

中图分类号: R932; R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2024)13-0051-05

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.13.012



川乌水提取物及其单体成分对金黄色葡萄球菌 α -溶血素分泌的抑制作用*

李 詹, 谈 玲, 丁曼琳, 黄远帅[△]

(西南医科大学附属医院, 四川 泸州 646000)

摘要:目的 探讨川乌水提取物及其单体成分对金黄色葡萄球菌 α -溶血素分泌的抑制作用。方法 采用转录组测序技术(RNAseq)分析川乌水提取物对金黄色葡萄球菌 USA300 *hla*, *psma*, *isdA* 基因转录水平的影响。采用反转录-实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)法测定川乌水提取物及质量浓度分别为 0.01, 0.1, 1 mg/mL 的乌头原碱、次乌头碱、新乌头碱单体成分对 *hla*, *psma*, *isdA* 基因表达水平的影响, 采用溶血定量试验考察溶血活性。采用免疫印迹(Western blot)法考察质量浓度分别为 0.01, 0.1, 1 mg/mL 的乌头原碱、次乌头碱、新乌头碱单体成分对金黄色葡萄球菌菌液上清液中 α -溶血素分泌的影响。结果 USA300 经 250 mg/mL 川乌水提取物处理后, α -溶血素、 δ -溶血素、酚溶性调节蛋白等毒力因子相关基因的表达均显著下调($P < 0.005$)。USA300 经 250 mg/mL 川乌水提取物及 1 mg/mL 乌头原碱、次乌头碱、新乌头碱单体成分处理后, *hla*, *psma*, *isdA* 基因转录水平均受到显著抑制($P < 0.05$), 其中对 *hla* 基因的抑制作用最显著; 金黄色葡萄球菌的溶血活性均受到显著抑制($P < 0.01$)。USA300 经 0.01, 0.1, 1 mg/mL 乌头原碱、次乌头碱、新乌头碱单体成分处理后, 金黄色葡萄球菌菌液上清液中 α -溶血素分泌量与乌头原碱呈浓度依赖性降低, 但经次乌头碱、新乌头碱单体成分处理后的趋势不明显。结论 川乌水提取物及其单体成分可抑制金黄色葡萄球菌中 α -溶血素的分泌, 尤其是单体成分乌头原碱有用于抗金黄色葡萄球菌感染的潜能。

关键词: 金黄色葡萄球菌; 川乌; α -溶血素; 乌头原碱; 次乌头碱; 新乌头碱

Inhibitory Effect of Aconiti Radix Water Extract and Its Monomeric Components on the Secretion of α -Hemolysin in *Staphylococcus Aureus*

LI Zhan, TAN Ling, DING Manlin, HUANG Yuanshuai

(Southwest Medical University Affiliated Hospital, Luzhou, Sichuan, China 646000)

Abstract: Objective To investigate the inhibitory effect of Aconiti Radix water extract and its monomeric components on the secretion of α -hemolysin in *Staphylococcus aureus*. **Methods** RNAseq was used to analyze the effect of Aconiti Radix water extract on the transcription levels of USA300 *hla*, *psma*, and *isdA* genes in *Staphylococcus aureus*. The reverse transcription real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) method was used to determine the effect of Aconiti Radix water extract and its monomeric components of aconitine (0.01 mg/mL), hypaconitine (0.1 mg/mL), and mesaconitine (1 mg/mL) on the expression levels of *hla*, *psma*, and *isdA* genes. The quantitative hemolysis test was used to evaluate the hemolytic activity. Western blot was used to investigate the effect of monomeric components of aconitine (0.01 mg/mL), hypaconitine (0.1 mg/mL),

