

黄绵马酸 BB 对皮肤软组织感染致病菌的抗菌活性及机制研究

殷川平¹, 陈文浩¹, 莫梓童¹, 吴小诗¹, 唐春萍^{1,2}, 沈志滨^{1,2,3*}

1. 广东药科大学中药学院, 广东 广州 511400

2. 广东省局精准药物递药制剂工程技术研究中心, 广东 广州 510006

3. 广东省化妆品工程技术研究中心, 广东 广州 510006

摘要: 目的 研究黄绵马酸 BB 对皮肤软组织感染致病菌的抗菌活性, 并探讨其对金黄色葡萄球菌的抗菌机制。方法 采用微量稀释法测定黄绵马酸 BB 对皮肤软组织感染相关致病菌的最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 和最低杀菌浓度 (minimum bactericidal concentration, MBC); 以对黄绵马酸 BB 敏感的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 临床分离株和金黄色葡萄球菌标准株 ATCC29213 为受试菌, 考察黄绵马酸 BB 对其生长活力和菌体形态结构的影响, 采用酶标仪考察黄绵马酸 BB 对其细胞壁通透性的影响, 采用荧光分光光度计考察黄绵马酸 BB 对细胞膜电位的影响, 采用 qRT-PCR 法考察黄绵马酸 BB 对青霉素结合蛋白 1 (penicillin-binding protein 1, PBP1) mRNA 表达的影响。结果 黄绵马酸 BB 对 ATCC29213 的 MIC 为 10.0~20.0 $\mu\text{g/mL}$, MBC 为 10.0~40.0 $\mu\text{g/mL}$, 且对 MRSA 临床分离株的 MIC 小于头孢唑啉; 与对照组比较, 黄绵马酸 BB 组 ATCC29213 和 MRSA 生长受到抑制, 菌体细胞形态结构改变, 细胞膜电位显著降低 ($P<0.05$), 1/2MIC 黄绵马酸 BB 可显著下调 PBP1 mRNA 表达水平 ($P<0.01$), 2MIC 黄绵马酸 BB 可显著上调 PBP1 mRNA 表达水平 ($P<0.01$)。结论 黄绵马酸 BB 对 MRSA 临床分离株表现出良好的抗菌活性, 且其抗菌作用与破坏菌体细胞结构、降低细胞膜电位、影响 PBP1 mRNA 表达有关。

关键词: 黄绵马酸 BB; 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 细胞膜电位; 抗菌; 青霉素结合蛋白 1

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)06-1662-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.06.014

Antibacterial activity and mechanism of flavaspidic acid BB on pathogenic bacteria of skin and soft tissue infection

YIN Chuan-ping¹, CHEN Wen-hao¹, MO Zi-tong¹, WU Xiao-shi¹, TANG Chun-ping^{1,2}, SHEN Zhi-bin^{1,2,3}

1. School of Traditional Chinese Medicines, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 511400, China

2. Guangdong Provincial Engineering Center of Topical Precise Drug Delivery System, Guangzhou 510006, China

3. Guangdong Provincial Cosmetics Engineering Technology Research Center, Guangzhou 510006, China

Abstract: Objective To study the antibacterial activity of flavaspidic acid BB on pathogenic bacteria related to skin and soft tissue infections, and explore the antibacterial mechanism against *Staphylococcus aureus*. **Methods** The microdilution method was used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of flavaspidic acid BB against pathogenic bacteria related to skin and soft tissue infections; Clinical strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and *Staphylococcus aureus* standard strain ATCC29213, which were sensitive to flavaspidic acid BB, were used as test bacteria to explore the influence of flavaspidic acid BB on growth vitality and the morphological structure of tested bacteria. Effect of flavaspidic acid BB on permeability of cell wall was detected by microplate reader; Effect of flavaspidic acid BB on cell membrane potential was detected by fluorescence spectrophotometer; Effect of flavaspidic acid BB on expression of penicillin-binding protein 1 (PBP1) mRNA was detected by qRT-PCR. **Results** MIC of flavaspidic acid BB against ATCC29213 was 10.0—20.0 $\mu\text{g/mL}$, MBC was 10.0—40.0 $\mu\text{g/mL}$, MIC values of MRSA clinical strains were lower than cefazolin. Compared with control group, growth of ATCC29213 and MRSA in flavaspidic acid BB group were inhibited, morphological structure of

