·论　著·

大黄及单体对金黄色葡萄球菌的体外抑菌作用及作用机制研究*

徐令清，莫艳梅，简永欢，黎梓楠，何倩君，温伟洪，汤英贤，刘加伟，刘丽忠△
广州医科大学附属第六医院检验科/清远市人民医院检验科，广东清远 511518

摘　要：目的　研究大黄及单体对金黄色葡萄球菌的体外抑菌作用及作用机制。**方法**　采用高效液相色谱仪分析不同溶剂萃取大黄及 8 种单体，采用抑菌试验检测大黄对 3 株金黄色葡萄球菌及 8 种单体对标准菌株的抑菌作用。采用微量倍比稀释法测定大黄对 80 株金黄色葡萄球菌及 8 种大黄单体对标准菌株的最小抑菌浓度（MIC）。采用全自动鉴定药敏仪对 80 株金黄色葡萄球菌进行鉴定和药敏试验，并测定标准菌株的生长曲线。采用酶标仪检测 DNA、RNA 等大分子物质的外渗水平。**结果**　选择乙醇作为溶剂对大黄进行萃取，在 8 种单体中，大黄酚、大黄素等 5 种大黄单体提取率最高，其中大黄素对标准菌株抑菌效果最明显，平均抑菌圈直径为 20 mm，MIC 为 0.025 mg/mL。大黄对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抑菌作用较明显，抑菌圈直径为 19 mm。大黄对 80 株金黄色葡萄球菌的 MIC 范围为 16～128 mg/mL。40 株耐甲氧西林金黄色葡萄球菌抗菌药物中青霉素、苯唑西林、阿莫西林/克拉维酸的耐药率均为 100.0%，40 株甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌抗菌药物中青霉素的耐药率（90.0%）最高。大黄对标准菌株金黄色葡萄球菌有抑菌作用，能够破坏金黄色葡萄球菌的细胞膜，导致菌体中 DNA、RNA 等大分子物质外渗。**结论**　大黄及抑菌单体对金黄色葡萄球菌具有较好的抑菌作用，作用机制是通过破坏金黄色葡萄球菌的细胞膜，导致菌体中 DNA、RNA 等大分子物质外渗，发挥抗菌作用。

关键词：金黄色葡萄球菌；　抑菌作用；　大黄单体；　最小抑菌浓度
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2021.16.003　　**中图法分类号：**R446.5
文章编号：1673-4130(2021)16-1929-06　　**文献标志码：**A

Study on the antibacterial effect and mechanism of rhubarb and monomer on Staphylococcus aureus*

XU Lingqing, MO Yanmei, JIAN Yonghuan, LI Zhinan, HE Qianjun, WEN Weihong, TANG Yingxian, LIU Jiawei, LIU Lizhong△
Department of Clinical Laboratory, the Sixth Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University/Qingyuan People's Hospital, Qingyuan, Guangdong 511518, *China*

Abstract: Objective　To investigate the antibacterial effect and mechanism of rhubarb and its monomer on Staphylococcus aureus in vitro. **Methods**　High performance liquid chromatography was used to analyze rhubarb and 8 kinds of monomers extracted by different solvents. The antibacterial effect of rhubarb on 3 strains of Staphylococcus aureus and 8 kinds of monomers on standard strains was detected by antibacterial test. The minimal inhibitory concentration (MIC) of rhubarb against 80 strains of Staphylococcus aureus and 8 kinds of monomers against standard strains was determined by microdilution method. The bacterial identification and drug sensitivity test of 80 strains of Staphylococcus aureus were carried out by microbial analyzer. The growth curve of standard strains was measured and the exosmosis level of DNA, RNA and other macromolecular substances were measured by enzyme labeling instrument. **Results**　Ethanol was selected as the solvent to extract rhubarb. Among the 8 monomers, the extraction rate of chrysophanol and emodin was the highest, and emodin had the most obvious antibacterial effect on the standard strain, the average inhibition circle was 20 mm, MIC value was 0.025 mg/mL. The antibacterial effect of rhubarb on methicillin-resistant Staphylococcus aureus was obvious, and the inhibitory circle was 19 mm. The MIC range of rhubarb to 80 strains of Staphylococcus

