

中药成分联合抗生素抗 MRSA 作用的研究进展

韩宗其^{1,2}, 左国营^{1*}, 郝小燕²

1. 解放军昆明总医院 天然药物研究中心, 云南 昆明 650032

2. 贵阳医学院药学院, 贵州 贵阳 550004

摘要: 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 是引起医院内和社区感染的重要病原菌, 具有多重耐药性, 因此, 需要不断寻求新型抗菌药物及抗菌方法。通过将活性微弱的中药成分联合抗生素协同使用成为新的抗菌治疗措施。现就其联合作用方法、联合抗菌效果及作用机制研究进展进行综述, 以期今后联合抗菌研究提供参考。

关键词: 中药成分; 抗生素; 联合用药; 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 最小抑菌浓度

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2012)01-0187-09

Advances in studies on anti-MRSA effects of Chinese materia medica compounds combined with antibiotics

HAN Zong-qi^{1,2}, ZUO Guo-ying¹, HAO Xiao-yan²

1. Center for Natural Medicines, Kunming General Hospital of PLA, Kunming 650032, China

2. College of Pharmacy, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China

Key words: Chinese materia medica compounds; antibiotics; combined medication; methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA); minimum inhibitory concentration (MIC)

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 是引起医院内和社区感染的重要病原菌, 于 1961 年首先在英国发现^[1], 随后 MRSA 在全世界范围内广泛传播。MRSA 具有多重耐药性, 对 β -内酰胺类等几乎所有临床常用抗生素表现出耐药性。万古霉素曾一度被认为是治疗 MRSA 感染的首选抗生素, 但 1997 年日本首次报道分离出了中介度耐万古霉素的金黄色葡萄球菌 (intermediate Vancomycin-resistant *S. aureus*, VISA)^[2], 美国相继报道了 3 例耐万古霉素的金黄色葡萄球菌 (Vancomycin-resistant *S. aureus*, VRSA), 更是引起了医学界的广泛关注^[3-5]。因此, 寻求新型抗 MRSA 药物及治疗方法已成为药学工作者面临的一项重要任务。

当前, 包括中药在内的植物活性成分药理作用研究备受国内外重视。已有研究表明, 多种中药具有抗 MRSA 作用^[6-7]。中药成分和药效的特殊性, 细菌很少对其产生耐药性。但是, 中药成分的抗菌活性一般较弱, 限制了其临床应用。因此, 通过将

活性微弱的中药成分联合抗生素使用, 探索其对常用抗生素的增效作用, 有望成为耐药菌感染新的治疗措施。本文综述近 10 年来中药成分与抗生素联合抗 MRSA 作用的研究进展, 以供相关研究参考。

1 中药成分与抗生素联合抗菌研究的实验方法

1.1 微量棋盘稀释法 (checkerboard microdilution assay)

该方法是联用的 2 种药物以二维棋盘纵横 2 个方向分别进行 2 倍的倍比稀释。药物相互作用效应通过计算最小部分抑菌浓度指数 (fractional inhibitory concentration indices, FICI) 来判断。FICI = FIC_A + FIC_B = A 药联合用时的 MIC_{A(联合)} / A 药单用时的 MIC_{A(单用)} + B 药联合用时的 MIC_{B(联合)} / B 药单用时的 MIC_{B(单用)}; FICI ≤ 0.5 为协同效应, 0.5 < FICI ≤ 1 为相加效应, 1 < FICI ≤ 2 为无关作用, FICI > 2 为拮抗效应^[8]。

1.2 时间杀菌曲线 (time-killing curves)

在含有定量抗菌药物 (A、B、A+B) 试管和

收稿日期: 2011-04-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (NSFC 81073126); 云南省后备人才基金资助项目 (2008PY001)

作者简介: 韩宗其 (1985—), 女, 汉族, 河北省石家庄市人, 在读硕士, 主要从事天然产物抗菌活性研究工作。

Tel: 15130075466 E-mail: hanzongqi@126.com

*通讯作者 左国营 Tel: (0871)4774941 Fax: (0871)5414186 E-mail: zuoguoying@263.net

无药试管内接种同种定量菌悬液, 接种后孵育不同时间, 取定量的各管内的孵育液转种平板, 进行菌落计数。联合用药组菌落计数较最有效的单药组减少 $\geq 2\log_{10}$ CFU/mL 时为协同作用, 减少或增加 $\leq 1\log_{10}$ CFU/mL 时为无关作用, 联合后增加 $\geq 2\log_{10}$ CFU/mL 时定义为拮抗作用^[9]。

1.3 E-test 法

利用琼脂扩散法的原理, 将含有浓度递减抗菌药物的塑料带垂直交叉置于琼脂平板上, 交叉点为药物各自的 MIC 值, 培养后在塑料带周围形成一椭圆形抑菌圈, 其边缘与塑料带交叉处的药物浓度标记即为联合后该药对细菌的 MIC, 通过

计算 FIC 指数 (同微量棋盘稀释法) 判断药物之间的相互作用^[10]。

1.4 多药组合杀菌试验 (multiple combination bactericidal test)

通过测定药物的血药峰浓度值确定其用药浓度。将一种或多种药物加入微孔板的同一孔中, 并加入定量菌悬液, 孵育一定时间后, 于无混浊孔取样 10 μ L 转接种至琼脂平板上继续培养 24 h, 检测杀菌率^[11]。

1.5 方法比较

目前, 对于药物协同作用的判断, 尚没有统一的标准^[12]。以上 4 种方法的优缺点比较^[10,13]见表 1。

表 1 4 种方法优缺点的比较

Table 1 Comparison with merits and demerits of four methods

方法	优点	缺点
微量棋盘稀释法 (较常用)	操作简单, 结果较直观	尚未经临床试验验证, 结果为抑菌浓度非杀菌浓度
时间杀菌曲线 (较常用)	美国临床实验室标准化协会 (CLSI) 所认可; 提供联合用药的药物动力学数据	易受接种量影响; 较少浓度梯度测定导致结果判定困难; 过于依赖某一时间点所呈现的结果; 耗费时间较长, 操作也比较繁琐
E-test 法	操作简单, 结果较直观	为市售制品, 对于非市售抗生素类的中药成分不适用
多药组合杀菌试验	可同时测定多种药物联合作用效果; 可用于体内试验	通过测定血药峰浓度得到的浓度不一定真实地反映其体内浓度

