

藏药二十五味鬼臼丸对金黄色葡萄球菌的抑菌作用及机制研究

赵解南^{1, 2, 3}, 朱彦蓉^{2, 3}, 袁志兵^{2, 3, 4}, 张继稳^{1, 2*}, 谢和兵^{1, 2, 3*}

1. 江西中医药大学 药学院, 江西 南昌 330004

2. 南通市海门长三角药物高等研究院, 江苏 南通 226133

3. 江苏神猴医药研究有限公司, 江苏 南通 226133

4. 广西医科大学脊谷医学检验实验室, 广西 南宁 530000

摘要: 目的 研究藏药二十五味鬼臼丸对金黄色葡萄球菌的抑菌作用, 初步探讨相关抑菌机制。方法 采用琼脂平板打孔法, 测定二十五味鬼臼丸 (50、100、200 mg·mL⁻¹) 对金黄色葡萄球菌的抑菌圈大小。通过微量肉汤稀释法, 测定最小抑菌浓度 (MIC)。调整肉汤培养基中的二十五味鬼臼丸浓度为0.5MIC、1.0MIC和2.0MIC, 分别加入1.0×10⁸ CFU·mL⁻¹菌悬液, 以不含药液而含菌量相同的培养基作为对照组, 在37℃、120 r·min⁻¹恒温培养箱中振荡培养, 每小时取样, 用紫外可见分光光度计在600 nm处测定吸光度(A₆₀₀)值, 绘制细菌的生长曲线; 每2小时取样, 离心取上清液, 试剂盒法测定碱性磷酸酶(AKP)活性; 每小时取样, 离心取上清液, 用紫外可见分光光度计在260 nm处测定A₂₆₀值, 以A₂₆₀值表示DNA/RNA大分子相对量; 每小时取样, 离心取上清液, 加入考马斯亮蓝G250溶液, 于595 nm处测定A₅₉₅值, 检测胞外可溶性蛋白含量; 培养8 h后, 离心留沉淀, 进行SDS-PAGE电泳, 检测菌体蛋白含量。结果 二十五味鬼臼丸50、100、200 mg·mL⁻¹对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径分别为(12.33±0.75)、(16.33±0.41)、(19.17±0.68) mm; 对金黄色葡萄球菌的MIC为100 mg·mL⁻¹; 与对照组相比, 二十五味鬼臼丸组的金黄色葡萄球菌生长显著减缓 (P<0.05), 胞外的AKP活性显著升高 (P<0.05), 胞外DNA/RNA大分子相对量显著升高 (P<0.01), 胞外可溶性蛋白含量显著升高 (P<0.01), 菌体总蛋白表达量明显减少。结论 二十五味鬼臼丸对金黄色葡萄球菌具有抑菌作用, 其抗菌作用可能与致细菌细胞壁、细胞膜结构破损, 且对菌体蛋白具有一定抑制作用有关。

关键词: 二十五味鬼臼丸; 金黄色葡萄球菌; 最小抑菌浓度; 碱性磷酸酶; 可溶性蛋白

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2023) 01-0078-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.01.011

Study on antibacterial effects and mechanism of Tibetan medicine Ershiwuwei Guijiu Pills on *Staphylococcus aureus*

ZHAO Jienan^{1, 2, 3}, ZHU Yanrong^{2, 3}, YUAN Zhibing^{2, 3, 4}, ZHANG Jiwen^{1, 2}, XIE Hebing^{1, 2, 3}

1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. Yangtze Delta Drug Advanced Research Institute, Nantong 226133, China

3. Jiangsu Shenhou Pharmaceutical Research Co., Ltd., Nantong 226133, China

4. Rexplo Medical Laboratory of Guangxi Medical University, Nanning 530000, China

Abstract: Objective To study the antibacterial effects of the Tibetan medicine Ershiwuwei Guijiu Pills (EGP) on *Staphylococcus aureus* and preliminarily explore its related bacteriostatic mechanism. **Methods** The size of the antibacterial zone of EGP (50, 100, and 200 mg·mL⁻¹) against *Staphylococcus aureus* was determined by agar plate drilling method. The minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by micro broth dilution method. The concentration of EGP in broth medium was adjusted to 0.5 MIC, 1.0 MIC and 2.0 MIC, and 1.0 × 10⁸ CFU·mL⁻¹ bacterial suspension was added, respectively. The medium containing no pharmaceutical solution but the same amount of bacteria was used as the control group, which was oscillated and cultured in a

收稿日期: 2022-09-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81470247); 西藏自治区科技厅中央引导地方科技(XZ202202YD0020C)