收稿日期: 2020-10-25

基金项目: 国家重点研发计划“中医药现代化”重点专项项目 (2018YFC1707100); 广东省科技厅应用型研发专项 (2015B020234009)

作者简介: 殷川平 (1995—), 男, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: 2274609080@qq.com

*通信作者: 沈志滨 (1964—), 女, 教授, 博士, 研究方向为中药药效物质基础及新药研发。E-mail: szb8113@126.com

bacterial cell was changed, and cell membrane potential was reduced ($P < 0.05$), expression of *PBP1* mRNA was down-regulated by 1/2MIC flavaspodic acid BB and up-regulated by 2MIC flavaspodic acid BB ($P < 0.01$). **Conclusion** The flavaspodic acid BB exhibits good antibacterial activity against MRSA clinical strains, of which antibacterial effect is related to the destruction of bacterial cell structure, lowering the cell membrane potential and affecting the expression of *PBP1* mRNA.

Key words: flavaspodic acid BB; methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; cell membrane potential; antibacterial activity; penicillin-binding protein 1

皮肤软组织感染 (skin and soft tissue infection, SSTI) 是由病原菌侵犯皮肤表皮、真皮及皮下组织等引起的常见感染性疾病, 可诱发菌血症、败血症, 危及患者生命^[1-2]。金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌为引起 SSTI 的主要致病菌^[3]。在金黄色葡萄球菌引起的 SSTI 患者中, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 的检出率高达 73.21%^[4]。随着抗生素的广泛应用, SSTI 致病菌对临床中的常用药物如头孢唑林、达托霉素均出现了不同程度的耐药性^[5-6], 且万古霉素对 MRSA 的敏感性逐渐降低^[7], 万古霉素中介耐药的金黄色葡萄球菌检出率逐渐升高^[8]。因此, 从传统中药中寻找对耐药菌株具有较好抗菌活性的化合物迫在眉睫。

香鳞毛蕨 *Dryopteris fragrans* (L.) Schott 为鳞毛蕨科鳞毛蕨属植物, 主要分布于黑龙江省五大连池等地区, 常用于治疗牛皮癣、痤疮等细菌感染性皮肤病^[9-10]。香鳞毛蕨中的间苯三酚类化合物具有良好的抗菌活性^[11], 黄绵马酸 BB 作为其中的典型间苯三酚类化合物, 其抗菌活性及机制尚未明确。本研究探究黄绵马酸 BB 对 SSTI 相关致病菌的抗菌活性及机制, 为抗 SSTI 药物开发提供依据。

1 材料

1.1 菌株

金黄色葡萄球菌标准株 ATCC29213 购自广东省菌种保存中心; 大肠埃希菌标准株 ATCC8739 由广东药科大学基础学院提供; 3 株 MRSA (MRSA1~3) 临床分离株及 3 株大肠埃希菌临床分离株由广州医科大学呼吸病研究所提供。

1.2 药品与试剂

黄绵马酸 BB (质量分数 > 95%) 由课题组自制; 头孢唑林 (批号 N0825A) 购自深圳华润九新药业有限公司; 万古霉素 (质量分数 > 97%) 购自美国 Sigma 公司; 达托霉素、尼生素 (质量分数 > 97%) 购自大连美仑生物技术有限公司; PBS 缓冲液 (批号 AXH44026) 购自 HyClone 公司; 二甲基亚砜 (DMSO, 批号 DH105-2) 购自鼎国昌盛生物技术有