4 种方法测定结果并不是完全一致的。Grzybowska 等^[14]同时应用棋盘法和 E-test 法检测氨基糖苷类与其他抗生素的协同作用时发现, 2 种方法结果的一致率为 55%。White 等^[10]用时间杀菌曲线、棋盘法和 E-test 3 种方法检测头孢他啶、头孢吡肟等多种抗生素对不同菌株的联合协同作用, 棋盘法、E-test 法与时间杀菌曲线法结果的一致率分别为 44%~88% 和 63%~75%。

2 各类抗生素与中药成分的联合抗 MRSA 作用

2.1 β -内酰胺类抗生素 (β -lactam antibiotics) 与中药成分的联合作用

β -内酰胺类抗生素是指化学结构中含有 β -内酰胺环的一类抗生素, 包括青霉素及其衍生物、头孢菌素类、单酰胺环类、碳青霉烯和青霉烯类酶抑制剂等。此类抗生素作用机制主要是作用于青霉素结合蛋白 (PBPs), 抑制细菌细胞壁的合成, 菌体失去渗透屏障而膨胀、裂解, 同时借助细菌的自溶酶溶解而产生抗菌作用^[15]。所有金黄色葡萄球菌都产生 4 种 PBPs (PBP1~PBP4), 只有 MRSA 表达由

mecA 基因编码的 PBP2a, 其特性是对 β -内酰胺类抗生素亲和力很低。当其他 PBPs 被 β -内酰胺类抗生素抑制时, PBP2a 取代其他 PBPs 的生物合成功能, 使细菌得以生存^[16]。

中药成分与 β -内酰胺类抗生素联合抗 MRSA 作用研究较多, 按照化合物不同结构类型进行分析。**2.1.1 与酚类成分的联合作用** 全球每天有上亿人饮茶, 茶叶中的天然酯型儿茶素类成分一直以来都是国内外研究的热点。儿茶素类在茶多酚中的量在 65%~80%。文献报道^[17-19]儿茶素单体表没食子儿茶素没食子酸酯 (*epi-gallocatechin-3-gallate*, EGCG, **1**) 和表儿茶素没食子酸酯 (*epi-catechin-3-gallate*, ECG, **2**) 与 β -内酰胺类抗生素对 MRSA 有协同抗菌作用。

Hu 等^[17]研究 EGCG 与氨苄西林/舒巴坦联合抗 MRSA 作用, 发现 EGCG 在 25 mg/L (其单用对 MRSA 的 MIC 为 100 mg/L) 时, 氨苄西林/舒巴坦的 MIC₉₀ 由 32 mg/L 降低至 4 mg/L, 达到其敏感点。同时发现对于无论是否产生 β -内酰胺的菌株, 协同

效果都几乎相同。Hu 等^[18]还研究 EGCG 在 1/4 MIC 浓度时与多种 β -内酰胺类抗生素联合抗 MRSA 效果,包括青霉素类(青霉素 G、氨苄西林等)、头孢菌素类(头孢氨苄、头孢美唑等)和碳青霉烯类(亚胺培南、帕尼培南和美罗培南),发现 EGCG 与碳青霉烯类协同作用最强。Zhao 等^[20]为了阐明 EGCG 与 β -内酰胺类抗生素协同抗 MRSA 作用机制是否与 PBP2a 有关,采用 RT-PCR 技术检测经 EGCG 处理的 MRSA 菌株,结果 EGCG 在 25 mg/L 时未抑制 PBP2a mRNA 表达;乳胶凝集反应中,经 EGCG 处理的菌株在凝集强度和凝集时间与未经处理的菌株没有任何差别,说明协同机制与 PBP2a 的产生无直接关系。将金黄色葡萄球菌的肽聚糖与 EGCG 和苯唑西林混合培养,发现联用时对 MRSA-74 的 MIC 由 32 mg/L 又逆转为 256~512 mg/L,而作为参照的脂多糖却无此影响,可见 EGCG 是与肽聚糖直接结合的。通过结合诱导破坏细菌细胞壁,干扰其生物合成,可能是 EGCG 协同作用的主要机制。

华德兴等^[21]发现 ECG 与 β -内酰胺类抗生素的协同抗 MRSA 效果比 EGCG 明显;以 RT-PCR 技术检测 ECG 和 EGCG 对自溶酶基因 *lytM* 和 *lgrA* 表达的影响,结果随着 ECG 和 EGCG 浓度的增高,2 种自溶酶基因表达上调,以蛋白免疫印迹法测定 EGCG 对 PBP2a 表达的影响,结果 EGCG 质量浓度加大到 100 mg/L 时,PBP2a 表达基本消失,据此推测 ECG 或 EGCG 联合 β -内酰胺类抗生素对 MRSA 的协同作用是由于二者在抑制 PBP2a 的表达下调的同时使自溶酶基因 *lytM* 和 *lgrA* 的表达上调,导致自溶酶分泌增多,从而协同 β -内酰胺类抗生素抑制细菌细胞壁合成。

Shimizu 等^[22]从熊果叶中分离得到鞣料云实精 (corilagin, 3), 并发现此化合物能够显著降低苯唑西林、头孢美唑等各种 β -内酰胺类抗生素对 MRSA 的 MIC, 但对于不表达 PBP2a 的 MRSA 未见协同抑制作用,提示鞣料云实精可能作用于 PBP2a, 而非其他 PBPs。此化合物与其他类型抗生素联用未见协同作用。Tellimagrandin I (4) 与鞣料云实精结构类似,由 Shiota 等^[23]从玫瑰花中提取分离得到,发现 tellimagrandin I 能够将苯唑西林抗 MRSA 的 MIC 从 128~512 mg/L 降低至 1~2 mg/L, 对其他 β -内酰胺类抗生素亦有协同抗 MRSA 作用。Shiota 等^[24]使用荧光标记青霉素 G 检测 PBP2a, 发现培养基中含有鞣料云实精或 tellimagrandin I 时, PBP2a 几乎

