

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201704041

引文格式: 胡欢, 左国营, 张泽萍. 36 种中药材体外抗菌活性筛选研究 [J]. 广西植物, 2018, 38(4):428-440

HU H, ZUO GY, ZHANG ZP. Screening of antimicrobial activities of 36 Chinese herbal medicines *in vitro* [J]. *Guihaia*, 2018, 38(4):428-440

36 种中药材体外抗菌活性筛选研究

胡欢^{1,2}, 左国营^{1*}, 张泽萍^{1,3}

(1. 成都军区昆明总医院, 昆明 650032; 2. 昆明医科大学 成都军区昆明总医院临床学院, 昆明 650500; 3. 贵州医科大学, 贵阳 550004)

摘要: 该文研究 36 种常用中药材 80% 乙醇提取物在体外抗临床常见致病菌的抗菌活性。采用药敏纸片法测耐药菌的耐药谱, 中药粗粉用 80% 乙醇浸泡提取, 提取液减压浓缩得浸膏, 通过琼脂打孔法测定提取物抑菌圈, 再通过微量倍比稀释法测定最低抑菌浓度 (MIC) 和最低杀菌浓度 (MBC)。结果表明: 36 种中药材醇提取物中, 有 15 种具有广谱抗菌活性, 对实验中各标准菌表现出不同程度的抑制作用, 对 MRSA 抗菌活性也较强。其中, 岩陀、卷柏、首乌藤、苏木、乌药、夏枯草 6 种药材的抗菌活性比较突出, 抑菌圈均大于 11 mm, 细菌对其表现为中高度敏感; 它们对 7 株标准菌的 MIC/MBC 值除个别为 $12.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以外, 均小于 $1.563 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 对 16 株 MRSA 的 MIC/MBC 值均小于 $1.563 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 它们的萃取层活性均小于 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。所筛选出的 15 种抗菌活性较强的中药材, 可为后续研究其活性单体化合物和作用机制, 研发有效的抗多重耐药菌的中药制剂以及解决细菌耐药性问题提供一定的参考。

关键词: 中药材, 金黄色葡萄球菌, 大肠埃希菌, 白色念珠菌, 铜绿假单胞菌, 抗菌活性, 最低抑菌浓度, 最低杀菌浓度

中图分类号: Q946 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2018)04-0428-13

Screening of antimicrobial activities of 36 Chinese herbal medicines *in vitro*

HU Huan^{1,2}, ZUO Guoying^{1*}, ZHANG Zeping^{1,3}

(1. Kunming General Hospital of Chengdu Military Command, Kunming 650032, China; 2. Kunming Medical University-Kunming General Hospital of Chengdu Military Command of Clinical College, Kunming 650500, China; 3. Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China)

Abstract: To determine the *in vitro* antimicrobial activities of 80% ethanol extracts from 36 common Chinese herbal medicines against common clinical pathogenic bacteria. The spectrum of multidrug-resistant clinical stains isolated from the sputum samples was determined by the Kirby-Bauer (K-B) method. The dried powder of the collected 36 Chinese herbal medicine samples were extracted with 80% ethanol and the solvent was evaporated under reduced pressure to get the ethanol ex-

收稿日期: 2017-10-01

基金项目: 国家自然科学基金 (NSFC 81173504) [Supported by the Natural Science Foundation of China (NSFC81173504)].

作者简介: 胡欢 (1992-), 女, 云南通海人, 硕士研究生, 主要从事中草药抗菌活性成分分离及其耐药机制研究, (E-mail) 839066363@qq.com。

*通信作者: 左国营, 博士, 主任药师, 主要从事植物活性成分研究和天然药物开发, (E-mail) zuoguoying@263.com。

tracts. The antimicrobial activities of each extract against bacteria or fungi were studied by screening inhibition zone diameters (IZDs) with agar-diffusion methods, and minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were determined by serial microdilution method. The results showed that ethanol extracts of fifteen species among 36 species selected had wide spectrum of antimicrobial activities, including the activity against MRSA. Six kinds of Chinese herbal medicines had obvious antibacterial activities, i.e. *Bergenia purpurascens*, *Selaginella tamariscina*, *Polygonum multiflorum*, *Caesalpinia sappan*, *Lindera aggregata* and *Prunella vulgaris*. Their IZDs were greater than 11 mm and the bacteria showed moderately and highly sensitivity. The MIC/MBCs against seven standard strains were mostly less than $1.563 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, in addition to $12.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ individually. The MIC/MBCs against sixteen strains of MRSA were also less than $1.563 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, and their sub-extracts were less than $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. The fifteen species screened out among commonly used Chinese herbal medicines with good antibacterial activities could provide a basis for the subsequent activity tracking of isolated components, for the study on antibacterial mechanism and exploring effective Chinese medicine preparations against multiple resistant bacteria, and for solving the problem of bacterial resistance.

Key words: Chinese herbal medicines, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, antibacterial activity, minimum inhibitory concentration, minimum bactericidal concentration

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, SA)、大肠埃希菌 (*Escherichia coli*, EC)、白色念珠菌 (*Candida albicans*, CA)、铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*, PA) 均是医院和社区感染常见的致病菌。SA 现已成为全世界医院内首要的致病菌,尤其是出现了耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 等多重耐药菌。MRSA 具有较高的感染率和致死率,成为所谓的“超级细菌”,被列为世界范围内最难解决的感染菌之一 (Patel, 2009; Foster et al, 2014)。EC 在自然环境中广泛存在,是哺乳动物小肠内的共生菌,但其又是条件致病菌,致病性的 EC 能引起人类及动物的感染 (Blanco et al, 2003); 能通过多种感染渠道导致 EC 感染疫情大规模爆发,其耐药性的出现引起了广泛担忧 (卫昱君等, 2016)。CA 是一种寄生在正常人口腔、呼吸道、消化道及生殖道等部位的机会性致病真菌,常可能引起浅表或深部的感染,严重者可引起系统性感染甚至危及生命 (Gow et al, 2012)。PA 的感染仅次于大肠埃希菌、克雷伯菌等常见病原菌,可通过环境污染、交叉感染、内源性感染和医源性感染等途径传播 (吴明权等, 2016); 临床上常见于尿路感染、呼吸道感染和免疫力低下的病人痰液、尿液中,甚至会引起严重的囊性纤维化病 (Pier, 2002)。

由于全球范围内抗生素的不合理应用,细菌

耐药性对人类的危害越来越严重,且有不可抑制的趋势。在化学药抗生素相对匮乏的今天,人们把更多的目光投向了来源广泛、安全性高、毒副作用小、价格低廉、抗耐药机制独特的中草药,积极研发新型的“中药绿色抗生素”,希望能从中找到解决耐药性问题的新思路、新途径。所以近年来筛选、提取、分离天然植物及中草药中有效的耐药抑制剂或抗菌活性成分,探讨其抗耐药性机制,已成为药学领域研究的热点 (韩飞等, 2016)。本研究通过研究 36 种中草药对上述四种标准菌以及 MRSA 耐药菌的体外抑制作用,以筛选出抑菌活性较好的中草药,为后续研究其活性单体化合物,开发有效的抗多重耐药菌的中药制剂缓解细菌耐药性问题,提供一定的参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料和菌株

1.1.1 材料 受试中药材种名及序号见表 1。1-12 购买于云南省昆明市螺蛳湾中药材市场,13-36 由成都军区昆明总医院中药房提供。培养基: M-H 琼脂培养基 (Mueller-Hinton Agar, 青岛高科技工业园海博生物技术有限公司,批号为 20160217), M-H 肉汤培养基 (MH Broth, 青岛高科技工业园海博生物技术有限公司,批号为 20151225), 用于细