*基金项目: 国家自然科学基金面上项目[81974299]。

第一作者: 李詹, 女, 硕士研究生在读, 研究方向为分子微生物学, (电子信箱)lizhan908921@163.com。

[△]通信作者: 黄远帅, 男, 博士研究生, 主任技师, 研究方向为分子微生物学, (电子信箱)hys@live.cn。

[22] 万建华, 詹 扬, 杨 妮, 等. 健胃消食片对不同性别大鼠的长期毒性研究[J]. 中国现代医药杂志, 2020, 22(11): 25-29.
[23] 郑自明, 任平远, 葛 朝, 等. 小儿宣肺止咳颗粒对大鼠的长期毒性反应[J]. 医药导报, 2021, 40(9): 1189-1197.
[24] 田义超, 蔡雪洲, 杨 旭, 等. 苏苏小儿止咳颗粒对幼龄大鼠的长期毒性试验研究[J]. 药物评价研究, 2019, 42(1): 94-102.
[25] 张城达, 宋翼升, 扈 荣, 等. 复方蒲公英制剂幼龄大鼠重复给药毒性研究[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(2): 33-42.
[26] 张晓萌, 王巨才, 陈国彪, 等. 骨康宁洗剂的急性毒性和重复给药毒性研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2021, 38(9): 942-949.
[27] 陆 泉, 蒋丽平, 张 飞, 等. 宁泌泰胶囊对大鼠的长期毒

性研究[J]. 中国药业, 2016, 25(15): 46-48.
[28] 赵丽艳, 付青姐, 林 萍, 等. 纳米级甲壳胺对大鼠的长期毒性试验研究[J]. 中国药业, 2014, 23(19): 34-36.
[29] 吴虬飞, 高晓新, 高 阳, 等. 活络效灵丹颗粒对大鼠的长期毒性试验研究[J]. 药物评价研究, 2016, 39(6): 973-982.
[30] 陈 奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 28.
[31] 王青亮, 高 娃, 宋福顺, 等. 蒙药额尔敦-乌日勒对大鼠的急性毒性初探[J]. 中国药业, 2023, 32(20): 77-81.
[32] 倪 莉, 张 冰. 基于机体状态的中药毒性理论研究[J]. 中华中医药杂志, 2009, 24(5): 549-551.

(收稿日期: 2023-09-20; 修回日期: 2024-01-02)

and mesaconitine (1 mg / mL) on the secretion of α - hemolysin in the supernatant of *Staphylococcus aureus* bacterial solution. **Results** After USA300 was treated with Aconiti Radix water extract (250 mg / mL), genes related to virulence factors such as α - hemolysin, δ - hemolysin, and phenol - soluble regulatory proteins were significantly down - regulated ($P < 0.005$). After USA300 was treated with the Aconiti Radix water extract (250 mg / mL) and its monomeric components of aconitine (1 mg / mL), hypaconitine (1 mg / mL), and mesaconitine (1 mg / mL), the transcript levels of *hla*, *psma*, and *isda* genes were significantly inhibited ($P < 0.05$), with the most significant inhibition level of the *hla* gene. The hemolytic activity of *Staphylococcus aureus* was significantly inhibited ($P < 0.01$). After USA300 was treated with the monomeric components of aconitine (0.01 mg / mL), hypaconitine (0.1 mg / mL), and mesaconitine (1 mg / mL), the secretion of α - hemolysin in the supernatant of *Staphylococcus aureus* decreased in a concentration dependent manner with aconitine, but the trend was not significant after treatment with monomeric components of hypaconitine and mesaconitine. **Conclusion** The Aconiti Radix water extract and its monomeric components can inhibit the secretion of α - hemolysin in *Staphylococcus aureus*, especially the monomeric component aconitine has the potential to be used for anti - *Staphylococcus aureus* infection.