* **基金项目：**广东省中医药局科研项目（20201407）；广东省科技创新战略专项资金项目（DZXQY002）；广东省医学科研基金项目（A2021490）；清远市人民医院医学科研基金项目（20190209）；2021－2022 年度广州医科大学大学生科技创新项目（2020ALY07）。

作者简介：徐令清，男，副主任技师，主要从事微生物耐药机制方面的研究。　△　**通信作者**，E-mail：Lindallz@163.com。

本文引用格式：徐令清，莫艳梅，简永欢，等. 大黄及单体对金黄色葡萄球菌的体外抑菌作用及作用机制研究[J]. 国际检验医学杂志，2021，42(16)：1929-1934.

aureus was 16－128 mg/mL. The drug resistance rate of penicillin, oxacillin and amoxicillin/clavulanic acid were all 100.0% in 40 strains of methicillin-resistant Staphylococcus aureus, and among the 40 strains of methicillin sensitive Staphylococcus aureus, the resistance rate of penicillin (90.0%) was the highest. Rhubarb could inhibit the standard strain of Staphylococcus aureus, destroy the cell membrane of Staphylococcus aureus, and lead to the exosmosis of DNA, RNA and other macromolecular substances in the bacteria. **Conclusion**　Rhubarb and antibacterial monomers have good antibacterial effect on Staphylococcus aureus. The mechanism of action is that they can destroy the cell membrane of Staphylococcus aureus, lead to the exosmosis of DNA, RNA and other macromolecular substances in the bacteria, so as to play a antibacterial role.

Key words: staphylococcus aureus;　antibacterial effect;　rhubarb monomer;　minimum inhibitory concentration

金黄色葡萄球菌是临床化脓性感染的重要病原菌之一，金黄色葡萄球菌是临床感染中最为常见的致病菌，可导致皮肤脓肿、肺炎、心膜炎、化脓性关节炎及菌血症等[1]。在细菌感染性疾病的治疗中，抗菌药物的应用一方面使许多严重的细菌感染性疾病得到有效控制；另一方面也使细菌的耐药性增强，临床上出现了大量多重耐药菌株。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)具有致病力强、传播速度快、常表现为多重耐药等特点，其耐药机制复杂，治疗难度大，病死率高。MRSA 对 β-内酰胺类抗菌药物耐药，并且对大环内酯类、氨基糖苷类、氟喹诺酮类等抗菌药物多数耐药，导致抗 MRSA 感染药物的品种选择有限。因此，寻找新的抗 MRSA 的药物显得十分重要和迫切。相关报道显示，大黄对金黄色葡萄球菌的抑菌作用较强，大黄来源广泛，价格低廉，含有多种活性成分，对人体不良反应小，不仅能抗菌消炎，而且对金黄色葡萄球菌不易产生耐药性，这在临床上有很大的价值[2]。因此，大黄具有研究和开发的潜力，有广阔的应用前景，对改善多重耐药菌感染性疾病的治疗及有效对抗 MRSA 感染的药物有重要临床意义。

1　材料与方法

1.1　菌株来源　选取广州医科大学附属第六医院(清远市人民医院)2019 年检验科微生物室分离的 80 株金黄色葡萄球菌，包括 MRSA 40 株，甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)40 株。标准菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC 29213(微生物室保存菌株)。

1.2　试剂与仪器　大黄(康美药业股份有限公司)；大黄单体：大黄酸-8-0-β-D-葡萄糖苷、大黄素-8-0-β-D-吡喃葡萄糖苷、大黄酚、芦荟大黄素、没食子酸、大黄酸、大黄素和大黄素甲醚(成都曼斯特生物科技有限公司)；血平板(江门市凯林贸易有限公司)；肉汤培养基与 M-H 琼脂平板(广州市迪景生物科技有限公司)；二甲基亚枫(DMSO)(天津市富宇精细化工有限公司)；96 孔板(北京欣兴强森生物科技有限公司)；IFA-110T-8 型微生物培养箱(艺思高科技有限公司)；DHP-9145A 电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)；DensiCHEK Plus 电子比浊仪(生物梅里埃美国股份有限公司)；VITEK2 Compact 全自动微生物分析仪(法国生物梅里埃公司)；uLtiMate 3000 型高效液相色谱仪(赛默飞世尔科技有限公司)；DTT-A 型电子天平(福州华志科学仪器有限公司)；酶标仪(德国 BMG Spectrostar Namo 全波长)。

