

大黄等 5 味中药及单体成分对临床多重耐药菌的抑制作用

彭苑霞¹, 刘晓强², 温羚玲¹, 詹若挺¹, 陈蔚文¹, 徐晖^{1*}
(1. 广州中医药大学 中药资源科学与工程研究中心, 岭南中药资源科学教育部重点实验室, 广州 510006;
2. 中山大学 孙逸仙纪念医院, 广州 510006)

[摘要] 目的:研究大黄、丁香、蒲公英、姜黄、金银花 5 味中药及大黄素、芦荟大黄素、丁香酚、咖啡酸、绿原酸和姜黄素对临床多重耐药菌的抑制作用。方法:用微量稀释法测定各药物的最小抑菌浓度(MIC)。记录细菌连续 24 h 的吸光度 A_{595} , 绘制生长曲线,用聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分析细菌可溶性蛋白质。结果:大黄的抑菌效果显著, MIC 在 6.25 ~ 12.50 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 丁香的抑菌谱最广, 对所有实验菌株均有抑菌作用, MIC 在 3.13 ~ 25.00 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 蒲公英、金银花和姜黄在本实验中未见抑菌活性; 6 种单体药物在实验中对铜绿假单胞菌均没有抑菌效果; 大黄素、芦荟大黄素和丁香酚对金黄色葡萄球菌的抑菌效果优于其他临床耐药菌株; 大黄素的抑菌效果显著, MIC 在 1.95 ~ 15.63 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 芦荟大黄素的抑菌效果稍弱, MIC 在 2.34 ~ 75.00 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 丁香酚是唯一对鲍曼不动杆菌有抑菌活性的单体化合物, MIC 在 5.32 ~ 10.64 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 姜黄素、咖啡酸、绿原酸在实验中未显示抑菌活性。大黄素作用下, 金黄色葡萄球菌的生长及可溶性蛋白表达发生明显改变。结论: 大黄和丁香以及大黄素和芦荟大黄素、丁香酚对金黄色葡萄球菌等多种临床多重耐药菌具有显著的抑制效果。大黄素、芦荟大黄素和丁香酚分别是大黄和丁香发挥抑菌作用的主要成分, 其具体作用机制有待于深入研究。

[关键词] 单体化合物; 抑菌活性; 临床多重耐药菌
[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)22-0103-05
[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014220103

Antibacterial Activities of Five Chinese Medicines of Rhei Radiset Rhizoma and Their Chemical Constituents Against Multidrug-resistant Clinical Bacteria Isolates

PENG Yuan-xia¹, LIU Xiao-qiang², WEN Ling-ling¹, ZHAN Ruo-ting¹, CHEN Wei-wen¹, XU Hui^{1*}
(1. Research Center of Chinese Herbal Resource Science and Engineering, Key Laboratory of

[收稿日期] 20140103(006)
[第一作者] 彭苑霞, 硕士, 从事中药抗菌作用机制研究, Tel:13533051283, E-mail:13533051283@163.com
[通讯作者] * 徐晖, 博士, 研究员, 从事中药分析和微生物分子生物学研究, Tel:020-39358331, E-mail:zyfxsherry@gzhtcm.edu.cn

力很强,具有很好的保持水土的生态功能,对维持生态平衡起重要作用^[2]。目前国内外学者已经开展了有关的长白山牛皮杜鹃组培快繁及初步驯化栽培的实验研究^[5]。但若要真正充分对其进行资源保护及合理开发利用,则必须对其进行化学成分的深入研究,以利于质量控制。因此本文的研究结果可为长白山牛皮杜鹃的开发利用提供一定的理论依据。

[参考文献]

[1] 栾志慧,邵殿坤,杨丽娟,等. 不同海拔长白山牛皮杜鹃叶片适应性结构的对比分析[J]. 北方园艺, 2013, 17(19):80.

[2] 于盼盼. 牛皮杜鹃对环境变化的响应及基因表达差异的初步研究[D]. 吉林:吉林大学, 2011.
[3] 于秋艳,宗成文,赵金伟,等. 长白山牛皮杜鹃组培苗与野生苗药用成分含量分析[J]. 湖北农业科学, 2010, 49(11):2892.
[4] 于秋艳. 牛皮杜鹃组培快繁技术及有效成分研究[D]. 延吉:延边大学, 2010.
[5] 徐颖,金灿,宗成文,等. 长白山牛皮杜鹃组培快繁及初步驯化栽培研究[J]. 江苏农业科学, 2010, (2):47.

