90	98
9	0	2	19	83	91	97
10	0	0	21	81	93	96
11	0	2	16	83	90	97
12	0	3	19	85	91	99
13	0	1	17	81	88	97
14	0	0	13	79	87	94
15	0	0	17	78	89	96
16	0	0	14	72	87	93
17	0	2	19	83	91	99
18	0	1	17	79	88	98
19	0	0	11	74	84	92
20	0	2	21	84	92	99
21	0	0	16	61	89	96
22	0	0	14	74	87	94
23a	0	0	9	69	81	89
24b	0	0	8	61	76	86

大約108CFU細菌分別有無加入不同濃度emodin培養4天，然後再檢測其O.D.以未加者為控制組再得%出抑制率，數據來之於三次獨立實驗。



表二  
大黃酸對幽門螺旋桿菌生長抑制作用

Strain	Concentration of rhein ( $\mu$ M)					
	0	0.04	0.4	4	40	400
	% inhibition					
1	0	0	10	70	84	90
2	0	2	10	61	74	82
3	0	0	14	70	80	91
4	0	0	11	68	77	86
5	0	0	14	64	76	88
6	0	0	12	70	79	90
7	0	3	16	80	87	90
8	0	2	10	60	69	84
9	0	0	14	62	70	82
10	0	0	18	70	79	88
11	0	0	10	64	72	86
12	0	4	14	62	78	89
13	0	0	18	76	84	96
14	0	0	10	60	74	84
15	0	0	13	62	76	88
16	0	0	14	60	71	84
17	0	3	16	70	84	94
18	0	0	10	74	83	91
19	0	0	12	66	76	88
20	0	4	16	70	83	96
21	0	0	8	56	72	87
22	0	0	6	47	69	84
23 <sup>a</sup>	0	0	11	44	61	72
24 <sup>b</sup>	0	0	10	50	60	74

大約  $10^8$ CFU 細菌分別有無加入不同濃度 rhein 培養 4 天，然後再檢測其 O.D.以未加者為控制組再得%出抑制率，數據來之於三次獨立實驗。



表三  
蘆薈大黃素對幽門螺旋桿菌生長抑制作用

Strains	Concentrations of aloe-emodin ( $\mu$ M)					
	0	0.0925	0.925	9.25	92.5	925
	% inhibition					
1	0	1	11	84	88	94
2	0	1	10	74	80	86
3	0	0	12	72	84	93
4	0	1	15	74	80	90
5	0	0	12	69	86	92
6	0	2	18	76	83	94
7	0	4	19	82	88	92
8	0	4	12	68	80	90
9	0	3	14	73	80	89
10	0	2	10	60	72	81
11	0	1	12	68	80	92
12	0	6	18	84	89	94
13	0	0	14	73	82	94
14	0	1	12	74	82	90
15	0	0	12	72	84	91
16	0	0	12	62	81	88
17	0	4	11	64	76	90
18	0	0	14	71	82	92
19	0	0	10	60	74	86
20	0	6	21	78	84	94
21	0	0	12	64	81	90
22	0	0	12	66	80	89
23 <sup>a</sup>	0	2	17	53	74	84
24 <sup>b</sup>	0	1	12	54	69	82

大約  $10^8$ CFU 細菌分別有無加入不同濃度 Aloe-emodin 培養 4 天，然後再檢測其 O.D.以未加者為控制組再得%出抑制率，數據來之於三次獨立實驗。



表四

大黃素、大黃酸和蘆薈大黃素對幽門螺旋桿菌生長抑制的作用

Treatment	% Inhibition
Emodin	73± 9
Rhein	70± 11
Aloe-emodin	67± 10
Emodin+Aloe-emodin	84± 11
Emodin+Rhein	79± 8
Aloe-emodin+Rhein	80± 9
Emodin+Aloe-emodin+Rhein	87± 10

*Helicobacter pylori* was incubated in the presence of emodin, aloe-emodin, rhein(40  $\mu$  M) under a spectrophotometer then % of inhibition was calculated as following equation. All experiments and run in triplicate.