第一作者: 赵解南(1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药理学。E-mail: jnzhao.hm@simm.ac.cn

*共同通信作者: 张继稳(1965—), 男, 博士生导师, 研究方向为药剂学。E-mail: jwzhang@simm.ac.cn

谢和兵(1982—), 男, 硕士生导师, 研究方向为高原医学、传统藏药的改良创新。E-mail: 76445044@qq.com

constant temperature incubator at 37 °C and 120 r·min⁻¹, with samples taken every 1 h. Uv-vis spectrophotometer was used to measure the absorbance (A_{600}) value at 600 nm to draw the growth curve of bacteria. Samples were taken every 2 h, the supernatant was centrifuged, and the activity of alkaline phosphatase (AKP) was determined by kit method. The supernatant was sampled every 1 h and centrifuged. The A_{260} value was determined by UV-VIS spectrophotometer at 260 nm. The A_{260} value was used to represent the relative quantity of DNA/RNA macromolecules. Samples were taken every 1 h, supernatant was centrifuged and added into Coomassie bright blue G250 solution. A_{595} value was determined at 595 nm to detect extracellular soluble protein content. After 8 h culture, centrifuge precipitation and SDS-PAGE electrophoresis were performed to detect the protein content of thalli. **Results** The diameters of the inhibition zone of EGP at concentrations of 50, 100 and 200 mg·mL⁻¹ against *Staphylococcus aureus* were (12.33 ± 0.75) mm, (16.33 ± 0.41) mm and (19.17 ± 0.68) mm, respectively. The MIC against *Staphylococcus aureus* was 100 mg·mL⁻¹. Compared with the control group, the growth of *S. aureus* was significantly slowed down ($P < 0.05$), the extracellular AKP activity was significantly increased ($P < 0.05$), the relative amount of extracellular DNA/RNA macromolecules was significantly increased ($P < 0.01$), and the extracellular soluble protein content was significantly increased ($P < 0.01$). The total protein expression of thallus decreased significantly. **Conclusion** The antibacterial effects of the EGP on *S. aureus* may be related to the damage of cell wall and cell membrane structure and the inhibition of bacterial protein.

Key words: Ershiwuwei Gujiu Pills; *Staphylococcus aureus*; minimum inhibitory concentration; alkaline phosphatase; soluble proteins

金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 是临床感染中最常见的致病菌之一,会引起皮肤脓肿、肺炎、心内膜炎、化脓性感染、败血症及菌血症等炎症疾病^[1]。金黄色葡萄球菌感染的首选疗法是抗生素治疗,临床常用广谱杀菌性抗生素头孢菌素类、青霉素类^[2]。头孢菌素类和青霉素类抗生素通过结合并抑制青霉素结合蛋白,导致细菌细胞壁内的交联停止,从而引起细菌死亡^[3]。但长期大量使用抗生素容易引起菌群失调,导致正常菌群的抑制,同时容易增加细菌的耐药性。因此,从中药中筛选抗菌药物进行细菌的非抗生素治疗,可以减少对抗生素的依赖和其使用量。

二十五味鬼臼丸始载于藏医药学家乌金丹增编著的《纪要美饰甘露药库》,是传统藏药方剂,由鬼臼、藏茜草、石榴子、藏紫草、肉桂、矮紫堇、巴夏嘎、榜嘎、藏木香、诃子、熊胆、喜马拉雅紫茉莉、余甘子、降香等25味药材组成,具有清热解毒、祛风镇痛、调经血的功效,临床用于治疗宫颈炎、盆腔炎、阴道炎、月经不调等^[4-6]。宫颈炎的常见致病菌主要为金黄色葡萄球菌、链球菌、大肠埃希菌等。已有研究表明^[7],二十五味鬼臼丸对金黄色葡萄球菌、耐药表皮葡萄球菌等革兰阳性菌有一定的抑制作用,但其抗菌机制尚未阐明。本研究测定二十五味鬼臼丸对金黄色葡萄球菌的抑菌作用,并初步探讨其抗菌机制,为本品的临床应用和二次开发提供实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

DL-ZD3 数字式浊度仪(珠海迪尔生物工程股

份有限公司); BBS-DDC 超净工作台(山东 BIOBASE); MSL.N 立式压力蒸汽灭菌器(威海威海盛); GHP-9080 隔水式电热恒温培养箱(上海一恒科学仪器有限公司); HF151 二氧化碳培养箱(上海力申科学仪器有限公司); 5418R 低温离心机(德国 Eppendorf); FilterMax F3 多功能酶标仪(美国 MD 公司); UV-1200 型紫外可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司); ZWYR-2102C 型恒温培养振荡器(上海智城分析仪器制造有限公司); T18 组织匀浆机(德国 IKA 公司); HWS-28 金属恒温水浴锅(上海齐欣科学仪器有限公司); Bio-Rad 电泳仪(美国 PowerPac Basic 公司)。