1.3　方法

1.3.1　大黄混悬液和大黄单体溶液制备　称取大黄 5 g 置于离心管中，加入无水乙醇 30 mL，进行萃取 48 h，再将萃取液过滤挥干后，用无菌蒸馏水配制成 256、128、64、32、16、8、4、2、1、0.5、0.25 和 0.125 mg/mL 共 12 种质量浓度。将 8 种大黄单体用 DMSO 分别配制成 128、64、32、16、8、4、2、1、0.5 和 0.25 mg/mL 共 10 种质量浓度。均置于 4 ℃保存备用。

1.3.2　菌液制备　将菌株接种于血平板，37 ℃培养 18 h，抑菌试验法(用生理盐水配制成 0.5 麦氏浊度)；最小抑菌浓度(MIC)测定法(用肉汤培养基配制成 0.5 麦氏浊度)，菌液浓度均为 1.5×10^8 cfu/mL。

1.3.3　高效液相检测大黄组分　(1)样品提取：取 5 个锥形瓶，称取大黄各 5 g 置于 5 个锥形瓶中，分别加入丙酮、无菌蒸馏水、乙腈、甲醇和乙醇各 100 mL，用封口膜把瓶口封好。超声提取 30 min，用 0.22 μm 有机膜滤膜过滤到样品瓶中。(2)标准品溶液制备：分别精密称取 8 种单体 1 mg，置于 8 个灭菌 EP 管中，各加入 1 mL 的乙醇进行溶解。(3)高效液相色谱法检测：采用 C18(5 μm，4.6 mm×250.0 mm)色谱柱，流速为 1.0 mL/min，检测波长 254 nm，柱温 35 ℃，进样量 2 μL。流动相为乙腈水(50∶50)。分别对提取溶液和标准品溶液进行检测。

1.3.4　大黄对 3 株金黄色葡萄球菌的抑菌作用　每种菌株取 2 个 M-H 琼脂平板，用无菌棉签蘸取 0.5 麦氏浊度菌液于平板上进行均匀涂布后，用无菌枪头扎 7 个孔。将 12 种质量浓度的大黄混悬液各 10 μL 加在平板周围 6 个孔中，平板中间孔加无菌蒸馏水作为对照。将平板置于 37 ℃培养箱培养 18 h。

1.3.5　大黄 8 种单体对标准菌株的抑菌作用　每种

单体取 2 个 M-H 琼脂平板，用无菌棉签蘸取菌液于平板上进行均匀涂布后，用枪头扎 6 个孔。将 10 种质量浓度的大黄单体溶液各 10 μL 加在平板周围 6 个孔中，平板中间孔加 DMSO 作为对照。将平板置于 37 ℃培养箱培养 18 h。

1.3.6　大黄对 80 株金黄色葡萄球菌的 MIC 测定　于无菌 96 孔板中每孔加入肉汤菌液 50 μL，第 1 个孔加入 512 mg/mL 大黄混悬液 50 μL，采用微量倍比稀释法，使大黄混悬液质量终浓度分别为 256、128、64、32、16、8、4、2、1、0.5、0.25 和 0.125 mg/mL 共 12 种质量浓度。将 96 孔板置于 37 ℃培养箱培养 18 h。

1.3.7　大黄 8 种单体对标准菌株的 MIC 测定　于无菌 96 孔板中每孔加入肉汤菌液 45 μL 后加入 10 种质量浓度的单体溶液各 5 μL(单体质量终浓度分别为 12.8、6.4、3.2、1.6、0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 和 0.025 mg/mL)，取肉汤菌液 45 μL＋DMSO 溶液 5 μL 作为阳性对照，肉汤培养基 50 μL 作为阴性对照。将 96 孔板置于 37 ℃培养箱培养 18 h。

1.3.8　80 株金黄色葡萄球菌药敏试验　采用 VITEK 2 Compact 全自动微生物分析仪，使用配套的鉴定卡和药物敏感性卡进行细菌鉴定和药敏试验。

1.3.9　标准菌株的生长曲线和 DNA、RNA 等大分子物质外渗水平检测　取培养至对数生长期的标准菌株，用无菌生理盐水配制成 0.5 麦氏浊度，加入到含有大黄的肉汤培养基，使大黄质量终浓度为 256 mg/mL。置于 37 ℃培养箱培养。每隔 2 h 进行取样，取样时充分振荡，用酶标仪检测 580 nm 处的 *A* 值，以不加药作为对照，绘制生长曲线。DNA、RNA 等大分子物质的检测每隔 2 h 进行取样，4 500 r/min 离心 10 min 后，吸取上清液，用酶标仪检测 260 nm 处的 *A* 值，以不加药作为对照，绘制曲线。