表 1 受试中药材
Table 1 Tested Chinese medicinal herbs

序号 No.	中药材 Chinese herbal medicine	科名 Family name	序号 No.	中药材 Chinese herbal medicine	科名 Family name
1	阴地蕨 <i>Botrychium ternatum</i>	阴地蕨科 Botrychiaceae	19	生地黄 <i>Rehmannia glutinosa</i>	玄参科 Scrophulariaceae
2	岩陀 <i>Bergenia purpurascens</i>	虎耳草科 Saxifragaceae	20	干姜 <i>Zingiber officinale</i>	姜科 Zingiberaceae
3	鸡蛋花 <i>Plumeria rubra cv. Acutifolia</i>	夹竹桃科 Apocynaceae	21	藁本 <i>Ligusticum sinense</i>	伞形科 Umbelliferae
4	蒔萝 <i>Anethum graveolens</i>	伞形科 Umbelliferae	22	木瓜 <i>Chaenomeles speciosa</i>	蔷薇科 Rosaceae
5	狼毒大戟 <i>Euphorbia fischeriana</i>	大戟科 Euphorbiaceae	23	秦皮 <i>Fraxinus paxiana</i>	木犀科 Oleaceae
6	沉香(特级) <i>Aquilaria sinensis</i>	瑞香科 Thymelaeaceae	24	竹茹 <i>Phyllostachys nigra</i>	禾本科 Gramineae
7	沉香(二级) <i>A. sinensis</i>	瑞香科 Thymelaeaceae	25	金钱草 <i>Lysimachia christinae</i>	报春花科 Primulaceae
8	香叶 <i>Laurus nobilis</i>	樟科 Lauraceae	26	茜草 <i>Rubia cordifolia</i>	茜草科 Rubiaceae
9	榧子 <i>Torreya grandis</i>	红豆杉科 Taxaceae	27	薤白 <i>Allium chinense</i>	百合科 Liliaceae
10	卷柏 <i>Selaginella tamariscina</i>	卷柏科 Selaginellaceae	28	胡黄连 <i>Picrorhiza scrophulariiflora</i>	玄参科 Scrophulariaceae
11	柏子仁 <i>Platyclusus orientalis</i>	柏科 Cupressaceae	29	莱菔子 <i>Raphanus sativus</i>	十字花科 Cruciferae
12	侧柏叶 <i>P. orientalis</i>	柏科 Cupressaceae	30	南沙参 <i>Adenophora bulleyana</i>	桔梗科 Campanulaceae
13	白及 <i>Bletilla striata</i>	兰科 Orchidaceae	31	山茱萸 <i>Cornus officinalis</i>	山茱萸科 Cornaceae
14	白术 <i>Atractylodes macrocephala</i>	菊科 Compositae	32	首乌藤 <i>Polygonum multiflorum</i>	蓼科 Polygonaceae
15	白鲜皮 <i>Dictamnus dasycarpus</i>	芸香科 Rutaceae	33	苏木 <i>Caesalpinia sappan</i>	豆科 Leguminosae
16	柴胡 <i>Bupleurum chinense</i>	伞形科 Umbelliferae	34	乌药 <i>Lindera aggregata</i>	樟科 Lauraceae
17	川贝母 <i>Fritillaria cirrhosa</i>	百合科 Liliaceae	35	五味子 <i>Schisandra chinensis</i>	木兰科 Magnoliaceae
18	川续断 <i>Dipsacus asperoides</i>	川续断科 Dipsacaceae	36	夏枯草 <i>Prunella vulgaris</i>	唇形科 Labiatae

菌体外抑菌实验;液体沙氏培养基(Liquid Sabourand Medium,青岛高科技工业园海博生物技术有限公司,批号为20160822),沙氏琼脂培养基(Sabouraud's Agar,青岛高科技工业园海博生物技术有限公司,批号为20160811),用于真菌体外抑菌实验。试剂:NaCl(四川西陇化工有限公司,批号为20151219),二甲亚砜(Dimethyl sulfoxide, DMSO,利安隆博华(天津)医药化学有限公司,批号为20151009),石油醚、乙酸乙酯、正丁醇均为工业级(重新蒸馏后使用),均购自昆明福海达化玻仪器有限公司。

1.1.2 菌株 标准菌株:金黄色葡萄球菌(ATCC 25913、ATCC 25923、ATCC 29213)、大肠埃希菌

(ATCC 25922)、铜绿假单胞菌(ATCC 27853)、白色念珠菌(ATCC Y0109、ATCC SC5314),均由中国药品生物制品检定所提供。耐药菌株:MRSA111、MRSA747、MRSA181、MRSA23、MRSA42、MRSA285、MRSA128、MRSA300、MRSA166、MRSA8、MRSA98、MRSA15、MRSA202、MRSA187、MRSA40、MRSA22均由成都军区昆明总医院微生物实验室临床分离得到。药敏纸片购自温州市康泰生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 药物提取物的制备 将36种中药材粉碎并过50目筛,各称取30g。用80%的乙醇室温下共浸泡6次:第1次浸泡7d;第2、第3次浸泡5d;

第 4、第 5 次浸泡 3 d; 第 6 次浸泡 1 d。每次浸泡液经 6 层纱布过滤, 合并滤液, 用减压旋转蒸发仪浓缩(温度控制在 40 °C 以下)得到浸膏, 用结晶刀转移至无菌玻璃瓶中, 4 °C 下封口保存备用。其中, 部分药物浸膏依据所测抗菌活性选择活性较好的用蒸馏水分散, 依次使用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 分别得到石油醚层、乙酸乙酯层、正丁醇层和水层四个萃取层, 减压回收得到各个萃取层的浸膏备用。

1.2.2 耐药菌株耐药谱的测定 耐药菌株的药敏测定以常规方法培养, 耐药性按抗菌剂药敏常用测试方法 K-B 纸片扩散法(Kirby-Bauer diffusion method)进行(各操作均于超净工作台中进行, 下同), 以 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2012 版(CLSI: M02-A11, 2012)推荐方法为判断依据。

1.2.3 药液的制备 用电子分析天平精确称取乙醇提取物各 150 mg 于 4 mL 离心管中, 先加入含 10% DMSO 于漩涡混合器上助溶(或超声助溶), 然后再加入生理盐水配成浓度为 50 mg · mL⁻¹ 的药液用于测定抑菌圈、MIC, 10% DMSO 作为空白对照。萃取层则是各称取 32 mg 于 2 mL 离心管中, 先加入含 10% DMSO 于漩涡混合器上助溶, 再加入生理盐水配成浓度为 16 mg · mL⁻¹ 的药液用于测定 MIC, 10% DMSO 作为空白对照。

1.2.4 菌悬液的制备 将细菌菌株接种于琼脂平板上, 细菌接种于 M-H 琼脂培养基上, 真菌接种于沙氏琼脂培养基上, 置于(35±2) °C 恒温箱中培养 24 h。采用 0.5 号麦氏比浊管仔细对比调整细菌浓度为 1.5×10⁸ CFU · mL⁻¹, 真菌用细胞计数板在显微镜下观察调整浓度为 1.0×10⁶ CFU · mL⁻¹, 此浓度菌悬液用于琼脂打孔法测定提取物的抑菌圈; 取一定量上述菌悬液, 用生理盐水稀释, 细菌稀释 300 倍为 0.5×10⁶ CFU · mL⁻¹, 真菌稀释 100 倍为 1.0×10⁴ CFU · mL⁻¹, 用于 MIC 的测定。

1.2.5 琼脂打孔法测定提取物的抑菌圈 首先, 将已灭菌的琼脂培养基(细菌用 M-H 琼脂培养基, 真菌用沙氏琼脂培养基)倒入灭过菌的培养皿上(厚度约 3 mm)。然后, 在培养基上用直径 6 mm 的无菌打孔器打孔, 用无菌棉签蘸取浓度为 1.5×10⁸ CFU ·

mL⁻¹ 的标准细菌菌液均匀涂布于 M-H 琼脂培养基上, 浓度为 1.0×10⁶ CFU · mL⁻¹ 的标准真菌菌液均匀涂布在沙氏琼脂培养基上, 每孔加入 50 mg · mL⁻¹ 的药液 50 μL, 不得溢出。最后, 将培养皿置于(35±2) °C 恒温箱中培养 24 h 后取出观察结果, 用卡尺测量抑菌圈的直径并记录, 平行实验 3 次, 取平均值。

