

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.20.016

山豆根对金黄色葡萄球菌毒力表达的影响*

黄少隆,张翠惠,黄冬枚,郭文婷,郑庆茹,周 湧[△]
广东省东莞市滨海湾中心医院检验科,广东东莞 523903

摘要:目的 探究山豆根对金黄色葡萄球菌(以下简称为金葡菌)毒力表达的影响,为临床用药进一步提供实验数据,丰富山豆根抗菌药用价值参考资料。**方法** 分别采用紫外吸光度法、扫描电镜、溶血试验法和 Western Blot 检测了山豆根作用后金葡菌细胞膜通透性、菌体形态变化,溶血活性和外毒素的表达。**结果** 亚抑菌浓度的山豆根能破坏细胞膜完整性并引起菌体变化,降低溶血能力和 α -溶血素、金葡菌 A 型肠毒素(SEA)和金葡菌 B 型肠毒素(SEB)分泌。**结论** 山豆根对金葡菌毒力有抑制作用。

关键词:山豆根; 金黄色葡萄球菌; 毒力表达

中图法分类号:R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)20-2803-05

Inhibitor of *Sophora tonkinensis* Gagnep on expression of virulence of *Staphylococcus aureus**

HUANG Shaolong, ZHANG Cuihui, HUANG Dongmei, GUO Wenting, ZHENG Qingru, ZHOU Yong[△]
Department of Clinical Laboratory, Binhaiwan Central Hospital of Dongguan,

Dongguan, Guangdong 523903, China

Abstract: Objective To explore the effect of *Sophora tonkinensis* Gagnep on the expression of virulence of *Staphylococcus aureus*, and to provide further experimental data for clinical drug use, so as to enrich the reference materials of medicinal antimicrobial value of *Sophora tonkinensis* Gagnep. **Methods** Ultraviolet absorbance, scanning electron microscopy, hemolysis assay and Western blot were used to detect the membrane permeability, morphological changes, hemolytic activity and exotoxin expression of *Staphylococcus aureus*. **Results** The integrity of cell membrane, hemolytic ability and secretion of α -hemolysin, SEA and SEB were damaged at subinhibitory concentration. **Conclusion** *Sophora tonkinensis* Gagnep can inhibit the expression of *Staphylococcus aureus* virulence.

Key words: *Sophora tonkinensis* Gagnep; *Staphylococcus aureus*; virulence express

对自然界中的细菌而言,金黄色葡萄球菌(以下简称为金葡菌)是最普通最广泛的存在,其对生长环境要求较低,耐受性强^[1],并能产生多种毒素,其中血浆凝固酶、溶血素、肠毒素、毒性休克综合征毒素等对感染人群威胁巨大^[2-3]。化脓、呕吐、腹泻、肠炎及休克是感染金葡菌的患者常出现的临床症状,更严重的是,当感染进一步发展成全身性败血症时,患者死亡的概率极高^[4-5]。然而由于抗菌药物的滥用,金葡菌耐药性增加的趋势变得越发难以控制,近些年甚至出现对万古霉素敏感性下降的耐甲氧西林金葡菌(MRSA)菌株^[6-7]。采用传统抗菌药物治疗已经面临严峻挑战,这迫使研究人员必须积极寻求新型抗菌药物。毒力因子就像金葡菌的武器,决定着其杀伤力的大小^[8],因此如何夺取和削弱“武器”是当前研究的热点。

山豆根,在中国有着悠久的运用历史,来自越南

槐的干燥根及根茎^[9],据记载这味中药材性寒、味苦,可用于清热、消肿、抗菌等^[10]。作为一味中药材却含有多生物碱,多糖及有机酸,药用价值较高,但与此同时也有一定的毒性效应,这吸引着人们不断对其进行探索和研究^[11]。近代研究更证实了山豆根醇提取物,在实验条件下具有抗病毒、抑菌、抗氧化的作用^[12-13]。但是,山豆根是否对金葡菌毒力表达有影响,迄今为止,尚未见关报道。本实验拟测定山豆根对金葡菌的最低抑菌浓度(MIC),细胞膜通透性、菌体形态变化、溶血活性和外毒素的影响,旨在为山豆根削弱毒力的机制研究及临床上山豆根在抗菌治疗中的应用提供参考。

