

康 帅, 殷中琼, 贾仁勇, 等. 乌梅等 20 种中药对胸膜肺炎放线杆菌的体外抗菌活性研究[J]. 华南农业大学学报, 2014, 35(3): 13-17.

乌梅等 20 种中药对胸膜肺炎放线杆菌的体外抗菌活性研究

康 帅¹, 殷中琼¹, 贾仁勇^{1,2}, 代如意¹, 李 莉¹, 彭练慈¹, 曲 径¹, 梁 陈¹
(1 四川农业大学 动物医学院, 四川 雅安 625014; 2 四川农业大学 预防兽医研究所, 四川 雅安 625014)

摘要:【目的】观察乌梅 *Fructus mume* 等 20 种中药的体外抗胸膜肺炎放线杆菌 *Actinobacillus pleuropneumoniae* 活性。【方法】通过乙醇回流、水煎煮和超声波等方法对 20 种中药进行提取, 采用二倍稀释法测定其对胸膜肺炎放线杆菌的体外抗菌活性; 并研究抗菌活性较强的几味中药的体外联合抑菌活性。【结果和结论】乌梅、黄连 *Rhizoma coptidis*、诃子 *Terminalia chebula*、秦皮 *Cortex fraxini*、地榆 *Sanguisorbae officinalis*、虎杖 *Polygonum cuspidatum* 6 种中药提取物对胸膜肺炎放线杆菌的最小抑菌浓度 (Minimal inhibitory concentration, MIC) 范围是 6.25 ~ 50.00 mg/mL; 大青叶 *Isatis indigotica*、茵陈 *Artemisia capillaris*、甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 和白鲜皮 *Dictamnus dasycarpus* 4 种中药提取物的 MIC 范围是 50.00 ~ 100.00 mg/mL; 黄柏 *Phellodendron amurense*、杜仲 *Eucommia ulmoides*、金银花 *Lonicera japonica*、柴胡 *Bupleurum chinense*、蒲公英 *Taraxacum mongolicum*、板蓝根 *Baphicacanthus cusia*、栀子 *Gardenia jasminoides* 和黄芪 *Astragalus membranaceus* 等 10 种中药提取物的 MIC > 100.00 mg/mL。联合抑菌试验结果表明, 乌梅、黄连、诃子和虎杖两两联合抑菌指数 (FICI) ≤ 1, 乌梅、虎杖分别与秦皮的 FICI > 2。乌梅、黄连、诃子、虎杖、秦皮、地榆对胸膜肺炎放线杆菌均具有较好的体外抗菌活性; 乌梅、黄连、诃子和虎杖两两联合为相加、协同作用; 秦皮分别与乌梅、虎杖为拮抗作用。

关键词: 乌梅; 黄连; 诃子; 虎杖; 胸膜肺炎放线杆菌; 抗菌活性
中图分类号: S852.6 文献标志码: A 文章编号: 1001-411X(2014)03-0013-05

A study on antibacterial activity of crude extract from twenty traditional Chinese medicines like *Fructus mume* against *Actinobacillus pleuropneumoniae* in vitro

KANG Shuai¹, YIN Zhongqiong¹, JIA Renyong^{1,2}, DAI Ruyi¹, LI Li¹,
PENG Lianci¹, QU Jing¹, LIANG Chen¹

(1 College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China;
2 Preventive Veterinary Research Institute, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract:【Objective】The antibacterial activity of twenty traditional Chinese medicines against *Actinobacillus pleuropneumoniae* in vitro was evaluated in this study. 【Method】Twenty traditional Chinese medicines like *Fructus mume* were extracted by ethanol reflux extraction, water decoction and ultrasonic wave. Minimal inhibitory concentrations (MICs) of twenty traditional Chinese medicines against *A. pleuropneumoniae* were determined by the macrodilution broth method. The joint antimicrobial activity of some traditional Chinese medicines was evaluated in vitro. 【Result and conclusion】The results showed that the MICs of the extract obtained from *F. mume*, *Rhizoma coptidis*, *Terminalia chebula*, *Cortex fraxini*, *Sanguisorbae officinalis* and *Polygonum cuspidatum* against *A. pleuropneumoniae* ranged from 6.25 to 50.00 mg/mL.