1.2 主要试剂

标准菌株金黄色葡萄球菌(ATCC25923, 广西医大睿谷医学检验实验室提供); 二十五味鬼臼丸(西藏神猴药业有限责任公司, 国药准字 Z540020035, 批号 20210101); 标准药敏纸片: 青霉素(每片 10 U, 杭州滨和微生物试剂有限公司, 货号 C001); MH 肉汤和彩虹 180 广谱蛋白 Marker(北京索莱宝科技有限公司, 货号 M8556、PR1910); MH 琼脂(广东环凯微生物科技有限公司, 货号 028050); 血琼脂平板(郑州安图生物工程股份有限公司, 批号 20220723A); 碱性磷酸酶(AKP)测定试剂盒(碧云天生物技术, 货号 P0321S); 考马斯亮蓝 G-250 和考马斯亮蓝染液试剂盒(武汉赛维尔生物科技有限公司, 货号 G2001-250、G2012-250)。

2 方法

2.1 样品的制备

2.1.1 药液制备 取二十五味鬼臼丸 7 丸, 用研钵

磨碎成粉末状。称取粉末6.0 g,置于烧杯中,加入50 mL蒸馏水,浸泡30 min,加热煮沸30 min,冷却后3 000 r·min⁻¹离心10 min,取上清液;并用少量蒸馏水冲洗沉渣2次,冲洗液3 000 r·min⁻¹离心5 min,取上清液。将3次上清液混合并浓缩至200 mg·mL⁻¹,用0.22 μm过滤器滤过药液,再用蒸馏水分别将药液稀释成200、100、50 mg·mL⁻¹,4℃保存备用。

2.1.2 菌株活化及菌液制备 用无菌接种环将冻存的金黄色葡萄球菌标准菌株接种于血琼脂平板上,37℃恒温CO₂培养箱中培养18~24 h。从活化的血琼脂平板上挑取单菌落接种于标准比浊稀释液中,用比浊仪反复校正到0.5麦氏单位,调节其含菌量为1.0×10⁸ CFU·mL⁻¹,用于后续实验。

2.2 抑菌活性研究

2.2.1 抑菌圈直径测定 在MH琼脂平板上打孔(直径6.5 mm),取0.1 mL新鲜菌落配制的菌液均匀涂布于整个MH平板表面,分别取配制好的50、100、200 mg·mL⁻¹的药液100 μL加到孔内。以青霉素药敏纸片作为阳性对照。37℃隔水式恒温培养箱培养18 h后,十字交叉法测量抑菌圈直径。重复3次,取平均值。

2.2.2 最小抑菌浓度(MIC)的测定 采用微量肉汤稀释法,取无菌96孔板,在A~C行的1号孔中加入质量浓度为200 mg·mL⁻¹的药液100 μL,分别在每行的2~7孔中依次加入MH肉汤100 μL,2号孔再加入200 mg·mL⁻¹的药液100 μL,混匀后吸取100 μL转移至3号孔中,并以此逐次二倍稀释至7号孔,使各孔含药质量浓度依次为200.00、100.00、50.00、25.00、12.50、6.25、3.12 mg·mL⁻¹,每个质量浓度做3个平行孔。1~7孔均加入10 μL的1.0×10⁸ CFU·mL⁻¹菌悬液。同时设置药物浓度为0的对照孔和不加药不加菌的空白对照孔。37℃隔水式恒温培养箱中培养18 h后,肉眼观察培养基澄清度判断抑菌效果:与对照孔相比,小孔内培养基清亮表示细菌生长受到了抑制,培养基浑浊表示有细菌生长^[8]。澄清小孔所对应的最低药物浓度为对该菌的MIC。

2.3 抑菌机制研究

2.3.1 抑菌曲线的测定 调整肉汤培养基中的药液浓度为0.5MIC、1.0MIC和2.0MIC,分别加入1.0×10⁸ CFU·mL⁻¹菌悬液,以不含药液而含菌量相同的培养基作为对照组。在37℃、120 r·min⁻¹恒温培养箱中振荡培养12 h,每小时取样,用紫外可见分光光度计在600 nm处测定吸光度(A_{600})值,以时间

