

小檗碱对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的体外抑菌作用

谷雪妹, 周芳芳[#], 林 明, 王 蕾^{*}
(上海市第八人民医院检验科, 上海 200235)

摘要: **目的** 观察小檗碱及其联合 3 种抗生素(庆大霉素、左氧氟沙星、阿米卡星)对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的抑菌效果。**方法** 采用微量肉汤稀释法测定小檗碱、庆大霉素、左氧氟沙星、阿米卡星对 26 株临床分离的 MRSA 的 MIC 值;棋盘法测定小檗碱联合庆大霉素、左氧氟沙星、阿米卡星对 MRSA 的 MIC 值,观察小檗碱对 MRSA 的抑菌效果;时间杀伤曲线研究小檗碱联合抗生素对 MRSA 的抑菌动力学。**结果** 26 株 MRSA 对苯唑西林耐药,5 株对庆大霉素耐药,17 株对左氧氟沙星耐药,6 株对阿米卡星耐药,22 株对克林霉素耐药,19 株对环丙沙星耐药,21 株对红霉素耐药,18 株对莫西沙星耐药,1 株对复方新诺明耐药,17 株对四环素耐药,26 株均对利福平、利奈唑胺、万古霉素均敏感。小檗碱对 USA300 的 MIC 值为 128 $\mu\text{g/mL}$,对 26 株 MRSA 的 MIC 范围为 32~256 $\mu\text{g/mL}$ 。小檗碱与庆大霉素联合后,4 株(80%)呈相加作用;小檗碱与左氧氟沙星联合后,3 株(17.64%)呈相加作用;小檗碱与阿米卡星联合后,4 株(66.67%)呈协同作用,1 株(16.67%)呈相加作用。64 $\mu\text{g/mL}$ 小檗碱联合 16 $\mu\text{g/mL}$ 庆大霉素抑菌效果最好;64 $\mu\text{g/mL}$ 小檗碱联合 64、32 $\mu\text{g/mL}$ 左氧氟沙星抑菌效果最好;32 $\mu\text{g/mL}$ 小檗碱联合 4 $\mu\text{g/mL}$ 阿米卡星对 MRSA02 有较好的抑菌效果。**结论** 小檗碱对 MRSA 有较理想的抑菌效果;小檗碱联合庆大霉素、阿米卡星对 MRSA 均有明显的抑菌作用。

关键词: 小檗碱;耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA);联合用药;抗生素;抑菌效果

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)09-3150-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.09.051

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*)是化脓性感染中最常见的致病菌之一,可引起局部化脓感染、肺炎等,甚至败血症等全身感染^[1]。随着抗菌药物的广泛使用,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)已成为常见的耐药菌^[2]。MRSA 除对甲氧西林耐药外,对其他 β -内酰胺类抗生素均耐药,唯对万古霉素敏感^[3]。因此,一些天然抗生素被发掘用于治疗 MRSA 感染。

许多中草药均有抑菌作用,尤其是清热解毒类药^[4]。黄连解毒汤为清热解毒的经典名方,具有清热、泻火、解毒功效,对铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌等均有明显的抑菌作用,尤其对金黄色葡萄球菌抑菌效果显著^[5]。相关研究表明,黄连解毒汤主要有效成分小檗碱对多种细菌具有抗菌活性^[6-7],小檗碱是治疗肠道感染的常用药之一^[6]。目前相关研究表明小檗碱除了具有抗菌作用外^[7-9],还有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、降血糖等作用^[10-14]。研究发现,小檗碱对大肠杆菌及枯草芽孢杆菌均有较好的

抑菌作用^[15]。

目前常规使用价格低廉的氨基糖苷类抗生素(庆大霉素、阿米卡星)及喹诺酮类抗生素(左氧氟沙星)等治疗 MRSA 效果不佳,本研究重点关注小檗碱对临床分离菌 MRSA 的抑菌效果及观察小檗碱联合上述 3 种抗生素的抑菌效果。