完全失去了与青霉素 G 的结合能力, PBP2 和 PBP3 的结合能力也在某种程度上有所降低,说明使 PBPs 尤其是 PBP2a 灭活,是这两种化合物降低 β -内酰胺类抗生素耐药性的主要原因。Tellimagrandin I 与 EGCG 都属于多酚类化合物,因此进行构效关系研究应该成为探寻新的抗菌药物的一个重要发展方向。

2.1.2 与黄酮类成分的联合作用 文献报道黄芩中的黄酮类化合物黄芩苷 (baicalin, 5)、黄芩素 (baicalein, 6)、汉黄芩素 (wogonin)、汉黄芩苷 (wogonoside)、黄芩新素 I (skullca pflavone I)、黄芩新素 II (skullca pflavone II) 等具有抗菌活性。黄芩苷、黄芩素联合 β -内酰胺类抗生素对 MRSA 具有显著协同抗菌作用^[25-28]。陈勇川等^[25]发现在黄芩苷的干预下,苯唑西林对 26 株 MRSA 的 MIC 整体下降了 2~4 个倍比稀释度,黄芩素使苯唑西林的 MIC 下降了 3~5 个倍比稀释度,均呈浓度依赖性,提示二者具有恢复 β -内酰胺类抗生素对 MRSA 敏感性的可能。PBP2a 乳胶凝集试验显示,加入黄芩苷、黄芩素后, PBP2a 乳胶凝集的量随所加药物量的增加而呈减少的趋势,表明黄芩苷和黄芩素均有抑制 MRSA 的 PBP2a 表达的效力,提示黄芩苷、黄芩素可能通过抑制 *mecA* 基因的表达逆转 MRSA 的耐药性。但 Fujita 等^[26]研究发现黄芩素对 PBP2a 没有较强的抑制作用,因此黄芩苷、黄芩素作为多重耐药细菌逆转剂的机制尚需进一步研究。

6, 7-二羟基黄酮 (6, 7-dihydroxyflavone, 7) 与黄芩素有极其类似的结构,分离自半枝莲,可明显降低苯唑西林、甲氧西林、帕尼培南等 β -内酰胺类抗生素对 MRSA 的 MIC, 也可增强链霉素对 MRSA 的敏感性,但效果不及对 β -内酰胺类抗生素强。经蛋白免疫印迹法检测,6, 7-二羟基黄酮对 PBP2a 表达没有影响。其协同抗菌机制尚需进一步研究^[29]。从苦参根中得到的 sophoraflavanone G (8) 与氨苄西林、苯唑西林联合对抗 MRSA 时亦表现出明显的协同作用^[30]。Lee 等^[31]首次报道了卷柏科植物成分异柳杉素 (isocryptomerin) 的抗菌活性及与头孢噻肟联用时对 MRSA 的协同抗菌作用。

2.1.3 与生物碱类成分的联合作用 Yu 等^[32]发现小檗碱 (berberine, 9) 能够明显降低氨苄西林和苯唑西林对 MRSA 的 MIC, 与氨苄西林为相加作用,与苯唑西林为协同作用。研究表明,小檗碱对多种细菌有抗菌活性,能够干扰酿脓链球菌向宿主细胞

附着,可阻断大肠杆菌向红细胞或上皮细胞附着,其抗附着活性是由选择性抑制菌毛的合成而介导的^[33-34]。Yu 等^[32]发现小檗碱也能够抑制 MRSA 对人成纤维细胞的附着和侵袭能力。对抗生素的增效作用可能与其作用方式有关,小檗碱能够与 DNA 结合调节基因表达,氨苄西林和苯唑西林通过抑制细菌细胞壁合成起作用。

本课题组发现汉防己甲素 (tetrandrine, 10)、汉防己乙素 (demethyl-tetrandrine, 11) 与头孢唑林联合抗 MRSA 表现出协同增效作用^[35]。已有研究表明,汉防己甲素对氟康唑抗白色念珠菌活性起增效作用,并认为由于白色念珠菌的 CDR1 与哺乳动物的 MDR1 高度同源,所以汉防己甲素对氟康唑的增效机制与其在体外逆转多药耐药 (MDR) 介导的肿瘤细胞对化疗药物的耐药性机制相似,即汉防己甲素可能通过下调 CDR 的表达或影响其功能而增加氟康唑的抗菌活性^[36-37]。两种成分与头孢唑林的协同增效作用,是否也与逆转细胞的 MDR 有关,其机制还有待于进一步的细胞分子水平研究。

2.1.4 与其他成分的联合作用 Muroi 等^[38]主要从

构效关系方面研究漆树酸 (anacardic acid) 及其结构类似物 (12~21) 与甲氧西林的协同抗 MRSA 作用。化合物 12~15 为天然 C₁₅ 漆树酸类成分,16~21 为合成其类似物。研究发现 C₁₅ 漆树酸结构中的双键虽不是引起抗菌作用的本质因素,但是随着烷基侧链中双键的增多,单用时抗菌活性增强。可是与甲氧西林协同作用效果却随着双键的增多而降低。化合物 16~21 中没有双键存在,随着烷基侧链长度的增加,单用及协同抗菌效果均增强,碳原子达到 10~12 个时抗菌效果最好。这些化合物侵入细胞膜依赖于其亲脂性,烷基链长度在 C₁₀~C₁₂ 的漆树酸能达到亲水、亲脂平衡。低亲脂性不能使其通过细胞脂质屏障,高亲脂性又会使其集中在细胞膜的脂质区域。另外,空间位阻及双键的立体化学结构均会影响化合物活性。漆树酸与甲氧西林协同抗菌机制尚不明确,推测可能与 β-内酰胺酶有关,仍需进一步研究。化合物 1~21 的结构式见图 1。