为横坐标, A_{600} 值为纵坐标,绘制细菌的生长曲线。

2.3.2 AKP活性的测定 调整肉汤培养基中的药液浓度为1MIC、2MIC,分别加入1.0×10⁸ CFU·mL⁻¹菌悬液,以不加药而含菌量相同的培养基作为对照组。37℃、120 r·min⁻¹恒温培养箱中振荡培养8 h,每2小时取样,4 500 r·min⁻¹离心10 min,取上清液,按试剂盒说明用酶标仪测定AKP活性。

2.3.3 DNA/RNA大分子含量测定 分组给药及细菌培养方式同“2.3.2”项,37℃、120 r·min⁻¹恒温培养箱中振荡培养8 h,每小时取样,4 500 r·min⁻¹离心10 min,取上清液,用紫外可见分光光度计在260 nm处测定 A_{260} 值,以 A_{260} 值表示DNA/RNA大分子相对量。

2.3.4 胞外可溶性蛋白的测定 分组给药及细菌培养方式同“2.3.2”项,37℃、120 r·min⁻¹恒温培养箱中振荡培养8 h,每小时取样,4 500 r·min⁻¹离心10 min,取上清液加入考马斯亮蓝G250溶液,室温静置5 min,于595 nm处测定 A_{595} 值,根据建立的标准曲线计算样品中的蛋白浓度。

2.3.5 SDS-PAGE蛋白电泳图谱 分组给药及细菌培养方式同“2.3.2”项,37℃、120 r·min⁻¹恒温培养箱中振荡培养8 h,12 000 r·min⁻¹离心10 min,弃上清,留沉淀,用PBS缓冲液洗涤1次,加入裂解液,匀浆机匀浆充分后于冰上裂解,12 000 r·min⁻¹离心10 min,吸取上清,加入5×蛋白上样缓冲液混匀,沸水浴加热10 min,用10%分离胶、5%浓缩胶进行SDS-PAGE电泳。经考马斯亮蓝染色30 min,脱色液脱色2 h,脱色后拍照。

2.4 统计学方法

采用SPSS 25.0软件进行统计学处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计方法采用单因素方差分析。

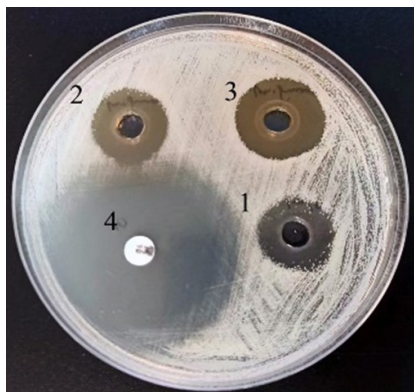
3 结果

3.1 二十五味鬼臼丸抑菌作用

二十五味鬼臼丸在3个质量浓度水平对金黄色葡萄球菌均有一定的抑菌作用,且抑菌圈直径与药物质量浓度呈正相关。结果见图1和表1。

3.2 MIC测定结果

培养18 h后在黑色背景下肉眼观察细菌生长情况(图2),药物浓度为0的对照孔显示浑浊,空白对照孔显示清亮。与对照孔相比,当药物质量浓度 ≥ 100 mg·mL⁻¹时,孔内溶液澄清,表明当质量浓度 ≥ 100 mg·mL⁻¹时细菌生长受到了抑制,所对应的最低质量浓度100 mg·mL⁻¹为二十五味鬼臼丸对金黄色葡萄球菌的MIC值。



1、2、3-二十五味鬼臼丸 50、100、200 mg·mL⁻¹; 4-青霉素药敏纸片
1, 2, 3-EGP 50, 100, 200 mg·mL⁻¹; 4-penicillin drug sensitive paper

图1 二十五味鬼臼丸对金黄色葡萄球菌的抑菌圈测定
Fig. 1 Antibacterial zone results of EGP against *Staphylococcus aureus*

表1 二十五味鬼臼丸对金黄色葡萄球菌的抑菌作用 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 1 Antibacterial effect of EGP on *S. aureus* ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

药物	质量浓度/(mg·mL ⁻¹)	抑菌圈直径/mm
二十五味鬼臼丸	50	12.33±0.75
	100	16.33±0.41
	200	19.17±0.68
青霉素	10 U·片 ⁻¹	40.33±0.82



图2 二十五味鬼臼丸对金黄色葡萄球菌的 MIC

Fig. 2 MIC of EGP against *S. aureus*

3.3 抗菌作用机制

3.3.1 对金黄色葡萄球菌生长曲线的影响 与对照组相比,作用 3 h 后,二十五味鬼臼丸组的金黄色葡萄球菌生长显著减缓 ($P < 0.05$),且随药液质量浓度的升高,对细菌生长曲线的影响越大。在 12 h 内,对照组的菌体数量一直处于增加的趋势,当药液质量浓度为 100、200 mg·mL⁻¹ 时,菌体对数生长期明显缩短。说明二十五味鬼臼丸对金黄色葡萄球菌的正常生长具有一定的抑制作用,且与药物质量浓度和作用时间呈正相关(图 3)。