$$\text{Growth inhibition(\%)} = 1 - \left( \frac{\text{Original OD} - \text{final OD(+treatment)}}{\text{Original OD}} \right) \times 100$$

表五

大黃與抗生素對幽門螺旋桿菌生長抑制率之比較

Strain	Dahuang*		Amoxicillin		Metronidazole		Tetracycline	
	22.5 $\mu$ g/ml	67.5 $\mu$ g/ml	5 $\mu$ m	500 $\mu$ M	5 $\mu$ m	500 $\mu$ M	5 $\mu$ m	500 $\mu$ M
1	18%	71%	11%	48%	7%	44%	12%	49%
2	21%	69%	10%	46%	9%	42%	18%	54%
3	17%	80%	9%	51%	8%	39%	16%	58%

\*Dahuang：醇提掌葉大黃

大約  $10^8$ CFU 細菌分別有無加入不同試劑大黃( $\mu$  g/ml)和西藥試劑(amoxicillin, metronidazole,tetracycline) 培養 4 天，以未加者為控制組再檢測其 O.D.來決定細菌生長抑制的情形，每一數據都三次獨立實驗而得來。



表六

大黃成份 emodin, aloe-emodin, rhein 和 amoxicillin, metronidazole, tetracycline, 和 clarithromycin 對幽門桿菌生長抑制之比較

Strain	Emodin 500 $\mu$ M	Aloe-emodin 500 $\mu$ M	Rhein 500 $\mu$ M	Amoxicillin 500 $\mu$ M	Metronidazole 500 $\mu$ M	Tetracycline 500 $\mu$ M	Clarithromycin 500 $\mu$ M
1	84 $\pm$ 8%	80 $\pm$ 8%	77 $\pm$ 6%	48 $\pm$ 4%	44 $\pm$ 4%	49 $\pm$ 4%	51 $\pm$ 6%
2	79 $\pm$ 8%	74 $\pm$ 8%	70 $\pm$ 6%	46 $\pm$ 4%	42 $\pm$ 6%	54 $\pm$ 4%	56 $\pm$ 8%
3	82 $\pm$ 6%	76 $\pm$ 10%	71 $\pm$ 8%	52 $\pm$ 6%	38 $\pm$ 2%	58 $\pm$ 6%	54 $\pm$ 4%

將 10<sup>8</sup>CFU 細菌每組試管分別有無加入大黃成份(emodin aloe-emodin 和 rhein)及西藥 (amoxicillin, metronidazole, tetracycline 和 clarithromycin)以未加藥者為控制組，利用事先實驗之 Ec 50 濃度 500 $\mu$ M 當控制濃度.培養細菌 6 小時，然後偵測 O.D.公式如前所列,計算出各組試劑的抑制百分比。然後每一實驗都重覆做三次，所得結果如表所列。數據(data)是 mean  $\pm$