1 材料

1.1 菌株 USA300 为中国科学院上海药物研究所蓝乐夫课题组赠送。26 株 MRSA 菌株均来自于本院 2016 年 10 月至 2017 年 3 月住院患者的各种临床标本(经上海市第八人民医院伦理委员会审批通过,伦理审批号 2023-058-18),所有 MRSA 菌株均在医院微生物实验室通过自动化的药敏系统(VETEK 2 Compact 全自动微生物鉴定仪,法国生物梅里埃公司)进行鉴定。此外,26 株 MRSA 分离株的基因型通过 PCR 鉴定 *mecA* 基因, *mecA* 引物正向序列 5'-GTAGAAATGACTGAACGTCGATAA-3',反向序列 5'-TTACAGAGTTAACTGTTACC-3',长度 310 bp。确定为

收稿日期: 2023-04-28

基金项目: 上海市综合医院中西医结合专项(ZHYY-ZXYJHZX-202104);上海市徐汇区医学重点学科(SHXHZDXK202322)

作者简介: 谷雪妹(1996—),女,主管技师,从事临床微生物检验研究。Tel: (021) 34284588—1326, E-mail: guxuemei1996@163.com

#共同第一作者: 周芳芳(1991—),女,主管技师,从事临床微生物检验及多重耐药菌耐药机制研究。Tel: (021) 34284588—1326, E-mail: zhoufangfang711@163.com

***通信作者:** 王 蕾(1966—),女,硕士,主任技师,从事感染性疾病、肿瘤及其自身免疫性疾病的实验诊断及中西医结合临床检验相关研究。Tel: (021) 34284588—1328, E-mail: wolei6610@126.com

MRSA 后, 将 26 株 MRSA 菌株依次编号为 MRSA01 ~ MRSA26。

1.2 药物 小檗碱 (东北制药集团股份有限公司, 批号 0361611030) 用二甲亚砜 [生工生物工程 (上海) 股份有限公司, 批号 A610163] 制成 32 mg/mL 的药液, 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌后, 分装于灭菌的 EP 管中, 置于 4 ℃ 冰箱保存备用。庆大霉素注射液 (山东鲁抗辰欣药业股份有限公司, 批号 1607252211)、阿米卡星注射液 (上海信谊金朱药业有限公司, 批号 1611107)、左氧氟沙星注射液 (扬子江药业集团有限公司, 批号 16080231) 均用无菌去离子水制成 1 024 μg/mL 的药液, 现配现用。

2 方法

2.1 全自动微生物鉴定仪鉴定细菌药敏实验 使用 18 ~ 24 h 分纯细菌, 选择革兰氏阳性球菌药敏卡, 使用前将卡片和盐水瓶从冰箱里取出, 恢复至室温, 在载卡架上放置 2 根一次性的 75 mm×12 mm 透明塑料管, 每管加入 3 mL 无菌盐水 (0.45% NaCl, pH 4.5 至 7.0), 用比浊仪调菌悬液至 0.5 麦氏单位, 按鉴定管在前、药敏管在后的顺序放置于载卡架上, 同时从鉴定管中吸取 280 μL 菌悬液至药敏管, 鉴定卡和药敏卡分别插入管中, 进行上机, 等待结果。

2.2 小檗碱及抗生素敏感性实验 参照 2023 年版美国临床和实验室标准协会 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)^[16] 标准, 采用微量肉汤稀释法观察小檗碱、庆大霉素、左氧氟沙星及阿米卡星对 26 株临床分离 MRSA 的 MIC。用 M-H 肉汤将小檗碱溶液和抗生素药液依次倍比稀释至终质量浓度为 8、16、32、64、128、256、512、1 024 μg/mL。取 96 孔板, 每孔依次加入不同质量浓度的小檗碱溶液或抗生素药液 100 μL。配制 0.5 麦氏比浊标准的菌悬液, 经 M-H 肉汤 1 : 100 稀释, 96 孔板每孔依次加入菌悬液 100 μL, 于二氧化碳培养箱 (上海力康生物安全柜) 37 ℃ 过夜培养 24 h, 无细菌生长的最低药物浓度为 MIC。

