

双醋瑞因对眼表常见病原菌的体外抑制作用

岳娟 简守璐 吕奇学 孙声桃 韩雷 刘素素 张红敏

河南省人民医院眼科 河南省立眼科医院 河南省眼科研究所 河南省眼科学与视觉科学重点实验室 郑州大学人民医院眼科, 郑州 450003

通信作者: 张红敏, Email: zhm0906@163.com

【摘要】目的 研究双醋瑞因对眼表常见病原菌的体外抑菌作用。**方法** 采集于河南省立眼科医院就诊的眼表感染患者中分离培养的革兰阳性球菌和杆菌、革兰阴性杆菌、丝状真菌及念珠菌。采用 K-B 琼脂纸片扩散法测定双醋瑞因对病原菌的体外抑菌活性, 采用微量液基稀释法进行最低抑菌浓度 (MIC) 定量测定。以左氧氟沙星和伏立康唑分别为抗细菌药物和抗真菌药物对照。**结果** 双醋瑞因对眼表分离的 42 株革兰阳性球菌和 10 株革兰阳性杆菌均有明显抑菌活性, 双醋瑞因与左氧氟沙星对表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、中间葡萄球菌和革兰阳性棒状杆菌抑菌圈直径比较, 差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。双醋瑞因对眼表分离的 23 株革兰阴性杆菌, 10 株丝状真菌和 3 株念珠菌均无抑制作用。双醋瑞因对表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、中间葡萄球菌及其他葡萄球菌的 MIC 范围为 1~32 $\mu\text{g}/\text{ml}$, MIC₉₀ 分别为 16、8、16、32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。**结论** 双醋瑞因对眼表分离的革兰阳性葡萄球菌和棒状杆菌具有体外抑菌活性, 对致病革兰阴性杆菌和真菌无抑菌活性。

【关键词】 革兰阳性球菌; 杆菌; 丝状真菌; 念珠菌; 双醋瑞因; 抑菌圈; K-B 琼脂纸片扩散法

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81770902); 河南省自然科学基金项目 (162300410163); 河南省科技创新人才计划项目 (144100510015)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2020.03.002

In vitro antimicrobial activity of diacerein on common ocular surface pathogens

Yue Juan, Jian Shoujun, Lyu Qixue, Sun Shengtao, Han Lei, Liu Susu, Zhang Hongmin

Department of Ophthalmology, Henan Provincial People's Hospital, Henan Eye Hospital, Henan Eye Institute, Henan Key Laboratory of Ophthalmology and Visual Science, Zhengzhou University People's eye Hospital, Zhengzhou 450003, China
Corresponding author: Zhang Hongmin, Email: zhm0906@163.com

【Abstract】Objective To study the antimicrobial activity of diacerein on common pathogens of the ocular surface *in vitro*. **Methods** Pathogens were collected from patients with ocular surface infections in Henan Eye Hospital, including Gram-positive cocci and bacilli, Gram-negative bacilli, filamentous fungi, and *Candida*. The antimicrobial activity of diacerein was determined by the K-B agar diffusion method, and its minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by the micro-liquid method. Levofloxacin and voriconazole were used as the control of antibacterial and antifungal drug, respectively. **Results** Diacerein showed antibacterial activity against 42 strains of Gram-positive cocci and 10 strains of Gram-positive bacilli, its inhibition zone diameters for *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *S. intermedius* and Gram-positive *Corynebacterium* were not significantly different from those of levofloxacin (all at $P > 0.05$). Its MIC range of diacetate against *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *S. intermedius* and other *Staphylococci* was 1-32 $\mu\text{g}/\text{ml}$, and its respective MIC₉₀ was 16, 8, 16, and 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Diacerein had no bacteriostatic effect on 23 strains of Gram-negative bacilli, 10 strains of filamentous fungi and 3 strains of *Candida*.

Conclusions Diacerein has antibacterial effects against Gram-positive *Staphylococcus* and *Corynebacterium* isolated from the ocular surface, but shows no antimicrobial activity against Gram-negative bacilli and fungi. Diacerein offers a new drug option and method for the treatment of bacterial keratitis.