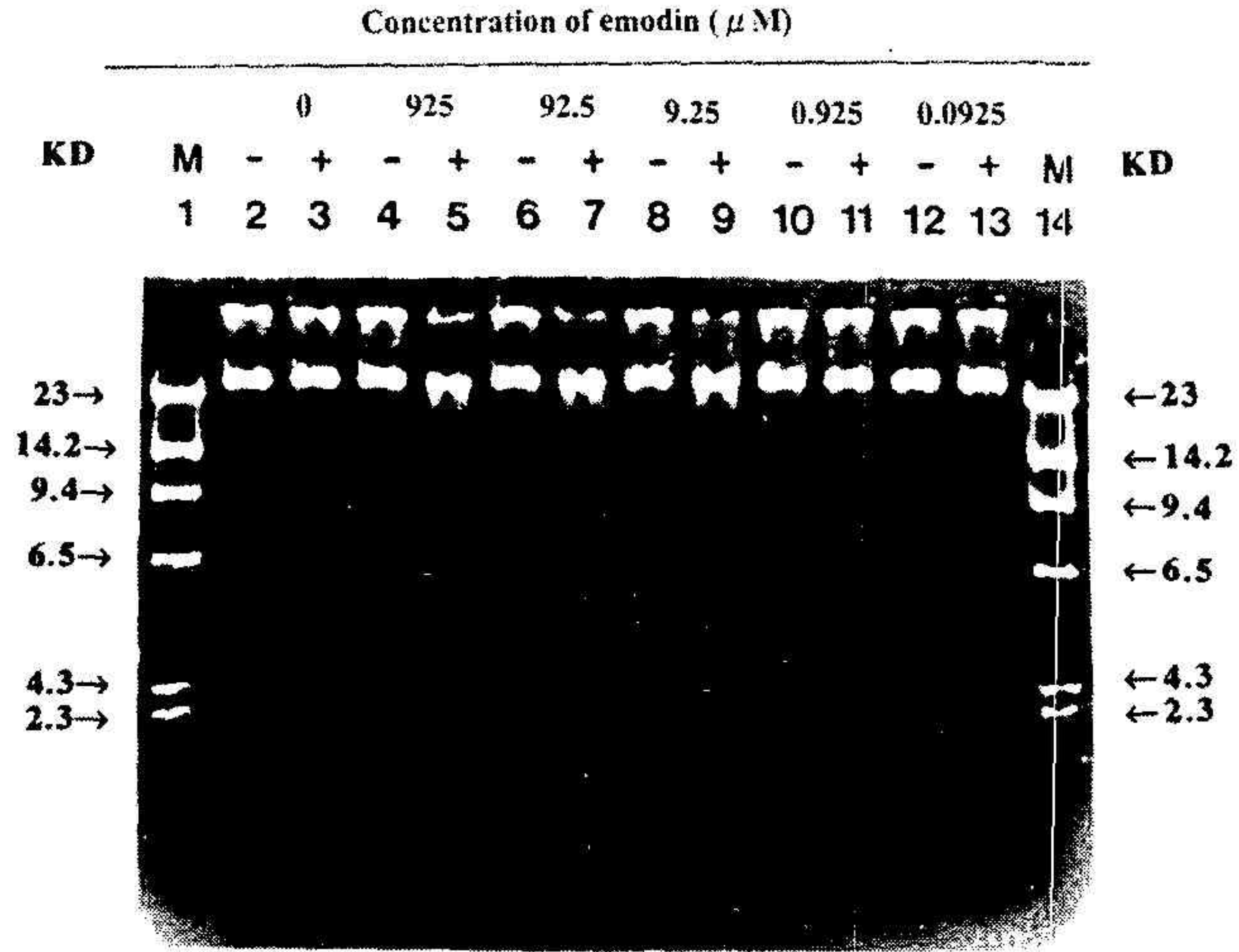
表七

大黃成份 emodin, aloe-emodin, rhein 對幽門桿菌的 N-乙酰轉移酶活性的影響

	In Vitro 2-AAF (nmol/min/mg protein)	In Intact bacteria 2-AAF (nmol/10 <sup>8</sup> cells)
Control	0.842 $\pm$ 0.16	1.14 $\pm$ 0.18
Emodin	0.52 $\pm$ 0.10	0.79 $\pm$ 0.12
Aloe-emodin	0.59 $\pm$ 0.12	0.84 $\pm$ 0.14
Rhein	0.64 $\pm$ 0.12	0.90 $\pm$ 0.14

實驗經由 lysis: buffer 溶解細菌再有無加入大黃成份仍用加入 22.5 $\mu$ M 的 2-AF 培養 10 分鐘，利用 HPLC 分析乙酰化 2-AAF 的量，另一方面利用溶解的細菌加入 2-AF 再分有無加大黃成份而由 HPLC 分析 AF 和 AAF 的量，每個實驗經由 3 次重覆做而得.數據(data)是 mean  $\pm$  SD。





圖一

H.pylori經由有或無加入emodin共同培養不同時間，再分別抽取DNA然後放入0.7%的電泳(agarose gel)跑膠1小時然後再利用EtBr染色，再由螢光燈檢查、照像。-代表未加入emodin，+代表加入emodin。