[责任编辑 邹晓翠]

Chinese Medicinal Resource from Lingnan, Guangzhou University of Chinese Medicine,
Ministry of Education, Guangzhou 510006, China;
2. Sun Yat-san Memorial Hospital Sun Yat-san University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the antibacterial activities of five Chinese medicines and their chemical constituents against five multidrug-resistant clinical bacteria isolates. **Method:** A micro-twofold dilution method was performed to detect the minimum inhibitory concentration (MIC). The growth curve of bacteria was recorded by measuring A_{595} successively and the protein expression profile was mapped by SDS-PAGE. **Result:** Rhei Radix et Rhizoma was effective against the strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* with the MIC of 6.25-12.50 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Caryophylli Flos exhibited a broad spectrum activity and suppressed all the tested bacteria isolates to grow with the MIC of 3.13-25.00 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. The rest medicines, namely Taraxaci Herba, Lonicerae Japonicae Flos and Curcumae Longae Rhizoma appeared no antibacterial activities. No monomer constituents show antibacterial activities against *Pseudomonas aeruginosa*. Emodin, aloe-emodin and eugenol showed better antibacterial activities against G-negative bacteria than other bacterial isolates. Emodin was observed with the MIC of 1.95-15.63 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and aloe-emodin with the MIC of 2.34-75.00 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Eugenol was the only constituent that could suppress *Acinetobacter baumannii* with the MIC of 5.32-10.64 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. No antibacterial activity of curcumin, caffeic acid and chlorogenic acid was found. Growth suppression and changes of protein expression were observed with strains of *S. aureus* in the presence of emodin. **Conclusion:** Rhei Radix et Rhizoma and Caryophylli Flos, as well as their chemical constituents, emodin, aloe-emodin and eugenol, can significantly inhibit some multidrug-resistant clinical bacteria strains. Emodin, aloe-emodin and eugenol play an important role in the antibacterial activities of these two Chinese medicines, respectively. The further researches would be carried out to elucidate their exact functional mechanism.

[Key words] chemical constituent; multidrug-resistant clinical isolates; antibacterial activity

抗生素滥用引发了日益严重的细菌耐药问题,导致以耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)为代表的超级细菌在医院和社区爆发,严重影响人们的健康。多重耐药菌已成为临床治疗感染最棘手的问题之一。因此,减少多重耐药菌株的产生和研制新的抑菌药物是当前抑菌新药研发的重点之一^[1]。

大量研究表明,多种中药和中药单体化合物具有不同程度的抑菌活性^[2-3],有些中药尚能逆转细菌的耐药性^[4],具有成为新型抑菌药物潜在价值。本实验室经过前期抑菌中药筛选研究发现,大黄、丁香、金银花、姜黄、蒲公英 5 味中药对大肠埃希菌质控菌株(ATCC 29522)有不同程度的抑菌活性,但相关的单体化合物却未见明显抑菌活性。为了进一步研究这几味中药的抑菌活性,笔者继续研究了这几味中药和相关单体化合物对临床分离的数种多重耐药菌的抑菌作用,同时研究了抑菌活性最好的大黄素对其中一株 MRSA(实验室编号 133630)生长、蛋白质表达的影响,为后期采用蛋白质组学方法研究大黄素的作用机制提供基础。

1 材料

1.1 仪器设备 培养箱(太仓华美生物仪器公司),酶标仪,Protein Cell 垂直电泳仪、凝胶成像系统 VersaDoc(Bio-Rad,美国),VITEK-2 细菌鉴定药敏仪(梅里埃,法国)。

1.2 药品和试剂 大黄、丁香、蒲公英、姜黄、金银花 5 味购自广州采芝林药业股份有限公司,经广州中医药大学詹若挺教授鉴定后,置 4℃ 保存备用;大黄素(批号 110756-200110),芦荟大黄素(批号 110795-200806),丁香酚(批号 110725-200711),咖啡酸(批号 110885-200102),绿原酸(批号 110753-200413),姜黄素(批号 110823-201004)购自中国食品药品检定研究院,-20℃ 保存。