1.2.6 最低抑菌浓度(MIC)的测定 微量倍比稀释法测定 MIC, 均按照 CLSI 2012 版指南进行(CLSI: M07-A9, 2012)。采用微量倍比稀释法测定各个样品对不同菌株的活性即 MIC 值(赵婷等, 2012; 吴盘红等, 2012)(细菌用 M-H 肉汤培养液, 真菌用液体沙氏培养基)。首先取无菌 96 孔平底微量培养板, 用 8 通道移液枪加入培养液 100 μL; 然后在第 1 行每孔依次加入受试药物 100 μL, 混匀后取出 100 μL 移至第 2 行中, 以此类推, 进行倍比稀释直至第 8 行混匀后弃掉 100 μL, 使稀释后各孔中的受试药物浓度倍比降低; 最后加入细菌或真菌的稀释菌悬液 100 μL。设含 10% DMSO 相应培养液 100 μL 加相应菌悬液 100 μL 作阳性空白对照, 相应液体培养液 200 μL 作阴性空白对照。将培养板置于(35±2) °C 恒温箱中培养 24 h 后取出观察结果, 测定其 MIC 值。在显微镜下涂片观察, 视野中细菌或真菌个数小于 5 个时作为此药物对此种菌的 MIC 对应孔, 记录此孔药物浓度即为 MIC 值。平行实验 3 次, 取平均值。

1.2.7 最低杀菌浓度(MBC)的测定 确定 MIC 后, 用接种环分别蘸取 MIC 值对应孔前 3~5 孔的培养液, 转接种于相应琼脂平板上(细菌用 M-H 琼脂培养基, 真菌用沙氏琼脂培养基), 置于(35±2) °C 恒温箱培养 24 h 后取出观察结果。用活菌计数法检查琼脂平板上的菌落, 平均数小于 5 个的最小药物浓度即为此药物对此种菌的 MBC。平行实验 3 次, 取平均值。

2 结果与分析

2.1 耐药谱测试结果

通过对 16 株临床分离的 MRSA 的药敏测试, 从表 2 可以看出, 16 株菌除对万古霉素均敏感外, 对其他各类抗生素均有不同程度的耐药, 且大多

表2 MRSA菌株对抗生素的药敏实验结果
Table 2 Results of antibiotic sensitivity tests of MRSA strains

菌株编号 Stain code	敏感 Sensitive	中介 Intermediary	耐药 Resistant
MRSA111	万古霉素、替考拉宁 VAN、TEC	无	青霉素、苯唑西林、头孢呋辛、头孢唑啉、左氧氟沙星、红霉素、联邦他唑仙、头孢西丁 PEN、OXA、CXM、CZO、LVX、ERY、TZP、FOX
MRSA747	万古霉素、青霉素、哌拉西林、头孢呋辛、头孢哌酮、左氧氟沙星、利福平 VAN、PEN、PIP、CXM、CFP、LVX、RIF	无	苯唑西林、庆大霉素 OXA、GEN
MRSA181	万古霉素、利奈唑胺 VAN、LNZ	无	青霉素、头孢唑啉、复方新诺明、左氧氟沙星、氨苄西林、头孢西丁、克林霉素、克拉霉素 PEN、CZO、SXT、LVX、AMP、FOX、CLI、CLR
MRSA23	万古霉素、头孢呋辛、左氧氟沙星 VAN、CXM、LVX	加替沙星 GAT	青霉素、苯唑西林、哌拉西林、头孢哌酮、利福平、庆大霉素 PEN、OXA、PIP、CFP、RIF、GEN
MRSA42	万古霉素、哌拉西林、头孢呋辛 VAN、PIP、CXM	无	青霉素、苯唑西林、头孢哌酮、左氧氟沙星、利福平、庆大霉素 PEN、OXA、CFP、LVX、RIF、GEN
MRSA285	万古霉素、哌拉西林、头孢呋辛 VAN、PIP、CXM	无	青霉素、苯唑西林、头孢哌酮、左氧氟沙星、利福平、庆大霉素 PEN、OXA、CFP、LVX、RIF、GEN
MRSA128	万古霉素、头孢呋辛、利福平 VAN、CXM、RIF	头孢哌酮 CFP	青霉素、苯唑西林、哌拉西林、左氧氟沙星、庆大霉素 PEN、OXA、PIP、LVX、GEN
MRSA300	万古霉素、哌拉西林、头孢呋辛、头孢哌酮、利福平、庆大霉素 VAN、PIP、CXM、CFP、RIF、GEN	左氧氟沙星 LVX	青霉素、苯唑西林 PEN、OXA
MRSA166	万古霉素、磷霉素、利奈唑胺 VAN、FOS、LNZ	无	青霉素、氨苄西林、苯唑西林、头孢呋辛、克拉霉素、阿奇霉素、头孢西丁、头孢唑啉、利福平、复方新诺明、克林霉素 PEN、AMP、OXA、CXM、CLR、AZM、FOX、CZO、RIF、SXT、CLI
MRSA8	万古霉素、利奈唑胺、替考拉宁 VAN、LNZ、TEC	加替沙星 GAT	青霉素、苯唑西林、克林霉素、氨苄西林、利福平、头孢唑啉、头孢呋辛、阿奇霉素、头孢西丁、左氧氟沙星、红霉素、联邦他唑仙 PEN、OXA、CLI、AMP、RIF、CZO、CXM、AZM、FOX、LVX、ERY、TZP
MRSA98	万古霉素、磷霉素、利奈唑胺 VAN、FOS、LNZ	庆大霉素 GEN	青霉素、苯唑西林、头孢哌酮、舒巴坦、克林霉素、左氧氟沙星、阿奇霉素、头孢西丁、利福平、头孢唑啉、头孢呋辛 PEN、OXA、CFP、SAM、CLI、LVX、AZM、FOX、RIF、CZO、CXM
MRSA15	万古霉素、替考拉宁、利奈唑胺、左氧氟沙星、利福平 VAN、TEC、LNZ、LVX、RIF	无	青霉素、苯唑西林、氨苄西林、头孢唑啉、头孢呋辛、头孢西丁、克林霉素、哌拉西林、舒巴坦、红霉素 PEN、OXA、AMP、CZO、CXM、FOX、CLI、PIT、SAM、ERY
MRSA202	万古霉素、替考拉宁、利奈唑胺、米诺环素 VAN、TEC、LNZ、MNO	无	青霉素、复方新诺明、氧氟沙星、氨苄西林、头孢西丁、克林霉素、克拉霉素 PEN、SXT、OFX、AMP、FOX、CLI、CLR
MRSA187	万古霉素、利福平、磷霉素、联邦他唑仙 VAN、RIF、FOS、TZP	磷霉素 FOS	青霉素、苯唑西林、氨苄西林、头孢唑啉、头孢呋辛、克林霉素、哌拉西林、舒巴坦、红霉素、左氧氟沙星、阿奇霉素、克拉霉素、头孢西丁、利福平 PEN、OXA、AMP、CZO、CXM、CLI、PIP、SAM、ERY、LVX、AZM、CLR、FOX、RIF
MRSA40	万古霉素、利福平 VAN、RIF	磷霉素 FOS	青霉素、苯唑西林、氨苄西林、头孢唑啉、头孢呋辛、克林霉素、哌拉西林、舒巴坦、红霉素、左氧氟沙星 PEN、OXA、AMP、CZO、CXM、CLI、PIP、SAM、ERY、LVX
MRSA22	万古霉素、红霉素、克林霉素、磷霉素、左氧氟沙星、头孢他啶、庆大霉素 VAN、ERY、CLI、FOS、LVX、CAZ、GEN	头孢哌酮、哌拉西林、青霉素、氨苄西林、阿米卡星 CFP、PIP、PEN、AMP、AMK	阿奇霉素、环丙沙星、头孢曲松 AZM、CIP、CRO

表现为多重耐药。

2.2 抑菌圈的测定结果

通过琼脂打孔法测定各药材的抑菌圈,如表3

所示。根据药理学方法判定:抑菌圈直径 $d < 10$ mm 为细菌对药物表现为耐药; $d = 10$ mm 为轻度敏感; $11 \leq d \leq 15$ mm 为中度敏感; $d \geq 16$ mm 为

高度敏感。36 种中药材的醇提取物对各标准菌表现出不同程度的抑制作用,对于 SA,苏木和乌药的抑菌圈 d 均大于 16 mm 表现为高度敏感具有强抑制作用,岩陀、首乌藤、卷柏、夏枯草、香叶、金钱草抑菌圈 $11 \leq d \leq 21.5$ mm 为中高度敏感具有较强抑制作用,白及、侧柏叶、木瓜、干姜为轻中度敏感;对于 EC,苏木、乌药、岩陀、首乌藤、夏枯草、香叶、金钱草、侧柏叶、五味子、秦皮、沉香(二级)的抑菌圈 d 均大于 16 mm 为高度敏感具有强抑制作用,卷柏、白及、木瓜、干姜、山茱萸、藁本、柴胡、竹茹、茜草、胡黄连、川续断抑菌圈 $11 \leq d \leq 15$ mm 为中度敏感具有较强抑制作用;对于 PA,首乌藤抑菌圈 $d = 16$ mm 为高度敏感,苏木、乌药、岩陀、山茱萸抑菌圈 $11 \leq d \leq 15$ mm 表现为中度敏感具较强抑制作用,其余药材抑菌效果均不明显;36 种中药材对 CA 的抑制效果均不明显。10% DMSO 抑菌圈不明显,表明 10% DMSO 对该菌没有抑菌活性或抑菌活性不强,不影响实验结果。