限公司; Gluta 固定液 (批号 L17D11G134782) 购自源叶生物科技有限公司; CAMHB 营养肉汤培养基 (批号 3302092)、营养琼脂培养基 (批号 1067752) 购自广东环凯微生物科技有限公司; 细胞膜荧光探针 DiSC₃-5 购自阿拉丁生化科技股份有限公司; 碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, AKP) 测试盒购自南京建成生物工程有限公司; RNA 提取试剂盒购自北京天恩泽基因科技有限公司; PrimeScriptTM RT reagent Kit with gDNA Eraser、SYBR[®] Premix Ex TaqTM II (Tli RNaseH Plus) 购自宝生物工程 (大连) 有限公司。

1.3 仪器

iMark 酶标仪、IQ5 荧光定量 PCR 仪 (美国 BIO-RAD 公司); SW-CJ-1F 超净工作台 (苏净集团安泰公司); Memmert 恒温培养箱 (上海一恒科学仪器有限公司); H-7500 透射电子显微镜 (TEM, 日本 Hitachi 公司); RF-5301PC 荧光分光光度计 (日本岛津公司)。

2 方法

2.1 菌液制备

将上述菌株用营养琼脂培养基培养至对数生长期, 根据美国临床实验室标准协会 (clinical and laboratory standards institute, CLSI) 制定的 M07-A9 方案中微量稀释法, 将对数生长期的菌落用生理盐水稀释, 调节至 0.5 个麦氏浊度 (1×10^8 CFU/mL), 用 CAMHB 营养肉汤培养基稀释 100 倍 (1×10^6 CFU/mL) 作为接种菌液。

2.2 药液制备

黄绵马酸 BB 溶于 DMSO 配制质量浓度为 16 mg/mL 的贮备液; 头孢唑林、万古霉素和达托霉素分别溶于超纯水配制质量浓度为 256 mg/mL 的贮备液, 于 4 °C 避光保存。

2.3 黄绵马酸 BB 对 SSTI 相关致病菌的抗菌活性测定

根据 CLSI 的 M07-A9 方案, 采用微量稀释法测定黄绵马酸 BB 和阳性对照药物 (头孢唑林、万古霉素、达托霉素) 的最小抑菌浓度 (minimum

inhibitory concentration, MIC)。用 CAMHB 营养肉汤培养基将药物贮备液进行稀释,取 100 μL 药物贮备液加入 96 孔板中,再加入 100 μL 菌液,使黄绵马酸 BB 的终质量浓度为 2.5~1 280.0 $\mu\text{g/mL}$,头孢唑林的终质量浓度为 0.625~5 120.000 $\mu\text{g/mL}$,万古霉素和达托霉素的终质量浓度为 0.25~32.00 $\mu\text{g/mL}$,对照组只加入菌液不加入药液。测定 MIC 后,选择质量浓度 $\geq$ MIC 的菌悬液,吸取 20 μL 涂于固体培养基上,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 18~24 h 后肉眼观察,以无细菌生长的最低药物浓度作为最低杀菌浓度 (minimum bactericidal concentration, MBC)。

2.4 黄绵马酸 BB 对 ATCC29213 和 MRSA1 的时间-杀菌曲线的测定

根据抗菌活性结果,选用对黄绵马酸 BB 敏感的 ATCC29213 和 MRSA1 作为受试菌,测定黄绵马酸 BB 对其生长的影响。设置对照组及黄绵马酸 BB (1/2MIC、MIC、2MIC) 组,各给药组加入含相应药物的菌液,对照组只加入菌液不加入药液,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡培养,每 2 小时采用酶标仪测定 24 h 内 600 nm 处的吸光度 (A) 值。以时间为横坐标,以 A 值为纵坐标,绘制时间-杀菌曲线。

2.5 TEM 观察黄绵马酸 BB 对 ATCC29213 和 MRSA1 细胞形态的影响

设置对照组及黄绵马酸 BB (1/2MIC、MIC、2MIC) 组,各给药组加入含相应药物的菌液,对照组只加入菌液不加入药液,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡培养,分别在菌种对数生长期 (4 h) 和生长稳定期 (18 h) 取出菌悬液,4 $^{\circ}\text{C}$ 、4000 r/min 离心 15 min,收集菌体,PBS 缓冲液漂洗 3 次,弃去上清液,菌体加入 2.5% Gluta 固定液,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 固定 10 h,制成 TEM 样品,于 TEM 下观察^[12]。