MH 肉汤、酵母提取物、胰蛋白胍、氯化钠(OXOID 公司),3-[(3-胆酰胺基丙基)二甲基铵基]-1-丙磺酸盐(Amresco 公司),尿素、硫脲、两性电解质、十二烷基硫酸钠、二硫苏糖醇、四甲基乙二胺、30% 聚丙烯酰胺、甘氨酸、溴酚蓝、考马斯亮蓝(Bio-Rad 公司),核酸酶(Merck 公司),溶葡萄球菌酶(Sigma 公司),其他试剂均为分析纯(广州化学试剂

公司)。

1.3 实验菌株 实验用金黄色葡萄球菌质控菌株(ATCC 29213,以下简称 MSSA)购自中国药品生物

制品检定所;临床多重耐药菌株从中山大学孙逸仙纪念医院微生物室从住院病人送检的生物样品中分离鉴定所得,见表 1。

表 1 实验用菌株来源及耐药情况

菌株	编号	菌株来源	耐药情况
革兰阳性菌	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	中国食品药品检定研究院	质控菌株
	耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 133630 methicillin-resistant <i>S. aureus</i>	分泌物	对甲氧西林、苯唑西林、 β -内酰胺类药物、青霉素类、利福平、四环素、大环内酯类耐药
	耐甲氧西林金黄色葡萄球菌金黄色葡萄球菌 134005 methicillin-resistant <i>S. aureus</i>	痰样	对甲氧西林、苯唑西林、 β -内酰胺类药物耐药、青霉素类、四环素、大环内酯类和喹诺酮类耐药
革兰阴性菌	粪肠球菌 <i>Enterococcus faecalis</i> 133997	腹腔引流物	对大环内酯类、高水平氨基糖苷类、利福平和四环素耐药
	鲍曼不动杆菌 <i>Acinetobacter baumannii</i> 134017	咽拭子	对青霉素类和头孢菌素类及复方新诺明耐药
	铜绿假单胞菌 <i>P. aeruginosa</i> 134027	痰样	对头孢菌素类、呋喃妥因和青霉素类耐药

2 方法

2.1 菌悬液的制备 取实验菌株分别接种于 MH 肉汤培养基,置 37℃ 恒温箱中培养 18~24 h,分别用无菌生理盐水校正为 1×10^6 CFU·mL⁻¹ 的菌悬液,备用。

2.2 供试液的制备 取药材粗粉 2.0 g,置具塞圆底烧瓶中,加入双蒸水 20 mL,水浴回流提取 2 次,每次 30 min,分取上清液,合并浓缩,制备成质量浓度为 200 g·L⁻¹ 的原药材提取液。另精密称取(量取)各中药单体成分适量,加 DMSO 溶解制成 20~60 g·L⁻¹ 的母液,使用时用 MH 肉汤培养基稀释成所需浓度的溶液。

2.3 抑菌活性检测 参照文献[7]方法稍作修改,用微量倍比稀释法测定药物的最小抑菌浓度(MIC)值。各原药材提取液(初始质量浓度 200 g·L⁻¹)和中药单体溶液(初始质量浓度 0.1~0.6 g·L⁻¹,1% DMSO)分别用 MH 肉汤培养基连续倍比稀释 9 个浓度,添加至无菌 96 孔细胞培养板中,每孔 100 μ L,分别接种等体积 1×10^6 CFU·mL⁻¹ 的菌悬液,并以 1% DMSO 作为溶剂对照,以万古霉素(革兰阳性菌)或亚胺培南(革兰阴性菌)作为阳性对照(万古霉素和亚胺培南 MIC 由法国梅里埃 VITEK-2 细菌鉴定药敏仪检测所得),以空白培养基为阴性对照;于 37℃ 恒温箱中培养 24 h 后观察,以目测未见细菌生长的最小浓度为药物的 MIC 值。每组浓度设置 3 个复孔,实验重复 3 次。

2.4 大黄素对金黄色葡萄球菌生长曲线的影响 取 37℃ 过夜培养的金黄色葡萄球菌 ATCC 29213 和 MRSA 133630 菌液,以 1% 比例接种至含大黄素 0.78 mg·L⁻¹ (0.25 $\times$ MIC) 的新鲜 MH 培养基,以加入 1% DMSO 的 MH 培养基为对照,培养 5 h 后,每隔 0.5 h 测菌液吸光度(A_{595})。以时间为横坐标,菌液吸光度为纵坐标,描绘细菌的生长曲线。