2.3 小檗碱联合抗生素协同实验 分别选取 5 株对庆大霉素耐药 (MRSA02、11、13、15、18)、17 株对左氧氟沙星耐药 (MRSA02~07、10~11、15~22、24) 及 6 株对阿米卡星耐药 (MRSA02、03、05、15、18~19) 的 MRSA, 采用棋盘法进行联合抑菌实验。在试管中用 M-H 肉汤将小檗碱溶液稀释至 4 个稀释度 (32、64、128、256 μg/mL); 庆大霉素、左氧氟沙星和阿米卡星药液分别用 M-H 肉汤稀释至 8 个倍比稀释度 (8、16、32、64、128、256、512、1 024 μg/mL); 配制 0.5 麦氏单位浓度的标准菌悬液, 经 M-H 肉汤 1 : 100 稀释; 各取 50 μL 不同质量浓度 (小檗碱溶液 32、64、128、256 μg/mL; 庆大霉素、阿米卡星、左氧氟沙星溶液 8、16、32、64、128、256、512、1 024 μg/mL) 分别加在 96 孔板的行与列上, 然后在无菌微孔板中加入 100 μL 菌悬液, 小檗碱终质量浓度分别为 8、16、32、64 μg/mL, 庆大霉素、阿米卡星、左氧氟沙星溶液终质量浓度分别为 2、4、8、16、32、64、128、256

μg/mL, 37 ℃ 过夜培养 24 h。经 24 h 培养后, 无细菌生长的最低药物浓度为 MIC; 通过计算联合抑菌指数 (fractional inhibitory concentration index, FICI) 判断相互作用。公式为 $FICI = \frac{\text{联合用药时甲药 MIC}}{\text{单独应用甲药时 MIC}} + \frac{\text{联合应用乙药时 MIC}}{\text{单独应用乙药时 MIC}}$, $FICI \leq 0.5$ 、 $0.5 \sim 1$ 、 $1 \sim 2$ 、 >2 分别表示协同、相加、无关、拮抗作用^[17]。

2.4 时间-杀伤曲线实验 选取对 3 种抗生素均耐药的 MRSA02 菌株, 在体外评估其杀菌活性的动力学。将冷冻保存的 MRSA02 菌株接种在 LB 琼脂平板上, 并在 37 ℃ 下孵育过夜。收集几个分离良好的菌落, 并将其悬浮在 M-H 肉汤中; 然后将浊度调节至 0.5 McFarland 标准 (约 1.5×10^8 CFU/mL)。将 10 μL MRSA02 细菌悬液接种到补充有 0.1% BSA 的 20 mL M-H 肉汤中制备初始接种物。在摇床培养箱 (37 ℃, 200 r/min) 中放置 1 h 后, 将 2.7 mL 培养液平均分配到 6 个试管中, 并添加 0.03 mL 不同质量浓度的小檗碱 (102.4、51.2、25.6、12.8、6.4、3.2 mg/mL)。立即移出 0.03 mL 等分试样, 以确定初始 CFU (0 h)。继续孵育, 并在 0、2、4、6、8、10、14、22 h 时取 0.02 mL 等分试样。取样后立即将培养物在无菌盐水中连续稀释, 并接种在 TSA 琼脂上。平板孵育过夜后, 测定 CFU。根据在采样间隔内的细菌存活率绘制时间杀灭曲线^[18]。根据上述方法检测小檗碱联合 3 种抗生素杀菌活性的动力学。

3 结果

3.1 MRSA 耐药性分析 标准菌株 USA300 及 26 株临床分离 MRSA 菌株及在本院微生物实验室通过自动化的鉴定及药敏系统进行实验, 根据 2022 年 CLSI 标准判读结果^[16], 鉴定结果均显示为 MRSA。药敏结果显示, 26 株 MRSA 均对苯唑西林耐药, 5 株对庆大霉素耐药, 17 株对左氧氟沙星耐药, 6 株对阿米卡星耐药, 22 株对克林霉素耐药, 19 株对环丙沙星耐药, 21 株对红霉素耐药, 18 株对莫西沙星耐药, 1 株对复方新诺明耐药, 17 株对四环素耐药, 26 株均对利福平、利奈唑胺、万古霉素均敏感, 详见表 1。此外, 26 株临床 MRSA 分离株通过 PCR 鉴定 *mecA* 基因, 确定为 MRSA 菌株。

3.2 小檗碱、庆大霉素、左氧氟沙星、阿米卡星对 MRSA 的抑菌效果 如表 2 所示, 小檗碱对标准菌株 USA300 的 MIC 值为 128 μg/mL, 而对 26 株不同来源的 MRSA 的 MIC 值范围为 32~256 μg/mL, 这些结果表明小檗碱对标准菌株 USA300 及临床分离菌 MRSA 均有较强的抑菌效果, 与先前 Chu 等^[9] 研究结果小檗碱对标准菌株 ATCC33591 的 MIC 值为 128 μg/mL 一致。