1 资料与方法

1.1 菌株来源 金葡菌菌株 ATCC29213 来自广东省临床检验中心。MRSA 分离于临床患者标本。

1.2 仪器与试剂 主要试剂包括 β -半乳糖苷酶、脱

* 基金项目:广东省东莞市科学技术局项目(202050715025009)。

作者简介:黄少隆,女,主管技师,主要从事临床微生物检验的相关研究。 [△] 通信作者, E-mail: dgtpzy@126.com。

纤维兔血(Solarbio 公司), α -溶血素多克隆抗体和溶葡萄球菌素、金黄色葡萄球菌 A 型肠毒素(SEA)和金黄色葡萄球菌 B 型肠毒素(SEB)多克隆抗体、氮酪蛋白(Sigma 公司),HRP 标记的羊抗兔(Solarbio 公司)。主要仪器包括 Phenom G6 pure 型扫描电镜、菲勒 D-7 型分光光度计、EPS 600 型电泳仪(Tanon 公司)、Microfuge5804R 型台式冷冻离心机(Eppendorf 公司)、iQ5 型实时荧光定量 PCR 仪(Bio-Rad 公司)、HM-96A 型酶标仪(恒美科创公司)、Nano-600 型微量核酸分析仪(上海嘉鹏公司)、Tanon 5200 型全自动化学发光图像分析系统(Tanon 公司)。

1.3 方法

1.3.1 山豆根 用 40 目筛将粗粉过筛后取 1.5 g 于索氏提取器进行提取,为其湿润滴加 2 mL 无水乙醇-浓氨试液(3 : 2)。放置 0.5 h,再加 80 mL 三氯甲烷后进行 4 h 加热回流提取。提取液浓缩剩药渣后用甲醇溶解,移至容量瓶,混匀过滤,得到 1.5 g 提纯药粉,用于后续实验。

1.3.2 山豆根对金葡菌的 MIC 及金葡菌生长曲线测定^[14] 实验根据美国临床与实验室标准化协会(CLSI)推荐的标准方法来测定山豆根对金葡菌的 MIC。使用紫外分光光度计调定菌液浓度为 $A_{600}=0.4$ 。用 MH 培养基将该菌液再次稀释 100 倍,使得待测菌液的浓度达到 5×10^6 CFU/mL。量取上述提取 1.5 g 的山豆根药粉装入 1.5 mL 离心管中,将 1.5 g/mL 溶液稀释至 0.96 g/mL,后续再二倍稀释依次为 0.960 0、0.480 0、0.240 0、0.120 0、0.060 0、0.030 0、0.015 0、0.007 5 g/mL。配制完毕,每实验孔不同梯度浓度的 100 μ L 山豆根加上 100 μ L 菌悬液溶液,肉眼观察结果。生长曲线测定,调定菌液浓度 $A_{600}=0.4$,加入不同山豆根的量使得 30 mL 的溶液最终浓度调整为 0、0.015、0.030、0.060 g/mL。12 h 内每过 1 h 检测 A_{600} 并记录。整个实验过程锥形瓶均在摇床中继续培养。

1.3.3 金葡菌内膜渗性实验^[14] 调整菌液使 $A_{600}=0.4$,加入不同山豆根的量使得 30 mL 的溶液最终浓度调整为 0、0.015、0.030、0.060 g/mL。0~8 h 内每隔 2 h 从摇床上的不同培养液中各取出 20 mL,离心,去沉淀,往上清液中加入邻硝基苯- β -D-半乳糖苷(ONPG)进行反应,其浓度为 0.05 mol/L。底物反应于水浴箱中进行,反应环境为 37 $^{\circ}$ C,40 min。加入 8 mL 浓度为 0.5 mol/L Na_2CO_3 终止反应,充分溶解,检测 A_{420} (反映 β -半乳糖苷酶的活性, β -半乳糖苷酶的活性越高,金葡菌内膜渗性就越高,表明细胞膜完整性受到破坏)。