2.6 黄绵马酸 BB 对 ATCC29213 和 MRSA1 细胞壁通透性的影响

设置对照组及黄绵马酸 BB (1/2MIC、MIC、2MIC) 组,各给药组加入含相应药物的菌液,对照组只加入菌液不加入药液,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡培养 4 h,经 0.22 μm 滤膜滤过,按照试剂盒说明书测定上清液中 AKP 活性。

2.7 黄绵马酸 BB 对 ATCC29213 和 MRSA1 细胞膜电位的影响

课题组前期研究中尼生素对 ATCC29213 和 MRSA1 的 MIC 均为 25 $\mu\text{g/mL}$,设置对照组、黄绵

马酸 BB (MIC) 组、尼生素 (MIC) 组,各给药组加入含相应药物的菌液,对照组只加入菌液不加入药液,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡培养 1 h,加入 0.4 $\mu\text{mol/L}$ DiSC₃₋₅,培养 30 min。激发波长为 622 nm,发射波长为 670 nm,用荧光分光光度计测定荧光强度。

2.8 黄绵马酸 BB 对 MRSA1 中青霉素结合蛋白 1 (penicillin-binding protein 1, PBP1) mRNA 表达的影响

PBP1 是金黄色葡萄球菌细胞分裂的关键基因,按照文献报道方法^[13],设置对照组及黄绵马酸 BB (1/2MIC、MIC、2MIC) 组,各给药组加入含相应药物的菌液,对照组只加入菌液不加入药液,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 4 h,收集菌体,按照试剂盒说明书提取 RNA 并合成 cDNA,进行 qRT-PCR 分析。引物序列:16S rRNA 上游引物 5'-GAGAGAAGGTGGGGATGACGT-3',下游引物 5'-AGGCCCGGGAACGTATTCAC-3',产物大小为 217 bp;PBP1 上游引物 5'-AGAGTCGGTTGGG-GTGAAAT-3',下游引物 5'-ACCAGGTGCTTCTCC-ATCAA-3',产物大小为 178 bp。qRT-PCR 程序:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,40 个循环;55 $^{\circ}\text{C}$ 升温至 95 $^{\circ}\text{C}$,每升温 0.5 $^{\circ}\text{C}$ 进行 1 次读数。

2.9 数据统计与分析

采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析,所有实验重复 3 次,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析 (one-way ANOVA)。

3 结果

3.1 黄绵马酸 BB 对 SSTI 相关致病菌抗菌活性

如表 1 所示,头孢唑林对 3 株 MRSA 临床分离株的 MIC 为 320.000~640.000 $\mu\text{g/mL}$,对 3 株大肠埃希菌临床分离株的 MIC 为 80.000~1 280.000 $\mu\text{g/mL}$,CLSI 头孢唑林对葡萄球菌属和肠杆菌科的耐药标准分别为 MIC $\geq$ 32.000 $\mu\text{g/mL}$ 及 MIC $\geq$ 8.000 $\mu\text{g/mL}$,表明头孢唑林对 MRSA 和大肠埃希菌表现为高度耐药。万古霉素对 3 株 MRSA 临床株的 MIC 为 3.54~10.00 $\mu\text{g/mL}$,对 3 株大肠埃希菌临床分离株的 MIC $>$ 32.00 $\mu\text{g/mL}$;达托霉素对 3 株 MRSA 临床株的 MIC 均为 2.00 $\mu\text{g/mL}$;黄绵马酸 BB 对 3 株 MRSA 临床分离株的 MIC 小于阳性对照药物头孢唑林,均为 20.0 $\mu\text{g/mL}$,其 MBC 与 MIC 相近,为 20.0~40.0 $\mu\text{g/mL}$,表明黄绵马酸 BB 对 MRSA 临床株具有较好的抑菌和杀菌作用;3 株大肠埃希菌临床株对黄绵马酸 BB 的敏感性较差,MIC 和 MBC 均大于 1 280.0 $\mu\text{g/mL}$,与文献报道^[14]一致。