收稿日期: 2013-08-19 优先出版时间: 2014-03-31
优先出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.7671/j.issn.1001-411X.2014.03.003.html>
作者简介: 康 帅 (1989—), 男, 硕士研究生, E-mail: kangshuaij@163.com; 通信作者: 殷中琼 (1968—), 女, 教授, 博士, E-mail: yinzhongq@163.com
基金项目: “十二五”农村领域国家科技计划项目 (2011BAD34B03); 四川省青年科技创新研究团队 (2013TD0015)

MICs of the extract obtained from *Isatis indigotica*, *Artemisia capillaris*, *Glycyrrhiza uralensis* and *Dictamnus dasycarpus* ranged from 50.00 to 100.00 mg/mL. MICs of the extract obtained from *Phellodendron amurense*, *Eucommia ulmoides*, *Lonicera japonica*, *Bupleurum chinense*, *Taraxacum mongolicum*, *Baphicacanthus cusia*, *Gardenia jasminoides* and *Astragalus membranaceus* were higher than 100.00 mg/mL. The results of joint bacteriostatic test showed that the fractional inhibitory concentration index (FICI) of the pairwise combination of *F. mume*, *R. coptidis*, *Te. chebula* and *Po. cuspidatum* was lower than or equal to 1, and FICI of *C. fraxini* with *Po. cuspidatum* and *F. mume* was higher than 2. The *F. mume*, *R. coptidis*, *Te. chebula*, *Po. cuspidatum*, *C. fraxini* and *S. officinalis* had a good antimicrobial activity. The pairwise combination of *F. mume*, *R. coptidis*, *Te. chebula* and *Po. cuspidatum* showed an enhanced or additive synergy action, and *C. fraxini* showed antagonistic action with *F. mume* and *Po. cuspidatum*, respectively.

Key words: *Fructus mume*; *Rhizoma coptidis*; *Terminalia chebula*; *Polygonum cuspidatum*; *Actinobacillus pleuropneumoniae*; antimicrobial activity

胸膜肺炎放线杆菌 *Actinobacillus pleuropneumoniae* 属巴氏杆菌科嗜血杆菌属,后根据其表型和 DNA 杂交水平均与放线杆菌属模式种密切相关,归属为巴氏杆菌科放线杆菌属. 常与巴氏杆菌等混合感染^[1],是引起猪上呼吸道感染的主要病原菌之一. 主要引起猪传染性胸膜肺炎,表现为急性炎症,急性死亡率高,常伴随猪繁殖与呼吸综合征病毒感染,是一种高度传染性疾病^[2-3]. 目前猪传染性胸膜肺炎的治疗主要采用抗菌药物,如氟苯尼考、盐酸环丙沙星等,大量抗菌药物的使用,增加了胸膜肺炎放线杆菌的耐药性,同时由于抗菌药物的滥用,造成药物残留和环境污染等诸多社会问题. 针对抗菌药物所带来的诸多问题,兽医临床急需寻找低毒有效的抗菌药物替代品,以控制疾病的发生. 据研究报道,中药或天然植物提取物,可发挥对病原菌的直接杀灭作用不产生耐药性^[4-5]. 因此如何从中药中寻找抗胸膜肺炎放线杆菌新药已经成为药物开发的热点. 本研究选择乌梅、黄连等 20 种具有抗菌活性的中药,提取其不同部位,研究其对胸膜肺炎放线杆菌的体外抗菌活性,以期筛选得到对胸膜肺炎放线杆菌具有抗菌作用的中药及其复方奠定基础.