2.3 MIC 和 MBC 测定结果

通过微量倍比稀释法分别测定了药物提取物和提取物萃取层对各标准菌或 MRSA 耐药菌的抗菌活性。所测各组实验中,阳性对照显示细菌长势良好,排除 10% DMSO 对实验的干扰;阴性对照显示无细菌生长,表明该实验操作规范、无污染、数据有效。

表 4 结果表明,苏木、卷柏、夏枯草、岩陀、乌药、侧柏叶、金钱草、香叶、秦皮、五味子、山茱萸、茜草、沉香(二级)、狼毒大戟、南沙参 15 种药材对四种标准菌都有不同程度的抑制作用,具有广谱的抗菌活性。其中,苏木、卷柏、夏枯草、岩陀、首乌藤、乌药 6 种中药提取物对 SA 和 EC 的 MIC/MBC 值均在 $0.098 \sim 0.781 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间,说明抗菌活性很好。

根据表 4 结果,选取抑菌活性较好的 9 种药材提取物萃取后,各萃取层对标准菌的 MIC/MBC 测定结果如表 5 所示,各药乙酸乙酯层的抑菌活性均比其他萃取层的显著,说明这些药材的有效抗菌活性成分主要集中在乙酸乙酯层萃取物中,为后续天然化合物的分离提供了活性追踪分离导向。同时,选取其中 24 种抗菌活性较好的中药

材,对 16 株 MRSA 耐药菌进行体外抗菌活性测定。表 6 结果显示,除鸡蛋花、狼毒大戟、胡黄连外,其他 21 种中药提取物对 MRSA 都有不同程度的抗菌活性,抑菌作用良好;其中岩陀、苏木、乌药、侧柏叶、卷柏、夏枯草、沉香(二级)、首乌藤、白及、香叶、五味子、沉香(特级)12 种中药材抗菌活性较为显著。

3 讨论与结论

随着细菌耐药性问题的日趋严峻,中药作为潜在的新型绿色的细菌耐药抑制剂愈来愈受到人们的关注。中草药在我国医药界已有几千年的历史,与化学药物相比,中草药大多为复方组分群,各成分之间具有一定相互关系,通常表现为整体量效作用,并非简单作用于某一个单一的靶点,所以不容易产生耐药性。其来源广泛、安全性高、毒副作用小、价格低廉,并具有与化学药物不同的抗菌作用机制,成为了细菌耐药性研究领域的热点,具有良好的应用前景(韩飞等,2016)。

中草药抗细菌耐药性的研究仍然处在初级阶段,还有更多的问题等待我们去研究和探讨。用于延缓或消除细菌耐药性的中草药多为清热解毒、清热燥湿、利湿通淋、补益类中药,如黄芩、黄连、黄柏、金银花、马齿苋、射干、大黄、苍术、蒲公英、鱼腥草、汉防己、五倍子等;以及相关的复方制剂,如止痢灵、三黄片、双黄连粉针剂、黄连解毒汤、白虎汤、蒲公英解毒汤、清瘟败毒饮、十全大补汤、补中益气汤等(李睿明和雷朝霞,2006;杭永付等,2011)。

本研究通过查阅文献和中国医学典籍,总结长期临床医学实践及前人研究情况,选取了 36 种常见的具有一定抗菌、解毒作用基础的中药材,研究其乙醇提取物的抗菌作用。实验中所使用的耐药菌株均是从本院临床重症患者的痰液中分离得到,这 16 株耐药菌株对临床上现有使用的多种抗生素产生了耐药性,因此,抗生素用于临床治疗中可以充分结合药敏试验的结果,合理用药,尽量避免耐药,以提高治疗效果。本研究结果显示,综合抑菌圈和 MIC/MBC 数据得出苏木、卷柏、乌药、岩

表 3 36 种中药材对 7 株标准菌的抑菌圈

Table 3 Inhibition zones of thirty-six Chinese herbal medicines against seven standard strains

中药材 Chinese herbal medicine	抑菌圈直径 Diameter of the inhibition zone (mm)						
	SA ₁	SA ₂	SA ₃	EC	PA	CA ₁	CA ₂
10%二甲基亚砷 10%DMSO	—	—	—	—	—	—	—
苏木 <i>Caesalpinia sappan</i>	26.00	30.00	28.00	29.00	12.00	—	—
乌药 <i>Lindera aggregata</i>	16.00	19.00	16.00	20.50	11.00	—	—
岩陀 <i>Bergenia purpurascens</i>	15.50	20.50	17.00	22.00	11.50	—	—
首乌藤 <i>Polygonum multiflorum</i>	15.50	16.50	15.00	18.00	16.00	—	—
卷柏 <i>Selaginella tamariscina</i>	15.50	21.50	15.50	16.50	9.50	—	—
夏枯草 <i>Prunella vulgaris</i>	12.00	17.00	11.00	20.00	—	—	—
香叶 <i>Laurus nobilis</i>	12.50	12.00	11.50	18.00	—	—	—
金钱草 <i>Lysimachia christinae</i>	11.50	15.00	11.50	16.00	—	—	—
白及 <i>Bletilla striata</i>	11.50	10.00	11.50	15.50	—	—	—
侧柏叶 <i>Platycladus orientalis</i>	—	15.00	11.50	19.50	—	—	—
木瓜 <i>Chaenomeles speciosa</i>	11.50	11.00	12.00	14.50	—	—	—
干姜 <i>Zingiber officinale</i>	9.00	12.00	9.50	15.50	—	—	—
山茱萸 <i>Cornus officinalis</i>	9.50	9.00	10.50	11.50	11.00	—	—
川贝母 <i>Fritillaria cirrhosa</i>	—	14.50	—	10.50	—	—	—
五味子 <i>Schisandra chinensis</i>	9.50	—	8.00	16.00	8.50	—	—
藁本 <i>Ligusticum sinense</i>	8.50	—	8.50	13.00	—	—	—
秦皮 <i>Fraxinus paxiana</i>	—	8.00	—	18.50	9.00	—	—
柴胡 <i>Bupleurum chinense</i>	8.00	—	—	12.50	—	—	—
竹茹 <i>Phyllostachys nigra</i>	8.00	—	—	11.50	—	—	—
阴地蕨 <i>Botrychium ternatum</i>	—	—	10.00	—	—	—	—
榧子 <i>Torreya grandis</i>	—	—	7.00	—	9.00	—	—
柏子仁 <i>Platycladus orientalis</i>	—	—	7.00	—	—	—	—
沉香(二级) <i>Aquilaria sinensis</i>	—	—	—	19.00	—	—	—
茜草 <i>Rubia cordifolia</i>	—	—	—	15.00	—	—	—
胡黄连 <i>Picrorhiza scrophulariiflora</i>	—	—	—	12.50	—	—	—
川续断 <i>Dipsacus asperoides</i>	—	—	—	11.50	—	—	—
白术 <i>Atractylodes macrocephala</i>	—	—	—	10.00	—	—	—
白鲜皮 <i>Dictamnus dasycarpus</i>	—	—	—	8.00	—	—	—
莱菔子 <i>Raphanus sativus</i>	—	—	—	8.00	—	—	—
南沙参 <i>Adenophora bulleyana</i>	—	—	—	8.00	—	—	—
鸡蛋花 <i>Plumeria rubra</i> cv. <i>Acutifolia</i>	—	—	—	—	—	—	—
蒔萝 <i>Anethum graveolens</i>	—	—	—	—	—	—	—
狼毒大戟 <i>Euphorbia fischeriana</i>	—	—	—	—	—	—	—
沉香(特级) <i>Aquilaria sinensis</i>	—	—	—	—	—	—	—
生地黄 <i>Rehmannia glutinosa</i>	—	—	—	—	—	—	—
薤白 <i>Allium chinense</i>	—	—	—	—	—	—	—

注：“—”表示没有抑菌圈。7 株标准菌株：SA₁. ATCC25913；SA₂. ATCC25923；SA₃. ATCC29213；EC. ATCC25922；PA. ATCC27853；CA₁. ATCCY0109；CA₂. ATCCSC5314。下同。

Note: “—” indicates no inhibition zone. Seven standard strains: SA₁. ATCC25913; SA₂. ATCC25923; SA₃. ATCC29213; EC. ATCC25922; PA. ATCC27853; CA₁. ATCCY0109; CA₂. ATCCSC5314. The same below.

