

苗药大乌泡叶提取物的体外抑菌作用考察^Δ

刘瑶*,蔡进,陈瑞,刘珈妮,刘丽娜,黄静[#](贵州医科大学药学院,贵阳 550025)

中图分类号 R285;R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)01-0072-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.01.19

摘要 目的:考察苗药大乌泡叶提取物的体外抑菌作用。方法:将大乌泡叶煎煮水提取物和80%醇提取物均制备成质量浓度为200 mg/mL的药液,并以氨苄青霉素和氟康唑为阳性对照(50 mg/mL),采用管碟法测定其对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、大肠埃希菌、痢疾志贺菌、普通变形杆菌、白色念珠菌、新型隐球菌的抑菌作用。依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取80%醇提取物,得到相应部位萃取物(50 mg/mL)后,采用管碟法考察其对上述7种菌株的抑菌作用;筛选出具有抑菌作用的部位及对药物敏感的试验菌株,并分别采用微量肉汤稀释法和琼脂培养基平板法测定其最低抑菌浓度(MIC)和最低杀菌浓度(MBC)。结果:大乌泡叶的水提取物几乎无抑菌活性,80%醇提取物对各菌株则表现出不同程度的抑制作用,对5种细菌的抑菌作用优于对2种真菌;大乌泡叶80%醇提取物的乙酸乙酯及正丁醇萃取部位表现出良好的抑菌作用,石油醚和水层部位几乎没有抑菌作用,各萃取部位对真菌均未见抑制作用;大乌泡叶80%醇提取物对5种细菌的MIC、MBC分别在6.25~12.5、12.5~25 mg/mL之间,其乙酸乙酯部位的MIC、MBC分别为3.13、6.25 mg/mL,其正丁醇部位的MIC、MBC分别在3.13~6.25、6.25~12.5 mg/mL之间。结论:苗药大乌泡叶的80%醇提取物及其乙酸乙酯、正丁醇萃取部位对细菌具有明显的体外抑菌作用。

关键词 大乌泡叶;水提取物;醇提取物;不同部位;体外抑菌作用;最低抑菌浓度;最低杀菌浓度

Study on *in vitro* Antibacterial Effect of Extracts from Miao Medicine *Rubus multibracteatus* Leaves

LIU Yao, CAI Jin, CHEN Rui, LIU Jiani, LIU Lina, HUANG Jing (School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate *in vitro* antibacterial effect of extracts from Miao medicine *Rubus multibracteatus* leaves. METHODS: The aqueous extract and 80% ethanol extracts from *R. multibracteatus* leaves were used to prepare solution with mass concentration of 200 mg/mL. Using ampicillin and fluconazol as positive control (50 mg/mL), cup plate method was used to determine antibacterial effects of the extracts from *R. multibracteatus* leaves to *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans*. The petroleum ether, acetic ether and *n*-butyl alcohol were used to extract 80% ethanol extracts in turns. After obtaining relevant extracts (50 mg/mL), cup plate method was used to investigate antibacterial effects of them to above 7 bacterial strains. The parts with antibacterial effects and bacterial strains sensitive to drug were screened. Micro-broth dilution method and agar culture medium plate method were used to determine minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). RESULTS: The aqueous extract of *R. multibracteatus* leaves almost had no inhibitory effect while 80% ethanol extract showed different degrees of antibacterial effect to tested bacterial strains, and it also had higher activity against 5 bacterial stains than 2 fungus. The ethyl acetate and *n*-butyl alcohol fractions of 80% ethanol extracts showed good effect while the petroleum ether and water layer fractions had no antibacterial effect, and all the fractions of 80% ethanol extracts showed no inhibitory effect on fungus. To 5 bacterial stains, MIC and MBC of 80% ethanol extract were 6.25-12.5, 12.5-25 mg/mL, those of ethyl acetate fractions were 3.13, 6.25 mg/mL and those of *n*-butyl alcohol fraction were 3.13-6.25, 6.25-12.5 mg/mL, respectively. CONCLUSIONS: 80% ethanol extract of Miao medicine *R. multibracteatus* leaves and its ethyl acetate and *n*-butyl alcohol fractions have obvious *in vitro* antibacterial effect to bacteria.