Key words: *Staphylococcus aureus*; Aconiti Radix; α - hemolysin; aconitine; hypaconitine; mesaconitine

金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 是人类化脓感染中的常见病原菌,可直接导致局部化脓感染、肺炎、伪膜性肠炎、心包炎等,甚至败血症、脓毒症等全身感染,严重危害人类生命健康^[1]。金黄色葡萄球菌在感染过程中分泌一系列毒力因子,以致病。故以毒力因子为靶标开发抗感染药物成为非常有前景的控制金黄色葡萄球菌感染的策略。 α - 溶血素是金黄色葡萄球菌在对数生长期分泌的主要外毒素,是相对分子质量为 33 200 的可溶性蛋白,包含 293 个氨基酸残基,可导致多种细胞裂解死亡,包括红细胞、淋巴细胞、上皮细胞、巨噬细胞、单核细胞等^[2],是关键致病因子。川乌为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx. 的干燥母根,性热,味苦、辛,略有麻舌感,主归心、肝、肾、脾经,具有祛风除湿、温经止痛功效,常用于治疗风寒湿痹、关节疼痛、寒疝作痛等^[3]。现代药理学研究表明,川乌具有抗肿瘤、抗炎镇痛、保护心血管等作用^[4]。乌头属中药种类繁多、地域分布广泛,成分复杂,包括双酯型二萜类生物碱、单酯型二萜类生物碱、黄酮、甾体、多糖等,双酯型二萜类生物碱包括乌头原碱、新乌头碱、次乌头碱,是乌头属中药的主要活性成分^[5]。目前,有关川乌在抗感染方面的作用鲜有报道,故本研究中探讨了不同浓度川乌水提取物及其单体成分对金黄色葡萄球菌 α - 溶血素分泌的抑制作用。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与菌株

仪器:LightCycler 96 型荧光定量聚合酶链式反应(PCR)仪(美国 Roche 公司);Synergy2 型多功能酶标仪(美国 Bio Tek 公司);ChemiScope 6000 型化学发光和成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司);Mini - PROTEAN Tetra 型电泳槽,PowerPac 型基础电泳仪,高温低速离心机,半干式转膜仪,均购自德国 Bio - Rad 公司。

试剂:川乌水提取物(西南医科大学附属中医医院

药剂科制备,质量浓度为 1 g / mL);乌头原碱对照品(批号为 MUST - 22042014,纯度为 98.26%),次乌头碱对照品(批号为 MUST - 22030911,纯度为 99.68%),新乌头碱对照品(批号为 MUST - 22030911,纯度为 99.68%),均购自成都曼思特生物科技有限公司;柱式细菌总 RNA 抽提纯化试剂盒(生工生物工程 <上海>股份有限公司);PrimeScript RT Master Mix 反转录试剂盒(批号为 RR036Q),实时荧光定量 PCR(qPCR)试剂盒(批号为 RR820A),TB Green® Premix Ex Taq™ II 试剂,均购自日本 TAKARA 公司;十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS - PAGE)快速配置试剂(碧云天生物技术有限公司,批号为 070623230728);TBST(北京索莱宝科技有限公司,批号为 20210326);预染蛋白 Marker(广州硕谱生物科技有限公司,批号为 23183238,相对分子质量为 15 000 ~ 130 000);抗 α - 溶血素兔多克隆抗体,辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔二抗,聚偏二氟乙烯(PVDF)膜,均购自美国 Sigma 公司。

菌株:金黄色葡萄球菌菌株 USA300(基因包括 *hla*, *psma*, *isda*, *gyrb*)由中国人民解放军陆军军医大学饶贤才教授惠赠,采用 BHI 培养基培养。

1.2 方法

最低抑菌浓度(MIC)测定:根据临床实验室标准化协会(CLSI)规定,采用二倍稀释法测定川乌水提取物的 MIC。

转录组测序技术(RNAseq)分析川乌水提取物对金黄色葡萄球菌主要毒力因子转录水平的影响:将 250 mg / mL 川乌水提取物处理的 USA300 和未处理的 USA300 培养液各 2 mL 加入 2 倍体积的 RNA 保护剂中,振荡 5 s,室温放置 5 min,离心(3 214 g)10 min,收集细菌沉淀,提取 mRNA,立即置 - 80 ℃ 冰箱保存,待测,外送进行转录组测定,分析主要毒力因子的转录水平变化。差异基因的筛选主要包括多个显著水平的基因表达。一般认