表 4 36 种中药材对 7 株标准菌的 MIC/MBC 测定结果

Table 4 MIC/MBC determination of thirty-six Chinese herbal medicines against seven standard strains

中药材 Chinese herbal medicine	抑菌活性 Antibacterial activity (mg · mL ⁻¹)	标准菌株 Standard strain						
		SA ₁	SA ₂	SA ₃	EC	PA	CA ₁	CA ₂
苏木 <i>Caesalpinia sappan</i>	MIC	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	1.563	12.5	-
	MBC	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	1.563	-	-
卷柏 <i>Selaginella tamariscina</i>	MIC	0.781	<0.098	0.098	0.098	12.5	12.5	-
	MBC	0.781	<0.098	0.098	0.098	12.5	12.5	-
夏枯草 <i>Prunella vulgaris</i>	MIC	0.391	0.195	0.195	0.098	12.5	-	-
	MBC	0.391	0.391	0.391	0.098	12.5	-	-
岩陀 <i>Bergenia purpurascens</i>	MIC	0.195	0.098	0.195	0.098	1.563	12.5	12.5
	MBC	0.391	0.195	0.391	0.195	3.125	12.5	-
首乌藤 <i>Polygonum multiflorum</i>	MIC	0.391	0.098	0.195	0.195	6.25	-	-
	MBC	0.391	0.195	0.391	0.195	6.25	-	-
乌药 <i>Lindera aggregata</i>	MIC	0.391	0.098	0.391	0.195	12.5	12.5	-
	MBC	0.391	0.195	0.391	0.195	12.5	12.5	-
侧柏叶 <i>Platycladus orientalis</i>	MIC	1.563	0.391	0.781	0.391	12.5	1.563	6.25
	MBC	1.563	0.781	0.781	0.781	12.5	3.125	12.5
干姜 <i>Zingiber officinale</i>	MIC	1.563	0.781	0.781	0.195	12.5	-	-
	MBC	1.563	1.563	0.781	0.195	12.5	-	-
金钱草 <i>Lysimachia christinae</i>	MIC	1.563	0.781	0.781	0.781	12.5	6.25	-
	MBC	1.563	0.781	0.781	0.781	12.5	12.5	-
香叶 <i>Laurus nobilis</i>	MIC	3.125	0.391	1.563	0.391	12.5	1.563	6.25
	MBC	3.125	0.781	3.125	0.391	12.5	1.563	6.25
木瓜 <i>Chaenomeles speciosa</i>	MIC	1.563	1.563	0.781	0.781	6.25	-	-
	MBC	1.563	1.563	1.563	0.781	6.25	-	-
秦皮 <i>Fraxinus paxiana</i>	MIC	3.125	0.781	0.781	0.391	12.5	12.5	-
	MBC	3.125	0.781	0.781	0.391	12.5	12.5	-
五味子 <i>Schisandra chinensis</i>	MIC	3.125	1.563	1.563	1.563	3.125	12.5	-
	MBC	3.125	1.563	1.563	1.563	3.125	-	-
白及 <i>Bletilla striata</i>	MIC	3.125	1.563	1.563	1.563	-	-	-
	MBC	3.125	3.125	1.563	1.563	-	-	-
山茱萸 <i>Cornus officinalis</i>	MIC	1.563	1.563	3.125	3.125	6.25	6.25	-
	MBC	3.125	3.125	3.125	3.125	6.25	12.5	-
茜草 <i>Rubia cordifolia</i>	MIC	3.125	3.125	3.125	0.781	12.5	12.5	12.5
	MBC	6.25	3.125	3.125	1.563	12.5	12.5	-
沉香(二级) <i>Aquilaria sinensis</i>	MIC	12.5	3.125	0.781	0.098	3.125	3.125	12.5
	MBC	12.5	6.25	1.563	0.195	12.5	6.25	12.5
藁本 <i>Ligusticum sinense</i>	MIC	6.25	6.25	3.125	0.391	-	1.563	3.125
	MBC	6.25	6.25	3.125	0.391	-	3.125	6.25
狼毒大戟 <i>Euphorbia fischeriana</i>	MIC	6.25	1.563	6.25	0.781	12.5	3.125	12.5
	MBC	6.25	3.125	6.25	0.781	12.5	3.125	12.5
柴胡 <i>Bupleurum chinense</i>	MIC	6.25	3.125	1.563	1.563	-	-	-
	MBC	6.25	3.125	3.125	1.563	-	-	-
胡黄连 <i>Picrorhiza scrophulariiflora</i>	MIC	12.5	3.125	3.125	1.563	-	12.5	-
	MBC	12.5	3.125	3.125	1.563	-	-	-
榧子 <i>Torreya grandis</i>	MIC	12.5	-	3.125	0.391	-	6.25	-
	MBC	12.5	-	6.5	0.391	-	6.25	-
阴地蕨 <i>Botrychium ternatum</i>	MIC	6.25	6.25	1.563	1.563	-	6.25	6.25
	MBC	6.25	6.25	3.125	1.563	-	6.25	12.5
柏子仁 <i>Platycladus orientalis</i>	MIC	12.5	12.5	6.25	3.125	-	6.25	-
	MBC	12.5	12.5	6.25	3.125	-	6.25	-
鸡蛋花 <i>Plumeria rubra cv. Acutifolia</i>	MIC	-	6.25	12.5	3.125	-	3.125	12.5
	MBC	-	12.5	12.5	3.125	-	6.25	12.5
沉香(特级) <i>Aquilaria sinensis</i>	MIC	6.25	-	6.25	0.781	-	3.125	12.5
	MBC	12.5	-	12.5	3.125	-	3.125	12.5

续表 4

中药材 Chinese herbal medicine	抑菌活性 Antibacterial activity (mg · mL ⁻¹)	标准菌株 Standard strain						
		SA ₁	SA ₂	SA ₃	EC	PA	CA ₁	CA ₂
白术 <i>Atractylodes macrocephala</i>	MIC	12.5	12.5	12.5	3.125	-	6.25	-
	MBC	-	12.5	12.5	3.125	-	12.5	-
南沙参 <i>Adenophora bulleyana</i>	MIC	12.5	12.5	12.5	6.25	12.5	12.5	-
	MBC	12.5	12.5	12.5	6.25	-	12.5	-
川贝母 <i>Fritillaria cirrhosa</i>	MIC	12.5	6.25	12.5	12.5	-	12.5	-
	MBC	12.5	12.5	12.5	12.5	-	-	-
竹茹 <i>Phyllostachys nigra</i>	MIC	12.5	6.25	6.25	3.125	-	-	-
	MBC	12.5	6.25	6.25	3.125	-	-	-
蒺藜 <i>Anethum graveolens</i>	MIC	12.5	-	12.5	6.25	-	6.25	12.5
	MBC	-	-	12.5	6.25	-	6.25	12.5
白鲜皮 <i>Dictamnus dasycarpus</i>	MIC	-	-	-	6.25	-	12.5	-
	MBC	-	-	-	6.25	-	12.5	-
生地黄 <i>Rehmannia glutinosa</i>	MIC	-	12.5	12.5	6.25	-	-	-
	MBC	-	-	-	6.25	-	-	-
莱菔子 <i>Raphanus sativus</i>	MIC	-	12.5	-	6.25	-	-	-
	MBC	-	-	-	6.25	-	-	-
川续断 <i>Dipsacus aspericoides</i>	MIC	-	-	12.5	-	-	-	-
	MBC	-	-	12.5	-	-	-	-
薤白 <i>Allium chinense</i>	MIC	-	-	-	-	-	-	-
	MBC	-	-	-	-	-	-	-

注：“-”表示 MIC 或 MBC 值大于 12.5 mg · mL⁻¹。

Note: “-” indicates that the MIC or MBC value was greater than 12.5 mg · mL⁻¹.