表 1 黄绵马酸 BB 对受试菌株的 MIC 和 MBC

Table 1 MIC and MBC of flavaspidic acid BB on tested strains

菌种	MIC/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)				MBC/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)			
	黄绵马酸 BB	头孢唑啉	万古霉素	达托霉素	黄绵马酸 BB	头孢唑啉	万古霉素	达托霉素
ATCC29213	10.0	0.710	2.00	2.00	10.0	8.000	8.00	4.00
MRSA1	20.0	320.000	3.54	2.00	20.0	2 560.000	28.28	4.00
MRSA2	20.0	320.000	10.00	2.00	40.0	5 120.000	20.00	2.00
MRSA3	20.0	640.000	5.00	2.00	20.0	>5 120.000	5.00	4.00
ATCC8739	10.0	1.410	>32.00	—	10.0	16.000	>32.00	—
大肠埃希菌 1	>1 280.0	1 280.000	>32.00	—	>1 280.0	1 280.000	>32.00	—
大肠埃希菌 2	>1 280.0	80.000	>32.00	—	>1 280.0	80.000	>32.00	—
大肠埃希菌 3	>1 280.0	1 280.000	>32.00	—	>1 280.0	1 280.000	>32.00	—

3.2 黄绵马酸 BB 对 ATCC29213 和 MRSA1 的时间-杀菌曲线

如图 1 所示, 对照组菌株接种 2 h 后开始出现对数生长, 1/2MIC、MIC 黄绵马酸 BB 组菌株对数生长期为第 6 小时和第 14 小时, 2MIC 黄绵马酸 BB 组菌株 24 h 内未见生长。表明黄绵马酸 BB 抑制 ATCC29213 和 MRSA1 生长, 呈剂量相关性。

3.3 黄绵马酸 BB 对 ATCC29213 和 MRSA1 细胞形态的影响

如图 2 所示, 对照组 ATCC29213 和 MRSA1 细胞形态结构完好, 壁-膜结构完整, 原生质体分布

均匀; 与对照组比较, MIC 黄绵马酸 BB 处理至对数生长期 (4 h), 细菌形态皱缩, 细胞质不均匀, 部分壁-膜区域变得模糊; MIC 黄绵马酸 BB 处理至生长稳定期 (18 h), 细胞内部结构异常化, 染色体固缩, 细胞内出现大面积的低电子密度空白区。

3.4 黄绵马酸 BB 对 ATCC29213 和 MRSA1 细胞壁通透性的影响

如图 3 所示, 与对照组比较, 黄绵马酸 BB 组细菌培养液中 AKP 活性无明显变化, 表明黄绵马酸 BB 对 ATCC29213 和 MRSA1 细胞壁的通透性无明显影响。

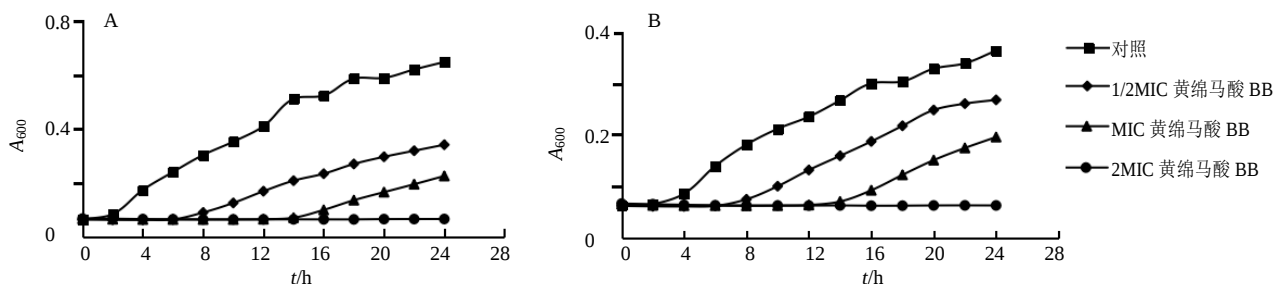


图 1 黄绵马酸 BB 对 ATCC29213 (A) 和 MRSA1 (B) 的时间-杀菌曲线

Fig. 1 Time-kill kinetics curves of flavaspidic acid BB against tested strains of ATCC29213 (A) and MRSA1 (B)