KEYWORDS *Rubus multibracteatus* leaves; Aqueous extract; Ethanol extract; Different fractions; *in vitro* antibacterial effect; Minimum inhibitory concentration; Minimum bactericidal concentration

大乌泡叶为蔷薇科悬钩子属植物大乌泡(*Rubus multibracteatus* Levl. et Vant.)的干燥叶,主要产于四

川、云南、贵州等地。其味微苦,性凉,具有清热解毒、祛风除湿、凉血、止血、接骨的功效,民间多用于治疗痢疾、腹泻、风湿痹痛、咳血、妇女倒经、骨折等^[1]。大乌泡叶为民间常用药,目前对其研究报道主要集中在化学成分^[2]及含量测定^[3]上。本课题组前期研究发现,大乌泡叶的80%醇提取物具有较强的镇痛、抗炎活性^[4],但对于其提取

^Δ 基金项目:贵州省科技计划课题(No.黔科合 ZY[2011]3005)

* 硕士研究生。研究方向:药物制剂新剂型与新工艺、药理学。

E-mail:574080864@qq.com

[#] 通信作者:副教授,硕士。研究方向:药物质量控制、药理学。

电话:0851-88416159。E-mail:huangjy@sohu.com

物的体外抑菌活性却未见文献报道。为了进一步明确大乌泡叶的体外抑菌作用,本研究对大乌泡叶的水提物、80%醇提物及有效提取物的不同极性萃取部位进行抑菌试验,为充分利用大乌泡药材资源提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

SW-CJ-1FD净化工作台(广州瑞智科学仪器公司);KJ14麦氏比浊管(北京哲成科技有限公司);EL204电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

1.2 药品、试剂与培养基

氨苄青霉素原料药(北京索莱宝科技有限公司,批号:104D036,纯度:≥98%);氟康唑原料药(贵阳凯信生物工程有限公司,批号:20141203,纯度:98%);乙醇(95%)、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、二甲基亚砜(DMSO)等均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司);水为蒸馏水。

水解酪蛋白(M-H)琼脂培养基(批号:20140708)、M-H肉汤培养基(批号:20130808)、沙氏琼脂培养基(批号:20140328)均购自北京索莱宝科技有限公司。

1.3 药材

大乌泡叶于2015年3月由笔者购自贵州省凯里市,经贵州医科大学龙庆德教授鉴定为真品。自然晾干后粉碎为粗粉,储藏备用。

1.4 菌株

金黄色葡萄球菌[CMCC(B)26003]、表皮葡萄球菌[CMCC(B)26069]、大肠埃希菌[CMCC(B)44102]、痢疾志贺菌[CMCC(B)51105]、普通变形杆菌[CMCC(B)49027]等5种细菌和白色念珠菌[ATCC10231]、新型隐球菌[CBS6901]等2种真菌的菌株均由贵州医科大学感染与免疫学实验室提供。

2 方法与结果

2.1 菌种的活化及菌悬液的制备

按无菌操作法,将斜面保存的各标准菌株接种在相应的琼脂培养基上复苏(细菌用M-H琼脂培养基,37℃条件下培养18~24h;真菌用沙氏琼脂培养基,37℃条件下培养24~48h)^[5-6],转接1次,用灭菌生理盐水调整菌悬液浓度与0.5麦氏比浊管相当,此时菌悬液菌浓度约为 1.5×10^8 CFU/mL。再按100倍稀释法取少量菌悬液用灭菌生理盐水稀释至 1.5×10^6 CFU/mL,备用。

2.2 大乌泡叶水提物和80%醇提物体外抑菌作用考察

2.2.1 药液的制备 (1)大乌泡叶水提物:取大乌泡叶粗粉500g,以10倍量水充分浸泡30min,煎煮3次,每次3h,用纱布将煎煮液滤过。合并3次滤液,蒸干,得大乌泡叶水提物(得率为24.6%)。将提取物以无菌生理盐水溶解,制成质量浓度为200mg/mL的药液,备用。(2)大乌泡叶80%醇提物:取大乌泡叶粗粉500g,以10倍量