1.4　统计学处理　采用 Excel 2010 进行数据处理。

2　结　　果

2.1　大黄组分的检测结果　与标准品图谱比对后发现，大黄用丙酮萃取的色谱图出现 5 个色谱峰，表明有 5 种已知有效的成分被萃取出来。用无菌蒸馏水和乙腈萃取效果不明显，用甲醇和乙醇萃取的色谱图都出现 9 个色谱峰，表明都有 9 种已知有效成分被萃取出来，而且组分相似，由于甲醇有毒性作用，因此，选择乙醇作为溶剂对大黄进行萃取。大黄单体中大黄酸-8-0-β-D-葡萄糖苷和没食子酸的色谱图都没有出现色谱峰，可能是因为没有完全溶解，影响检测结果。大黄素-8-0-β-D-吡喃葡萄糖苷、大黄酚、芦荟大黄素、大黄素和大黄素甲醚都只出现一个色谱峰，说明溶解效果好，单体提取率高，大黄酸出现很相近的 2 个色谱峰，可能是同分异构体，说明纯度不是很高。

2.2　大黄对 3 株金黄色葡萄球菌的抑菌作用　从培养箱取出平板，测量抑菌圈直径。大黄对 3 株金黄色葡萄球菌均有不同程度的抑菌作用，大黄在质量浓度为 8 mg/mL 开始对标准菌株有抑菌作用，在质量浓度为 32 mg/mL 对 MRSA 和 MSSA 开始有抑菌作用。自 32 mg/mL 质量浓度起，大黄对 MRSA 的抑菌作用更明显，抑菌圈直径为 19 mm。结果重复 3 次，取平均值。见表 1。

2.3　大黄 8 种单体对标准菌株的抑菌作用　从培养箱取出平板，用尺子测量抑菌圈直径。8 种单体中大黄酸-8-0-β-D-葡萄糖苷、大黄素-8-0-β-D-吡喃葡萄糖苷、大黄酚和大黄素甲醚对标准菌株没有抑菌作用，而芦荟大黄素、没食子酸、大黄酸和大黄素对标准菌株均有不同程度的抑菌作用，其中大黄素对标准菌株的抑菌效果最明显，抑菌圈直径最大，为 20 mm，MIC 为 0.025 mg/mL。并且抑菌圈的直径还与单体浓度呈正相关，浓度越高，抑菌圈直径越大，抑菌效果越好。结果重复 3 次，取平均值，见表 2。

表 1　大黄对 3 株金黄色葡萄球菌的抑制圈直径测定结果(mm)

菌株	浓度(mg/mL)												对照
	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	
标准菌株	14	13	13	10	6	6	0	0	0	0	0	0	0
MRSA	19	15	14	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MSSA	10	9	7	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表 2　大黄 8 种单体对标准菌株的抑制圈直径测定结果(mm)

大黄单体	浓度(mg/mL)										对照
	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	
大黄酸-8-0-β-D-葡萄糖苷	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
大黄素-8-0-β-D-吡喃葡萄糖苷	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
大黄酚	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
芦荟大黄素	11	9	11	11	5	5	5	7	7	5	0
没食子酸	21	19	16	13	5	0	0	0	0	0	0
大黄酸	15	18	15	15	12	12	5	0	0	0	0
大黄素	20	20	20	20	20	20	20	16	10	5	0
大黄素甲醚	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2.4　大黄对 80 株金黄色葡萄球菌的 MIC 测定　大黄对 40 株 MRSA 的最小抑菌浓度范围为 16～128 mg/mL，MIC 50 为 32 mg/mL，MIC 90 为 64 mg/mL；大黄对 40 株 MSSA 的最小抑菌浓度范围为 16～64 mg/mL，MIC 50 为 32 mg/mL，MIC 90 为 64 mg/mL。见表 3、表 4。

表 3　大黄对 80 株金黄色葡萄球菌的 MIC 测定结果(株)