1 材料与方法

1.1 材料

乌梅 *Fructus mume*(产地四川,批次:120315)、黄连 *Rhizoma coptidis* (产地四川,批次:080406)、诃子 *Terminalia chebula* (产地云南,批次:081121)、虎杖 *Polygonum cuspidatum* (产地四川,批次:081102)、柴胡 *Bupleurum chinense* (产地甘肃,批次:080301)、板蓝根 *Baphicacanthus cusia*(产地甘肃,批次:080921)、黄柏 *Phellodendron amurense* (产地四川,批次:

080923)、大青叶 *Isatis indigotica* (产地四川,批次:100310)、杜仲 *Eucommia ulmoides* (产地云南,批次:080916)、蒲公英 *Taraxacum mongolicum* (产地贵州,批次:100217)、白鲜皮 *Dictamnus dasycarpus* (产地辽宁,批次:080914)、茵陈 *Artemisia capillaris* (产地河北,批次:080923)、秦皮 *Cortex fraxini*(产地山西,批次:100330)、栀子 *Gardenia jasminoides* (产地广西,批次:080622)、黄芪 *Astragalus membranaceus* (产地陕西,批次:040824)、鱼腥草 *Houttuynia cordata* (产地四川,批次:100310)、甘草 *Glycyrrhiza uralensis* (产地甘肃,批次:081102)、夏枯草 *Prunella vulgaris* (产地河南,批次:101114)、地榆 *Sanguisorba officinalis* (产地陕西,批次:040827)、金银花 *Lonicera japonica* (产地四川,批次:080919) 20 种中药均购于四川雅安惠民堂药业连锁有限责任公司,由四川农业大学药理学副教授范巧佳鉴定为正品.

胸膜肺炎放线杆菌(ATCC265),购买于中国兽药监察所. 含质量分数为 0.02% 烟酰胺腺嘌呤二核甘酸(NAD)的 TSB 液体培养基、含质量分数为 0.02% NAD 的 TSA 固体培养基. 96 微孔细胞培养板、SPX 型生化培养箱、旋转蒸发仪、索氏提取器等.

1.2 方法

1.2.1 20 种中药有效部位的提取 乌梅、黄连、诃子、虎杖等 20 种中药按文献[6-19]的方法进行有效部位的提取,压缩烘干成浸膏.

1.2.2 药液制备 将 20 种中药提取物浸膏溶于二甲基亚砜中,配制成质量浓度为 1 g/mL 的储备液,高压蒸汽灭菌,4 ℃ 冰箱保存.

1.2.3 有效部位抗菌活性研究 参照美国临床实验室标准化委员会(Clinical and Laboratory Standard Institute, CLSI)推荐的对细菌敏感性检测方案,采用

试管二倍稀释法,测定 20 种中药有效部位提取物对胸膜肺炎放线杆菌的最小抑菌浓度 (Minimal inhibitory concentration, MIC);用 TSA 琼脂平板涂板法测定 20 种中药有效部位提取物对胸膜肺炎放线杆菌的最小杀菌浓度 (Minimal bactericidal concentration, MBC)。

菌液制备:采用平板菌落计数法确定菌液浓度。将胸膜肺炎放线杆菌菌液进行 10 倍系列稀释,分别取不同稀释度的菌液 0.1 mL 滴加于含质量分数为 0.02% NDA 的 TSA 平板上,用无菌涂布器涂布均匀,每稀释度重复 2 块平板,37 °C 温箱中培养 18 ~ 24 h。选取菌落数在 30 ~ 300 个的平板进行计数,每组稀释度相同的平板取平均值作为菌落数。计算出原菌液细菌浓度,作为细菌菌液的标准浓度。

药敏试验方法:采用试管二倍稀释法。取无菌试管 16 支,分为试验组 and 对照组,每组 8 支。分组编号后向试验组 8 支试管中各加 1 mL TSB 肉汤,以无菌操作吸取已稀释好的药物 1 mL 加入第 1 管,混匀后依次倍比稀释至第 7 管,混匀后自第 7 管弃去 1 mL,此时试管内药液浓度比依次为 1/2、1/4、1/8、1/16、1/32、1/64、1/128,相当于药液质量浓度为 500.00、250.00、125.00、62.50、31.25、15.60、7.80 mg/mL,第 8 管不加药物为对照组管。对照组操作同试验组。用微量加样器取已校正浓度的菌液 0.1 mL,依次由低浓度向高浓度加到试验组各管中,混匀后,置于 37 °C 培养箱培养 18 ~ 24 h 后分别观察细菌的生长状况,以浑浊度为指标,以对照组为参考对象检查试管中有无细菌生长,以药物最低浓度管中无细菌生长者为该试验菌 MIC。将 MIC 测定中判定未生长细菌的试验组中药肉汤 1 mL 涂布于 TSA 琼脂平板上,37 °C 条件培养 18 ~ 24 h,观察结果,以细菌菌落个数不超 5 个的管内的药物浓度,为该药的 MBC^[20]。