为, $|\log_2(\text{倍数变化})| > 1$ 和 $P < 0.005$ 表明样本间基因表达存在差异。每个试验均独立重复3次。

溶血定量试验: 过夜细菌培养物按1:100接种于含250 mg/mL川乌水提取物的BHI培养基中, 37℃培养12 h, 离心(转速为10 000 r/min)10 min, 取上清液50 μL, 与1 mL 4%羊红细胞混合后, 37℃孵育20 min, 以磷酸盐缓冲液(PBS)处理, 设为阴性对照组。不经任何药物处理, 设为空白对照组。分别取乌头原碱、次乌头碱、新乌头碱各适量, 溶于1 mL二甲亚砜(DMSO)中, 配制质量浓度为5 mg/mL的药液。量取400 μL药液、20 μL过夜细菌培养液、1 580 μL BHI液体培养基, 混匀, 配制成质量浓度为1 mg/mL的单体成分溶液; 量取40 μL药液、20 μL过夜细菌培养液、1 940 μL BHI液体培养基, 混匀, 配制成质量浓度为0.1 mg/mL的单体成分溶液; 量取4 μL药液、20 μL过夜细菌培养液、1 976 μL BHI液体培养基, 混匀, 配制成质量浓度为0.01 mg/mL的单体成分溶液。离心(10 000 g, 温度为4℃)1 min后, 测定上清液在543 nm波长处的光密度(OD)值, 与阳性对照计算溶血率, 设为100%溶血。每个试验均独立重复3次。

反转录-qPCR(RT-qPCR)法测定基因表达水平: 取金黄色葡萄球菌USA300单个菌落, 置3 mL BHI肉汤中, 37℃振荡, 培养过夜, 第2天测定600 nm波长处的OD(OD_{600}), 用新鲜BHI肉汤调整OD值到1。取无菌15 mL试管2支, 其中1支加入终质量浓度为250 mg/mL的川乌水提取物(作为观察组), 另1支不加药液(作为空白对照组), 每瓶加入BHI肉汤至总体积3 mL, 每瓶接种细菌菌液0.1 mL, 37℃振荡培养12 h, 取1 mL培养液, 加入45 μL溶葡萄球菌酶(质量浓度为1 mg/mL), 37℃培养0.5 h, 以试剂盒提取细菌RNA, 随后进行反转录反应(引物序列与片段大小见表1)。反应条件为37℃、15 min, 85℃、5 s; qPCR反应条件为95℃变性30 s, 40个循环(95℃变性5 s, 55℃退火30 s, 72℃延伸30 s)。以管家基因 $gyrB$ 作为内参基因, 靶基因的相对表达水平以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算。另外, 配制质量浓度分别为1, 0.1, 0.01 mg/mL的乌头原碱、次乌头碱、新乌头碱单体成分溶液进行RT-qPCR试验。每个试验均独立重复3次。

表1 引物序列与片段大小

Tab. 1 Sequences and fragment sizes

基因	引物序列(5'→3')	片段大小(bp)
<i>hla</i>	F:GTAGCGAAGTCTGCTGAA;R:CGGTATATGCGAATCAACTT	124
<i>psma</i>	F:ACCATCGTACCAACTGTAA;R:CGTGTGACCGTAAGTGT	107
<i>isda</i>	F:TGTGGCAGACAATATGTA;R:ACGGGATACTAGACAATCA	81
<i>gyrB</i>	F:TACACGAGAAGGTATGACAG;R:TCTACAAGTTCAGCAGCTT	108

免疫印迹(Western blot)法测定蛋白表达水平: 用苯甲酰制备质量浓度分别为0.01, 0.1, 1 mg/mL的乌头原碱、新乌头碱、次乌头碱单体成分溶液, 与金黄色葡萄球菌菌液上清液共同培养。取溶血定量试验项下金黄色葡萄球菌菌液上清液20 μL和Loading Buffer 5 μL混匀, 蛋白变性8 min后进行SDS-PAGE, 采用半干式转膜仪转膜30 min, 然后将PVDF膜用5%脱脂奶粉封闭缓冲液封闭2 h, 用抗α-溶血素多克隆抗体(1:6 000)浸泡PVDF膜, 4℃孵育过夜, TBST洗膜3次, 每次5 min, 加入HRP标记的二抗(1:3 000), 37℃摇床孵育2 h, TBST清洗3次, 每次5 min, 采用增强化学发光(ECL)试剂盒进行显影。每个试验均独立重复3次。