表 5 9 种提取物各萃取层对 7 株标准菌的 MIC/MBC 测定结果

Table 5 MIC/MBC determination in each extraction layer of nine extracts against seven standard strains

中药材 Chinese herbal medicine	抑菌活性 Antibacterial activity (mg · mL ⁻¹)	标准菌株 Standard strain						
		SA ₁	SA ₂	SA ₃	EC	PA	CA ₁	CA ₂
卷柏-E <i>Selaginella tamariscina</i> -E	MIC	1	<0.031 25	0.25	<0.031 25	-	-	-
	MBC	2	<0.031 25	0.5	<0.031 25	-	-	-
苏木-E <i>Caesalpinia sappan</i> -E	MIC	0.25	0.031 25	0.031 25	0.031 25	0.5	4	-
	MBC	0.5	0.062 5	0.062 5	0.062 5	1	-	-
乌药-E <i>Lindera aggregata</i> -E	MIC	0.25	0.062 5	0.031 25	0.031 25	-	2	-
	MBC	0.5	0.125	0.062 5	0.062 5	-	4	-
岩陀-E <i>Bergenia purpurascens</i> -E	MIC	0.25	0.031 25	0.125	0.062 5	1	-	-
	MBC	0.5	0.062 5	0.25	0.125	2	-	-
夏枯草-E <i>Prunella vulgaris</i> -E	MIC	0.25	0.031 25	0.25	0.062 5	-	-	-
	MBC	0.5	0.062 5	0.5	0.125	-	-	-
首乌藤-E <i>Polygonum multiflorum</i> -E	MIC	0.25	0.062 5	0.125	0.062 5	-	-	-
	MBC	0.5	0.125	0.25	0.125	-	-	-
香叶-E <i>Laurus nobilis</i> -E	MIC	2	0.062 5	0.5	0.125	-	-	-
	MBC	4	0.125	1	0.25	-	-	-
沉香(二级)-E <i>Aquilaria sinensis</i> -E	MIC	2	2	2	1	2	-	-
	MBC	4	4	4	2	4	-	-
沉香(特级)-E <i>Aquilaria sinensis</i> -E	MIC	-	2	2	2	-	-	-
	MBC	-	4	4	4	4	-	-
苏木-P <i>Caesalpinia sappan</i> -P	MIC	0.25	0.062 5	0.125	0.062 5	2	-	-
	MBC	0.5	0.125	0.25	0.125	4	-	-
夏枯草-P <i>Prunella vulgaris</i> -P	MIC	1	0.125	0.125	0.031 25	-	-	-
	MBC	2	0.25	0.25	0.062 5	-	-	-

续表 5

中药材 Chinese herbal medicine	抑菌活性 Antibacterial activity ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	标准菌株 Standard strain						
		SA ₁	SA ₂	SA ₃	EC	PA	CA ₁	CA ₂
卷柏-P	MIC	2	0.125	0.25	0.062 5	-	-	-
<i>Selaginella tamariscina</i> -P	MBC	4	0.25	0.5	0.125	-	-	-
乌药-P	MIC	0.5	0.25	0.25	0.125	2	2	1
<i>Lindera aggregata</i> -P	MBC	1	0.5	0.5	0.25	4	4	2
岩陀-P	MIC	2	0.25	0.125	0.25	-	-	-
<i>Bergenia purpurascens</i> -P	MBC	4	0.5	0.25	0.5	-	-	-
首乌藤-P	MIC	1	0.25	0.25	0.125	-	-	-
<i>Polygonum multiflorum</i> -P	MBC	2	0.5	0.5	0.25	-	-	-
沉香(特级)-P	MIC	2	0.5	0.5	0.5	-	0.5	1
<i>Aquilaria sinensis</i> -P	MBC	4	1	1	1	-	1	2
香叶-P	MIC	2	1	1	0.25	-	2	-
<i>Laurus nobilis</i> -P	MBC	4	2	2	0.5	-	4	-
沉香(二级)-P	MIC	-	2	2	0.25	-	4	4
<i>Aquilaria sinensis</i> -P	MBC	-	4	4	0.5	-	-	-
岩陀-B	MIC	0.5	0.062 5	0.062 5	0.062 5	2	-	-
<i>Bergenia purpurascens</i> -B	MBC	1	0.125	0.125	0.125	4	-	-
乌药-B	MIC	0.5	0.25	0.25	0.125	-	-	-
<i>Lindera aggregata</i> -B	MBC	1	0.5	0.5	0.25	-	-	-
卷柏-B	MIC	-	0.125	1	0.5	-	-	-
<i>Selaginella tamariscina</i> -B	MBC	-	0.25	2	1	-	-	-
首乌藤-B	MIC	1	0.25	0.25	0.125	-	-	-
<i>Polygonum multiflorum</i> -B	MBC	2	0.5	0.5	0.25	-	-	-
夏枯草-B	MIC	1	0.5	2	0.5	-	-	-
<i>Prunella vulgaris</i> -B	MBC	2	1	4	1	-	-	-
苏木-B	MIC	2	1	1	1	-	-	-
<i>Caesalpinia sappan</i> -B	MBC	4	2	2	2	-	-	-
香叶-B	MIC	2	1	2	5	-	-	-
<i>Laurus nobilis</i> -B	MBC	4	2	4	1	-	-	-
沉香(二级)-B	MIC	-	2	-	2	-	-	-
<i>Aquilaria sinensis</i> -B	MBC	-	4	-	4	-	-	-
沉香(特级)-B	MIC	-	2	-	-	-	-	-
<i>Aquilaria sinensis</i> -B	MBC	-	4	-	-	-	-	-
苏木-W	MIC	0.5	0.5	<0.03125	0.0625	-	-	-
<i>Caesalpinia sappan</i> -W	MBC	1	1	<0.03125	0.125	-	-	-
首乌藤-W	MIC	1	0.125	0.25	0.125	-	-	-
<i>Polygonum multiflorum</i> -W	MBC	2	0.25	0.5	0.25	-	-	-
岩陀-W	MIC	1	0.125	0.5	0.25	2	-	-
<i>Bergenia purpurascens</i> -W	MBC	2	0.25	1	0.5	4	-	-
夏枯草-W	MIC	-	0.5	2	0.5	-	-	-
<i>Prunella vulgaris</i> -W	MBC	-	1	4	1	-	-	-
乌药-W	MIC	2	1	1	0.5	-	-	-
<i>Lindera aggregata</i> -W	MBC	4	2	2	1	-	-	-
卷柏-W	MIC	-	1	-	2	-	-	-
<i>Selaginella tamariscina</i> -W	MBC	-	2	-	4	-	-	-
沉香(特级)-W	MIC	-	0.5	-	-	-	-	-
<i>Aquilaria sinensis</i> -W	MBC	-	1	-	-	-	-	-
香叶-W	MIC	-	-	-	2	-	-	-
<i>Laurus nobilis</i> -W	MBC	-	-	-	1	-	-	-
沉香(二级)-W	MIC	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aquilaria sinensis</i> -W	MBC	-	-	-	-	-	-	-

注: P. 石油醚层; E. 乙酸乙酯层; B. 正丁醇层; W. 水层; “-”表示 MIC 或 MBC 值大于 $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

Note: P. Petroleum ether extracts; E. Ethyl acetate extracts; B. n-BuOH extracts; W. Water extracts; “-” indicates that the MIC or MBC value, greater than $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

表 6 24 种中药材对 16 株 MRSA 的 MIC/MBC 测定结果

Table 6 MIC/MBC determination of twenty-four Chinese herbal medicines against sixteen strains of MRSA