2.5 菌体可溶性蛋白提取 参考文献[8-9]略作修改,细菌按 2.3 方法接种,震荡培养 12 h 至对数后期,离心收集菌体,用预冷磷酸盐缓冲溶液(pH 7.4)洗涤 3 次,每 100 μ L 菌体加入 200 μ L 裂解液(20 mmol·L⁻¹ Tris,pH 8.0,50 μ L 1 g·L⁻¹ 溶葡萄球菌酶,30 U 核酸酶)充分混匀,37℃ 孵育 1 h,加入 700 μ L 蛋白裂解液(7 mol·L⁻¹ 尿素,2 mol·L⁻¹ 硫脲,4% CHAPS,0.5% 两性电解质 pI 4~6,0.2% 两性电解质 pI 3~10)室温孵育 3 h,6 000 r·min⁻¹ 离心收集上清,考马斯亮蓝法测定蛋白溶液的浓度。

2.6 SDS-PAGE 电泳分析 取 100 μ L 蛋白样品加入等体积 2 $\times$ SDS-PAGE 上样缓冲液煮沸 5 min,离心后根据样品浓度调整上样体积进行 SDS-PAGE 电泳。浓缩胶和分离胶的体积分数分别为 4%,10%;电泳结束后参考文献[9]进行凝胶染色和脱色至蛋白条带清晰时用凝胶成像系统进行成像处理。

3 结果

3.1 药材的抑菌活性评价 表 2 列出了 5 种药材对各实验菌株的抑制情况。结果显示,丁香对所有实验菌株均有不同程度的抑菌作用,MIC 在 3.13~25.00 g·L⁻¹,其中对金黄色葡萄球菌和鲍曼不动杆菌的抑菌效果最明显,对粪肠球菌和铜绿假单胞菌的作用相对较弱;大黄对金黄色葡萄球菌和粪肠球菌有显著抑菌效果,MIC 在 6.25~12.50 g·L⁻¹,但对革兰阴性菌无效;金银花、蒲公英和姜黄在实验所设浓度范围内对所有实验菌株均未见

抑菌效果。

3.2 单体化合物的抑菌活性评价 单体化合物对各实验菌株的抑制情况见表 2。其中,大黄素对金黄色葡萄球菌和粪球肠菌的抑菌效果显著,MIC 在 1.95 ~ 15.63 mg·L⁻¹;芦荟大黄素的抑制作用弱于

大黄素,MIC 在 2.34 ~ 75 mg·L⁻¹;丁香酚对金黄色葡萄球菌有较强的抑制作用,MIC 在 5.32 ~ 10.64 mg·L⁻¹,但对粪球肠菌无效;所有单体化合物中,只有丁香酚对鲍曼不动杆菌有抑制作用;其他单体化合物在实验所设浓度范围内未见抑菌效果。

表 2 药材及相关单体化合物对 5 种临床分离耐药菌的 MIC g·L⁻¹

药物	实验菌株					
	ATCC29213	133630	134605	133997	134027	134017
万古霉素	1.00 × 10 ⁻³	0.50 × 10 ⁻³	1.00 × 10 ⁻³	1.00 × 10 ⁻³	-	-
亚胺培南	-	-	-	-	1.00 × 10 ⁻³	2.00 × 10 ⁻³
大黄	12.50	6.25	6.25	12.50	-	-
丁香	6.25	3.13	6.25	25.00	6.25	25.00
金银花	-	-	-	-	-	-
蒲公英	-	-	-	-	-	-
姜黄	-	-	-	-	-	-
大黄素	1.95 × 10 ⁻³	15.63 × 10 ⁻³	1.95 × 10 ⁻³	15.63 × 10 ⁻³	-	-
芦荟大黄素	2.34 × 10 ⁻³	2.34 × 10 ⁻³	75.00 × 10 ⁻³	75.00 × 10 ⁻³	-	-
丁香酚	1.06 × 10 ⁻²	5.32 × 10 ⁻³	1.06 × 10 ⁻²	-	5.32 × 10 ⁻³	-
咖啡酸	-	-	-	-	-	-
绿原酸	-	-	-	-	-	-
姜黄素	-	-	-	-	-	-