3.3.2 AKP 活性测定 AKP 存在于细菌细胞壁和细胞膜之间,正常情况下不会通过细胞壁外流,只有在细菌的细胞壁破损时,胞壁的通透性增大,才

会流出到培养液中。作用 2 h 后,二十五味鬼臼丸组胞外的 AKP 活性显著高于对照组 ($P < 0.05$), 200 mg·mL⁻¹ 组胞外的 AKP 活性高于 100 mg·mL⁻¹ 组(图 4)。结果说明二十五味鬼臼丸可以改变细菌细胞壁的通透性,且和药物的用量呈正相关。

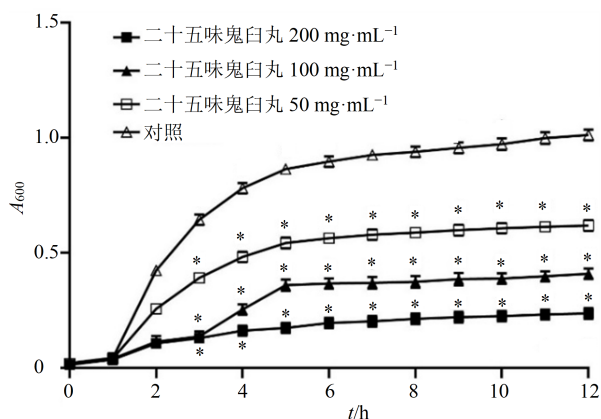


图3 二十五味鬼臼丸对金黄色葡萄球菌生长曲线的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 3 Effects of EGP on growth curves of *Staphylococcus aureus* ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

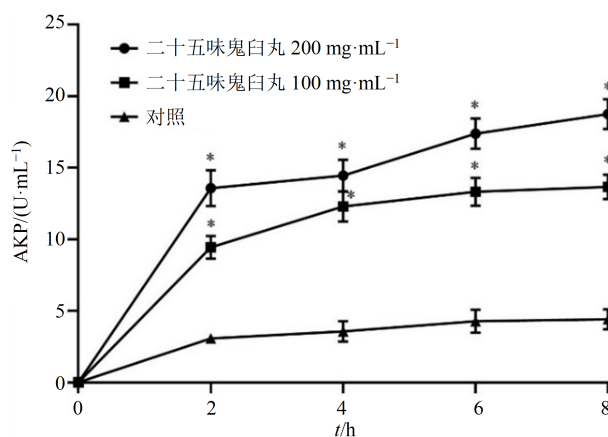


图4 二十五味鬼臼丸对金黄色葡萄球菌 AKP 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 4 Effect of EGP on AKP activity of *Staphylococcus aureus* ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3.3.3 DNA/RNA 大分子含量测定 正常状态下 DNA、RNA 等大分子物质不能透过细胞膜,当细胞膜完整性受到破坏时,细胞膜的通透性发生改变,才能穿过细胞膜泄漏到培养液中,导致 A_{260} 显著增加。如图 5 所示,二十五味鬼臼丸组胞外核酸相对量均显著高于对照组 ($P < 0.01$), A_{260} 在 0~2 h 内呈快速增长趋势,在 2 h 后总体呈平稳状态。说明二

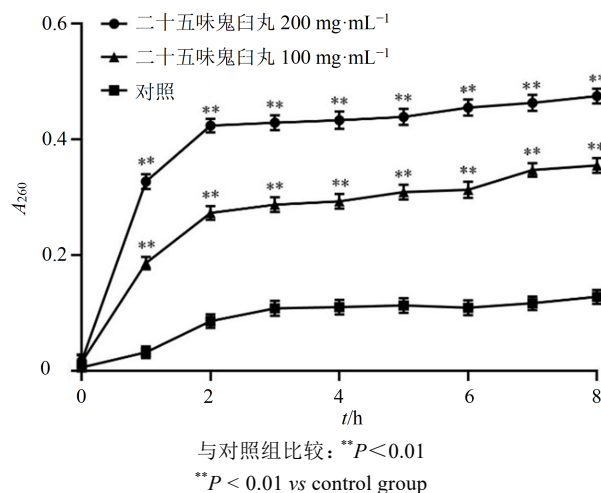


图5 二十五味鬼臼丸对胞外核酸相对含量的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 5 Effect of EGP on relative contents of extracellular nucleic acids ($\bar{x} \pm s, n=3$)