1.2.4 联合抑菌活性的研究 根据前期 20 味中药有效部位体外 MIC 的测定,选取其中抗菌活性较强的几味中药进行两两联合抑菌活性的研究。

溶液配制:精确称取抗菌活性较强的几种中药提取物 0.20 g,溶于 1 mL 无菌蒸馏水中,超声仪上超声使其充分溶解,配制成质量浓度为 200.00 mg/mL 的药物母液,灭菌,4 °C 冰箱保存。

联合用药选择药物的起始浓度约为 2 MIC,用 TSB 培养液对上述药液进行倍比稀释,使配方中提取物的初始浓度为 2 MIC,终末浓度为 1/64 MIC。

药敏试验:将无菌 96 孔板在超净台用紫外灯照射 30 min,以棋盘稀释法 8 孔稀释。单用药物于药敏板第 1 孔分别向右向下倍比稀释,各 8 孔,每孔 100

μL,第 1 排第 9 孔为空白对照,第 1 排第 10 孔为生长对照。联合用药药敏板则分别在每孔依次加 2 种药物各 50 μL,向右向下 2 倍稀释。药物灌板后,按药敏板的布局,每孔加入 100 μL 菌悬液。将药敏板置于微量振荡器上振荡,使其充分混匀,37 °C 条件下培养 18 ~ 36 h,置于有水环境中保持液量。

各味中药药敏试验判定标准:参考刘忠义等^[21]介绍的判断标准, MIC < 7.80 mg/mL,为高度敏感; 7.80 mg/mL < MIC < 250.00 mg/mL,为中度敏感; MIC > 250.00 mg/mL,为不敏感。

联合用药效果评价:试验结果以联合抑菌指数 (Fractional inhibitory concentration index, FICI) 来判断联合效应,表示为 $FICI = MIC(A) \text{ 联合} / MIC(A) \text{ 单独} + MIC(B) \text{ 联合} / MIC(B) \text{ 单独}$,其中, A, B 分别表示 2 种中药种类。

当 $FICI \leq 0.50$ 时为协同作用; $0.50 < FICI \leq 1.00$ 时为相加作用; $1.00 < FICI \leq 2.00$ 时为无关作用; $FICI > 2.00$ 时为拮抗作用。

2 结果

2.1 20 种中药提取物的抗菌活性

由表 1 可知,20 种中药有效部位提取物中体外抑菌活性最强的为黄连、诃子和乌梅 3 种中药, MIC 均为 15.60 mg/mL,其次为秦皮、地榆和虎杖 3 种中药, MIC 为 31.25 mg/mL,抗菌活性稍差的是白鲜皮、茵陈、大青叶和甘草 4 种中药, MIC 为 62.50 mg/mL,抗菌活性最差的为柴胡和夏枯草, MIC 为 125.00 mg/mL。由此可见,黄连、乌梅等 12 味中药对胸膜肺炎放线杆菌表现为中度敏感。黄柏、金银花、板蓝根等 8 种中药, MIC 均为 250.00 mg/mL,无抑菌活性,为不敏感。另外,黄连 MBC 为 15.60 mg/mL,乌梅和虎杖 MBC 为 31.25 mg/mL,诃子、秦皮、地榆和大青叶 MBC 为 62.50 mg/mL,具有较强的杀菌活性,黄柏、蒲公英等 13 味中药 $MBC \geq 125.00$ mg/mL,表现出较弱杀菌活性。因而笔者选取抗菌活性较强且报道较少的乌梅、黄连、诃子、秦皮和虎杖 5 味中药提取物进行后续的联合抑菌活性的研究。