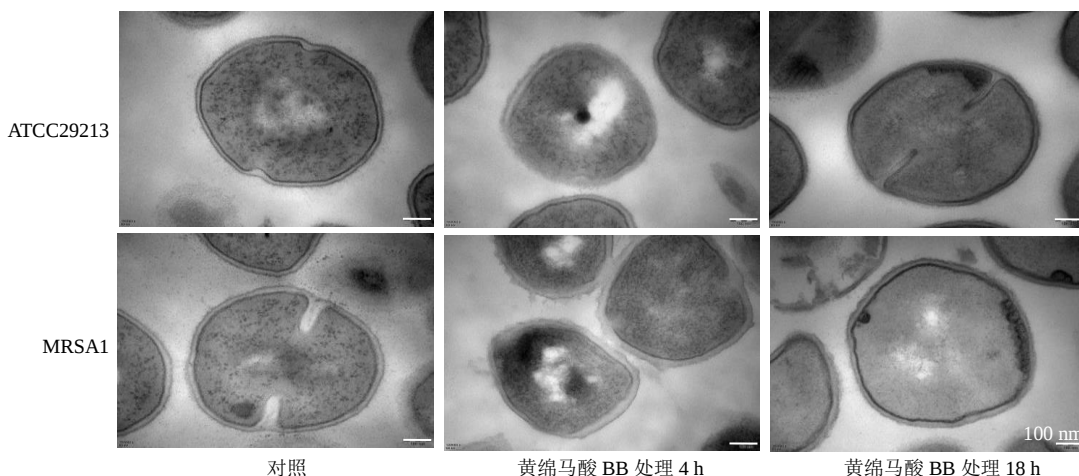


图 2 黄绵马酸 BB 对 ATCC29213 和 MRSA1 细胞形态的影响 ($\times 150\ 000$)

Fig. 2 Effect of flavaspidic acid BB on cell morphology of ATCC29213 and MRSA1 ($\times 150\ 000$)

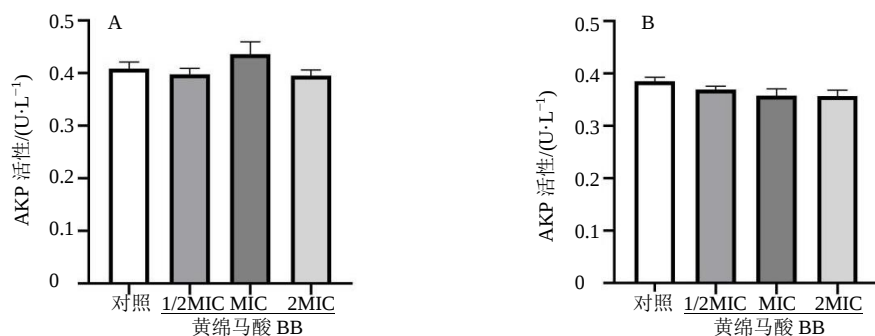


图3 黄绵马酸 BB 对 ATCC29213 (A) 和 MRSA1 (B) 细胞壁通透性的影响

Fig. 3 Effect of flavaspidic acid BB on cell wall permeability of ATCC29213 (A) and MRSA1 (B)

3.5 黄绵马酸 BB 对 ATCC29213 和 MRSA1 细胞膜电位的影响

当细胞膜电位降低时, DiSC₃₋₅ 荧光染料释放到胞外, 荧光强度上升。如表 2 所示, 与对照组比较, MIC 黄绵马酸 BB 组 ATCC29213 和 MRSA1 的 DiSC₃₋₅ 荧光强度明显提高 ($P < 0.05$), 表明黄绵马酸 BB 能够引起 ATCC29213 和 MRSA1 细胞膜电位的降低。

表 2 黄绵马酸 BB 对 ATCC29213 和 MRSA1 细胞膜电位的影响

Table 2 Effect of flavaspidic acid BB on cell membrane potential of ATCC29213 and MRSA1