3.3 小檗碱联合抗生素协同实验 如表 3 所示, 小檗碱与庆大霉素联合后, 4 株 (80%) 呈现相加作用; 小檗碱与左氧氟沙星联合, 仅有 3 株 (17.64%) 呈现相加作用; 小檗碱与阿米卡星联合后, 4 株 (66.67%) 呈协同作用, 1 株 (16.67%) 呈现相加作用。

表 1 26 株临床分离 MRSA 菌株药敏结果分析

标本号	苯唑西林	庆大霉素	左氧氟沙星	阿米卡星	克林霉素	环丙沙星	红霉素	利奈唑胺	莫西沙星	利福平	复方新诺明	四环素	万古霉素
MRSA01	R	S	S	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S
MRSA02	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	S
MRSA03	R	S	R	R	S	R	S	S	I	S	S	S	S
MRSA04	R	S	R	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S
MRSA05	R	S	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S
MRSA06	R	S	R	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S
MRSA07	R	S	R	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S
MRSA08	R	S	S	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S
MRSA09	R	S	S	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S
MRSA10	R	S	R	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S
MRSA11	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S
MRSA12	R	S	S	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S
MRSA13	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S
MRSA14	R	S	S	S	R	R	R	S	R	S	R	R	S
MRSA15	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	S
MRSA16	R	S	R	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S
MRSA17	R	S	R	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S
MRSA18	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	S
MRSA19	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MRSA20	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MRSA21	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
MRSA22	R	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	I	S
MRSA23	R	S	S	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S
MRSA24	R	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S
MRSA25	R	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S
MRSA26	R	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S
耐药数率/%	100	19. 23	65. 38	15. 38	84. 62	73. 08	80. 77	0	69. 23	0	3. 85	65. 38	0

注：S 表示敏感，R 表示耐药，I 表示中介。

表 2 小檗碱及 3 种抗生素对 MRSA 的抑菌效果

药物	标准菌株 MIC 值/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	26 株临床菌株 MIC 值/($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)				^A 耐药数/总数 (耐药率)
	USA300	范围		50%	90%	
		^a S	^a R			
小檗碱	128	32~256		64	128	^b N
庆大霉素	>512	0. 125~4	16~64	0. 5	32	5/26 (19. 23%)
左氧氟沙星	>512	0. 125~0. 5	8~256	16	256	17/26 (65. 38%)
阿米卡星	2	0. 125~2	64~256	0. 5	128	6/26 (23. 08%)

注：^a 根据 2022 版 CLSI：庆大霉素， $\geq 16\text{ }\mu\text{g/mL}$ 为耐药；左氧氟沙星， $\geq 4\text{ }\mu\text{g/mL}$ 为耐药；阿米卡星， $\geq 64\text{ }\mu\text{g/mL}$ 为耐药；S 表示敏感；R 表示耐药。^bN 表示没有具体指南评定小檗碱耐药及敏感的范围。^A 耐药数表示 26 株菌株数分别对庆大霉素、左氧氟沙星、阿米卡星的耐药菌株数。

表 3 小檗碱与抗生素联合使用对 MRSA 的抑菌效果

小檗碱联合抗生素	FICI 范围	FICI 中位数	棋盘法抑菌效果/株			
			协同	相加	无关	拮抗
小檗碱-庆大霉素	0. 53~1. 06	0. 56	0	4	1	0
小檗碱-左氧氟沙星	0. 62~1. 5	1. 125	0	3	14	0
小檗碱-阿米卡星	0. 16~1. 25	0. 26	4	1	1	0

注：FICI $\leq 0. 5$ 、 $0. 5\sim 1$ 、 $1\sim 2$ 、 > 2 分别表示协同、相加、无关、拮抗作用。

3.4 时间-杀伤曲线实验 如图 1A 所示， $64\text{ }\mu\text{g/mL}$ 小檗碱联合 $16\text{ }\mu\text{g/mL}$ 庆大霉素抑菌效果最好，且在作用后 4 h 呈最好的抑菌效果；如图 1B 所示， $64\text{ }\mu\text{g/mL}$ 小檗碱联合 64 、 $32\mu\text{g/mL}$ 左氧氟沙星抑菌效果最好，且在作用后 6 h 呈最好的抑菌效果；如图 1C 所示， $32\text{ }\mu\text{g/mL}$ 小檗碱联合

