

· 综述 ·

中药干预细菌生物膜形成的研究进展

曹林忠¹, 党永生¹, 张晓刚², 蒋宜伟¹, 宋敏¹, 张虎林²

(1. 甘肃中医学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃中医学院附属医院, 甘肃 兰州 730020)

摘要 近年来,与细菌生物膜相关的感染越来越受到人们的关注。关节置换术后并发感染与细菌生物膜的形成有关,处理十分棘手,可导致手术的失败,给患者带来巨大的精神压力和经济负担,易引发医疗纠纷。中药在防治细菌生物膜引起的感染方面有独特优势,已成为继抗生素之后又一抗感染药物研究的重点。关于中药干预细菌生物膜形成的研究,从单味中药、中药复方制剂到中药有效成分单体及其衍生物逐步深入,并取得了一定成果。但中药有效成分复杂,中药对细菌生物膜的干预作用很可能是多成分、多途径综合作用的结果,目前的研究大多为体外研究,并不能完全模拟其真实的体内作用过程。因此,建立动物体内生物膜模型,对中药进行全组分提取、定向分离,研究不同组分的药效机制,尤其是干预群体感应信号系统调控、细胞内信号转导及相关基因表达的机制等,将成为研究中药干预细菌生物膜形成的重点。

关键词 中草药 生物膜 综述

细菌生物膜(bacterial biofilm, BBF)是细菌在不利于其自身生存环境的条件下黏附于物体或活性组织表面,并被其自身产生的细胞外多糖基质中形成的一种与浮游细菌有着完全不同的生长方式的细菌微群落,是细菌在不利环境下生存的一种特殊形式^[1]。细菌生物膜形成受群体感应(quorum sensing, QS)信号系统及一系列细胞因子和基因的调控,是一个分阶段的、复杂的过程。近年来,与细菌生物膜相关的感染(包括生物医学材料相关感染和慢性感染)越来越受到人们的关注,也向临床医生及科研人员不断提出了新的挑战。关节置换术后并发感染与 BBF 形成有关,处理十分棘手,可导致手术的失败,给患者带来巨大的精神压力和经济负担,易引发医疗纠纷。尽管抗生素在感染控制中仍占主导地位,但耐药菌群的出现使其作用大打折扣,也迫使人们不断修饰已有抗生素的分子结构或重新研发新的抗生素种类以增强药物对感染的控制能力。中药在防治细菌生物膜引起的感染方面有独特的优势,可抑制细菌生物膜的形成,与抗生素联用能增强抗生素的抗感染能力,且由于具有药物来源广、价格低廉、毒副作用小、不易导致细菌耐药、在菌体内作用途径多样化、能产生多方面药理效应等优点,已成为继抗生素之后又一抗感染药物研究的重点。近年来,关于抑制细菌生物膜形成

的单味中药、中药复方制剂、中药有效成分单体及其衍生物的研究取得了一定成果,本文就中药干预细菌生物膜形成的研究进展做一综述。

1 单味中药

目前研究的具有抗感染作用的单味中药大多是清热药。清热药多为广谱抗菌药,对多种细菌生物膜有抑制作用,甚至部分中药对真菌、支原体生物膜的形成也有一定的抑制作用^[2]。黄晓敏等^[3]的研究表明苦参水煎液可显著增加环丙沙星对铜绿假单胞菌(*pseudomonas aeruginosa*, PA)生物膜的抑菌作用。周强等^[4]的研究发现苦参与头孢他啶联用对 PA 生物膜有明显的清除作用。孔晋亮等^[5]研究了黄芩水煎液联合左氧氟沙星或头孢他啶对 PA 生物膜的作用,结果显示浓度为 $31.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的黄芩水煎液可抑制、破坏 PA 生物膜,且与左氧氟沙星或头孢他啶联用后,生物膜内存活菌数明显减少,表明黄芩水煎液本身有清除、破坏 PA 生物膜的功效,同时还对左氧氟沙星和头孢他啶有增效作用。单味中药大黄、黄连、黄柏、牡丹皮、金银花、野菊花等也有抑制或破坏细菌生物膜的作用^[6-10]。