中药材 Chinese herbal medicine	抑菌活性 Antibacterial activity (mg · mL ⁻¹)	菌株编号 Stain code							
		MRSA 111	MRSA 747	MRSA 181	MRSA 23	MRSA 42	MRSA 285	MRSA 128	MRSA 300
岩陀 <i>Bergenia purpurascens</i>	MIC	<0.098	<0.098	<0.098	0.391	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098
	MBC	<0.098	<0.098	<0.098	0.781	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098
苏木 <i>Caesalpinia sappan</i>	MIC	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	0.391
	MBC	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	0.781
乌药 <i>Lindera aggregata</i>	MIC	<0.098	0.098	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	0.098
	MBC	0.098	0.195	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	0.195
侧柏叶 <i>Platycladus orientalis</i>	MIC	0.195	0.195	0.098	<0.098	0.195	<0.098	0.391	0.195
	MBC	0.391	0.195	0.195	<0.098	0.195	<0.098	0.391	0.195
卷柏 <i>Selaginella tamariscina</i>	MIC	0.098	0.781	0.391	0.098	0.781	0.391	0.098	0.195
	MBC	0.195	1.563	0.781	0.195	1.563	0.781	0.195	0.391
夏枯草 <i>Prunella vulgaris</i>	MIC	0.098	0.781	0.098	0.391	<0.098	0.098	<0.098	0.391
	MBC	0.195	1.563	0.195	0.781	<0.098	0.195	<0.098	0.781
沉香(二级) <i>Aquilaria sinensis</i>	MIC	0.391	0.391	0.391	0.195	0.098	0.098	0.391	1.563
	MBC	0.781	0.781	0.781	0.391	0.195	0.195	0.781	3.125
首乌藤 <i>Polygonum multiflorum</i>	MIC	3.125	0.391	0.098	0.098	0.098	0.391	0.781	3.125
	MBC	6.25	0.781	0.195	0.195	0.195	0.781	1.563	6.25
白及 <i>Bletilla striata</i>	MIC	0.195	0.781	0.391	0.781	1.563	0.391	0.781	1.563
	MBC	0.391	1.563	0.781	1.563	3.125	0.781	1.563	3.125
香叶 <i>Laurus nobilis</i>	MIC	0.391	0.781	0.781	1.563	0.195	0.781	0.781	0.781
	MBC	0.781	1.563	1.563	3.125	0.391	1.563	1.563	1.563
五味子 <i>Schisandra chinensis</i>	MIC	0.781	0.781	0.391	0.781	0.391	1.563	0.781	0.781
	MBC	1.563	1.563	0.781	1.563	0.781	3.125	1.563	1.563
沉香(特级) <i>Aquilaria sinensis</i>	MIC	0.781	3.125	0.781	0.781	0.781	0.781	0.781	6.25
	MBC	1.563	6.25	1.563	1.563	1.563	1.563	1.563	12.5
木瓜 <i>Chaenomeles speciosa</i>	MIC	6.25	1.563	1.563	0.781	1.563	1.563	0.781	1.563
	MBC	6.25	1.563	1.563	0.781	1.563	1.563	1.563	1.563
藁本 <i>Ligusticum sinense</i>	MIC	0.781	3.125	1.563	1.563	0.781	0.391	1.563	3.125
	MBC	1.563	6.25	3.125	3.125	1.563	0.781	3.125	6.25
山茱萸 <i>Cornus officinalis</i>	MIC	1.563	1.563	0.781	1.563	1.563	1.563	1.563	1.563
	MBC	3.125	3.125	1.563	3.125	3.125	3.125	3.125	3.125
柴胡 <i>Bupleurum chinense</i>	MIC	1.563	3.125	1.563	1.563	1.563	1.563	0.781	3.125
	MBC	1.563	6.25	3.125	3.125	3.125	3.125	1.563	6.25
茜草 <i>Rubia cordifolia</i>	MIC	6.25	0.781	1.563	1.563	0.391	3.125	0.781	0.781
	MBC	12.5	1.563	3.125	3.125	0.781	6.25	1.563	1.563
秦皮 <i>Fraxinus paxiana</i>	MIC	6.25	3.125	0.781	0.781	0.781	1.563	3.125	1.563
	MBC	12.5	6.25	1.563	1.563	1.563	3.125	6.25	3.125
金钱草 <i>Lysimachia christinae</i>	MIC	6.25	3.125	1.563	1.563	3.125	3.125	3.125	1.563
	MBC	12.5	6.25	3.125	3.125	6.25	6.25	6.25	3.125
榧子 <i>Torreya grandis</i>	MIC	3.125	6.25	3.125	3.125	1.563	3.125	3.125	6.25
	MBC	0.25	12.5	6.25	6.25	3.125	6.25	6.25	12.5
干姜 <i>Zingiber officinale</i>	MIC	6.25	6.25	6.25	0.781	1.563	1.563	0.781	6.25
	MBC	12.5	12.5	12.5	1.563	3.125	3.125	1.563	12.5
胡黄连 <i>Picrorhiza scrophulariiflora</i>	MIC	6.25	-	12.5	6.25	6.25	6.25	-	-
	MBC	12.5	-	-	12.5	12.5	12.5	-	-
鸡蛋花 <i>Plumeria rubra cv. Acutifolia</i>	MIC	-	12.5	6.25	3.125	3.125	1.563	-	-
	MBC	-	-	12.5	6.25	6.25	1.563	-	-
狼毒大戟 <i>Euphorbia fischeriana</i>	MIC	12.5	-	-	6.25	-	12.5	-	-
	MBC	12.5	-	-	12.5	-	12.5	-	-

续表 6

中药材 Chinese herbal medicine	抑菌活性 Antibacterial activity (mg · mL ⁻¹)	菌株编号 Stain code							
		MRSA 166	MRSA 8	MRSA 98	MRSA 15	MRSA 202	MRSA 187	MRSA 40	MRSA 22
岩陀 <i>Bergenia purpurascens</i>	MIC	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	0.098	<0.098	0.195
	MBC	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	0.195	<0.098	0.195
苏木 <i>Caesalpinia sappan</i>	MIC	<0.098	<0.098	<0.098	0.098	0.098	0.098	<0.098	<0.098
	MBC	<0.098	<0.098	<0.098	0.195	0.098	0.195	<0.098	<0.098
乌药 <i>Lindera aggregata</i>	MIC	0.195	0.195	0.195	0.195	0.195	0.195	0.195	0.391
	MBC	0.391	0.195	0.391	0.391	0.391	0.391	0.195	0.391
侧柏叶 <i>Platycladus orientalis</i>	MIC	0.098	0.195	0.195	0.195	0.391	0.391	0.195	0.195
	MBC	0.195	0.391	0.391	0.391	0.781	0.391	0.195	0.391
卷柏 <i>Selaginella tamariscina</i>	MIC	1.563	0.195	0.781	3.125	3.125	0.781	1.563	1.563
	MBC	3.125	0.391	1.563	6.25	6.25	1.563	3.125	3.125
夏枯草 <i>Prunella vulgaris</i>	MIC	0.195	0.195	0.098	0.391	0.781	1.563	1.563	3.125
	MBC	0.391	0.391	0.195	0.781	1.563	3.125	3.125	6.25
沉香(二级) <i>Aquilaria sinensis</i>	MIC	0.195	0.391	0.195	0.195	0.391	0.195	0.391	0.391
	MBC	0.391	0.391	0.391	0.391	0.781	0.391	0.391	0.781
首乌藤 <i>Polygonum multiflorum</i>	MIC	0.195	0.195	0.098	0.195	0.391	0.195	0.195	0.391
	MBC	0.391	0.391	0.195	0.391	0.391	0.195	0.195	0.391
白及 <i>Bletilla striata</i>	MIC	0.781	1.563	1.563	1.563	1.563	1.563	0.781	1.563
	MBC	1.563	1.563	3.125	3.125	1.563	1.563	1.563	3.125
香叶 <i>Laurus nobilis</i>	MIC	1.563	0.781	1.563	1.563	1.563	0.1563	0.781	1.563
	MBC	1.563	0.781	1.563	3.125	3.125	3.125	1.563	3.125
五味子 <i>Schisandra chinensis</i>	MIC	1.563	0.781	0.781	1.563	1.563	1.563	1.563	0.781
	MBC	1.563	0.781	1.563	1.563	1.563	1.563	1.563	1.563
沉香(特级) <i>Aquilaria sinensis</i>	MIC	3.125	1.563	3.125	6.25	6.25	12.5	3.125	3.125
	MBC	3.125	3.125	6.25	12.5	12.5	12.5	6.25	6.25
木瓜 <i>Chaenomeles speciosa</i>	MIC	0.781	1.563	1.563	1.563	0.781	1.563	1.563	0.781
	MBC	1.563	1.563	1.563	3.125	1.563	3.125	3.125	1.563
藁本 <i>Ligusticum sinense</i>	MIC	3.125	3.125	3.125	6.25	12.5	6.25	1.563	1.563
	MBC	3.125	3.125	3.125	12.5	12.5	12.5	3.125	3.125
山茱萸 <i>Cornus officinalis</i>	MIC	3.125	3.125	3.125	1.563	1.563	1.563	3.125	1.563
	MBC	3.125	3.125	3.125	3.125	1.563	3.125	3.125	3.125
柴胡 <i>Bupleurum chinense</i>	MIC	1.563	1.563	1.563	12.5	12.5	12.5	12.5	6.25
	MBC	1.563	3.125	1.563	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5
茜草 <i>Rubia cordifolia</i>	MIC	1.563	0.391	1.563	12.5	6.25	12.5	1.563	1.563
	MBC	3.125	0.781	3.125	12.5	12.5	12.5	1.563	1.563
秦皮 <i>Fraxinus paxiana</i>	MIC	3.125	0.781	1.563	6.25	6.25	6.25	3.125	6.25
	MBC	3.125	0.781	1.563	12.5	6.25	6.25	6.25	6.25
金钱草 <i>Lysimachia christinae</i>	MIC	6.25	6.25	6.25	6.25	3.125	6.25	3.125	6.25
	MBC	6.25	6.25	12.5	6.25	3.125	6.25	3.125	6.25
榧子 <i>Torreya grandis</i>	MIC	6.25	6.25	6.25	6.25	12.5	12.5	3.125	6.25
	MBC	12.5	6.25	12.5	12.5	12.5	12.5	6.25	12.5
干姜 <i>Zingiber officinale</i>	MIC	6.25	3.125	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25
	MBC	6.25	3.125	6.25	6.25	12.5	12.5	6.25	6.25
胡黄连 <i>Picrorhiza scrophulariiflora</i>	MIC	-	1.563	-	-	-	-	-	12.5
	MBC	-	3.125	-	-	-	-	-	-
鸡蛋花 <i>Plumeria rubra cv. Acutifolia</i>	MIC	6.25	-	6.25	-	-	-	-	-
	MBC	12.5	-	12.5	-	-	-	-	-
狼毒大戟 <i>Euphorbia fischeriana</i>	MIC	12.5	-	12.5	-	12.5	-	6.25	12.5
	MBC	-	-	12.5	-	-	-	12.5	-