1.3.4 扫描电镜实验实验^[14] 按照要求制备玻片。调整菌液使 $A_{600}=0.4$,将菌液加入 24 孔板中 37 $^{\circ}$ C

培养过夜。次日,将 0.03 g/mL 山豆根加入到菌悬液中作用 0、1.5、3.0 h。磷酸盐缓冲液(PBS)缓慢地冲洗 24 孔板底部 3 次,每次 15 min,戊二醛进行固定 2 h。冲洗后再用钨酸固定 30 min,使用 50%、70%、80%、90%、100%的乙醇冲洗。最后使用叔丁醇置换乙醇,真空干燥,离子喷金,进行扫描电镜观察。

1.3.5 山豆根对金葡菌的溶血能力的影响 按上述方法配制山豆根浓度为 0 g/mL(作对照)及 0.015、0.030、0.060 g/mL,并与阴性对照(未加入金葡菌)进行比对。金葡菌菌液离心弃沉淀,取 100 μ L 上清液,800 μ L 缓冲液,25 μ L 脱纤维兔血混匀。放置 37 $^{\circ}$ C 温箱 30 min 后离心,检测 A_{543} 。

1.3.6 测定山豆根作用后金葡菌外毒素的表达 调整菌液使 $A_{600}=0.3$,加入不同山豆根的量使得 30 mL 的溶液最终浓度为 0、0.015、0.030、0.060 g/mL。当加有药液的菌液 $A_{600}=2.5$ 时,每个梯度取 2 mL 菌悬液进行离心,分离上清液,沉淀蛋白。次日重复一次,保留沉淀,用冰乙醇进行反复洗涤 3 次风干。最后加入 1 μ L 苯甲基磺酰氟(PMSF)和 10 μ L 0.1 mol/L 的 Tris 缓冲液将沉淀溶解后进行 Western blot 检测。

1.4 统计学处理 应用 SPSS18.0 统计软件进行数据分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 山豆根的 MIC 及其对金葡菌生长的影响 对于金葡菌标准株 ATCC29213,山豆根的 MIC 为 0.06 g/mL。对于 MRSA 菌株观察得到抑菌作用略差, MIC 为 0.12 g/mL。不同浓度山豆根作用下金葡菌的生长曲线见表 1、图 1,在同一时间点上山豆根浓度越高,对生长的抑制越明显。

表 1 不同浓度山豆根作用下金葡菌菌液 A_{600} 的检测值($\bar{x}\pm s$)

时间 (h)	不同浓度山豆根作用下的 MRSA 菌株菌液 A_{600}			
	0 g/mL	0.015 g/mL	0.030 g/mL	0.060 g/mL
0	0.49 $\pm$ 0.03	0.51 $\pm$ 0.05	0.54 $\pm$ 0.02	0.56 $\pm$ 0.01
1	0.82 $\pm$ 0.04	0.80 $\pm$ 0.02	0.73 $\pm$ 0.02	0.71 $\pm$ 0.05
2	1.45 $\pm$ 0.02	1.36 $\pm$ 0.04	1.19 $\pm$ 0.07	0.76 $\pm$ 0.02
3	1.49 $\pm$ 0.02	1.39 $\pm$ 0.05	1.23 $\pm$ 0.01	0.81 $\pm$ 0.04
4	1.66 $\pm$ 0.03	1.61 $\pm$ 0.05	1.34 $\pm$ 0.05	0.83 $\pm$ 0.02
5	1.78 $\pm$ 0.03	1.71 $\pm$ 0.04	1.39 $\pm$ 0.04	0.94 $\pm$ 0.02
6	1.86 $\pm$ 0.02	1.75 $\pm$ 0.25	1.43 $\pm$ 0.02	1.01 $\pm$ 0.01
7	2.09 $\pm$ 0.06	1.92 $\pm$ 0.02	1.48 $\pm$ 0.03	1.06 $\pm$ 0.05
8	2.31 $\pm$ 0.08	2.05 $\pm$ 0.05	1.53 $\pm$ 0.02	1.10 $\pm$ 0.01
9	2.41 $\pm$ 0.07	2.07 $\pm$ 0.06	1.63 $\pm$ 0.06	1.02 $\pm$ 0.03