2 中药复方制剂

中药复方制剂是临床应用中药的最常见形式。甘澍^[11]的研究表明尿感宁颗粒(药物组成:海金沙藤、连钱草、凤尾草、紫花地丁等)对术后留置输尿管支架管上 BBF 形成的抑制作用与抗生素相当,且与抗生素合用有增效作用。黄晓敏等^[12]的研究表明由溪黄草、大蓟、虎杖等 8 味中药组成的溪黄草复方制

基金项目:国家自然科学基金项目(81160444);甘肃省高校基本科研业务费专项资金项目(BH201-067)

通讯作者:张晓刚 E-mail:kuoyang.00@163.com

剂对金黄色葡萄球菌生物膜有清除效应。官妍等^[13]通过扫描电镜观察到,由地肤子、苦参、蛇床子、黄柏等 9 味药物组成的中药复方制剂百肤青在肉汤培养基中的含量超过 $25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对大肠杆菌生物膜有明显的抑制作用。程惠娟等^[14]的研究表明百肤青有抑制金黄色葡萄球菌生物膜形成的作用。张春雷等^[15]研究五味消毒饮联合红霉素对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的体外抑菌效果,发现五味消毒饮对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌没有明显的抑菌作用,但与红霉素合用有增效作用。王坤^[16]的研究发现注射用双黄连对大肠杆菌及金黄色葡萄球菌 BBF 的形成均有明显的抑制作用。曹林忠^[17]的研究表明由轻粉、宫粉、枯矾等 5 味中药组成的脱管散对金黄色葡萄球菌具有较强的抑菌作用。蒋宜伟等^[18]认为祛腐生肌类中药对金黄色葡萄球菌生物膜的形成有干预作用,可用于防治骨折内固定后感染及促进感染创面愈合。

3 中药有效成分单体及其衍生物

对中药有效成分单体及其衍生物的研究可更好地阐明中药抑制 BBF 形成的作用机制。黄晓敏等^[19]用五倍子醇提液对 PA 细胞膜的形成进行干预,发现五倍子醇提液对 PA 有清除效应,但需达到一定的药物浓度。五倍子水提物对金黄色葡萄球菌生物膜亦有一定清除作用,且呈明显的剂量依赖性^[20]。冯星火等^[21]发现穿心莲联合环丙沙星可降低 PA 生物膜对环丙沙星的耐药性。刘志祥等^[22]报道穿心莲提取物(主要成分为穿心莲内酯)对金色葡萄球菌、枯草杆菌、大肠杆菌、黑曲霉、青霉都有明显的抑菌效果,其中对大肠杆菌的抑菌效果最强。研究^[23-24]发现穿心莲内酯对 PA 生长状态无明显影响,但能有效抑制 PA 绿脓菌素的表达,降低总蛋白水解酶和弹性蛋白酶活性,影响 QS 系统的正常调控,进而影响 BBF 的形成,抑制 PA 毒力因子产生而实现抑菌作用。曾祥萍^[25]合成了新的穿心莲内酯衍生物——14-硫辛酰-3,19-二羟基-穿心莲内酯(AL-1),并发现 AL-1 对 PA 的生长有一定的影响,亚抑菌浓度的 AL-1 对 PA 生物膜的形成有强烈的抑制作用,且对抗生素有增效作用,可能的作用机制为 AL-1 通过抑制 PA 合成胞外多糖,阻碍细菌聚集形成微菌落,并干扰 QS 系统,抑制毒力因子绿脓菌素产生和蛋白水解酶的活性,从而抑制细菌生物膜的形成。大蒜素为大蒜鳞茎中所含的抗菌活性成分,具有抗菌消炎、抗氧化和调节机体