2.2 氨基糖苷类抗生素与中药成分的联合作用

氨基糖苷类抗生素对于细菌的作用主要是抑制细菌蛋白质的合成,并改变膜结构的完整性而发挥

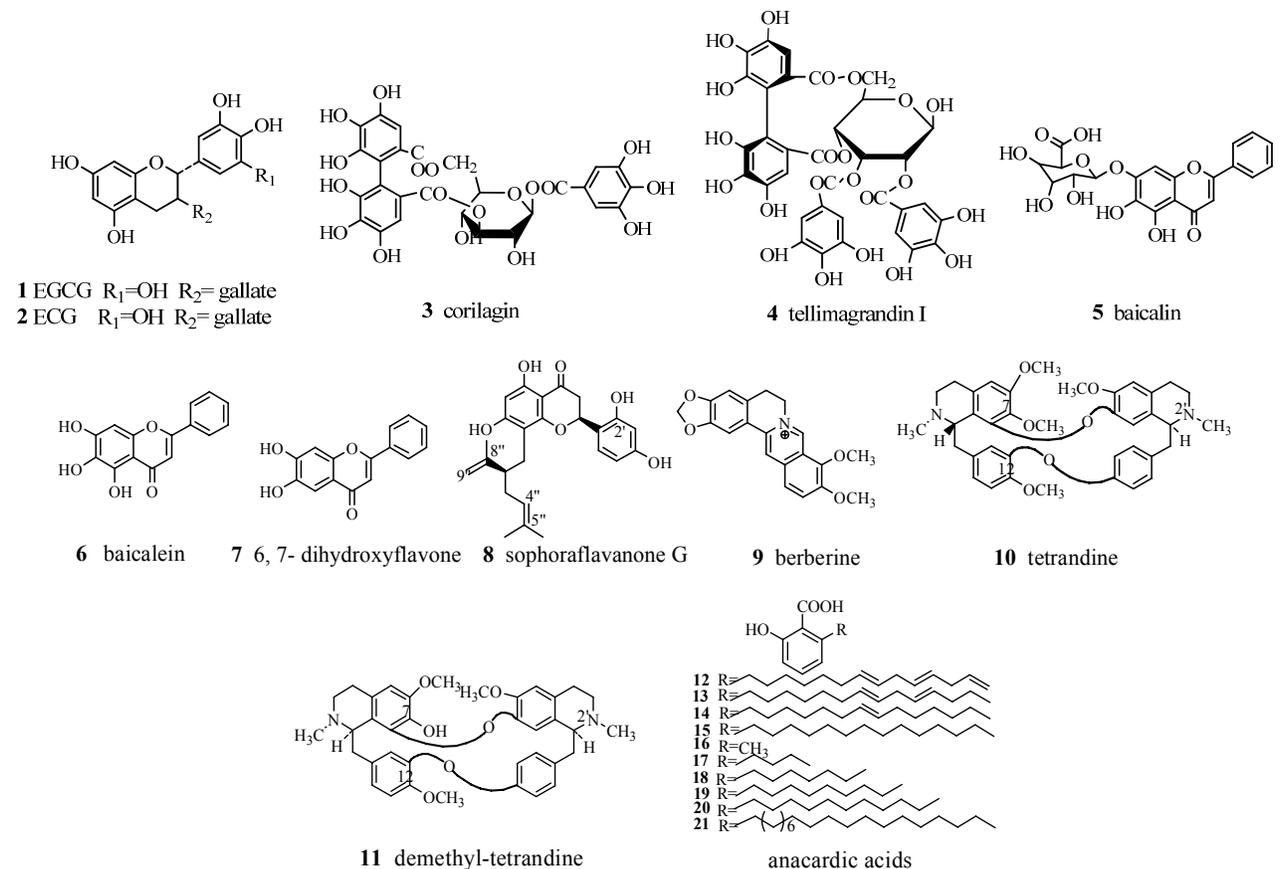


图 1 与 β-内酰胺类抗生素联合抗 MRSA 的中药成分结构

Fig. 1 Structures of Chinese materia medica compounds combined with β-lactam antibiotics against MRSA

强有力的杀菌作用^[39]。此类药物可影响细菌蛋白质合成的全过程,阻碍初始复合物的合成,诱导细菌合成错误蛋白以及阻止已合成蛋白的释放,从而导致细菌死亡。然而该类药物的治疗浓度范围窄,不良反应常见,其中有些是不可逆毒性,从而限制了其广泛使用,如果能通过联合用药在减小其用量的情况下增强其活性,意义将是非常重大的。

20-羟基蜕皮激素(20-hydroxyecdysone, **22**)为甾体类化合物,能够部分协同庆大霉素抗 MRSA。有研究表明,细菌质膜的不渗透性和细菌对氨基糖苷类抗生素耐药有很大关系,当 20-羟基蜕皮激素与膜相互作用时增加质膜的不稳定性,庆大霉素借此破坏细胞的生存。同时,20-羟基蜕皮激素与氨苄西林联合对抗 MRSA 作用也呈现较好的协同作用^[40]。

Sung 等^[41]报道了韩国红参总皂苷(ginsenosides)的抗菌活性及作用方式。红参总皂苷包含人参皂苷 Rb₁ (**23**, 25%)、Rb₂ (11.9%)、Rc (12.5%)、Rd (6.1%)、Re (13.4%)、Rf (4.4%)、Rg₁ (14.6%)、Rg₂ (3.6%)、Rg₃ (3.4%)、Rh₂ (3.6%)及一些小分子皂苷。为了阐明红参皂苷的抗菌作用机制,通过测定模拟细菌膜的带负电荷 PC/PG (1:1) 脂质体中钙黄绿素的释放,发现 100 mg/L (MIC) 红参皂苷能够诱导 52.1% 的钙黄绿素释放,说明红参皂苷通过破坏细胞膜发挥抗菌活性。研究还发现,红参皂苷与卡那霉素联合抗 MRSA 作用为协同或相加作用,与头孢噻肟为相加作用。卡那霉素通过与核糖体 30S 或 50S 亚基结合抑制蛋白质合成而起杀菌作用,而头孢噻肟通过阻断转肽酶反应抑制细胞壁合成而起作用。红参皂苷通过改变质膜的渗透性增加卡那霉素进入细胞质的机会,从而增强了其抗菌活性,这也是红参皂苷与卡那霉素协同作用优于头孢噻肟的原因。