续表 1

不同浓度山豆根作用下金葡萄菌液

A_{600} 的检测值($\bar{x} \pm s$)

时间	不同浓度山豆根作用下的金葡萄菌液 A_{600}			
(h)	0 g/mL	0.015 g/mL	0.030 g/mL	0.060 g/mL
10	2.42±0.07	2.16±0.02	1.75±0.03	0.98±0.01
11	2.54±0.02	2.26±0.06	1.85±0.04	0.85±0.03
12	2.56±0.01	2.29±0.15	1.93±0.06	0.84±0.02

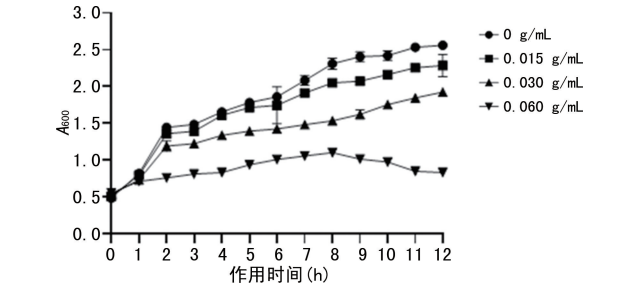


图 1 不同浓度山豆根作用下金葡萄的生长曲线

2.2 山豆根作用不同时间点的金葡萄内膜通透性的变化 随着山豆根浓度的升高,β-半乳糖苷酶的活性也逐渐增加,见表 2、图 2。

2.3 扫描电镜下细菌的形态分析 在 0.03 g/mL 山豆根刺激作用下,0、1.5、3.0 h 不同时间点,细胞形态

发生着显著的改变。对照组中,菌体形态正常呈现圆形均匀,细胞膜完整,表面平滑没有粘连。山豆根作用 1.5 或 3.0 h 时细胞均有不同程度的变化,菌体形态不再是完整的球状,1.5 h 时的细菌已破裂,发生扭曲,凹陷,但有少数菌体仍处于完整的状态。3.0 h 时,菌体破裂程度进一步加深,周围出现碎片,菌体数量减。见图 3。

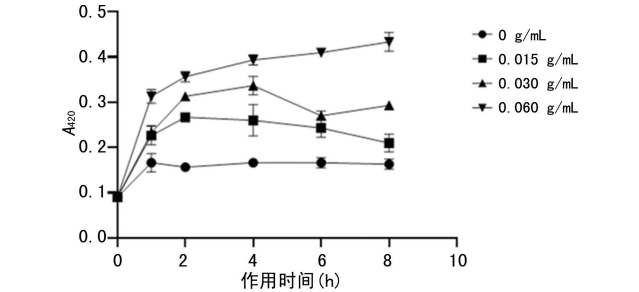
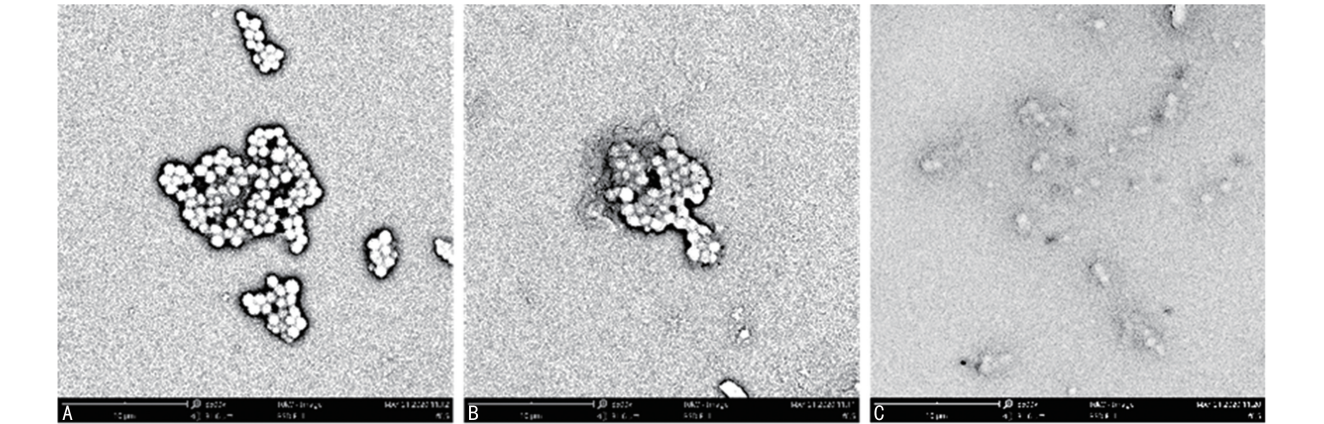