免疫力等功效,大蒜素可显著降低 PA01 菌株黏附及产生细胞外多糖复合物的能力,可抑制 QS 系统调控的毒力因子表达,干扰 BBF 的分化成熟^[26-27]。黄芩苷是黄芩的有效成分之一,具有清热解毒、抑菌抗炎、螯合金属离子和抗肿瘤等多种药理作用。体外实验表明黄芩苷对多种细菌具有较强的抑制作用,可通过降低细菌对载体的黏附能力,抑制、清除 BBF,增强抗菌药物对生物膜的渗透性^[28-29]。人参皂苷为人参的主要有效成分,具有延缓衰老、抗肿瘤、治疗心血管疾病、调节内分泌、增强体力、提高免疫力等作用,目前人参中已分离出 30 余种人参皂苷。董春雷^[30]发现人参总皂苷对大肠杆菌具有很强的抑制作用,抑菌率最高达 87.70%,对大肠杆菌生物膜形成的抑制率最高达 69.65%,对金黄色葡萄球菌及其生物膜的形成也有一定的抑制作用,但作用较弱;人参单体皂苷 Rb1、Rb2、Rb3、Rc 及 Rd 对大肠杆菌及其生物膜均有很强的抑制作用,其中 Rc 对大肠杆菌抑制率最高,可达 86.68%;Rd 对大肠杆菌生物膜的抑制率最高,可达 60.59%;Rb2 与阿魏酸联合应用,对大肠杆菌及其生物膜形成有协同抑制作用;表明不同的中药有效成分单体对不同细菌及其生物膜形成的抑制能力不同,对同一菌种及其生物膜的抑制能力亦不同,筛选 2 种或 2 种以上能够产生协同作用的中药单体,对中药治疗 BBF 相关感染性疾病有重要意义。

4 展 望

尽管目前有关中药干预 BBF 的研究很多,但中药有效成分复杂,中药对细菌生物膜的干预作用很可能是多成分、多途径综合作用的结果,目前的研究大多为体外研究,并不能完全模拟其真实的体内作用过程。因此,建立动物体内生物膜模型,对中药进行全组分提取、定向分离,研究不同组分的药效机制,尤其是干预 QS 信号系统调控、细胞内信号转导及相关基因表达的机制等,将成为研究中药干预细菌生物膜形成的重点。相信随着对生物膜研究的不断深入,以及分子生物学、细胞生物学、化学生物学等交叉学科的发展,战胜 BBF 只是时间问题。

5 参考文献

- [1] Macassey E, Dawes P. Biofilms and their role in otorhinolaryngological disease [J]. *J Laryngol Otol*, 2008, 122 (12): 1273 - 1278.
- [2] 侯家宝, 方泰惠. 中药药理学 [M]. 2 版. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 38 - 40.