2.2 5 种中药提取物的联合抑菌活性

5 种中药提取物两两联合的抑菌活性结果见表 2,根据联合抑菌指数 (FICI) 评价两者的联合效应。从表 2 可以看出,乌梅和秦皮、秦皮和虎杖 $FICI > 2.00$,为拮抗作用;乌梅和黄连、黄连和诃子、黄连和秦皮、诃子和虎杖及黄连和虎杖 $FICI \leq 0.50$,为协同作用;乌梅和诃子、乌梅和虎杖、诃子和秦皮 $0.50 < FICI \leq 1.00$,为相加作用。

表 1 20 种中药提取物对胸膜肺炎放线杆菌体外抗菌活性

Tab.1 Antimicrobial activity of active ingredient extract of twenty traditional Chinese medicines against *Actinobacillus pleuropneumoniae*

药物名称	药物不同质量浓度下的细菌生长情况 ¹⁾							MIC/	MBC/
	500.00	250.00	125.00	62.50	31.25	15.60	7.80	(mg·mL ⁻¹)	(mg·mL ⁻¹)
黄柏	-	-	+	+	+	+	+	250.00	500.00
黄连	-	-	-	-	-	-	+	15.60	15.60
杜仲	-	-	+	+	+	+	+	250.00	500.00
金银花	-	-	+	+	+	+	+	250.00	500.00
蒲公英	-	-	+	+	+	+	+	250.00	250.00
柴胡	-	-	-	+	+	+	+	125.00	500.00
板蓝根	-	-	+	+	+	+	+	250.00	500.00
诃子	-	-	-	-	-	-	+	15.60	62.50
白鲜皮	-	-	-	-	+	+	+	62.50	125.00
茵陈	-	-	-	-	+	+	+	62.50	125.00
乌梅	-	-	-	-	-	-	+	15.60	31.25
秦皮	-	-	-	-	-	+	+	31.25	62.50
栀子	-	-	+	+	+	+	+	250.00	500.00
地榆	-	-	-	-	-	+	+	31.25	62.50
黄芪	-	-	+	+	+	+	+	250.00	500.00
虎杖	-	-	-	-	-	+	+	31.25	31.25
鱼腥草	-	-	+	+	+	+	+	250.00	500.00
大青叶	-	-	-	-	+	+	+	62.50	62.50
甘草	-	-	-	-	+	+	+	62.50	250.00
夏枯草	-	-	-	+	+	+	+	125.00	125.00

1)“-”表示细菌未生长,“+”表示细菌生长;药物质量浓度单位是 mg·mL⁻¹.

表 2 5 味中药提取物两两联合抑菌活性结果¹⁾

Tab.2 Joint antimicrobial activity of active ingredient extract of five traditional Chinese medicines against *Actinobacillus pleuropneumoniae*

联合药物	黄连		乌梅		诃子		虎杖		秦皮		FICI	作用 效应
	MIC _A	MIC _C	MIC _A	MIC _C	MIC _A	MIC _C	MIC _A	MIC _C	MIC _A	MIC _C		
乌梅+诃子			15.60	3.90	15.60	7.80					0.75	相加
乌梅+黄连	15.60	3.90	15.60	3.90							0.50	协同
乌梅+虎杖			15.60	7.80			31.25	15.60			1.00	相加
乌梅+秦皮			15.60	31.25					31.25	31.25	3.00	拮抗
黄连+诃子	15.60	1.90			15.60	1.90					0.25	协同
黄连+秦皮	15.60	3.90							31.25	7.80	0.50	协同
诃子+秦皮					15.60	3.90			31.25	15.60	0.75	相加
诃子+虎杖					15.60	1.90	31.25	3.90			0.25	协同
秦皮+虎杖							31.25	15.60	31.25	62.50	2.50	拮抗
黄连+虎杖	15.60	1.90					31.25	3.90			0.25	协同

1) MIC_A 为单药 MIC,MIC_C 为联合时 MIC.