组别	荧光强度/AU	
	ATCC29213	MRSA1
对照	38.72 ± 2.25	39.54 ± 1.14
黄绵马酸 BB	58.81 ± 1.23*	64.07 ± 2.32*
尼生素	565.94 ± 11.85***	625.58 ± 13.49***

与对照组比较: * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ vs control group

3.6 黄绵马酸 BB 对 MRSA1 中 PBP1 mRNA 表达的影响

如图 4 所示, 与对照组比较, 1/2MIC 黄绵马酸 BB 组 MRSA1 中 PBP1 mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.01$), 2MIC 黄绵马酸 BB 组 MRSA1 中 PBP1 mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.01$)。

4 讨论

SSTI 为局限性感染疾病, 随着抗菌药物的滥用, 致病菌产生耐药性, 临床常用的抗菌药物治疗效果降低^[15-16]。黄绵马酸 BB 抗菌活性良好^[16], 对皮肤癣菌有较好的抑制作用^[17], 但对 SSTI 致病菌的抗菌活性尚不明确。CLSI 规定金黄色葡萄球菌对万古霉素的 MIC ≤ 2 μg/mL 即为敏感, MIC 4~8 μg/mL 即为中介, 本研究结果显示, 3 株 MRSA 临床分离株对万古霉素的敏感性均下降, 呈中介耐药

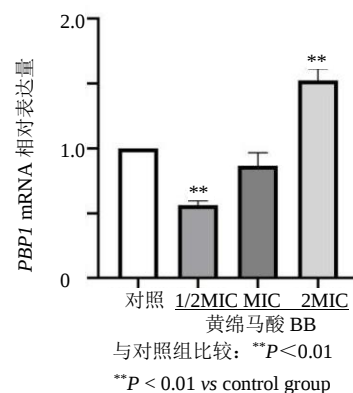


图4 黄绵马酸 BB 对 MRSA1 中 PBP1 mRNA 表达的影响

Fig. 4 Effect of flavaspidic acid BB on PBP1 mRNA expression of MRSA1

性。当药物对微生物的 MBC/MIC ≥ 32 时, 可判定微生物对受试药产生了耐受性^[18], 本研究结果显示, 黄绵马酸 BB 对 3 株 MRSA 临床分离株的 MBC/MIC ≤ 2, 表明黄绵马酸 BB 对万古霉素中介耐药的 MRSA 临床分离株具有显著的敏感性。

完整的菌体细胞结构是维持生命的必要条件, MIC 黄绵马酸 BB 能够破坏菌体细胞壁-膜结构的完整性, 造成染色体固缩、细胞空化。细胞膜电位对三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 的产生和细胞功能具有重要意义^[19], MIC 黄绵马酸 BB 可显著降低 ATCC29213 和 MRSA1 临床分离株细胞膜电位, 从而影响 ATP 生成、干扰细菌的正常代谢。PBP1 是 MRSA 细胞分裂的关键基因, 敲除 PBP1 后, 菌株停止分裂^[20], 本研究发现, 1/2MIC 黄绵马酸 BB 能显著下调 PBP1 mRNA 表达水平, 从而抑制菌体的分裂, 阻碍细菌的正常繁殖。2MIC 黄绵马酸 BB 能显著上调 PBP1 mRNA 表达水平, 黄绵马酸 BB 能使 MRSA 的染色体发生固缩。研究发现, MRSA 的 DNA 受损引发的反应会使 PBP1 表达代偿性增加^[21], 表明 2MIC 黄绵马酸 BB 能够造成 MRSA 的 DNA 的损伤, 从而上调 PBP1 mRNA