十五味鬼臼丸可以影响细菌细胞膜的通透性,造成DNA/RNA大分子物质穿过细胞膜泄漏到胞外。

3.3.4 对金黄色葡萄球菌胞外可溶性蛋白的影响
二十五味鬼臼丸组的胞外可溶性蛋白含量均显著高于对照组($P < 0.01$)。当菌液中药液质量浓度为200 mg·mL⁻¹时,胞外蛋白含量在0~3 h内呈快速增长趋势,在3 h后总体呈平稳状态(图6)。结果说明二十五味鬼臼丸在一定质量浓度下可以破坏细菌细胞膜,改变细胞膜的通透性,使菌体胞内的蛋白质通过细胞膜泄漏到胞外。

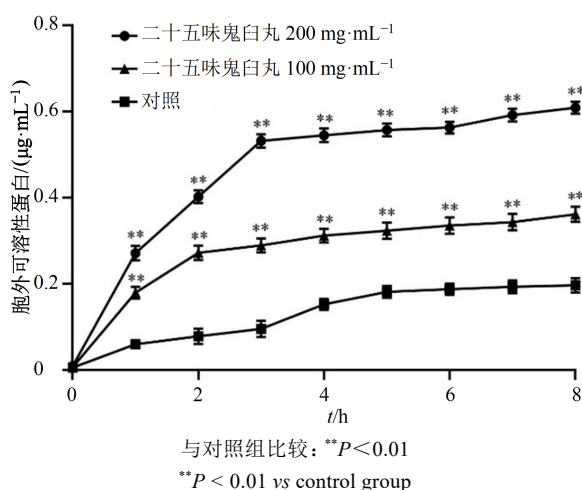


图6 二十五味鬼臼丸对胞外可溶性蛋白含量的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 6 Effect of EGP on content of extracellular soluble proteins ($\bar{x} \pm s, n=3$)

3.3.5 SDS-PAGE 蛋白电泳图谱 与对照组相比,二十五味鬼臼丸组菌体总蛋白表达量均减少,200 mg·mL⁻¹组较明显(图7)。结果说明二十五味鬼臼丸对金黄色葡萄球菌菌体蛋白具有一定的抑制作用,可能是

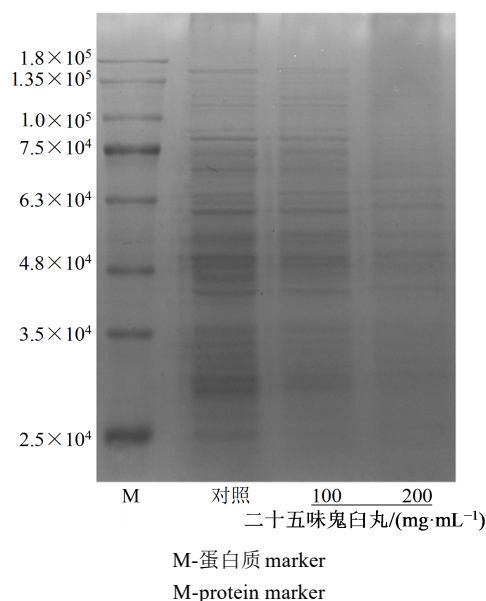


图7 二十五味鬼臼丸作用后金黄色葡萄球菌总蛋白 SDS-PAGE 电泳图
Fig. 7 Effect of EGP on SDS-PAGE electrophoresis of total protein

破坏了部分蛋白结构或抑制其蛋白合成。

4 讨论

由于中药的成分复杂,尤其是复方制剂,其抗菌机制也具有多样性。中药抗菌机制方面的研究主要包括直接破坏细菌细胞壁和细胞膜的完整性,抑制菌体内酶的活性,抑制菌体核酸和蛋白合成,降低细菌毒素合成,干扰细菌生物膜形成,逆转细菌耐药机制等方面^[9-13]。二十五味鬼臼丸具有清热解毒、祛风镇痛的功效,现代中药药理研究结果表明,清热解毒类药物具有消肿止痛、抗菌、抗炎等作用^[14-16]。已有研究证实,二十五味鬼臼丸中的藏紫草^[17]、肉桂^[18]、诃子^[19]、降香^[20]、巴夏嘎^[21]、余甘子^[22]、藏木香^[23]、沉香^[24]等药材的化学成分对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、绿脓杆菌等常见致病菌均有抑制作用。