80%乙醇回流提取3次,每次3h,减压抽滤提取液。合并3次抽滤液,旋转蒸发仪回收乙醇,蒸干,得大乌泡叶80%醇提物(得率为18.6%)。将提取物用10% DMSO-无菌生理盐水溶解,制成质量浓度为200mg/mL的药液,备用。(3)对照药液的制备:将氨苄青霉素原料药和氟康唑原料药用无菌生理盐水溶解,制成质量浓度分别为50、300mg/L的药液,备用。试验前所有药液均用0.22μm滤膜过滤除菌。

2.2.2 大乌泡叶水提物和80%醇提物的体外抑菌作用考察 采用管碟法^[7-9]。按无菌操作要求,分别吸取100μL各菌悬液至相应培养基表面(细菌用M-H琼脂培养基,真菌用沙氏琼脂培养基),无菌棉签涂布均匀,室温下放置2~3min,等距分散放置灭菌牛津杯(外径为8mm、内径6mm、高为10mm),静置10~15min使其固定。向每个小杯中加入100μL制备好的相应药液,室温下放置2h使药液扩散,每个平板均设置3个试药组、1个药物对照组(细菌用氨苄青霉素,真菌用氟康唑)和1个10% DMSO-无菌生理盐水的溶剂对照组,将各培养皿置于37℃恒温培养箱中培养(细菌培养18~24h,真菌培养24~48h),取出观察抑菌圈,并测量抑菌圈直径。每种菌株平行操作3次。结果判定按《药理实验方法学》标准^[6]:抑菌圈直径<10mm为抗药,10mm为轻度敏感,11~15mm为中度敏感,16~20mm为高度敏感。抑菌圈直径测定结果见表1。

表1 大乌泡叶水提物和80%醇提物的抑菌圈直径测定结果($\bar{x} \pm s, n=3, \text{mm}$)

Tab 1 Diameters of antibacterial circle for aqueous extract and 80% ethanol extract from *R. multi-bracteatus* leaves ($\bar{x} \pm s, n=3, \text{mm}$)

样品	金黄色葡萄球菌	表皮葡萄球菌	大肠埃希菌	痢疾志贺菌	普通变形杆菌	白色念珠菌	新型隐球菌
水提物	9.15±0.32	15.35±0.41	9.95±0.24	9.8±0.37	10.12±0.28	N	N
80%醇提物	20.98±0.43	23.95±0.49	16.80±0.39	17.80±0.33	17.83±0.31	9.60±0.29	9.03±0.34
氨苄青霉素	38.38±0.30	16.23±0.21	15.90±0.21	16.85±0.30	19.37±0.42	/	/
氟康唑	/	/	/	/	/	15.25±0.30	16.20±0.24
10% DMSO-无菌生理盐水	N	N	N	N	N	N	N

注:“/”为未进行试验;“N”为无抑菌圈

Note:“/”means not tested;“N”means no antibacterial circle

由表1可见,大乌泡叶水提物几乎无抑菌活性,只有表皮葡萄球菌对其表现出中度敏感,抑菌圈直径为(15.35±0.41)mm。大乌泡叶80%醇提物对5种细菌均表现出抑菌活性,其中对表皮葡萄球菌的抑制效果最佳,抑菌圈直径为(23.95±0.49)mm,对2种真菌抑制效果不佳;且大乌泡叶80%醇提物对表皮葡萄球菌和痢疾志贺菌的抑制作用强于对照药物氨苄青霉素。可见大乌泡叶80%醇提物抑菌作用强于大乌泡叶水提物,故本研究进一步考察大乌泡叶80%醇提物不同极性部位的