表达水平。

综上所述,本研究以造成 SSTI 的主要病原菌金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌为研究对象,阐述了黄绵马酸 BB 抗菌活性及机制,为抗 SSTI 新药开发提供理论基础。细菌的耐药性与其生物被膜的形成密切相关^[22],课题组后续将对黄绵马酸 BB 抑制生物被膜的作用及机制进行深入探究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Salatin S, Lotfipour F, Jelvehgari M. A brief overview on nano-sized materials used in the topical treatment of skin and soft tissue bacterial infections [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2019, 16(12): 1313-1331.
- [2] 刘韬滔, 刘亚林, 何清, 等. 软组织感染致脓毒性休克的早期诊断与治疗 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2020, 29(1): 76-81.
- [3] 柯晓苹, 蔡良奇, 林维嘉. 皮肤软组织感染人群病原菌分布与其耐药性分析 [J]. *中国医院药学杂志*, 2019, 39(20): 2073-2076.
- [4] 万东芳, 万永山, 朱红军, 等. 皮肤软组织感染患者金黄色葡萄球菌感染状况研究 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(1): 32-35.
- [5] 陈雪琴. 589 株社区获得性皮肤软组织感染病原菌分布及耐药性分析 [D]. 遵义: 遵义医科大学, 2019.
- [6] 廖国建, 彭希希, 田俊, 等. 达托霉素耐药分子机制研究进展 [J]. *生物工程学报*, 2018, 34(6): 832-838.
- [7] Hu H C, Kao K C, Chiu L C, *et al.* Clinical outcomes and molecular typing of heterogenous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* bacteremia in patients in intensive care units [J]. *BMC Infect Dis*, 2015, 15: 444.
- [8] Chung D R, Lee C, Kang Y R, *et al.* Genotype-specific prevalence of heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in Asian countries [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2015, 46(3): 338-341.
- [9] 陈玲玲, 梁彦涛, 卜志刚, 等. 黑龙江省香鳞毛蕨六个天然分布地种群结构分析 [J]. *北方园艺*, 2016, 40(24): 70-76.
- [10] 朱冲冲, 彭冰, 曾祖平, 等. 香鳞毛蕨的化学成分及药理作用研究进展 [J]. *中国药房*, 2017, 28(10): 1418-1423.
- [11] 康廷国. 中药鉴定学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 115.
- [12] 谢强, 林玉桓, 苗淑萍, 等. 香芹酚对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌细胞膜的影响 [J]. *食品工业科技*, 2014, 35(23): 54-58.
- [13] 樊莉, 孙凤军, 枉前, 等. 亚抑菌浓度抗菌药物对多重耐药鲍曼不动杆菌生物膜形成的影响 [J]. *中国药房*, 2018, 29(22): 3129-3134.
- [14] 李晓娟. 香鳞毛蕨精油和间苯三酚类成分提取分离及其抑菌活性研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2012.
- [15] 郑跃, 席云, 赖维, 等. 皮肤软组织感染致病菌的菌种构成和药敏变化趋势分析 [J]. *皮肤性病诊疗学杂志*, 2014, 21(1): 29-33.
- [16] 王敏, 原明明, 李树君, 等. 成人细菌性皮肤病的病原菌分布与耐药性研究 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2020, 15(7): 846-849.
- [17] 梁玉婷, 宋国强, 林楚怡, 等. 香鳞毛蕨化学成分及其体外抗浅部真菌活性研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2019, 31(10): 1758-1763.
- [18] 周本宏, 李妍, 周梦宇, 等. 消炎抗菌片的抗菌活性及对福氏志贺氏菌的抗菌机制初步探讨 [J]. *中国医院药学杂志*, 2018, 38(23): 2429-2433.
- [19] 刘蓉, 唐方, 凌海慧, 等. 紫苏叶油对结肠平滑肌细胞钙离子和膜电位的作用 [J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(6): 1302-1304.
- [20] Pereira S F, Henriques A O, Pinho M G, *et al.* Evidence for a dual role of PBP₁ in the cell division and cell separation of *Staphylococcus aureus* [J]. *Mol Microbiol*, 2009, 72(4): 895-904.
- [21] Plata K B, Riosa S, Singh C R, *et al.* Targeting of PBP₁ by β -lactams determines recA/SOS response activation in heterogeneous MRSA clinical strains [J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e61083.
- [22] 王洪彬, 朱利霞, 于秀剑, 等. 细菌生物被膜研究进展 [J]. *动物医学进展*, 2019, 40(9): 74-79.

[责任编辑 李亚楠]