高良姜黄素(galangin, **24**)从高良姜中分离得到,对 MRSA 的 MIC 为 62.5~125 mg/L,与庆大霉素联合作用 FIC 指数为 0.19~0.25,表现显著的协同作用^[42]。 α -曼果斯廷(α -mangostin, **25**)从倒捻子树皮中分离得到,对耐万古霉素肠球菌(VRE)和 MRSA 的 MIC 分别为 6.25、6.25~12.5 mg/L,与庆大霉素联用对 VRE 的 FIC 指数为 0.451±0.069,与万古霉素联用对 MRSA 的 FIC 指数为 0.441±0.131,呈现协同或相加作用^[43]。

2.3 四环素类抗生素与中药成分的联合作用

此类药物必须进入菌体内才能发挥抑菌作用,

在胞浆内,药物与核糖体 30S 亚基的 A 位特异性结合,阻止氨基酰 tRNA 进入 A 位,阻碍肽链延长和蛋白质合成。药物尚可使细菌细胞膜通透性改变,导致胞内核苷酸及其他重要成分外漏,从而抑制细菌 DNA 的复制^[15]。

已明确的金黄色葡萄球菌对四环素的耐药机制:1) 细胞中质粒携带的 *tetK* 基因介导的四环素外排作用;2) 转座子基因 *tetM* 介导的核糖体保护作用^[26]。Fujita 等^[26]发现黄芩素能够明显增强四环素对大肠杆菌 KAM32/pTZ1252 (质粒 pTZ1252 携带基因 *tetK*, 而 KAM32 缺少多药外排泵基因 *acrB* 和 *ydhE*) 的作用。四环素的外排量可通过翻转囊泡观察其摄取量,由于 *tetK* 基因的存在, KAM32/pTZ1252 囊泡对四环素的摄取量明显高于 KAM32。而加入黄芩素(25 mg/L)可显著减少这种摄取量,据此推断黄芩素能强烈抑制 *tetK* 介导的四环素外排泵作用。黄芩素同样能够恢复四环素对 MRSA 的抑制作用,也与上述作用机制有关。

2.4 喹诺酮类抗生素与中药成分的联合作用

喹诺酮类是以 4-喹诺酮(或称吡酮酸)为基本结构的合成类抗菌药。其作用机制是通过抑制 DNA 回旋酶或拓扑异构酶 IV 而影响 DNA 的合成,而导致细菌死亡^[15]。

Liu 等^[44]从月桂树中分离得到对 MRSA 具有抑制作用的黄酮类化合物山柰酚-3-O- α -L-(2'', 4''-di-*E-p*-香豆酰基)-鼠李糖苷[kaempferol-3-O- α -L-(2'', 4''-di-*E-p*-coumaroyl)-rhamnoside, **26**] 和山柰酚-3-O- α -L-(2''-*E-p*-香豆酰基-4''-*Z-p*-香豆酰基)-鼠李糖苷 [kaempferol-3-O- α -L-(2''-*E-p*-coumaroyl)-4''-*Z-p*-coumaroyl)-rhamnoside, **27**], 并发现 2 个化合物能大幅度增强亲水性喹诺酮类药物(如诺氟沙星和环丙沙星)的抗 MRSA 活性,但对疏水性喹诺酮类药物则不具有此作用。拓扑异构酶 IV 包含两个亚基 ParC 和 ParE, DNA 回旋酶包含亚基为 GyrA 和 GyrB。有报道称黄酮类化合物槲皮素作用于大肠杆菌的 GyrB 亚基,2 个化合物作用于拓扑异构酶 IV,且同属黄酮类化合物,金黄色葡萄球菌 N315 中的 ParE 和 GyrB 的氨基酸序列有 52% 的一致性和 85% 的相似性,所以推断 2 个化合物作用于 ParE,同时诺氟沙星抑制 ParC,从而达到协同的效果,并认为此推断比较合理。

胡椒碱(piperine, **28**)是存在于黑胡椒和荜茇中的主要生物碱,能够显著降低环丙沙星对金黄色

葡萄球菌（包括 MRSA）的 MIC。Khan 等^[45]发现胡椒碱能够增加溴化乙锭在突变菌株中的累积率，明显减少其外排率，与外排抑制剂利血平的结果是类似的，提示胡椒碱可作为外排抑制剂抑制环丙沙星从金黄色葡萄球菌中排出。

2.5 糖肽类抗生素与中药成分的联合作用

目前 MRSA 感染的治疗，万古霉素仍为首选。万古霉素的作用机制是与细胞壁前体肽聚糖结合，阻断细胞壁合成，造成细胞壁缺陷而杀灭细菌，尤其对正在分裂增殖的细菌呈快速杀菌作用^[15]。

Sato 等^[46]从刺桐属植物 *Erythrina zeyheri* Harv. 中分离得到 6 个异黄酮类化合物（erybraedin A 和 eryzerin A~E），并测定它们对 VRE 和 MRSA 的抗菌活性，结果 erybraedin A 对 VRE 表现出最强的抑制作用，MIC 为 1.56~3.13 mg/L，eryzerin C 次之（MIC 6.25 mg/L），它们对 MRSA 的 MIC 为 3.13~6.25 mg/L。Erybraedin A（**29**）和 eryzerin C（**30**）分别与万古霉素联合作用于 VRE 的 FICI 为 0.530 6~1.0 和 0.515 3~0.75，对 MRSA 的 FICI 为 0.612 5~