注:“-”表示未见抑菌效果。

3.3 对金黄色葡萄球菌生长曲线的影响 大黄素对金黄色葡萄球菌生长曲线的影响见图 1。与空白对照相比,在大黄素作用下,金黄色葡萄球菌进入对数生长期的时间点和对数生长期延续时间未有明显改变,但生长受到明显抑制,无法达到生长高峰(图 1)。

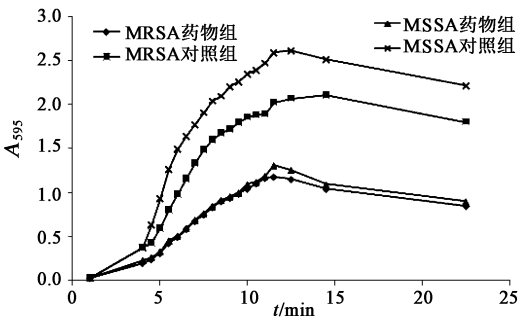
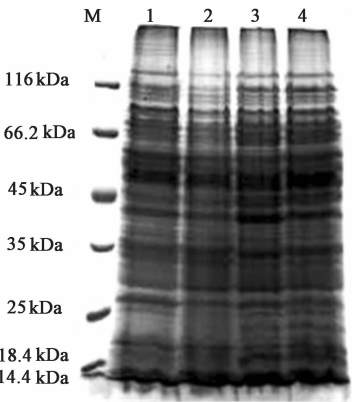


图 1 大黄素对金黄色葡萄球菌生长曲线的影响

3.4 对金黄色葡萄球菌蛋白质表达的影响 从图 2 可见,大黄素作用后耐甲氧西林金葡菌的蛋白质谱发生了明显改变。在 66.20 ~ 110 kDa,耐甲氧西林金葡菌药物组(MRSA 药物组)蛋白质条带明显比对照组(MRSA 对照组)蛋白质条带深,但在 35 kDa 附近,MRSA 药物组蛋白质条带表达较 MRSA 对照组浅。质控菌株药物组(MSSA 药物组)蛋白质谱的表达受大黄素影响不大,其蛋白质条带未见明



M. marker;1~4. 依次是 MRSA 药物组、MRSA 空白组、MSSA 药物组、MSSA 空白组

图 2 大黄素对金黄色葡萄球菌蛋白质表达的影响

显差异。其次,从图 2 还可见,耐药菌株对照组(MRSA 对照组)与质控菌株对照组(MSSA 对照组)的蛋白质谱表达有明显差异。在 35 ~ 116, 14.4 ~ 25 kDa,MRSA 对照组的蛋白质条带表达明显弱于 MSSA 对照组,而在 25 ~ 35 kDa,MRSA 对照组的蛋白质条带表达略明显于 MSSA 对照组。

4 讨论

研究表明^[8],多种中药和中药单体化合物对病原菌具有抑制效果,对临床分离的多重耐药菌亦有显著抑菌活性。本实验研究结果与已有文献报道类

似,发现中药丁香、大黄以及对应的单体化合物丁香酚、大黄素和芦荟大黄素对临床分离多重耐药菌有良好的抑菌作用,为开发新型植物源抑菌药物提供了思路。实验结果显示,丁香、大黄与对应的单体化合物丁香酚、大黄素和芦荟大黄素的抑菌谱非常类似,因此推测丁香酚、大黄素和芦荟大黄素可能是丁香和大黄抑菌的有效成分。此外,在本实验中笔者发现,只有丁香和丁香酚对革兰阴性菌有抑菌效果,提示丁香在治疗革兰阴性菌感染方面具有潜在的应用价值。

前人研究^[9]发现,大部分抑菌中药对细菌的生长和蛋白谱的表达均有影响。本实验研究也获得了相似的结果。在药物作用下,金黄色葡萄球菌的生长受到明显抑制,无法达到生长高峰,细菌可溶性蛋白表达发生了明显变化,说明大黄素对金葡菌的抑菌作用可能与其影响细菌生长、蛋白质的表达有关,与前人的研究结果一致。