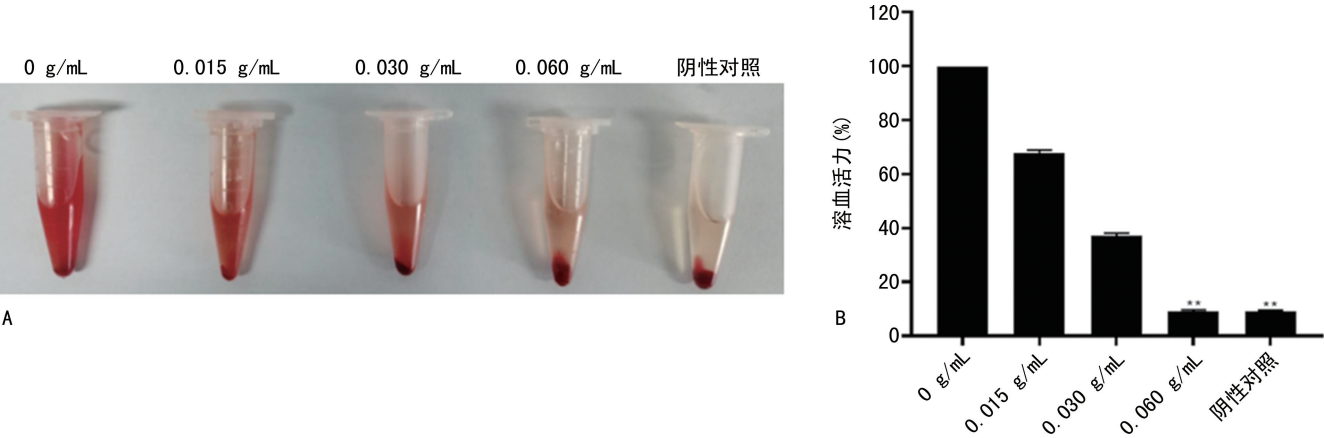
图 2 山豆根作用后金葡萄 β-半乳糖苷酶的活力变化

2.4 山豆根对金葡萄溶血活力的影响 在 0、0.015、0.030、0.060 g/mL 浓度的山豆根作用下,金葡萄溶血能力呈逐渐下降趋势,溶液颜色逐渐由红色变成无色,溶血活力分别为 100.00%、67.80%、37.13%、9.11%、9.01%,见图 4。



注:A 为对照组;B 为山豆根作用 1.5 h 时;C 为山豆根作用 3.0 h 时。

图 3 山豆根作用金葡萄菌体扫描电镜图



注:A 为溶液颜色观察;B 为菌株溶血活力随山豆根作用浓度的变化情况; ** 表示与未标记组比较 $P < 0.05$ 。

图 4 山豆根作用下金葡萄溶血活力分析

表 2 不同浓度山豆根作用下 MRSA 菌株菌液在 A ₄₂₀ 的检测值($\bar{x} \pm s$)				
时间 (h)	不同浓度山豆根作用下的 MRSA 菌株菌液 A ₄₂₀			
	0 g/mL	0.015 g/mL	0.030 g/mL	0.060 g/mL
0	0.09±0.01	0.09±0.01	0.09±0.01	0.09±0.01
1	0.17±0.02	0.23±0.02	0.23±0.02	0.31±0.02
2	0.16±0.01	0.27±0.01	0.31±0.01	0.36±0.01
4	0.17±0.01	0.26±0.03	0.34±0.02	0.39±0.01
6	0.17±0.01	0.24±0.02	0.27±0.01	0.41±0.01
8	0.16±0.01	0.21±0.02	0.29±0.01	0.44±0.02