体外抑菌作用。

2.3 大乌泡叶80%醇提取物不同极性部位的体外抑菌作用考察

2.3.1 大乌泡叶80%醇提取物不同极性部位萃取物的制备 取大乌泡叶80%醇提取物用水混悬后,先用石油醚萃取,剩余药液再用乙酸乙酯萃取,最后用正丁醇萃取,余下药液为水层。用旋转蒸发器将不同极性溶剂减压回收,真空干燥,分别得石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、水层部位(得率分别为1.5%、2.8%、3%、6%)。将不同极性部位分别用10% DMSO-无菌生理盐水溶解,制备成提取物质量浓度均为50 mg/mL的药液,备用。试验前所有药液均用0.22 μm滤膜过滤除菌。

2.3.2 体外抑菌活性测定 取大乌泡叶80%醇提取物不同极性部位药液,按照“2.2.2”项下方法测定其对5种细菌和2种真菌的抑菌圈大小。测定结果见表2。

表2 大乌泡叶80%醇提取物不同极性部位的抑菌圈直径测定结果($\bar{x} \pm s, n=3, \text{mm}$)

Tab 2 Diameters of antibacterial circle for different polar fractions of 80% ethanol extract from *R. multibracteatus* leaves ($\bar{x} \pm s, n=3, \text{mm}$)

样品	金黄色葡萄球菌	表皮葡萄球菌	大肠埃希菌	痢疾志贺菌	普通变形杆菌	白色念珠菌	新型隐球菌
石油醚部位	7.17±0.32	7.65±0.22	N	7.30±0.37	N	N	N
乙酸乙酯部位	15.1±0.51	15.58±0.48	14.5±0.39	14.13±0.53	14.85±0.50	N	N
正丁醇部位	14.6±0.44	16.28±0.31	13.5±0.35	13.73±0.47	15.95±0.47	N	N
水层部位	8.07±0.35	12.27±0.28	6.70±0.11	6.77±0.13	9.25±0.19	N	N
氨基青霉素	39.5±0.27	16.73±0.29	16.7±0.22	16.70±0.24	20.95±0.30	/	/
氟康唑	/	/	/	/	/	15.53±0.27	16.0±0.31
10% DMSO-无菌生理盐水	N	N	N	N	N	N	N

注:“/”为未进行试验;“N”为无抑菌圈

Note:“/”means not tested;“N”means no antibacterial circle

由表2可见,大乌泡叶80%醇提取物的石油醚、水层部位几乎无抑菌活性;乙酸乙酯、正丁醇部位对5种细菌均表现出良好抑菌效果,且均对表皮葡萄球菌的抑菌作用最强;各提取部位对2种真菌均未见抑菌活性。故本研究进一步考察大乌泡叶80%醇提取物及其乙酸乙酯、正丁醇部位对5种细菌的最低抑菌浓度(MIC)和最低杀菌浓度(MBC)。

2.4 大乌泡叶80%醇提取物及其乙酸乙酯、正丁醇部位对5种细菌的MIC和MBC考察

2.4.1 MIC的测定 采用微量肉汤稀释法^[6-9]。按无菌操作法,取一次性无菌96孔板,每排12孔各加入100 μL M-H肉汤培养基,再吸取100 μL药液(大乌泡叶80%醇提取物及其乙酸乙酯、正丁醇部位)加入第1孔,混匀后吸取100 μL加入第2孔,如此连续倍比稀释至第10孔,第10孔中吸取100 μL弃去,此为试验组;第11孔不加试药,以便观察培养基是否适合菌株生长,为生长对照组;第12孔不加菌液,以便观察培养基是否被污染,为培养基

对照组。吸取100 μL浓度为 1.5×10^6 CFU/mL的菌悬液,依次加入到上述1~11孔中,充分混匀,此时各孔菌浓度为 7.5×10^5 CFU/mL;吸取100 μL M-H肉汤培养基加入到第12孔中,充分混匀。将96孔微孔板加盖置于37℃恒温培养箱中培养18~24 h,取出观察菌株生长情况。在黑色背景光源下,与生长对照孔中生长特性相同如肉汤浑浊或孔底出现浑浊,则判断为有菌生长。以无菌生长所对应的最低药物质量浓度记为该药的MIC。每种菌株平行操作3次。测定结果详见表3、表4、表5。

表3 大乌泡叶80%醇提取物对5种菌株的MIC测定结果($n=3$)