1.3 统计学处理

采用SPSS 13.0统计学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示, 行 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 川乌水提取物对金黄色葡萄球菌的抑制作用

采用二倍稀释法, 制得质量浓度为0.5 g/mL的川乌水提取物, 与金黄色葡萄球菌USA300共培养24 h, 细菌生长无异常, 表明川乌水提取物对金黄色葡萄球菌无抑制作用。

2.2 川乌水提取物可抑制多种金黄色葡萄球菌毒力因子的转录

与未处理的USA300比较, 金黄色葡萄球菌USA300经250 mg/mL川乌水提取物处理后, 有63个基因转录被显著抑制($P < 0.005$), 其中包括α-溶血素、δ-溶血素、酚溶性调节蛋白(PSM)等毒力因子相关基因。详见表2。

表2 川乌水提取物对金黄色葡萄球菌毒力编码基因的影响
($n = 3$)

Tab. 2 Effect of Aconiti Radix water extract on genes encoding virulence of *Staphylococcus aureus* ($n = 3$)

基因编号	基因	$\log_2(\text{倍数变化})$	P 值	描述
SAUSA300_RS15090	<i>psma</i>	-5.915 73	2.17×10^{-12}	酚溶性调节蛋白(PSM)- α_3
SAUSA300_RS15735	<i>psma</i>	-5.317 24	1.52×10^{-11}	PSM- α_2
SAUSA300_RS05720	<i>hla</i>	-3.550 76	5.87×10^{-7}	α-溶血素
SAUSA300_RS10930	<i>isda</i>	-3.386 48	9.26×10^{-7}	δ-溶血素(部分)

2.3 RT-qPCR法分析川乌水提取物及其单体成分对金黄色葡萄球菌 hla , $psma$, $isda$ 基因表达水平的影响

采用RT-qPCR法检测金黄色葡萄球菌经250 mg/mL川乌水提取物处理后的表达水平, 结果与转录组分析结果一致。经川乌水提取物处理后, hla , $psma$, $isda$ 基因的转录水平均受到显著抑制, 其中对 hla 基因的抑制水平最显著(图1A); 川乌单体成分乌头原碱、次乌头碱、新乌头碱(质量浓度为1 mg/mL)均表现出对 hla 基因

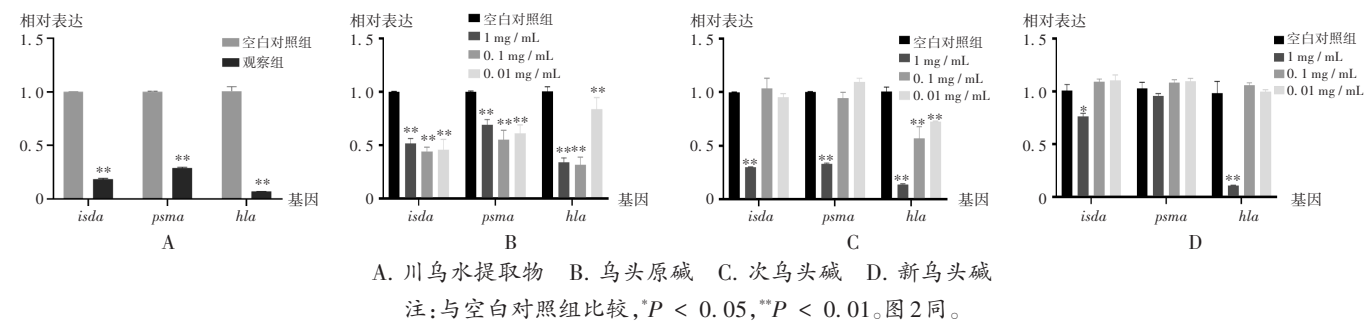


图 1 川乌水提取物及不同浓度单体成分培养金黄色葡萄球菌后 *isda*, *psma*, *hla* 基因的表达水平

A. Aconiti Radix water extract B. Aconitine C. Hypaconitine D. Mesaconitine

Note: Compared with those in the blank control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (for Fig. 1 - 2).