本实验研究藏药二十五味鬼臼丸对金黄色葡萄球菌的抑菌作用及抗菌机制,从二十五味鬼臼丸的抑菌活性、细胞壁的完整性、细胞膜的通透性等方面进行了研究,实验结果表明二十五味鬼臼丸对金黄色葡萄球菌具有抑菌活性,对金黄色葡萄球菌的生长具有一定的抑制作用,可能通过破坏细菌的细胞壁和细胞膜结构,增加细胞膜的通透性,使得菌体内的 AKP、核酸大分子物质、可溶性蛋白穿过细胞膜泄露到胞外,影响细胞核酸、蛋白质的合成,从而影响细菌的生长,达到抑菌的效果。本研究通过对二十五味鬼臼丸的体外抑菌活性和抗菌机制进行探究,为进一步应用该药物提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 唐丽, 靳英丽. 金黄色葡萄球菌预防及治疗研究进展 [J]. 微生物学免疫学进展, 2022, 50(5): 66-71.
Tang L, Jin Y L. New advances in prevention and treatment of *Staphylococcus aureus* infection [J]. Prog Microbiol Immunol, 2022, 50(5): 66-71.
- [2] Sun D S, Kissler S M, Kanjilal S, et al. Analysis of multiple bacterial species and antibiotic classes reveals large variation in the association between seasonal antibiotic use and resistance [J]. PLoS Biol, 2022, 20(3): e3001579.
- [3] Hasan C M, Dutta D, Nguyen A N T. Revisiting antibiotic resistance: Mechanistic foundations to evolutionary outlook [J]. Antibiotics (Basel), 2021, 11(1): 40.
- [4] 王宁宁, 赵宇, 张丁丹, 等. 二十五味鬼白丸联合重组人干扰素 $\alpha 2a$ 栓治疗慢性宫颈炎的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2021, 36(6): 1277-1280.
Wang N N, Zhao Y, Zhang D D, et al. Clinical study on Ershiwuwei Guijiu Pills combined with Recombinant Human Interferon $\alpha 2a$ Vaginal Suppository in treatment of chronic cervicitis [J]. Drugs Clin, 2021, 36(6): 1277-1280.
- [5] 宽太吉. 藏药二十五味鬼白丸治疗妇科疾病的疗效 [J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2020, 8(14): 171.
Kuan T J. Therapeutic effect of Tibetan medicine Ershiwuwei Guijiu Pill on gynecological diseases [J]. Cardiovasc Dis Electron J Integr Tradit Chin West Med, 2020, 8(14): 171.
- [6] 李淑桢, 王琦, 李沁园, 等. 基于下丘脑-垂体-卵巢轴探讨藏药二十五味鬼白丸对绝经后骨质疏松症大鼠的干预作用 [J]. 中草药, 2021, 52(20): 6282-6290.
Li S Z, Wang Q, Li Q Y, et al. Study on intervention effect of Tibetan medicine Ershiwuwei Guijiu Pill on PMOP rats based on HPOA [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(20): 6282-6290.
- [7] 贡田, 李红玉, 张春江, 等. 二十五味鬼白丸体外的抑菌作用 [J]. 华西药学杂志, 2007, (2): 140-142.
Yun T, Li H Y, Zhang C J, et al. Antibacterial activity of Tibetan Compound Ershiwuwei Guijiu pills *in vitro* [J]. West China J Pharm Sci, 2007, 22(2): 140-142.
- [8] 李妍, 松长青, 周本宏. 安石榴苷的抗菌活性筛选及对金黄色葡萄球菌的作用机制研究 [J]. 中国药师, 2020, 23(8): 1492-1497.
Li Y, Song C Q, Zhou B H. Screening of antibacterial activity of punicalagin and its mechanism of action against *Staphylococcus aureus* [J]. China Pharm, 2020, 23(8): 1492-1497.
- [9] Yuan G J, Guan Y Y, Yi H Q, et al. Antibacterial activity and mechanism of plant flavonoids to Gram-positive bacteria predicted from their lipophilicities [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 10471.
- [10] Yuan Z W, Ouyang P, Gu K X, et al. The antibacterial mechanism of oridonin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) [J]. Pharm Biol, 2019, 57(1): 710-716.
- [11] Han Y J, Sun Z C, Chen W X. Antimicrobial susceptibility and antibacterial mechanism of limonene against *Listeria monocytogenes* [J]. Molecules, 2019, 25(1): 33.
- [12] Yin L Z. Study the antibacterial mechanism of cinnamaldehyde against drug-resistant *Aeromonas hydrophila in vitro* [J]. Microb Pathog, 2020, 145: 104208.
- [13] 杨慧, 刘晓凤, 刘钱, 等. Q-marker思路下的黄连花茎抗菌作用及机制研究 [J]. 中国抗生素杂志, 2022, 47(6): 550-555.
Yang H, Liu X F, Liu Q, et al. Research on antibacterial effect and mechanism of *Coptis* flower based on Q-marker thinking [J]. Chin J Antibiot, 2022, 47(6): 550-555.
- [14] 贺平, 朱晓莉, 达瓦次仁, 等. 藏药六味丁香丸对金黄色葡萄球菌的抑菌作用及机制探讨 [J]. 南京中医药大学学报, 2017, 33(4): 408-411.
He P, Zhu X L, DAWA T R, et al. Mechanism and antibacterial activity of Tibet medicine Liuweidingxiang Pills against *Staphylococcus aureus* [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2017, 33(4): 408-411.
- [15] 汪晓辉, 郭溶, 聂晓彬, 等. 佛手抗菌活性及其药效成分橙皮苷对金黄色葡萄球菌的作用机制研究 [J]. 中国抗生素杂志, 2021, 46(5): 437-441.
Wang X H, Guo R, Nie X B, et al. Antibacterial activity of *Citri Sarcodactylis Fructus* and its antibacterial mechanism against *Staphylococcus aureus* [J]. Chin J Antibiot, 2021, 46(5): 437-441.
- [16] 王鹤龄, 谭珍媛, 冯钟文, 等. 桂千金子提取物对金黄色葡萄球菌体外抗菌作用及机制的初步研究 [J]. 广西医科大学学报, 2021, 38(12): 2252-2258.
Wang H L, Tan Z Y, Feng Z W, et al. Study on *in vitro* antibacterial activity and mechanism of extracts of *Polygonum runcinatum* Buch. -Ham. against *Staphylococcus aureus* [J]. J Guangxi Med Univ, 2021, 38(12): 2252-2258.
- [17] 阿呷尔布, 梁晓霞, 杜宝中, 等. 2种藏紫草体外抗氧化及抗菌活性比较 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(11): 1314-1318.
AGa E B, Liang X X, Du B Z, et al. Comparison on the antioxidant activity and antibacterial activity of two