MIC 值(mg/mL)	MRSA	MSSA	合计
16	6	11	17
32	14	17	31
64	19	12	31
128	1	0	1
合计	40	40	80

表 4　大黄对 40 株 MRSA 和 40 株 MSSA 的 MIC 50、MIC 90 结果(mg/mL)

菌株	MIC 范围	MIC 50	MIC 90
MRSA	16～128	32	64
MSSA	16～64	32	64

2.5　大黄单体对标准菌株的 MIC 测定　经培养后，肉汤培养基澄清透明为无菌生长，混浊则为有菌生长，无菌生长的最低浓度称为 MIC。大黄单体对标准菌株均有不同程度的抑菌作用，其中大黄素对标准菌株的抑菌作用最强，MIC 为 0.025 mg/mL，大黄酸抑菌效果次之。见表 5。

表 5　8 种单体对标准菌株 MIC 测定结果(mg/mL)

大黄单体	MIC	大黄单体	MIC
大黄酸-8-0-β-D-葡萄糖苷	3.2	没食子酸	0.2
大黄素-8-0-β-D-吡喃葡萄糖苷	3.2	大黄酸	0.05
大黄酚	1.6	大黄素	0.025
芦荟大黄素	0.1	大黄素甲醚	1.6

2.6　80 株金黄色葡萄球菌对抗菌药物的耐药情况　鉴定结果均为金黄色葡萄球菌，记录 80 株金黄色葡萄球菌的药物敏感性数据并计算耐药率，40 株 MRSA 抗菌药物中青霉素、苯唑西林、阿莫西林/克拉维酸的耐药率均为 100.0%，见表 6；40 株 MSSA 抗菌药物中青霉素的耐药率(90.0%)最高，见表 7。

2.7　标准菌株的生长曲线和 DNA、RNA 等大分子物质外渗浓度　标准菌株金黄色葡萄球菌经过一定时间的迟缓期，开始迅速生长，在 12 h 进入平缓期，从 4 h 开始，大黄作用组的 A 值始终明显低于对照组，说明金黄色葡萄球菌生长明显受到抑制，见图 1。大黄作用组的 A 值随着作用时间而升高，且大黄作用组的 A 值始终高于对照组，说明大黄作用后的金黄色葡萄球菌中 DNA、RNA 等大分子物质大量外渗，使培养基中的核酸等大分子物质浓度升高，见图 2。

表 6　40 株 MRSA 对 10 种抗菌药物的耐药情况[n(%)]

抗菌药物	敏感	耐药
复方磺胺甲噁唑	37(82.5)	3(7.5)
青霉素	0(0.0)	40(100.0)
苯唑西林	0(0.0)	40(100.0)
阿莫西林/克拉维酸	0(0.0)	40(100.0)
庆大霉素	33(82.5)	7(17.5)
红霉素	10(25.0)	30(75.0)
利奈唑胺	40(100.0)	0(0.0)
克林霉素	10(25.0)	30(75.0)
万古霉素	40(100.0)	0(0.0)
利福平	33(82.5)	7(17.5)

表 7　40 株 MSSA 对 11 种抗菌药物的耐药情况[n(%)]

抗菌药物	敏感	耐药
复方磺胺甲噁唑	40(100.0)	0(0.0)
青霉素	4(10.0)	36(90.0)
苯唑西林	36(90.0)	4(10.0)
阿莫西林/克拉维酸	36(90.0)	4(10.0)
庆大霉素	40(100.0)	0(0.0)
红霉素	31(77.5)	9(22.5)
利奈唑胺	40(100.0)	0(0.0)
克林霉素	32(80.0)	8(20.0)
万古霉素	40(100.0)	0(0.0)
利福平	10(25.0)	30(75.0)
替考拉宁	40(100.0)	0(0.0)