- [3] 黄晓敏,黄丽婵,方志红,等.苦参与环丙沙星合用对铜绿假单胞菌生物膜的影响[J].韶关学院学报:自然科学版,2006,27(3):60-63.
- [4] 周强,邓晨晖,张文,等.苦参提取物与头孢他啶联用对铜绿假单胞菌生物被膜清除作用影响的体外研究[J].新中医,2008,40(12):98-99.
- [5] 孔晋亮,刘晓岚,陈一强,等.黄芩水煎液联合左氧氟沙星对铜绿假单胞菌生物被膜的影响[J].天津医药,2008,36(5):331-333.
- [6] 汪长中,程惠娟,徐颖,等.黄连解毒汤及其单味药对体外白念珠菌生物膜影响的比较[J].上海中医药杂志,2008,42(2):63-65.
- [7] 汪长中,程惠娟,官妍,等.牡丹皮水煎剂对体外白念珠菌生物膜的抑制作用[J].微生物学杂志,2009,29(2):67-70.
- [8] 陈一强,覃雪军,朱莲娜,等.金银花水煎液及联合头孢他啶对铜绿假单胞菌生物膜的体外影响[J].中华微生物学和免疫学杂志,2004,24(9):738-742.
- [9] 何敏.金银花对细菌生物膜的抑制作用及其化学成分研究[D].长春:长春中医药大学,2011.
- [10] 汪长中,程惠娟,徐胜利,等.中药水提物对白念珠菌生物膜抑制作用的研究[J].中国微生态学杂志,2009,21(11):965-968.
- [11] 甘澍.中药对在体输尿管支架管细菌生物膜形成的影响[D].广州:广州中医药大学,2007.
- [12] 黄晓敏,柯野,林良佳,等.溪黄草复方对金黄色葡萄球菌生物膜影响[J].中国公共卫生,2007,23(11):1350.
- [13] 官妍,程惠娟,汪长中,等.复方百肤青抗大肠杆菌引起细菌性阴道病生物膜的研究[J].中医学药,2004,22(9):1644.
- [14] 程惠娟,官妍,汤华阳,等.百肤青抗铜绿假单胞菌生物膜的作用[J].安徽中医学院学报,2004,23(5):30.
- [15] 张春雷,李忠新,李瑜珍,等.五味消毒饮联合红霉素对 MRSA 生物膜作用的初步研究[J].热带医学杂志,2011,11(2):175-176.
- [16] 王坤.细菌生物膜的形成和研究注射用双黄连对细菌生物膜的影响[D].长春:长春中医药大学,2009.
- [17] 曹林忠.脱管散体外抑菌实验观察[J].甘肃中医,2008,21(11):79.
- [18] 蒋宜伟,张晓刚,宋敏,等.中医祛腐生肌法对金黄色葡萄球菌生物膜形成的干预作用[J].中医研究,2011,24(12):1-2.
- [19] 黄晓敏,简润好,余晓铃,等.五倍子醇提液对假单胞铜绿杆菌生物膜的影响[J].时珍国医国药,2008,19(1):56-57.
- [20] 黄晓敏,王婧婷,汪若波,等.五倍子水提物对金黄色葡萄球菌生物膜的影响[J].中国现代医学杂志,2009,19(4):5361.
- [21] 冯星火,赵广福,崔连东,等.铜绿假单胞菌生物被膜对抗菌药物作用影响的实验研究[J].微生物学报,2000,40(2):210-213.
- [22] 刘志祥,曾超珍,张映辉.穿心莲提取物体外抗菌活性及稳定性的研究[J].北方园艺,2009,(1):105-106.
- [23] 李洪涛.穿心莲内酯对铜绿假单胞菌 Quorum Sensing 系统调控毒力因子产生及 MexAB-OprM 外排泵 mRNA 表达水平研究[D].武汉:华中科技大学,2006.
- [24] Jiang X, Yu P, Jiang J, et al. Synthesis and evaluation of antibacterial activities of andrographolide analogues[J]. Eur J Med Chem, 2009, 44(7): 2936-2943.
- [25] 曾祥萍. AL-1 单用及联合用药对铜绿假单胞菌生物膜形成的抑制作用及其作用机理研究[D].广州:暨南大学,2011.
- [26] 林丽华,余加林,林雅茵,等.大蒜素对铜绿假单胞菌生物膜早期黏附及胞外多糖的影响[J].中国微生态学杂志,2009,20(1):38-41.
- [27] 林丽华,余加林,芦起,等.大蒜素对铜绿假单胞菌生物膜群体密度感应系统调控毒力因子表达的影响[J].中国微生态学杂志,2009,21(6):481-487.
- [28] 黄志军.黄芩苷药理作用研究进展[J].天津药学,2012,24(3):61-63.
- [29] 王贵年,范莹,王龙梓,等.黄芩苷对铜绿假单胞菌生物膜的影响[J].医学研究杂志,2011,40(1):131.
- [30] 董春雷.人参皂苷单体及其与其他中药单体联合应用对细菌生物膜抑制作用的研究[D].长春:长春中医药大学,2011.