3152

$4\text{ }\mu\text{g/mL}$ 阿米卡星抑菌效果最好，且在作用后 6 h 呈最好的抑菌效果。随着小檗碱与抗生素质量浓度的增加，呈现明显的抑菌效果。

4 讨论

细菌的耐药性已被公认为全球最重要的公共卫生问题，

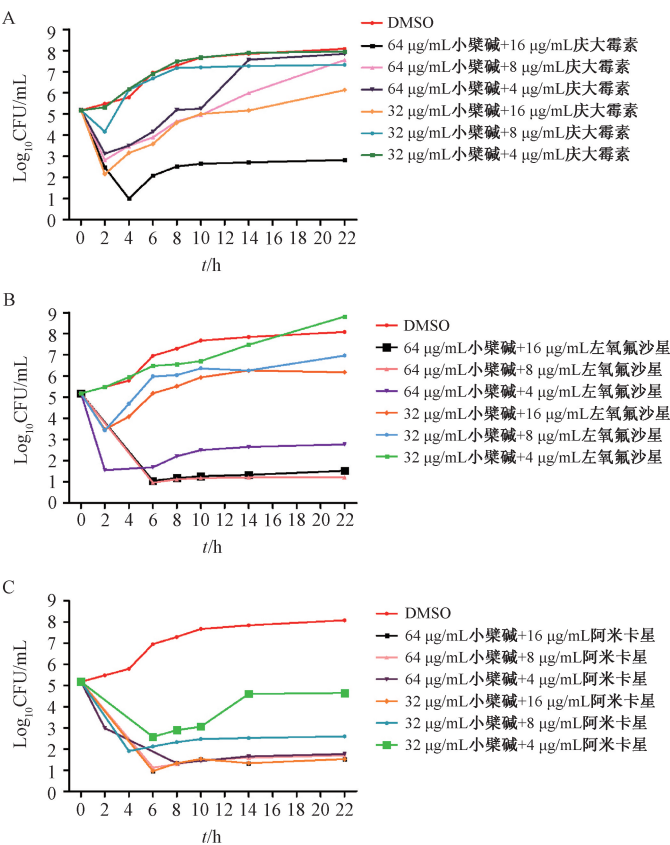


图 1 不同质量浓度小檗碱联合 3 种抗生素对 MRSA02 时间杀伤曲线图

耐药菌感染患者的临床治疗面临诸多挑战。而 MRSA 是引起医院和社区获得性感染的常见致病菌之一，其多重耐药性、反复感染及高致死率等特点严重威胁着人类健康。目前，万古霉素等糖肽类抗生素已被用作抵御 MRSA 感染的最后一道防线，但万古霉素有一定的肾毒性，对肾功能不全的患者的临床治疗带来一定的困难，因此迫切需要更有效的治疗方案。

近年来，中医药及中西医结合诊疗在感染性疾病治疗中的临床应用逐渐受到重视，其中最为关注的就是中药及其单体成分联合抗生素抑菌效果的研究。相关研究证实新型鱼腥草酸钠对包括葡萄球菌和肠球菌在内的革兰氏阳性菌具有较好的抑菌活性，MIC 值范围为 16~64 $\mu\text{g/mL}$ ^[19]。同样，黄连素是黄连的主要单体成分，又称之为小檗碱，具有广泛的生物活性，包括抗菌活性^[20]。本研究发现小檗碱在体外对 26 株 MRSA 有明显的抑菌效果，其 MIC 值范围为 32~256 $\mu\text{g/mL}$ ；通过时间-杀菌实验进一步证实，随着小檗碱质量浓度的增加，其抑菌活性逐渐增强。

此外，中药单体和抗生素联合抗感染治疗是目前研究的热点^[21]。相关研究发现新型鱼腥草素钠与苯唑西林或奈替米星联合使用时对金黄色葡萄球菌显示出协同抑菌作用^[19]。本研究发现，小檗碱联合庆大霉素、左氧氟沙星、阿米卡星在体外实验中对 MRSA 均有不同程度的协同或相

加抑菌效果。其中小檗碱联合氨基糖苷类抗生素阿米卡星有 67% 的菌株呈现协同抑菌效果，而与庆大霉素和左氧氟沙星的联合实验均无协同抑菌效果，所以小檗碱联合阿米卡星具有较好的抑菌效果。进一步通过时间-杀伤曲线观察到 32 $\mu\text{g/mL}$ 小檗碱联合 4 $\mu\text{g/mL}$ 阿米卡星对 MRSA02 有较好的抑菌效果，且作用后 6 h 呈最好的抑菌效果。