MRSA是当前临床治疗细菌感染的一大难题。金黄色葡萄球菌存在多种耐药机制,包括产生 β -内酰胺酶,使 β -内酰胺类抗生素失效从而产生耐药性^[10];合成新的青霉素结合蛋白PBP2a,代替PBP2催化肽聚糖的交联,从而使细菌细胞壁的合成不受药物影响^[11];合成氨基糖苷修饰酶,使进入细胞内的药物分子失活^[12];改变药物作用靶点或者外排蛋白norA表达上调增加药物的排出^[13]等。从图2看到,MSSA对照组和MRSA对照组的蛋白质表达谱存在多个差异条带,在相对分子质量为35~116 kDa MRSA对照组的蛋白质表达明显下调,表明耐药菌株的蛋白质表达已经产生了显著改变;而在大黄素作用后,MRSA药物组的蛋白质条带在35~116 kDa明显比MRSA对照组深,与MSSA对照组的蛋白质表达谱趋势类似,说明大黄素能显著改变MRSA的蛋白质表达情况,使其蛋白质表达谱更接近于质控菌株。笔者推测,可能是大黄素抑制了MRSA某些蛋白,如 β -内酰胺酶、氨基糖苷修饰酶、核糖体保护蛋白等的表达,从而造成了MRSA的蛋白质表达条带变浅,这些蛋白质表达的变化可能与大黄素的抑菌机制相关。但具体的分子作用机制需更多生物学实验来揭示。目前本实验室正采用双向电泳、iTRAQ-LC-MS-MS蛋白质组学研究方法开展大黄素对金葡菌抑菌作用的分子机制研究,有望从蛋白质水平探索大黄素对金葡菌的抑菌机制。

[参考文献]

[1] 李新芳. 苏州地区医院感染调查研究及金黄色葡萄

球菌耐药表型与基因分析[D]. 苏州: 苏州大学, 2012.

- [2] Ma F, Chen Y, Li J, et al. Screening test for anti-*Helicobacter pylori* activity of traditional Chinese herbal medicines [J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 28 (16):5629.
- [3] Bastos M L, Lima M R, Conserva L M, et al. Studies on the antimicrobial activity and brine shrimp toxicity of *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. (Bignoniaceae) extracts and their main constituents [J]. *Ann Clin Mic Anti*, 2009, 18(8):16.
- [4] Wu C M, Cao J L, Zheng M H, et al. Effect and mechanism of andrographolide on the recovery of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility to several antibiotics [J]. *J Int Med Res*, 2008, 36(1):178.
- [5] Brudzynski K, Lannigan R. Mechanism of honey bacteriostatic action against MRSA and VRE involves hydroxyl radicals generated from honey's *Hydrogen peroxide* [J]. *Front Microbiol*, 2012, 7(3):36.
- [6] Drummelsmith J, Winstall E, Bergeron M G, et al. Comparative proteomics analyses reveal a potential biomarker for the detection of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* strains [J]. *J Proteome Res*, 2007, 6(12):4690.
- [7] Candiano G, Bruschi M, Musante L, et al. Blue silver: a very sensitive colloidal coomassie G-250 staining for proteome analysis [J]. *Electrophoresis*, 2004, 25 (9):1327.
- [8] Sumitra Chanda, Rathish Nair. Antimicrobial activity of *Polyalthia longifolia* (Sonn.) Thw. var. *Pendula* leaf extracts against 91 clinically important pathogenic microbial strains [J]. *Chin Med*, 2010, 37(1):31.
- [9] 周磊, 云宝仪, 汪业菊, 等. 大黄素对金黄色葡萄球菌的抑菌作用机制 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2011, 27(12):1156.
- [10] 谭艳, 方治平. 抗菌药物的作用机制及细菌耐药性机制的研究进展 [J]. *国外医药: 抗生素分册*, 2003, (2):65.
- [11] Kondo N, Ito T, Hiramatsu K. Genetic basis for molecular epidemiology of MRSA [J]. *Nihon Saikingaku Zasshi*, 1997, 52(2):417.
- [12] Ramirez M S, Tolmasky M E. Aminoglycoside modifying enzymes [J]. *Drug Resist Updat*, 2010, 13(6):151.
- [13] Putman M, Veen H W, Konings W N. Molecular properties of bacterial multidrug transporters [J]. *Mic Mol Biol Rev*, 2000, 64(4):672.

[责任编辑 邹晓翠]