1.0 和 0.75~1.0，均为相加作用。有报道称异黄酮类化合物能够强烈抑制 MRSA 细胞内胸腺嘧啶、尿嘧啶、亮氨酸和葡萄糖的结合；sophora avanone G 及其相关黄酮类化合物能够减少细胞膜的流动性，说明细菌细胞膜是黄酮类化合物的一个有效靶点。黄酮与万古霉素对细菌作用方式的不同也许是它们协同抗菌的机制。

丹参酮（tanshinone, **31**）是丹参中的活性成分之一，丹参酮与万古霉素在体外联合使用时万古霉素的 MIC 为 (0.23±0.27) mg/L，与万古霉素单用对 MRSA 的 MIC (0.71±0.42) mg/L 比较差异极显著 ($P<0.001$)；FIC 平均为 0.75，呈相加作用^[47]。Mahboubi 等^[48]发现 *Zataria multiflora* Boiss. 挥发油有较强的抗 MRSA 活性，MIC 为 0.25~1.0 mg/L，与万古霉素联用能明显增强其抗菌活性。化合物 **22~31** 的结构式见图 2。

3 结语

本文综述了从中药中得到的 31 个有效成分与各类抗生素联合抗 MRSA 的增效作用，涉及几乎所

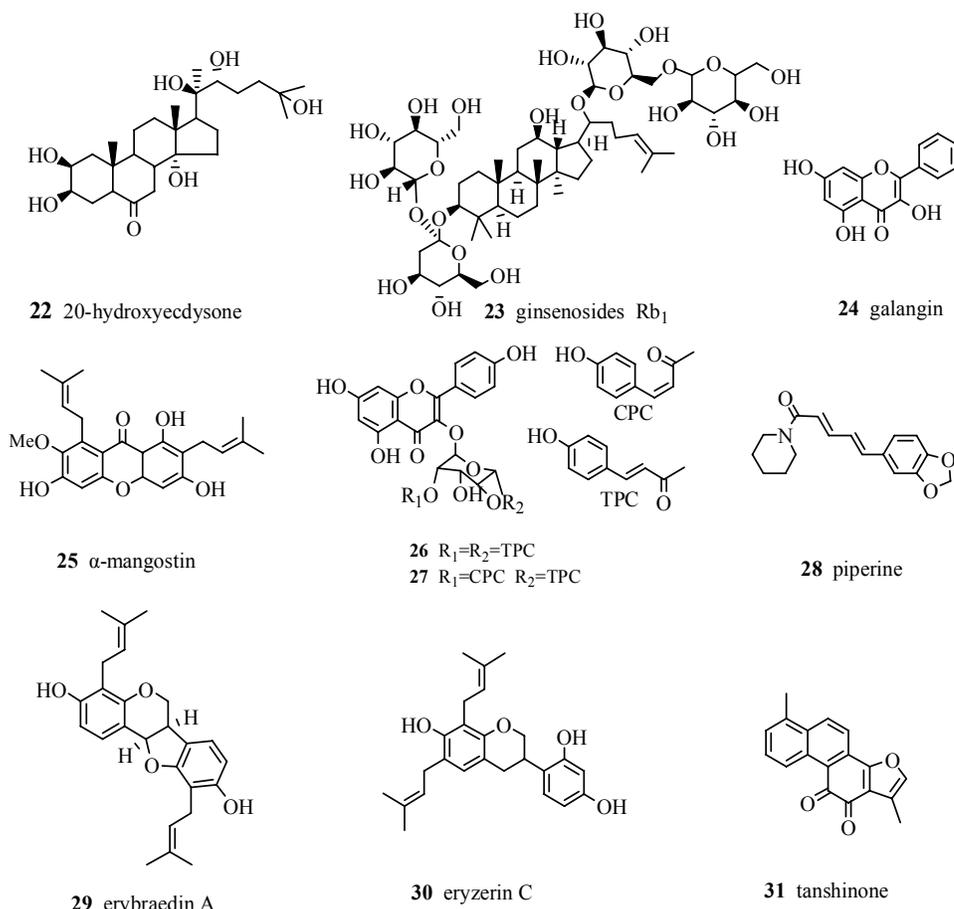


图 2 与其他类抗生素联合抗 MRSA 的中药成分机构

Fig. 2 Structures of Chinese materia medica compounds combined with other antibiotics against MRSA

有的植物成分类别,体现了丰富的植物化学多样性,在今后的进一步研究中,有以下几点值得注意:(1)除上述提到的单体成分外,国内外学者还对多种挥发油与抗生素的联合作用进行过研究,许多提取物的联合应用效果也较明显^[49],值得进一步对有效提取物进行分离研究。同时,中药中单体成分的量较低,对于分离难度大而活性又较好的成分,可对其进行合成路线的探索。(2)许多学者均发现黄酮等多种类别的化合物具有显著的联合抗菌活性,综合前人的报道,可以对已明确成分的植物进行针对性筛选,减少活性筛选中的盲目性。(3)多数联合抗菌作用的研究仅限于体外活性结果,尚需深入研究有效成分的体内药理学作用,深入探讨其构效关系与联合抗菌作用的机制,以进一步明确这些化合物成为抗生素抗 MRSA 增效剂的潜力。

在临床上,药物之间的联合应用广泛,如在抗癌、抗炎,抗 HIV、高血压治疗方面都发挥了很重要的作用。而目前抗感染治疗方面的联合用药多为抗生素之间的联合,中药成分与抗生素的协同作用在临床治疗方案中并未见报道^[50]。

中药成分联合抗生素使用,能减少抗生素用量、提高疗效,从而降低不良反应,甚至能够逆转细菌对某些抗生素的耐药性,这对于新型抗菌剂尤其是抗耐药菌药物的开发是一个有效的途径,可望成为抗 MRSA 感染治疗的一个新突破。