综上所述，本研究发现小檗碱对 MRSA 具有较强的抑菌活性，且小檗碱可以增强氨基糖苷类抗生素对 MRSA 的抗菌效果，两者发挥协同作用。课题组后续还将深入研究小檗碱对 MRSA 的抑菌机制。

参考文献：

[1] Qiu M, Xu Z. Berberine hydrochloride reduces staphyloxanthin synthesis by inhibiting *fni* genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Mol Biol Rep*, 2024, 51 (1) : 761-767.

[2] Arabestani M R, Rastiyani S, Alikhani M Y, *et al.* The relationship between prevalence of antibiotics resistance and virulence factors genes of MRSA and MSSA strains isolated from clinical samples, West Iran[J]. *Oman Med J*, 2018, 33(2) : 134-140.

[3] Yuan Z, Wang J, Qu Q, *et al.* Celastrol Combats methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by targeting Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase [J]. *Adv Sci (Wein)*, 2023, 10 (25) : e2302459.

[4] 赵英妹, 乔 昀. 8 种中草药临床常见菌株体外抑菌活性分析[J]. *检验医学*, 2019, 34(11) : 987-990.

[5] Qi Y, Zhang Q, Zhu H. Huang-Lian Jie-Du decoction; a review on phytochemical, pharmacological and pharmacokinetic investigations[J]. *Chin Med*, 2019, 14: 57-78.

[6] Yan Y Q, Fu Y J, Wu S, *et al.* Anti-influenza activity of berberine improves prognosis by reducing viral replication in mice[J]. *Phytother Res*, 2018, 32(12) : 2560-2567.

[7] Liang R M, Yong X L, Duan Y Q, *et al.* Potent *in vitro* synergism of fusidic acid (FA) and berberine chloride (BBR) against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2014, 30 (11) : 2861-2869.

[8] 周芳芳, 谷雪妹, 王 蕾, 等. 小檗碱对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌抑菌机制的研究[J]. *中华预防医学杂志*, 2023, 57(8) : 1217-1221.

[9] Chu M, Zhang M B, Liu Y C, *et al.* Role of berberine in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections [J]. *Sci Rep*, 2016, 22(6) : 24748-24756.

[10] Zhang S, Xu P, Zhu Z, *et al.* Acetylation of p65Lys310 by p300 in macrophages mediates anti-inflammatory property of berberine[J]. *Redox Biol*, 2023, 62: 102704-102720.

[11] Wang H, Li K, Ma L, *et al.* Berberine inhibits enterovirus 71 replication by downregulating the MEK/ERK signaling pathway and autophagy[J]. *Virol J*, 201, 14(1) : 2-9.

[12] Ruan H, Zhan Y Y, Hou J, *et al.* Berberine binds RXR α to

suppress β -catenin signaling in colon cancer cells [J]. *Oncogene*, 2017, 36(50): 6906-6918.

[13] Zhao M M, Lu J, Li S, *et al.* Berberine is an insulin secretagogue targeting the KCNH6 potassium channel[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 5616-5629.

[14] 庄泽锴, 陈宋璋. 黄连素治疗慢性心力衰竭及其临床疗效评估[J]. 数理医药学杂志, 2021, 34(7): 1025-1027.

[15] Pierpaoli E, Cirioni O, Simonetti O, *et al.* Potential application of berberine in the treatment of *Escherichia coli* sepsis[J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(22): 4779-4784.

[16] Clinical and Laboratory Standard Institute. CLSI Publishes M100—Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 33rd Edition[M]. Wayne PA: CLSI, 2023.

[17] Kumarihamy M, Tripathi S, Balachandran P, *et al.* Synthesis and inhibitory activity of machaeridiol-based novel anti-MRSA and anti-VRE compounds and their profiling for cancer-related signaling pathways[J]. *Molecules*, 2022, 27(19): 6604.

[18] Mataracı-Kara E, Bayrak N, Yıldız M, *et al.* Active quinolinequinones against methicillin-resistant *Staphylococcus spp* [J]. *Chem Biodivers*, 2022, 19(1): e202100616.