2.5 Western blot 检测山豆根对毒力蛋白的影响

随着山豆根浓度增加,蛋白条带宽度变窄,说明山豆根对金葡菌这 3 种毒素表达量的影响随作用浓度的增加而增加。山豆根作用浓度为 0.060 g/mL 时,SEA 和 SEB 的条带颜色几乎看不见,即此浓度下可以完全抑制 SEA 和 SEB 的分泌。因此,MIC 的山豆根对金葡菌所分泌的有着显著的抑制作用,且作用效果有剂量依赖性。见图 5。

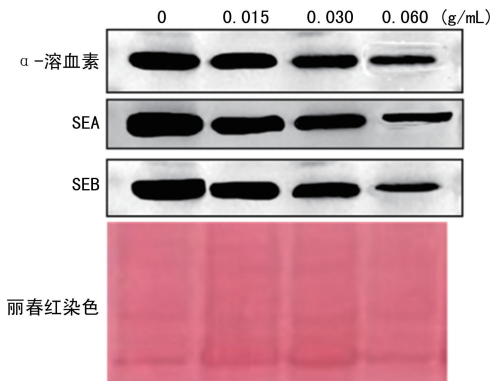


图 5 亚抑菌浓度的山豆根对 MRSA 菌株分泌的 α -溶血素、SEA 以及 SEB 蛋白的 western blot 分析

3 讨 论

控制细菌感染的治疗中,抗菌药物的使用无疑是人类手中的杀手锏,然而细菌耐药性的发展正是为躲避“追杀”而演化出的特殊技能,人类对此无能为力。研究表明,金葡菌可以通过群体感应系统来感知外部感染环境及菌群的密度的变化,从而调节菌群的速度及多种毒力因子包括 α -溶血素、SEA 以及 SEB 等的表达^[15],使菌群群体行为更有利于生存。如果控制细菌毒力的表达同时又不对细菌生存产生选择性的压力,这可能是阻止细菌耐药发展进程的最佳手段。同时,当细菌失去了毒力因子后,攻击力大幅度下降,此时机体的免疫系统则可以发挥更全面更有效的清除作用^[16]。因此,许多研究者把目光转向天然的中草药抑菌研究中,以期从中分离出此类抗菌抑制物。研究表明,山豆根中含有黄酮类、生物碱类、酚类、皂苷类、有机酸、多糖、微量元素等多种化学成分^[17],清热解毒

的特性可用于临床上咽喉肿痛、牙龈发炎、肝炎、黄疸等病症。近年来,其在抗菌及抗病毒方面的作用的研究也备受关注。苦参碱类为山豆根根状茎中主要的活性成分之一,研究表明其对 H3N2 流感病毒及柯萨奇 B3 病毒有着明显的抑制作用^[18],而乙型肝炎病毒则对喹诺里西啶类生物碱敏感^[19]。山豆根中含有的众多生物碱对多种细菌也具有抑制作用,呈现量效关系^[20]。但山豆根对金葡菌抑制作用研究甚少,基于此本实验从金葡菌的生长、细胞膜完整性、溶血能力及外毒素的表达等方面进行研究,现分析如下。

山豆根对金葡菌的生长抑制作用较差,对于金葡菌标准株 ATCC29213,山豆根的 MIC 为 0.060 g/mL。同时对比发现,其对于 MRSA 菌株抑制作用更弱,MIC 为 0.120 g/mL,提高了 1 倍。随着作用时间增加,每个浓度梯度的金葡菌均有所增殖,但速率却不尽相同。无山豆根组曲线反映的是在正常不受任何外界环境的刺激下的生长情况,金葡菌在各个时间点的菌液吸光度始终呈现上升趋势。在 0.015 g/mL 山豆根作用后,生长曲线略低于正常生长曲线,在 0.030 g/mL 山豆根的作用下,金葡菌的增殖更加缓慢;在 0.60 g/mL 山豆根作用下,9 h 后金葡菌的生长曲线明显受到抑制。