参考文献

- [1] Jevons. "Celbenin"-resistant *Staphylococci* [J]. *Br J Med*, 1961, 5219(1): 124-125.
- [2] Hiramata S K, Hanaki H, Ino T, *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997, 40(1): 135-136.
- [3] Centers for Disease Control and Prevention CDC. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*-Pennsylvania [J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2002, 51(40): 902-903.
- [4] Centers for Disease Control and Prevention CDC. *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin-United States [J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2002, 51(26): 565-567.
- [5] Centers for Disease Control and Prevention CDC. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*-New York [J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2004, 53(15): 322-323.
- [6] 戴文君, 张秀环, 黄贵修, 等. 见血封喉内生真菌的分离鉴定及抑菌活性研究 [J]. *中草药*, 2009, 40(6): 955-957.
- [7] 杨明炜, 陆付耳, 徐丽君, 等. 20 种清热解毒中药对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌抗药性的影响 [J]. *中草药*, 2004, 35(7): 799-800.
- [8] Lin E, Stanek R J, Mufson M A. Lack of synergy of erythromycin combined with penicillin or cefotaxime against *Streptococcus pneumoniae* *in vitro* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47(3): 1151-1153.
- [9] 郑宝英, 张杰. 抗生素的联合用药 [J]. *中国抗生素杂志*, 2007, 32(6): 324-328.
- [10] White L, Burgess D S, Manduru M, *et al.* Comparison of three different *in vitro* methods of detecting synergy: Time-kill, checkerboard, and E-test [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996, 40(8): 1914-1918.
- [11] Aaron S D, Ferris W, Henry D A, *et al.* Multiple combination bactericidal antibiotic testing for cystic fibrosis patients infected with *Burkholderia cepacia* [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 161: 1206-1212.
- [12] Wagner H, Ulrich-Merzenich G. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals [J]. *Phytomedicine*, 2009(16): 97-110.
- [13] Saiman L. Clinical utility of synergy testing for multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients with cystic fibrosis: 'the motion for' [J]. *Paediatr Respir Rev*, 2007(8): 249-255.
- [14] Grzybowska W, Banaszczyk R M, Tyski S. Comparison of checkerboard and E test methods used for the analysis of two antibiotic combination [J]. *Med Dosw Mikrobiol*, 2005, 57(1): 65-75.
- [15] 杨宝峰, 苏定冯. 药理学 [M]. 第 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [16] Fuda C, Suvorov M, Vakulenko S B, *et al.* The basis for resistance to beta-lactam antibiotics by penicillin-binding protein 2a of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Biol Chem*, 2004, 279(39): 40802-40806.
- [17] Hu Z Q, Zhao W H, Hara Y, *et al.* Epigallocatechin gallate synergy with ampicillin/sulbactam against 28 clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2001, 48: 361-364.
- [18] Hu Z Q, Zhao W H, Asano N, *et al.* Epigallocatechin gallate synergistically enhances the activity of carbapenems against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002, 46(2): 558-560.

- [19] Stapleton P D, Shah S. Modulation of β -lactam resistance in *Staphylococcus aureus* by catechins and gallates [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2004, 23(5): 462-467.
- [20] Zhao W H, Hu Z Q, Okubo S, *et al.* Mechanism of synergy between epigallocatechin gallate and β -lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45(6): 1737-1742.
- [21] 华德兴, 彭青, 黄春, 等. Ecg/Egcg 与 β 内酰胺类抗生素对 MRSA 的协同抗菌机制研究 [J]. *中国感染与化疗杂志*, 2010, 10(2): 123-126.
- [22] Shimizu M, Shiota S, Mizushima T, *et al.* Marked potentiation of activity of β -lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by corilagin [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45(11): 3198-3201.
- [23] Shiota S, Shimizu M, Mizushima T, *et al.* Restoration of effectiveness of β -lactams on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by tellimagrandin I from rose red [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2000, 185: 135-138.
- [24] Shiota S, Shimizu M, Sugiyama J, *et al.* Mechanisms of action of corilagin and tellimagrandin I that remarkably potentiate the activity of β -lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Microbiol Immunol*, 2004, 48(1): 67-73.
- [25] 陈勇川, 谢林利, 熊丽蓉, 等. 黄芩苷/黄芩素对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌抗药性的逆转作用研究 [J]. *中国药房*, 2008, 19(9): 644-646.
- [26] Fujita M, Shiota S, Kuroda T, *et al.* Remarkable synergies between baicalein and tetracycline, and baicalein and β -lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Microbiol Immunol*, 2005, 49(4): 391-396.
- [27] 刘琴, 温桂兰. 黄芩苷与 β -内酰胺类抗生素对 MRSA 的协同作用 [J]. *医学信息*, 2010, 23(2): 18-20.
- [28] Liu I X, Durham D D, Michael R, *et al.* Baicalin synergy with β -lactam antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and other β -lactam-resistant strains of *S. aureus* [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2000, 52: 361-366.
- [29] Sato Y, Shibata H, Arakaki N, *et al.* 6, 7-Dihydroxyflavone dramatically intensifies the susceptibility of methicillin-resistant or -sensitive *Staphylococcus aureus* to β -lactams [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(4): 1357-1360.
- [30] Cha J D, Moon S E, Kim J Y, *et al.* Antibacterial activity of sophoraflavanone G isolated from the roots of *Sophora flavescens* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Phytother Res*, 2009, 23: 1326-1331.
- [31] Lee J Y, Choi Y, Woo E R, *et al.* Antibacterial and synergistic activity of isocryptomerin isolated from *Selaginella tamariscina* [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2009, 19(2): 204-207.
- [32] Yu Y H, Kim K J, Cha J D, *et al.* Antimicrobial activity of berberine alone and in combination with ampicillin or oxacillin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *J Med Food*, 2005, 8(4): 454-461.
- [33] Sun D, Courtney H S, Beachey E H. Berberine sulfate blocks adherence of *Streptococcus pyogenes* to epithelial cells, fibronectin, and hexadecane [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998, 32: 1370-1374.
- [34] Sun D, Abraham S N, Beachey E H. Influence of berberine sulfate on synthesis and expression of Pap fimbrial adhesin in uropathogenic *Escherichia coli* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1988, 32: 1274-1277.
- [35] 李杨. 异喹啉类生物碱及其衍生物体外抗菌活性研究 [D]. 昆明: 昆明医学院, 2010.
- [36] 肖桂林, 张莉, 张宏, 等. 探讨汉防己甲素对氟康唑的体外增效作用 [J]. *青海医学院学报*, 2007, 28(3): 183-186.
- [37] 王凯丽, 张宏, 蒋红浩, 等. 汉防己甲素对氟康唑抗白念珠菌活性增效作用的体内实验研究 [J]. *中国人兽共患病学报*, 2007, 23(5): 474-478.
- [38] Muroi H, Nihei K, Tsujimoto K, *et al.* Synergistic effects of anacardic acids and methicillin against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Bioorg Med Chem*, 2004, 12: 583-587.
- [39] 谭艳, 方治平. 抗菌药物的作用机制及细菌耐药性机制的研究进展 [J]. *国外医药: 抗生素分册*, 2003, 24(2): 65-69.
- [40] Kim E S, Jeong S I, Kim J H, *et al.* Synergistic effects of the combination of 20-hydroxyecdysone with ampicillin and gentamicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2009, 19(12): 1576-1581.
- [41] Sung W S, Lee D G. The combination effect of Korean red ginseng saponins with kanamycin and cefotaxime against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31(8): 1614-1617.
- [42] Lee Y S, Kang O H, Choi J G, *et al.* Synergistic effects of the combination of galangin with gentamicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *J Microbiol*, 2008, 46(3): 283-288.
- [43] Sakagami Y, Inuma M, Piyasena K G N P, *et al.* Antibacterial activity of α -mangostin against vancomycin