[19] Li X, Wang P, Hu X, *et al.* The combined antibacterial effects of sodium new houttuynfonate and berberine chloride against growing and persistent methicillin-resistant and vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* [J]. *BMC Microbiol*, 2020, 20(1): 317-328.

[20] Nguyen H T, Pham T N, Le L T, *et al.* Complexes of Ag and ZnO nanoparticles with BBR for enhancement of gastrointestinal antibacterial activity through the impacts of size and composition [J]. *RSC Adv*, 2023, 13(9): 6027-6037.

[21] Nguyen H T, Pham T N, Le A T, *et al.* Antibacterial activity of a berberine nanoformulation[J]. *Beilstein J Nanotechnol*, 2022, 13: 641-652.

寒喘祖帕颗粒对甲型流感病毒 H1N1/PR8 株感染致小鼠肺炎的作用

张明惠¹, 米尔扎提·麦麦提¹, 郝 梦¹, 赵 璐¹, 季志红², 周利润³, 傅紫盈³, 马 璇^{1,2*}

[1. 新疆奇沐医药研究院 (有限公司), 新疆 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆中药 (民族药) 制药共性关键技术研究重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830011; 3. 北京协和建昊医药技术开发有限责任公司, 北京 100079]

摘要: **目的** 探讨寒喘祖帕颗粒对甲型流感病毒 H1N1/PR8 株感染小鼠肺炎的影响。**方法** 小鼠随机分为正常组、模型组、达菲组 (27.5 mg/kg)、连花清瘟颗粒组 (3.3 g/kg) 和寒喘祖帕低、中、高剂量组 (0.38、0.76、1.52 g/kg)。除正常组外, 其余组小鼠均采用甲型流感病毒 H1N1/PR8 株病毒液经滴鼻感染建立肺炎模型。各组连续给予相应药物 4 d, 取样。测定小鼠体质量、肺指数及抑制率、流感病毒载量、14 d 内小鼠死亡率、生存时间; ELISA 法检测肺组织中 IL-6、IL-10、IFN- γ 、TNF- α 水平, HE 染色观察肺组织病理改变并评分。**结果** 寒喘祖帕颗粒中、高剂量组可降低感染后小鼠肺指数, 其肺指数抑制率分别为 24.01%、32.63%; 可降低死亡率, 其死亡保护率分别为 44.44%、50%。寒喘祖帕低、中、高剂量组均可降低小鼠肺组织中 IL-6、IL-10、TNF- α 、IFN- γ 水平, 改善小鼠肺部病变, 延长平均存活天数, 生命延长率分别为 17.84%、24.32%、19.46%。**结论** 寒喘祖帕颗粒可改善流感病毒 H1N1/PR8 株感染致小鼠肺炎症状, 可降低死亡率、延长平均存活天数。

关键词: 寒喘祖帕颗粒; 甲型流感病毒 H1N1/PR8 株; 肺炎

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)09-3154-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.09.052

甲型流感病毒 (influenza A virus, IAV) 表面的抗原极易发生变异, 从而产生人类难以预防的新亚型, 引起流感类疾病的大爆发^[1-2]。病毒感染后主要表现为高热、咳嗽、肌肉酸痛等症状, 大多伴有严重的肺炎及多种器官衰竭, 病死率较高^[3-4]。预防此类疾病最有效的方法是接种疫苗, 但其作用会随着病毒的变异而失效^[5]。目前常用磷酸奥司

他韦等神经氨酸酶抑制剂^[6]、金刚烷胺等离子通道蛋白 M2 抑制剂^[7]等药物对其进行治疗, 这些药物虽能抑制病毒的复制, 但对病毒宿主后引起的机体过激炎症反应等无明显效果。中医将流感归于“疫病”范畴, 认为风热毒邪是其主要病因。临床多以疏风清热、清肺化痰、益气养阴为治疗原则, 疗效显著^[8-9]。寒喘祖帕颗粒来源于维吾尔族著名

收稿日期: 2023-05-29
基金项目: 新疆地产已上市抗感染药品综合评价二次开发与产业化示范项目 (2021A03002-2)
作者简介: 张明惠 (1992—), 女, 硕士, 工程师, 从事药物分析研究。E-mail: 1519642383@qq.com
*** 通信作者:** 马 璇 (1986—) 女, 博士, 高级工程师, 硕士生导师, 从事新药开发研究。E-mail: mx646@163.com