Fig. 1 The expression levels of *isda*, *psma*, and *hla* genes in *Staphylococcus aureus* cultured with Aconiti Radix water extract and different concentrations of monomeric components

的显著抑制作用(图 1 B 至图 1 D)。

2.4 川乌水提取物及其单体成分对金黄色葡萄球菌溶血活性的抑制作用

用溶血素测定法检测川乌水提取物及其单体成分对金黄色葡萄球菌溶血作用的影响,并与空白对照组和阴性对照组比较。结果显示,250 mg / mL 川乌水提取物可抑制金黄色葡萄球菌毒力因子产生的溶血效果;空白对照组的溶血活性显著高于 0.01, 0.1, 1 mg / mL 川乌单体成分溶液($P < 0.01$),且次乌头碱对金黄色葡萄球菌的溶血活性呈浓度依赖性抑制。详见图 2。

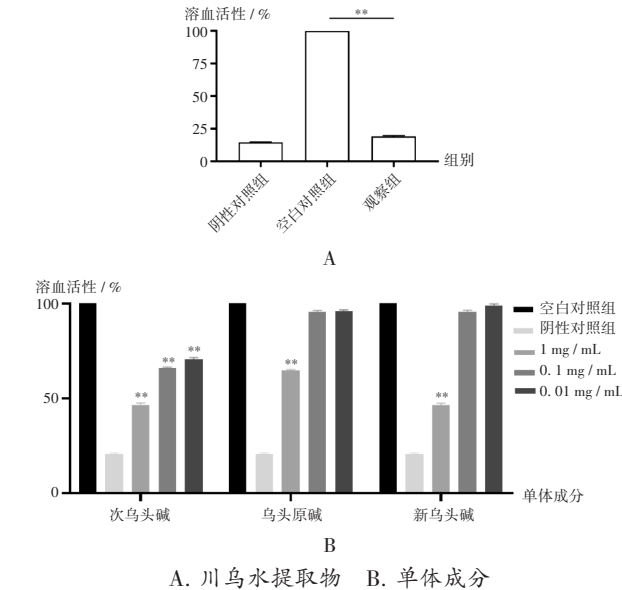


图 2 川乌水提取物及不同浓度单体成分对金葡萄溶血活性的影响($n = 3$)

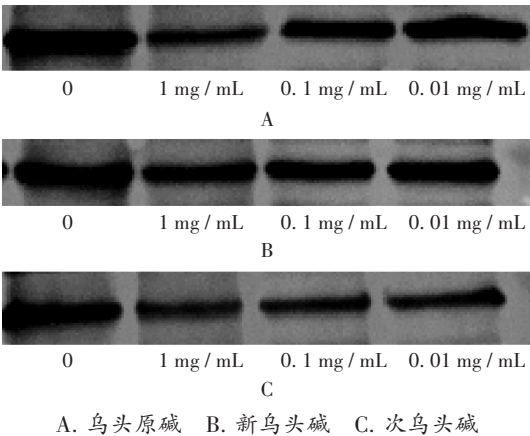
A. Aconiti Radix water extract B. Monomeric components

Fig. 2 Effects of Aconiti Radix water extract and different concentrations of monomeric components on the hemolytic activity of *Staphylococcus aureus* ($n = 3$)