Tab 3 MIC of 80% ethanol extract from *R. multibracteatus* leaves for 5 kinds of bacterial strains ($n=3$)

菌株	大乌泡叶80%醇提取物溶液质量浓度,mg/mL										生长对照	培养基对照
	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.195		
金黄色葡萄球菌	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
表皮葡萄球菌	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
大肠埃希菌	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
痢疾志贺菌	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
普通变形杆菌	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-

注:“+”为有菌生长;“-”为无菌生长

Note:“+”means bacteria growth;“-”means no bacteria growth

表4 大乌泡叶80%醇提取物乙酸乙酯部位对5种菌株的MIC测定结果($n=3$)

Tab 4 MIC of ethyl acetate fraction of 80% ethanol extract from *R. multibracteatus* leaves for 5 kinds of bacterial strains($n=3$)

菌株	乙酸乙酯萃取部位溶液质量浓度,mg/mL									生长对照	培养基对照
	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.195	0.098		
金黄色葡萄球菌	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
表皮葡萄球菌	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
大肠埃希菌	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
痢疾志贺菌	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
普通变形杆菌	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-

注:“+”为有菌生长;“-”为无菌生长

Note:“+”means bacteria growth;“-”means no bacteria growth

表5 大乌泡叶80%醇提取物正丁醇部位对5种菌株的MIC测定结果($n=3$)

Tab 5 MIC of *n*-butyl alcohol fraction of 80% ethanol extract from *R. multibracteatus* leaves for 5 kinds of bacterial strains($n=3$)

菌株	正丁醇部位溶液质量浓度,mg/mL										生长对照	培养基对照
	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.195	0.098	0.049		
金黄色葡萄球菌	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
表皮葡萄球菌	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
大肠埃希菌	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
痢疾志贺菌	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
普通变形杆菌	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-

注:“+”为有菌生长;“-”为无菌生长

Note:“+”means bacteria growth;“-”means no bacteria growth

结果显示,黑色光源背景下,生长对照组肉汤浑浊,提示培养基适合细菌生长;培养基对照组肉汤澄清,说明培养基并未受到污染。仔细观察各孔状态,可得知大乌泡叶80%醇提物对表皮葡萄球菌的MIC为6.25 mg/mL,对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、痢疾志贺菌、普通变形杆菌的MIC均为12.5 mg/mL;其乙酸乙酯部位对上述5种细菌的MIC均为3.13 mg/mL;其正丁醇部位对普通变形杆菌的MIC为3.13 mg/mL,对其余4种细菌的MIC均为6.25 mg/mL。

2.4.2 MBC的测定 采用琼脂培养基平板法^[6]分别从“2.4.1”项下未见细菌生长的孔中吸取100 μL培养液,分别接种至M-H琼脂培养基平皿中,用无菌棉签均匀涂布,置37℃恒温培养箱中培养18~24 h。用活菌计数法检查平板上菌落,以平均菌落数小于5的最小稀释度的药物质量浓度记为该药MBC。每种菌株平行操作3次。测定结果详见表6。

表6 大乌泡叶80%醇提物及其乙酸乙酯、正丁醇部位的MBC测定结果(n=3)

Tab 6 MBC of 80% ethanol extract from *R. multibracteatus* leaves and its ethyl acetate and *n*-butyl alcohol fractions(n=3)

菌株	大乌泡叶80%醇提物溶液 质量浓度,mg/mL				乙酸乙酯部位溶液 质量浓度,mg/mL				正丁醇部位溶液 质量浓度,mg/mL				
	100	50	25	12.5	6.25	25	12.5	6.25	3.13	25	12.5	6.25	3.13
金黄色葡萄球菌	-	-	-	+	/	-	-	-	+	-	-	-	+
表皮葡萄球菌	-	-	-	+	/	-	-	-	+	-	-	-	+
大肠埃希菌	-	-	-	+	/	-	-	-	+	-	-	-	+
痢疾志贺菌	-	-	-	+	/	-	-	-	+	-	-	-	+
普通变形杆菌	-	-	-	+	/	-	-	-	+	-	-	-	+