金葡菌正常的生长状态下, β -半乳糖苷酶存在于细胞膜内,并不会分泌到外界。但如果当细胞膜完整性受到破坏, β -半乳糖苷酶便会通过膜渗透到悬液中,使 A 值发生改变。所以,可通过检测 β -半乳糖苷酶的活力来研究山豆根对金葡菌细胞内膜的破坏程度。实验表明,山豆根可破坏金葡菌细胞膜通透性,增加山豆根的浓度,可升高溶液的 A₄₂₀ 值,两者存在正相关性,这表明山豆根对金葡菌细胞膜通透性破坏能力呈剂量依赖性。随着山豆根浓度的升高, β -半乳糖苷酶的活性也逐渐增加。山豆根破坏了细胞膜的完整性,浓度越高破坏力越强,细胞膜的内膜通透性增大, β -半乳糖苷酶从胞内流入胞外。在本次研究中,当山豆根浓度为 0.060 g/mL 时,其能够持续作用于金葡菌细胞膜,而 0.015 g/mL 和 0.030 g/mL 的时间线均呈现出抛物线,分别在 2 h 和 4 h 达到高峰。这表明,山豆根浓度为 0.060 g/mL 时对金葡菌感染治疗有较理想的药用价值。为了更直观地证明山豆根主要作用于金葡菌细胞膜结构,本实验利用扫描电镜从形态上判断菌体细胞是否受到山豆根的伤害。从图中可以看出,在山豆根作用下的金葡菌细胞膜结构均受到不同程度的破坏,特别是作用 3 h 后可以明显观察到菌体周围出现碎片,细菌数量减少等现象。根据以往研究报导,可以推断出在山豆根作用下,它可以首先作用于蛋白质,脂质等细胞外膜,随着时间的增加,它可以穿过肽聚糖进入细胞膜,使得细胞膜发生

显著的弯曲和畸形。

金葡菌的溶血素有着很强大的溶血能力,对人类细胞破结构坏力巨大,并在细胞膜表面形成多聚体通道,造成细胞内信号肽、蛋白质、无机盐、酶等生物分子流失。溶血素还可以引起血管抽搐,造成血流不畅,导致组织缺血坏死。如果大量的溶血素进入大脑血管,可以使人脑生物电骤停,使生命体死亡。本实验主要通过测定不同浓度下的山豆根对金葡菌溶血活力的抑制作用,分别从定性以及定量两个方面来加以说明。实验可以直观地反映出有山豆根作用的金葡菌的溶血能力比无山豆根组弱,当浓度足够大时,溶液颜色达到最浅接近空白组。从定量的实验分析,在 0.015、0.030、0.060 g/mL 的山豆根作用下,金葡萄溶血能力分别为 67.80%、37.13%、9.11%,逐渐下降到与空白组的 9.01%相近。由以上可以得出结论,亚抑菌浓度下的随着山豆根作用浓度增加金葡菌的溶血能力下降。

Western blot 从蛋白质水平分析了在 0、0.015、0.030、0.060 g/mL 的山豆根对 3 种金葡菌毒力蛋白 α -溶血素、SEA 和 SEB 的抑制情况。实验发现:相较于无山豆根组,加了山豆根的实验组随着山豆根浓度增大,条带宽度也越来越窄,表明这 3 种毒力蛋白表达减少。在 0.06 g/mL 的山豆根作用下,抑制的作用最明显。由此得出,亚抑菌浓度下的山豆根对金葡菌所分泌的 α -溶血素、SEA 和 SEB 有着明显的抑制作用,且作用效果呈剂量依赖性。