2.5 川乌单体成分对金黄色葡萄球菌菌液上清液 α -溶血素表达的影响

金黄色葡萄球菌在对数生长后期至平台期分泌的 *hla* 基因是导致培养物上清液对羊红细胞溶血最主要的

毒素,根据溶血试验结果,应用 Western blot 法进一步检测 USA300 培养物上清液中 *hla* (相对分子质量为 33 000) 的含量。结果显示,在乌头原碱作用下,金黄色葡萄球菌上清液中 α -溶血素分泌量呈浓度依赖性降低;在新乌头碱和次乌头碱作用下,趋势不明显,可能这 2 种单体成分不是实际的抗毒力有效成分。详见图 3。



A. 乌头原碱 B. 新乌头碱 C. 次乌头碱

图 3 与不同浓度川乌单体成分共培养的金黄色葡萄球菌菌液上清液中 α -溶血素分泌量电泳图

A. Aconitine B. Hypaconitine C. Mesaconitine

Fig. 3 Electropherogram of α -hemolysin expression in the supernatant of *Staphylococcus aureus* bacterial solution co-cultured with different concentrations of Aconiti Radix monomeric components

3 讨论

金黄色葡萄球菌能引起局部皮肤软组织感染及致死性的系统感染,所致败血症的死亡率达 50% 以上。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)是目前公认的超级细菌之一,感染率和病死率均高^[6-8]。目前,多用万古霉素治疗 MRSA,能有效控制革兰阳性菌感染,但随着万古霉素的耐药,MRSA 感染的控制变得越发困难^[6]。因此,对疾病的治疗由传统抗菌转向抗感染,抗感染药物的研发也从传统以抑菌或杀菌能力为主要考察指标转变为干预感染过程^[2]。针对性遏制致病菌的毒力表现,如生产毒素、传送毒素、微生物附着、规避免疫系统等

的药物能有效削弱细菌引发疾病的潜力,进而提升防治效能^[9-11],较传统抗菌药物的耐药性更小,也不会对人体的正常菌群造成太大影响^[12-17]。

既往研究发现,消除某一特定金黄色葡萄球菌产生的外来毒素,对其引起疾病的潜力不会造成明显改变。但存在例外情形, α -溶血素是一种小孔道形成毒素,敲除 α -溶血素编码基因 hla 后,在多种疾病模型中的致病性显著削弱。研究发现,失去 hla 基因表达的金黄色葡萄球菌菌株不会导致肺炎模型小鼠的肺部受损,且死亡率显著降低^[18]。

中草药所含天然化合物具有结构和生物活性多样性的特点,是新药和先导结构发现的宝贵资源^[19]。乌头属中药种类繁多,地域分布广泛,成分复杂。但其成分含有双酯型二萜类生物碱,具有一定毒性,尚不能直接用于新药研发,故有必要阐明其作用机制,并对其化学结构进行必要修饰以去除毒性,保留抗细菌毒力的活性。为此,本研究中从抗细菌毒力角度探讨清热解毒类中药抗感染的机制。结果显示,川乌水提取物对金黄色葡萄球菌无直接抑制作用。采用RT-qPCR法分析川乌水提取物对金黄色葡萄球菌毒力因子表达的抑制作用,发现能下调 α -溶血素、 δ -溶血素、PSM等毒力因子相关基因的表达。同时,通过溶血定量分析及Western blot法考察了溶血活性和抑菌作用,发现金黄色葡萄球菌经250 mg/mL川乌水提取物及1 mg/mL乌头原碱、次乌头碱、新乌头碱单体成分处理后,溶血活性和 hla 、 psm 、 $isdA$ 基因转录水平均受到抑制,其中对 hla 基因的抑制作用最显著。经0.01, 0.1, 1 mg/mL乌头原碱、次乌头碱、新乌头碱单体成分处理后,金黄色葡萄球菌菌液上清液中 α -溶血素分泌量与乌头原碱呈浓度依赖性降低,与次乌头碱、新乌头碱单体成分处理后的趋势不明显。

综上所述,川乌水提取物及其单体成分可抑制金黄色葡萄球菌中 α -溶血素的分泌,尤其是单体成分乌头原碱具有抗金黄色葡萄球菌感染的潜能。但该假设尚需更大范围的分析结果支持。