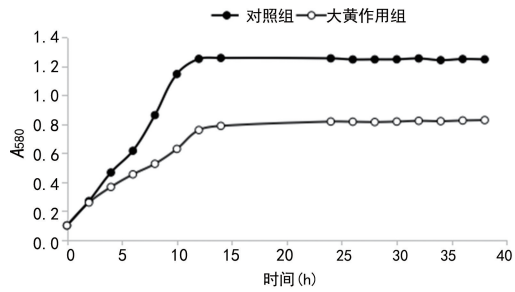

图 1　标准菌株金黄色葡萄球菌生长曲线

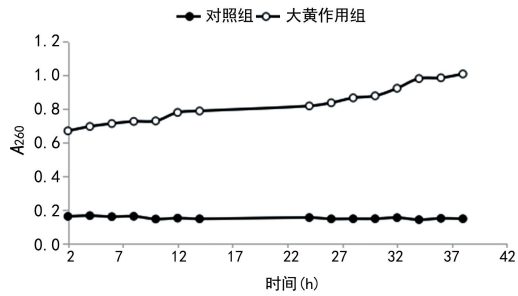

图 2　标准菌株的 DNA、RNA 等大分子物质外渗浓度检测结果

3　讨　论

金黄色葡萄球菌隶属于葡萄球菌属，常寄生于人

和动物的皮肤、鼻腔、咽喉、肠胃、痈、化脓疮口中,空气、污水等环境中也无处不在,是最常见的医院和社区获得性致病菌之一,是仅次于沙门菌和副溶血杆菌的第三大微生物致病菌[3],近年来暴发流行,抗菌治疗方案有限,MRSA 不仅对青霉素完全耐药,而且对红霉素、克林霉素、四环素均有很高(>70.0%)的耐药率;对环丙沙星、左氧氟沙星、莫西沙星、庆大霉素、利福平的耐药株也广泛存在。多重耐药菌株的出现使 MRSA 已经成为院内感染的重要病原体之一[4-5]。本研究结果显示,在 40 株 MRSA 抗菌药物中青霉素、苯唑西林、阿莫西林/克拉维酸的耐药率均为 100.0%,40 株 MSSA 抗菌药物中青霉素的耐药率(90.0%)最高。近年来,众多国内外学者尝试从传统医学中寻找治疗 MRSA 的新思路。有研究发现,多种中药及其单体对 MRSA 均具有良好的抑菌效果[6-10]。因此,寻找有效控制 MRSA 感染的药物势在必行。

大黄作为中国传统中药材,它在预防和控制细菌性感染疾病方面均发挥了积极作用。有研究表明,大黄具有较强的抗感染、抗衰老、抗氧化和增强免疫力等作用,它对多种革兰阳性和阴性菌均有一定的抑菌作用,其中最敏感的是葡萄球菌和链球菌,抗菌谱广[2]。大黄具备非特异性抗菌作用,并且能调节及提高机体免疫力,对细菌较难产生耐药作用。在初筛试验中,研究 5 种中药(大黄、黄连、五味子、连翘、黄芩)对金黄色葡萄球菌的抑菌作用表明,大黄对金黄色葡萄球菌的抑菌作用最好。因此,本研究将探讨大黄不同成分对金黄色葡萄球菌的抑菌作用,初步研究大黄不同成分对金黄色葡萄球菌抑菌的机制,为解决临床金葡萄球菌耐药提供新的依据,并为中药抑菌研究提供新的方向。

本研究选用了 5 种萃取溶剂(丙酮、无菌蒸馏水、乙腈、甲醇和乙醇),这 5 种溶剂常用于大部分中药进行萃取。通过高效液相色谱仪检测,筛选出大黄的 5 种溶剂萃取物中组分较多的溶剂。5 种溶剂中用无菌蒸馏水萃取的色谱图没有出现色谱峰,说明用无菌蒸馏水萃取效果较差。用丙酮和乙腈萃取的色谱图出现色谱峰不多,说明萃取效果也不是很好。而甲醇和乙醇萃取出较多的色谱峰,说明萃取出的物质较多,而且组分相似,由于甲醇有毒性作用,因此,选择乙醇作为溶剂对大黄进行萃取。本研究选用的大黄单体组分检测中大黄素-8-0-β-D-吡喃葡萄糖苷、大黄酚、芦荟大黄素、大黄素和大黄素甲醚都只出现单个色谱峰,说明溶解效果好,单体纯度较高。而大黄酸-8-0-β-D-葡萄糖苷和没食子酸的色谱图都没有出现色谱峰,可能是因为没有完全溶解,影响检测结果。大黄酸色谱图出现很相近的 2 个色谱峰,可能是同分异构体使用抑菌试验平板法筛选出对标准菌株金黄色葡萄球菌抑制效果较强的大黄单体,结果表明,芦荟大黄素、没食子酸、大黄酸和大黄素对标准菌株均有不同程度的抑菌作用。其中大黄素对标准菌株的抑菌效果最明显,抑菌圈直径最大,为 20 mm,MIC 为 0.025 mg/mL。并且抑菌圈的直径还与单体浓度呈正相关,浓度越高,抑菌圈直径越大,抑菌效果越好。