综上所述,提纯后山豆根粉对金葡菌的生长抑制作用不明显,对于 MRSA 菌株更是提高了一倍。但在亚抑菌浓度下可使菌体胞膜的完整性被破坏使菌体形态发生改变,同时溶血活性下降, α -溶血素、SEA 和 SEB 表达减少。鉴于各种毒素因子在金葡菌致病过程中的关键作用,山豆根具有成为抗金葡菌感染药物的潜力。

参考文献

- [1] BALASUBRAMANIAN D, HARPER L, SHOPSIN B, et al. *Staphylococcus aureus* pathogenesis in diverse host environments[J]. *Pathog Dis*, 2017, 75(1): ftx005.
- [2] TAM K, TORRES V J. *Staphylococcus aureus* secreted toxins and extracellular enzymes[J]. *Microbiol Spectr*, 2019, 7(2): 10.
- [3] OLIVEIRA D, BORGES A, SIMOES M. *Staphylococcus aureus* toxins and their molecular activity in infectious diseases[J]. *Toxins (Basel)*, 2018, 10(6): 252.

- [4] CHALMERS S J, WYLAM M E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection and treatment options [J]. *Methods Mol Biol*, 2020, 2069: 229-251.
- [5] JUNG N, RIEG S. Essentials in the management of *S. aureus* bloodstream infection [J]. *Infection*, 2018, 46 (4): 441-442.
- [6] DIAZ R, AFREIXO V, RAMALHEIRA E, et al. Evaluation of vancomycin MIC creep in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections-a systematic review and meta-analysis[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2018, 24(2): 97-104.
- [7] 郑旭婷, 陈佰义. 万古霉素敏感性下降的金黄色葡萄球菌的临床意义及对策[J]. *实用临床医药杂志*, 2019, 23(9): 119-123.
- [8] JENUL C, HORSWILL A R. Regulation of *Staphylococcus aureus* virulence[J]. *Microbiol Spectr*, 2019, 7(2): 1110-1128.
- [9] 程钱, 王金凤, 王宝丽, 等. 山豆根化学成分、生物活性及质量控制研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2017, 19(7): 119-125.
- [10] 孙文学, 宁炼, 唐黎明. 山豆根保肝作用与肝毒性研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(10): 50-54.
- [11] 邹恒伟. 山豆根的研究进展与趋势[J]. *广西农学报*, 2014, 29(3): 43-47.
- [12] 胡庭俊, 苏丽娟, 帅学宏, 等. 山豆根提取物的制备与体外抗菌及清除自由基作用的实验[J]. *广西畜牧兽医*, 2009, 25(3): 136-138.
- [13] PAN Q M, LI Y H, HUA J, et al. Antiviral matrine-type alkaloids from the rhizomes of *Sophora tonkinensis* [J]. *J Nat Prod*, 2015, 78(7): 1683-1686.
- [14] 车美垚. 盐酸小檗碱抑制金黄色葡萄球菌 α -溶血素及其诱导的氧化损伤[D]. 长春: 吉林大学, 2018.
- [15] 刘宗争, 邓旭明, 王建锋. 胡椒碱抑制金黄色葡萄球菌 α -溶血素的表达研究[J]. *黑龙江畜牧兽医(上半月)*, 2019(19): 129-132.
- [16] CIN K, NEOH H, NATHAN S. Targeting *Staphylococcus aureus* toxins: a potential form of anti-virulence therapy[J]. *Toxins (Basel)*, 2016, 8(3): 72-75.
- [17] 郑丽娜, 孙虎, 谢元璋, 等. 山豆根化学成分与功效、毒性相互关系的研究进展[J]. *食品与药品*, 2011, 13(5): 205.
- [18] 潘其明. 山豆根化学成分及生物活性的研究[D]. 桂林: 广西师范大学, 2016.
- [19] 徐锦龙, 段宝忠, 马卫成. 基于数据分析苦参碱对肝脏的作用[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2019, 29(1): 79-81.
- [20] 李维新. 管萆山豆根中生物碱的制备及其活性研究[D]. 吉首: 吉首大学, 2020.

(收稿日期: 2022-01-10 修回日期: 2022-06-12)