参考文献

- [1] CONG YG, YANG SJ, RAO XC. Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* infections: A review of case updating and clinical features[J]. J Adv Res, 2020, 21: 169 - 176.
- [2] 邱家章. 黄芩苷抗金黄色葡萄球菌 α -溶血素作用靶位的确证[D]. 长春: 吉林大学, 2012.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 40 - 41.
- [4] 李双, 黎锐, 曾勇, 等. 川乌的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(12): 2433 - 2443.
- [5] 张珊, 杨涵, 陈顺琴, 等. 乌头属中药的毒性及毒代动

力学研究进展[J/OL]. 中华中医药学刊, 2023: 1 - 17 (2023 - 10 - 17) [2024 - 01 - 15]. <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.R.20231013.1702.010>.

- [6] DE OLIVEIRA DMP, FORDE BM, KIDD TJ, et al. Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens[J]. Clin Microbiol Rev, 2020, 33(3): e00181 - 19.
- [7] TURNER NA, SHARMA - KUINKEL BK, MASKARINEC SA, et al. Methicillin - resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research[J]. Nat Rev Microbiol, 2019, 17(4): 203 - 218.
- [8] ZHEN XM, LUNDBORG CS, ZHANG ML, et al. Clinical and economic impact of methicillin - resistant *Staphylococcus aureus*: a multicentre study in China[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 3900.
- [9] BURONI S, CHIARELLI LR. Antivirulence compounds: a future direction to overcome antibiotic resistance? [J]. Future Microbiol, 2020, 15(5): 299 - 301.
- [10] DICKEY SW, CHEUNG GYC, OTTO M. Different drugs for bad bugs: antivirulence strategies in the age of antibiotic resistance[J]. Nat Rev Drug Dis, 2017, 16(7): 457 - 471.
- [11] MÜHLEN S, DERSCH P. Anti - virulence strategies to target bacterial infections[J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2016, 398: 147 - 183.
- [12] NEVILLE N, JIA ZC. Approaches to the structure - based design of antivirulence drugs: therapeutics for the post - antibiotic era[J]. Molecules, 2019, 24(3): 378.
- [13] TOTSICA M. Disarming pathogens: benefits and challenges of antimicrobials that target bacterial virulence instead of growth and viability[J]. Future Med Chem, 2017, 9(3): 267 - 269.
- [14] PINTO HB, BRUST FR, MACEDO AJ, et al. The antivirulence compound myricetin possesses remarkable synergistic effect with antibacterials upon multidrug resistant *Staphylococcus aureus*[J]. Microb Pathog, 2020, 149: 104571.
- [15] BALDRY M, NAKAMURA Y, NAKAGAWA S, et al. Application of an agr - specific antivirulence compound as therapy for *Staphylococcus aureus* - induced inflammatory skin disease[J]. J Infect Dis, 2018, 218(6): 1009 - 1013.
- [16] LIU CI, LIU GY, SONG YC, et al. A cholesterol biosynthesis inhibitor blocks *Staphylococcus aureus* virulence[J]. Science, 2008, 319(5868): 1391 - 1394.
- [17] EL - HALFAWY OM, CZARNY TL, FLANNAGAN RS, et al. Discovery of an antivirulence compound that reverses β - lactam resistance in MRSA[J]. Nat Chem Biol, 2020, 16(2): 143 - 149.
- [18] AKSIMENTIEV A, SCHULTEN K. Imaging α - hemolysin with molecular dynamics: ionic conductance, osmotic permeability, and the electrostatic potential map[J]. Biophysical Journal, 2005, 88(6): 3745 - 3761.
- [19] DE LA PARRA J, QUAVE CL. Ethnophytotechnology: Harnessing the power of ethnobotany with biotechnology[J]. Trends Biotechnol, 2017, 35(9): 802 - 806.

(收稿日期: 2024 - 01 - 31; 修回日期: 2024 - 03 - 14)