本研究通过抑菌试验平板法研究大黄对 3 株金黄色葡萄球菌作用强弱,结果显示,大黄对 MRSA 的抑菌作用较明显。收集临床分离的 80 株金黄色葡萄球菌,检测大黄对 80 株临床分离的金黄色葡萄球菌的 MIC,均表现出一定程度的体外抑菌作用,MIC 值范围为 16~128 mg/mL。本研究结果显示,芦荟大黄素、大黄素和大黄酸对金黄色葡萄球菌的抗菌效果较明显,而这 3 种大黄单体均为蒽醌类化合物,说明大黄的有效成分可能为蒽醌衍生物[11]。

本研究通过对标准菌株金黄色葡萄球菌生长曲线的检测说明大黄对金黄色葡萄球菌有抑菌作用,DNA、RNA 等大分子物质外渗浓度检测证实大黄抑菌作用机制是能够破坏金黄色葡萄球菌的细胞膜,导致菌体中 DNA、RNA 等大分子物质外渗,发挥抑菌作用。

周磊等[12]报道显示,大黄素可抑制金黄色葡萄球菌物质代谢中的关键酶(琥珀酸脱氢酶和苹果酸脱氢酶)的活性而发挥杀菌作用。曹峰[13]研究认为,大黄素抗 MRSA 效果明显,而且可破坏 MRSA 的细胞壁。刘明[14]研究认为,大黄素的抗菌机制与结合耐药蛋白、抑制 β-内酰胺酶活性、增加药物在菌体内积聚无关。细菌的细胞膜是大黄素的作用部位,通过破坏细胞膜的完整性间接影响细胞壁合成,达到抗菌效果。

中药抗菌具有较好的前景,它作用于抗菌的各个环节,可直接作用于微生物本身,如破坏细菌细胞壁和细胞膜的完整性改变细胞通透性、抑制菌体内酶的活性、影响细胞蛋白质核酸的合成、抑制细菌生物被膜的形成等机制。

本研究中大黄对金黄色葡萄球菌的抑菌作用明显,这为临床采用大黄治疗由金黄色葡萄球菌引发的感染提供了依据,作用机制是通过破坏细菌细胞壁及细胞膜的完整性,关于其他的作用机制还有待进一步研究,以便更好地为临床治疗提供理论依据,将有助于在金黄色葡萄球菌感染中尝试应用大黄进行治疗,从而解决金黄色葡萄球菌的耐药问题[15]。对传统中药进行抗菌药物的发掘,将有助于发挥传统中药在临床抗感染中的应用。本研究为大黄的抗菌作用进一步研究奠定了基础,在细菌感染性疾病的治疗中有重

要意义。

参考文献

[1] MISTRY R D. Skin and soft tissue infections[J]. Pediatr Clin North Am, 2013, 60(5): 1063-1082.

[2] 肖艳，杜智敏. 大黄中有效成分提取分离条件的优化[J]. 中国临床药理学与治疗学，2003，8(1)：98-100.

[3] 彭苑霞，刘晓强，温羚玲，等. 大黄等 5 味中药及单体成分对临床多重耐药菌的抑制作用[J]. 中国实验方剂学杂志，2014，20(22)：103-107.

[4] 陈剑锋. 抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的药物研究进展[J]. 海峡药学，2016，28(9)：4-5.

[5] 林云万，张旭，李晓宁，等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的分子分型及耐药性分析[J]. 现代医院，2017，17(6)：898.

[6] 王庆东，李丽娟，潘丽歆. 五味子等 5 种中药对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌抑制作用的观察[J]. 中国伤残医学，2014，22(16)：137-138.

[7] 李伟奇，刘湘新，李俊超，等. 10 种中药提取物对耐药金黄色葡萄球菌抑菌作用的研究[J]. 动物医学进展，2010，31(9)：41-46.

[8] CECH N B, JUNIO H A, ACKERMANN L W, et al. Quorum quenching and antimicrobial activity of goldenseal(hydrastis canadensis) against methicillin-resistant Staphylococcus aureus(MRSA)[J]. Planta Med, 2012, 78(14): 1556-1561.