- resistant *Enterococci* (VRE) and synergism with antibiotics [J]. *Phytomedicine*, 2005, 12: 203-208.
- [44] Liu M H, Otsuka N, Noyorin K, *et al.* Synergistic effect of kaempferol glycosides purified from *Laurus nobilis* and fluoroquinolones on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32(3): 489-492.
- [45] Khan I A, Mirza Z M, Kumar A, *et al.* Piperine, a phytochemical potentiator of ciprofloxacin against *Staphylococcus aureus* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(2): 810-812.
- [46] Sato M, Tanaka H, Oh-Uchi T, *et al.* Antibacterial activity of phytochemicals isolated from *Erythrina zeyheri* against vancomycin-resistant *Enterococci* and their combinations with vancomycin [J]. *Phytother Res*, 2004, 18: 906-910.
- [47] 段德军, 温桂兰. 丹参酮与万古霉素联合应用对 MRSA 的抑制作用 [J]. *实用全科医学*, 2008, 6(4): 363-364.
- [48] Mahboubi M, Bidgoli F G. Antistaphylococcal activity of *Zataria multiflora* essential oil and its synergy with vancomycin [J]. *Phytomedicine*, 2010, 17: 548-550.
- [49] Adwan G, Mhanna M. Synergistic effects of plant extracts and antibiotics on *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical specimens [J]. *Mid East J Sci Res*, 2008, 3(3): 134-139.
- [50] Hemaiswarya S, Kruthiventi A K, Doble M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases [J]. *Phytomedicine*, 2008, 15: 639-652.

《中草药》杂志荣获第二届中国出版政府奖

2011年3月18日,“书香中国”第二届中国出版政府奖颁奖典礼在北京隆重举行。《中草药》杂志荣获第二届中国出版政府奖期刊奖,天津中草药杂志社总经理、《中草药》执行主编陈常青研究员代表《中草药》杂志参加了颁奖典礼。

中国出版政府奖是国家设立的新闻出版行业的最高奖,2007年首次开奖,每3年评选1次。第二届中国出版政府奖首次设立期刊奖。经期刊奖评委会办公室精心组织,认真评选,从全国1万多种期刊中评选出59种获奖期刊,其中期刊奖20种(科技类和社科类期刊各10种),提名奖39种(科技类期刊19种,社科类期刊20种)。

本届期刊奖评委会评委共40位,主要由期刊出版界专家、科研院所和高等院校各学科领域的著名专家学者及有关部门长期从事期刊管理的领导组成。本次评选组织工作充分体现了公平、公正、公开原则,获奖期刊代表了我国期刊业的最高水平,集中体现了我国期刊业近年来改革发展的突出成就,也体现出了党和政府对出版行业改革发展的高度重视和大力支持,体现了鼓励原创,激励创新,推动期刊实现跨越式发展的政策导向,必将激励更多的出版单位、出版人肩负责任,坚守阵地,与时俱进,勇于创新,多出精品力作。

《中草药》杂志于1970年创刊,40余年来,几代编辑工作者一直坚持“质量第一”,坚持普及与提高相结合的办刊方针。杂志以“新”——选题新、发表成果创新性强,“快”——编辑出版速度快,“高”——刊文学术水平和编辑质量高为办刊特色,载文覆盖面广、信息量大、学术水平高。严格遵守国家标准和国际规范,在此次评选中以优质的编校质量,广泛的品牌影响力获得了评委的一致好评,最终脱颖而出。这是《中草药》杂志继获得第二届国家期刊奖、第三届国家期刊奖提名奖、新中国60年有影响力的期刊、中国精品科技期刊、百种中国杰出学术期刊等奖项后取得的又一巨大荣誉!

衷心感谢广大读者、作者、编委和协作办刊单位长期以来对《中草药》杂志的关心和支持!让我们携起手来,与时俱进,开拓创新,继续攀登,把中草药杂志社办成“汇集知识的渊藪、传播真理的阵地、探索奥秘的殿堂”,为中药现代化、国际化做出更大贡献!

天津中草药杂志社