3 讨论

试验采用二倍稀释法进行胸膜肺炎放线杆菌的体外抑菌试验. 由于中药成分复杂,不同提取方法对抑菌活性有很大影响,本试验主要根据文献[6-19]中最佳提取工艺对中药有效部位进行提取,然后测定中药的 MIC 值.

据 LIU 等^[22]报道,氟苯尼考、头孢噻呋等化学药物对胸膜肺炎放线杆菌疗效显著,普遍用于胸膜

肺炎放线杆菌的治疗,而 Yoshimura 等^[23]检测了 16 种抗菌化学药物对不同血清型胸膜肺炎放线杆菌体外抑菌活性,发现氟喹诺酮类和头孢噻呋对胸膜肺炎放线杆菌抗菌活性较好,青霉素、黏菌素等抗生素对胸膜肺炎放线杆菌效果较弱,而且不同血清型胸膜肺炎放线杆菌都对它们产生了不同程度耐药性.

本研究检测到的黄连、诃子和乌梅 MIC 均为 15.60 mg/mL,秦皮、地榆和虎杖 MIC 均为 31.25 mg/mL,同时,黄连、乌梅、虎杖、诃子、秦皮和地榆

MBC $\leq$ 62.50 mg/mL,说明了黄连、诃子和乌梅等6种中药中有效部位有较强的抑杀菌作用。据葛冰等^[24]报道,将黄芪、桑白皮、陈皮和连翘4种中药进行组方后试验,发现这些组合无毒副作用,无污染,无药物残留,超微粉碎后生物利用度高,疗效显著,临床对猪胸膜肺炎放线杆菌有特效。刘仁志等^[25]利用大蒜挥发油及其复方对胸膜肺炎放线杆菌进行体外抑菌试验,证明大蒜挥发油及其复方 MIC 为 3.90 mg/mL, MBC 为 7.80 mg/mL 有较强的抗菌活性。而宋波等^[26]、蔡小华等^[27]报道,黄连、乌梅、诃子、虎杖等对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、肺炎球菌等体外抑菌结果表明其 MIC 在 7.80 ~ 250.00 mg/mL 之间,为中度敏感,说明6种中药活性部位能增强对细菌的抑菌作用。本试验研究表明黄连、乌梅和诃子等6种中药对胸膜肺炎放线杆菌有较强抗菌作用,为后续药物研究开发提供基础。

联合抑菌试验显示,黄连与乌梅、秦皮、诃子、虎杖联合都产生协同作用,具有良好的抗菌作用。但由于黄连主要成分为盐酸小檗碱,在配伍时能与大多数中药形成沉淀,影响抗菌活性^[28],同时由于诃子含有大量鞣质,在进行体外抑菌试验时也会出现沉淀,影响试验结果观察。因此,在进行含有黄连和诃子的相关试验中应优化提取工艺,以减少沉淀的产生。而在联合抑菌试验中,秦皮与乌梅、虎杖都呈拮抗作用,具体作用机制有待进一步验证。

本研究表明,黄连、乌梅、诃子、虎杖、秦皮等中药对胸膜肺炎放线杆菌具有较好的抗菌活性,黄连和乌梅、虎杖以及诃子呈协同或相加作用,研究结果为筛选治疗胸膜肺炎放线杆菌病中药新药具有重要意义。

参考文献:

- [1] 叶婷.猪胸膜肺炎诊断治疗[J].科技苑,2011(7):90-92.
- [2] BATES N, HENING-PAUKA I, GERLACH G. Both transferring binding proteins are virulence factors in *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 7 infection[J]. FEMS Microbiol Lett, 2002, 209(2):283-287.
- [3] FULLER T E, THACKER B J, DURAN C O, et al. A genetically-defined riboflavin auxotroph of *Actinobacillus pleuropneumoniae* as a live attenuated vaccine[J]. Vaccine, 2000, 18(25):2867-2877.
- [4] ZUO Guoying, WANG Guangchun, ZHAO Yubing, et al. Screening of Chinese medicinal plants for inhibition against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)[J]. J Ethnopharmacol, 2008, 120(2):287-290.
- [5] TAN B K, VANITHA J. Immunomodulatory and antimicrobial effects of some traditional Chinese medicinal herbs: A review[J]. Curr Med Chem, 2004, 11(11):1423-1430.
- [6] 余文新,黄丽华.虎杖提取工艺研究[J].齐齐哈尔医学院学报, 2011, 32(23):3871-3872.
- [7] 游剑,邓青云,高丽,等.不同工艺对栀子苷提取效果的比较研究[J].江苏农业科学, 2012, 40(1):220-222.
- [8] 姜硕.紫花地丁中黄酮化合物提取方法的研究[J].现代农业科技, 2008(21):16-18.
- [9] 罗兴武.艾蒿总黄酮的超声波提取工艺研究[J].食品研发与开发, 2011, 32(7):39-43.
- [10] 郭淑英,夏彬彬,冯波.均匀设计优选夏枯草的超声波提取工艺研究[J].吉林医学院学报, 2010, 31(6):319-321.
- [11] 赵子剑,连琰,陈迪钊.正交实验优选鱼腥草总黄酮提取工艺研究[J].时珍国医国药, 2008(10):55-56.
- [12] 李娟,郝晓光,马占强.微量提取法提取茵陈总黄酮的工艺研究[J].广东农业科学, 2010(11):165-167.
- [13] 郭茜,朱文学,于明.杜仲叶乙醇提取工艺优化[J].农产品加工, 2012(4):78-80.
- [14] 刁兴彬,蒋海强,王海燕,等.正交优选金银花总黄酮的最佳提取工艺[J].社区医学杂志, 2011, 9(22):25-27.
- [15] 余晓东,刘田云,孙付军,等.黄芩-柴胡药对提取工艺的正交优选[J].中国医院药学杂志, 2009(22):43-44.
- [16] 牛英伟,李国耀.优化板蓝根提取工艺的研究[J].中国新技术新产品, 2011(20):3.
- [17] 赵琦,张军武.正交试验法优选黄芪中总黄酮提取工艺[J].云南中医学院学报, 2012, 35(1):27-29.
- [18] 涂瑶生,江志强,孙冬梅,等.黄连生物碱提取及纯化工艺研究[J].中药研究, 2012(23):208-209.
- [19] 贝玉祥,郭英.诃子中总多酚含量的测定及超声提取工艺研究[J].生物技术, 2008(2):82-84.
- [20] 刘璐,陈静,陈丽杰.黄芩、五倍子、黄连体外抑菌活性的研究[J].中国中医药科技, 2011, 18(5):424-425.
- [21] 刘忠义,张国威,何云.志解脲支原体中药药敏试验[J].中华皮肤科杂志, 1996, 29(5):349-351.
- [22] LIU Jianzhong, FUNG Kifai, CHEN Zhangliu, et al. Pharmacokinetics of florfenicol in healthy pigs and in pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(2):820-823.
- [23] YOSHIMURA H, TAKAGI M, ISHIMURA M, et al. Comparative *in vitro* activity of 16 antimicrobial agents against *Actinobacillus pleuropneumoniae* [J]. Vet Res Commun, 2002, 11(26):11-19.
- [24] 葛冰,刘澜,周德刚,等.一种治疗畜禽呼吸道疾病的中药及其制备方法:中国,0910093557.3[P]. 2009-09-30.
- [25] 刘仁志,程桂林.大蒜挥发油及其复方对猪胸膜肺炎放线杆菌体外抑菌试验[J].中国兽医杂志, 2009, 45(3):45-46.
- [26] 宋波,刘颀,吕丽艳,等.苦参、黄芩、乌梅对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌和白假丝酵母菌抗菌活性的研究[J].中国微生态学杂志, 2010, 22(6):507-508.
- [27] 蔡小华,谢兵,杜海军.诃子化学成分及药理作用的研究进展[J].药学进展, 2008(8):52-55.
- [28] 任书青,杨继章,王长友.黄连、大黄和苦参联合应用对金黄色葡萄球菌的体外抗菌活性研究[J].河北医药, 2011(8):2253-2254.

【责任编辑 柴 焰】

<http://xuebao.scau.edu.cn>