注:“-”表示 MIC 或 MBC 值大于 12.5 mg · mL⁻¹。

Note:“-” indicates that the MIC or MBC value is greater than 12.5 mg · mL⁻¹.

陀、首乌藤、夏枯草、侧柏叶等 15 种中药材抗菌活性较强;比较同一种中药材醇提取物对标准菌和耐药菌的抗菌活性,可看出对标准菌抗菌活性强的药材,对耐药菌抗菌活性也强,说明中草药确实在抗耐药性问题上具有一定的优势,如卷柏对各标准菌抑菌圈 $9.50 \leq d \leq 21.50$ mm,为中高度敏感,具有较强抑制作用;抗菌活性测定中,其乙醇提取物对各标准菌均有较强抗菌活性,对于 SA 和 EC 其 MIC 和 MBC 值均在 $<0.098 \sim 0.781$ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间,对 PA 和 CA 其 MIC 和 MBC 值均为 12.5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;对 MRSA 也表现出较强的抗菌活性, MIC 值在 $0.098 \sim 3.125$ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间, MBC 值在 $0.195 \sim 6.25$ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间。从药材提取物萃取层的抗菌活性测定结果可知,各药材乙酸乙酯层的抑菌活性均比其他萃取层的显著,说明这些药材的有效抗菌活性成分主要集中在乙酸乙酯层萃取物中,为后续天然化合物的分离提供了活性追踪分离导向。此次通过体外抗菌活性实验,研究了 36 种常见中药材的体外抗菌作用情况,对所选中药材进行了初步筛选。

目前关于这 36 种常见中草药抗细菌耐药性的研究报道较少,继续开展广泛而深入的细菌耐药性延缓或消除的相关研究,对合理开发和利用中药资源具有很重要的现实意义。本研究是关于中草药对单一纯培养菌群的体外筛选研究,其优点是实验条件明确,操作和结果分析也比较容易,但缺点是抗菌活性成分和相关抑菌机制并未明确,故本课题今后将进行活性追踪分离,分离筛选出具有良好抗菌活性的中草药单体成分,尝试探究其作用机制并将活性单体成分联合抗生素进行抗菌活性试验,以期达到增效减毒的治疗目的,希望为后续一系列解决细菌耐药性问题的研究提供一定参考。

参考文献:

BLANCO M, BLANCO JE, MORA A, et al, 2003. Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from healthy sheep in Spain [J]. *J Clin Microb*, 41: 1351-6.

Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests [S]. Approved Standard-Eleventh Edition M02-A11. Wayne, PA: CLSI2012.

Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests [S]. Approved Standard-Eleventh Edition M07-A9. Wayne, PA: CLSI2012.

FOSTER TJ, GEOGHEGAN JA, GANESH VK, et al, 2014. Adhesion, invasion and evasion: The many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus* [J]. *Nat Rev Microbiol*, 12 (1): 49.

GOW NAR, VAN DE VEERDONK FL, BROWN AJP, et al, 2012. *Candida albicans* morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization [J]. *Nat Rev Microbiol*, 10(2): 112.

HAN F, XING RH, CHEN LQ, et al, 2016. Research progress of anti-drug resistance in traditional Chinese medicine [J]. *Chin J Chin Mat Med*, 41(5): 813-817. [韩飞, 幸仁汇, 陈琳琦, 等, 2016. 中药抗细菌耐药性的研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 41(5): 813-817.]

HANG YF, XUE XY, FAN GY, et al, 2011. Progress of traditional Chinese medicine antibacterial and reversal of drug resistance mechanism [J]. *J Chin Pharm*, 22 (47): 4504-4507. [杭永付, 薛晓燕, 方芸, 等, 2011. 中药抗菌和逆转耐药作用机制研究进展 [J]. *中国药房*, 22(47): 4504-4507.]

LI RM, LEI ZX, 2006. Tactics for prevention of bacterad resistance [J]. *Med Phil (Clin Dec Mak For Ed)*, 27(8): 45-47. [李睿明, 雷朝霞, 2006. 细菌耐药性对抗决策 [J]. *医学与哲学(临床决策论坛版)*, 27(8): 45-47.]

PATEL M, 2009. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections epidemiology [J]. *Recogn Manag Drugs*, 69: 693-716.

PIER GB, 2002. CFTR mutations and host susceptibility to *Pseudomonas aeruginosa* lung infection [J]. *Curr Opin Microbiol*, 5(1): 81-86.

WEI YJ, WANG ZT, XU YC, et al, 2016. Current situation analysis and detection techniques of pathogenic *Escherichia coli* [J]. *Biotechnol Bull*, 32(11): 80-92. [卫昱君, 王紫婷, 徐媛聪, 等, 2016. 致病性大肠杆菌现状分析及检测技术研究进展 [J]. *生物技术通报*, 32(11): 80-92.]

WU MQ, WEI SZ, HUANG YQ, et al, 2016. Study on drug resistance mechanism of *Pseudomonas aeruginosa* and its countermeasures [J]. *Eval Anal Drug-Use Hosp Chin*, 16(11): 1460-1461. [吴明权, 魏士长, 黄银秋, 等, 2016. 绿脓杆菌耐药机制及其对策研究 [J]. *中国医院用药评价与分析*, 16(11): 1460-1461.]

WU PH, XIE T, FAN RQ, et al, 2012. Experimental study on Xianglian lotion on the synergistic effect of miconazole nitrate against *Candida albicans* in vitro [J]. *J Diagn Therapy Dermatol-Venereol*, 19(3): 142. [吴盘红, 谢婷, 范瑞强, 等, 2012. 香莲外洗液对硝酸咪康唑抗白念珠菌增效作用的体外实验研究 [J]. *皮肤性病诊疗学杂志*, 19(3): 142.]

ZHAO T, YAO S, LI H, et al, 2012. CLSI M38-A2 broth dilution method against bat moth *Paecilomyces hepiali* [J]. *Microbiol Chin*, 39(7): 965-970. [赵婷, 姚粟, 李辉, 等, 2012. CLSI M38-A2 肉汤稀释法对蝙蝠蛾拟青霉的菌敏检测 [J]. *微生物学通报*, 39(7): 965-970.]