注:“+”为有菌生长;“-”为无菌生长;“/”为未进行试验

Note: “+” means bacteria growth; “-” means no bacteria growth; “/” means not tested

由表6可知,大乌泡叶80%醇提物对表皮葡萄球菌的MBC为12.5 mg/mL,对其余4种细菌的MBC均为25 mg/mL;其乙酸乙酯部位对5种细菌的MBC均为6.25 mg/mL;其正丁醇部位对大肠埃希菌、痢疾志贺菌的MBC均为12.5 mg/mL,对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、普通变形杆菌的MBC均为6.25 mg/mL。

3 讨论

本试验选择了氨苄青霉素和氟康唑作为阳性对照药物。其中,氨苄青霉素为广谱抗生素,对革兰阳性菌和革兰阴性菌均有很好的抑菌效果;氟康唑为抗真菌药物,对真菌的抑制作用良好。实验中所有药物的质量浓度由笔者根据查阅的相关文献^[10-11]以及对前期预试验结果归纳整理后设定。

抑菌活性测定结果显示,大乌泡叶水提物几乎未见抑菌作用,而80%醇提物对各菌株的抑菌作用显著强于水提物,且对5种细菌的抑制效果优于对2种真菌,其中

又对表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌的抑制效果优于对其他细菌。80%醇提物的4个不同极性部位的抑菌活性测定结果显示,石油醚及水层部位几乎无抑菌活性,乙酸乙酯及正丁醇部位表现出良好抑菌效果,但4个萃取部位对真菌均无抑制作用。以上结果提示,大乌泡叶80%醇提物及其乙酸乙酯、正丁醇萃取部位为抑菌有效部位,均对细菌有较好的抑制效果,但对真菌抑制效果不佳。MIC测定结果显示,大乌泡叶80%醇提物的乙酸乙酯部位对5种细菌的抑制作用最强,其次为正丁醇部位,80%醇提物的抑制效果最弱。MBC测定结果进一步表明其乙酸乙酯部位抑菌效果最强。以上结果提示,大乌泡叶抑菌活性成分主要为中等极性的脂溶性组分,80%醇提物的乙酸乙酯部位可以作为抑菌活性部位应用,从中寻找大乌泡叶的抑菌活性成分是今后研究的方向。

综上所述,大乌泡叶80%醇提物及其乙酸乙酯、正丁醇萃取部位具有明显的体外抑菌作用,该结论为大乌泡叶这一民间常用药的合理开发利用提供了一定的实验依据,但对于其抑菌有效部位的具体活性成分以及抑菌机制仍有待进一步研究。

参考文献

- [1] 贵州省药品监督管理局.贵州省中药材、民族药材质量标准[M].贵阳:贵州科技出版社,2003:30.
- [2] 熊山.中药楮实子及大乌泡的化学成分研究[D].贵阳:贵阳中医学院,2009.
- [3] 程伟,秦文杰,陈素红,等.大乌泡叶中总黄酮含量测定[J].中国中医药信息杂志,2009,16(9):42.
- [4] 孟鑫.大乌泡镇痛、抗炎药效物质基础研究[D].贵阳:贵州医科大学,2015.
- [5] 杜连祥,路福平.微生物学实验技术[M].北京:中国轻工业出版社,2008:7-12.
- [6] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2005:1647-1662.
- [7] 林海,龚又明,邓广海,等.黄柏及其炮制品水提物体内、外抑菌作用研究[J].中国药房,2012,23(31):2900-2902.
- [8] 张芳英,穆丽娟,杨继章,等.河北产蜂胶提取液对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌的体外抑菌作用研究[J].中国药房,2013,24(19):1742-1743.
- [9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:1201.
- [10] 陶翠.油樟叶提取物的抑菌、镇痛和抗炎活性及其作用机制研究[D].雅安:四川农业大学,2011.
- [11] 胡志明.三种药用植物抗菌活性研究[D].兰州:兰州理工大学,2012.

(收稿日期:2016-07-04 修回日期:2016-10-25)

(编辑:林 静)