- origins of *Radix Onosmatis* [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2021, 38(11): 1314-1318.
- [18] 侯小涛, 郝二伟, 秦健峰, 等. 肉桂的化学成分、药理作用及质量标志物(Q-marker)的预测分析 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 20-34.
- Hou X T, Hao E W, Qin J F, et al. Chemical components and pharmacological action for *Cinnamomum cassia* and predictive analysis on Q-marker [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2018, 49(1): 20-34.
- [19] 赵鹿, 廖翠萍, 杨秀娟, 等. 诃子的研究进展及质量标志物的预测 [J]. 中草药, 2020, 51(10): 2732-2744.
- Zhao L, Liao C P, Yang X J, et al. Research progress in *Terminalia chebula* and its predictive analysis on Q-marker [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(10): 2732-2744.
- [20] 何欣, 杨云, 赵祥升, 等. 降香化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国现代中药, 2022, 24(6): 1149-1166.
- He X, Yang Y, Zhao X S, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Dalbergia odorifera* [J]. Mod Chin Med, 2022, 24(6): 1149-1166.
- [21] 陈静, 格桑顿珠. 藏药巴夏嘎化学成分及其在藏药方中应用的研究进展 [J]. 中医药导报, 2017, 23(10): 46-47.
- Chen J, GESang D Z. Study on chemical constituents and prescription of Tibetan medicine *Veronica eriogyne* H. winkl [J]. Guid J Tradit Chin Med Pharm, 2017, 23(10): 46-47.
- [22] 陈静梅, 郝二伟, 杜正彩, 等. 基于化学成分、药理作用和网络药理学的余甘子质量标志物(Q-Marker)预测分析 [J]. 中草药, 2022, 53(5): 1570-1586.
- Chen J M, Hao E W, Du Z C, et al. Predictive analysis on quality marker of *Phyllanthus emblica* based on chemical composition, pharmacological effects and network pharmacology [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(5): 1570-1586.
- [23] 田其健, 包旭宏, 许宗仁, 等. 藏木香化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国民族医药杂志, 2021, 27(7): 45-49.
- Tian Q J, Bao X H, Xu Z R, et al. Chemical composition and pharmacologic action of Tibetan medicine *Inula racemosa* Hook.f [J]. J Med Pharm Chin Minor, 2021, 27(7): 45-49.
- [24] 彭德乾, 王灿红, 刘洋洋, 等. 沉香的化学成分及其药理活性的研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(3): 358-365.
- Peng D Q, Wang C H, Liu Y Y, et al. Research progress on the chemical constituents of *Aquilariae Lignum Resinatum* and their pharmacological activities [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2021, 38(3): 358-365.

[责任编辑 兰新新]