[9] JANOVSKA D, KUBIKOVA K, KOKOSKA L. Screening for antimicrobial activity of some medicinal plants species of traditional Chinese medicine[J]. Czech J Food Sci, 2003, 21(3): 107-110.

[10] YANG Z C, WANG B C, YANG X S, et al. The synergistic activity of antibiotics combined with eight traditional Chinese medicines against two different strains of Staphylococcus aureus[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2005, 41(2/3): 79-81.

[11] 宋洁. 金黄色葡萄球菌致病的秘密武器[J]. 兽医导刊，2018，41(23)：33-34.

[12] 周磊，云宝仪，汪业菊，等. 大黄素对金黄色葡萄球菌的抑菌作用机制[J]. 中国生物化学与分子生物学报，2011，27(12)：1156-1160.

[13] 曹峰. 虎杖抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌活性物质的分离及生物学活性研究[D]. 重庆：第三军医大学，2015.

[14] 刘明. 大黄素对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的体内、外抗菌作用及机制研究[D]. 重庆：第三军医大学，2015.

[15] 华德兴，钱元恕，彭青. 绿茶对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抗菌作用及机制研究进展[J]. 中国新药与临床杂志，2008，27(9)：697.

（收稿日期：2021-03-18　修回日期：2021-05-28）

（上接第 1928 页）

[7] 张民乐. sdLDL 在冠心病发病中的作用及与冠状动脉狭窄程度的关系[J]. 国际检验医学杂志，2017，38(18)：2619-2622.

[8] 林瑞挺，蔡诗云，潘志琼，等. 早发冠心病患者血清补体 C3、C4 水平与 LDL-C 的相关性分析[J]. 中山大学学报(医学科学版)，2019，40(4)：554-559.

[9] 盛明江，蔡丹红. 老年冠心病患者血清 sd-LDL、UA、Hcy 和脂蛋白 a 的水平变化及意义[J]. 中国老年学杂志，2018，38(4)：806-808.

[10] 吴寿军，毛丽萍，陈雷阳，等. 小而密低密度脂蛋白胆固醇在诊断心血管疾病及相关性的探究[J]. 浙江临床医学，2019，21(6)：844-846.

[11] 李道麟，董平栓，赵江峰，等. 冠心病患者血清 Lp-PLA2、sdLDL-C 水平变化及临床意义[J]. 中国循证心血管医学杂志，2019，11(3)：316-319.

[12] 吴少南，张霜，王光磊. 血清小而密低密度脂蛋白胆固醇表达水平与冠心病的关系分析[J]. 中国病案，2019，20(2)：99-102.

[13] 丁修冬，薛凤凤，沙立娜，等. sdLDL、FABP 在冠心病诊断中的应用及 Gensini 评分的相关研究[J]. 标记免疫分析与临床，2018，25(9)：1281-1285.

[14] 沈月爽，赵鲁杭，杨家虎，等. 小而密低密度脂蛋白胆固醇与老年冠心病患者冠脉病变程度的相关性[J]. 中国老年学杂志，2020，40(18)：3817-3819.

[15] 柴晓芮，丛洪瀛，任明保. 小而密低密度脂蛋白胆固醇在冠心病患者中的变化及其与冠心病的关系[J]. 中华老年心脑血管病杂志，2018，20(6)：589-592.

[16] 魏红，于北凯，齐立中. 小而密低密度脂蛋白胆固醇联合同型半胱氨酸对冠心病患者颈动脉斑块、颈动脉内膜中层厚度的关系及诊断价值[J]. 中国临床医生杂志，2018，46(4)：405-407.

[17] 吴嘉，韦伟市，李卓玲，等. 血清小而密低密度脂蛋白胆固醇水平对冠心病患者心血管不良事件的预测价值[J]. 临床检验杂志，2020，38(2)：99-103.

[18] 王胜奎，周俊. 小而密低密度脂蛋白胆固醇在心脑血管系统相关疾病中的意义[J]. 检验医学，2019，34(1)：19-22.

[19] 王恺隽，李铁威，蔺亚晖，等. 小而密低密度脂蛋白胆固醇与冠状动脉粥样硬化特征的相关性分析[J]. 临床检验杂志，2017，35(9)：674-679.

（收稿日期：2020-10-16　修回日期：2021-04-22）