【Key words】 Gram-positive cocci; Bacilli; Filamentous fungi; *Candida*; Diacerein; Inhibition zone; K-B agar paper diffusion method

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81770902); Henan Provincial Natural Science Foundation (162300410163); Henan Science and Technology Innovation Talent Project (144100510015)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2020.03.002

细菌和真菌是眼表常见的病原微生物。抗菌药物的不规范使用导致部分病原菌产生耐药性; 由于角膜屏障的存在, 有些在全身感染性疾病治疗中有效的药

物在眼部用药时通透性不佳, 在病变部分难以达到有效药物浓度, 影响药物疗效, 筛选眼部新型抑菌药物一直是临床研究的热点和难点^[1-2]。双醋瑞因是白细胞

介素-1 抑制剂,主要用于治疗骨关节炎^[3],但迄今为止该药尚未应用于眼科疾病的治疗^[4-5]。本研究团队前期制备了双醋瑞因滴眼液并进行角膜的药代动力学和抗炎药效学研究,结果显示该药可以在感染性角膜炎的早期抑制病程的发展,并具有良好的角膜穿透性^[6-7]。研究显示,多数蒽醌类化合物具有抑菌活性^[8]。双醋瑞因为蒽醌类小分子化合物,其是否具有抑菌作用,目前仍不清楚。本研究探讨双醋瑞因滴眼液对眼表常见致病球菌、杆菌、丝状真菌及念珠菌的体外抑菌作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 收集河南省立眼科医院微生物实验室 2017 年 3—12 月临床细菌及真菌性角膜炎患者眼部分离培养的革兰阳性球菌 42 株、革兰阴性菌 33 株、丝状真菌 10 株及念珠菌 3 株。金黄色葡萄球菌(ATCC 29213)和大肠杆菌(ATCC 25922)作为质控菌株(中国普通微生物菌种保藏管理中心)。

1.1.2 主要试剂 双醋瑞因(纯度 $\geq 98\%$)(西安汇林生物科技有限公司);盐酸左氧氟沙星(H1603231)(扬子江药业集团有限公司);血液琼脂培养基、Muller-Hinton agar 培养基、阳离子调节肉汤(CAMHB)培养基(郑州人福博赛生物技术有限责任公司);马铃薯葡萄糖琼脂培养基(青岛海博生物有限公司);RPMI Medium 1640 培养基(867884)(美国 Gibco 公司);左氧氟沙星药敏纸片(5 μg /片,直径为 6 mm)(北京天坛药物生物技术开发公司)

1.2 方法

1.2.1 药敏纸片制备 双醋瑞因药敏纸片(200 μg /片)和伏立康唑药敏纸片(10 μg /片)制备,用打孔器将定性滤纸制成直径为 6 mm 和 9 mm 的滤纸片,分别置于无菌平皿内,经 121 $^{\circ}\text{C}$ 高压蒸汽灭菌 15 min 后,置于 100 $^{\circ}\text{C}$ 干燥约 3 h,中途用无菌镊子翻动几次,制成药敏纸片备用。取出处理好的药敏纸片放入无菌平皿内,分别滴加 10 μl 和 20 μl 药液滴于药敏纸片,并使药液浸透纸片,待干燥后置于无菌瓶中保存备用。药敏纸片直径为 6 mm 和 9 mm 两种。伏立康唑药敏纸片(10 μg /片)直径为 9 mm。

1.2.2 菌种活化及菌悬液的制备 将冻存于 -80°C 的实验用临床菌株采用分区划线法在血液琼脂培养基上复苏,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱培养 24 h,用接种环从血液琼脂培养基上挑取少量形态相似的单个菌落接种于 1 ml 质量分数 0.9% NaCl 混匀后制备成菌悬液,测

定并调整菌悬液 A_{625} 至 0.5 McFarland Standard,含 1.5×10^8 CFU/ml(质控为 BIO-KONT 温州康泰生物标准比浊管)。菌悬液现配现用。

1.2.3 药物储备液制备 用二甲基亚砜配制质量浓度为 2 560 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的双醋瑞因储备液和质量浓度为 1 280 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的左氧氟沙星储备液, -20°C 冰箱储存。

1.2.4 药物敏感性试验 采用 K-B 法进行细菌及真菌药物敏感性试验。细菌药物敏感性试验采用 Muller-Hinton agar 培养基,真菌药物敏感性实验采用按 M38-A 方案配制的 RPMI Medium 1640 培养基。均采用无菌棉拭子充分蘸取菌悬液,均匀涂布整个培养基表面,静置 10 min,在培养基平板上贴药敏纸片,将细菌平板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱培养 24 h,而真菌平板置于 28 $^{\circ}\text{C}$ 真菌培养箱培养 48 h,观察并测量抑菌环的直径(包括纸片),记录测量数据。测量方法参照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS/CLSI)标准,应用游标卡尺对抑菌圈直径进行测量,若抑菌圈直径与药敏纸片直径一致,视为无抑菌环,记录为耐药。

1.2.5 微量液基稀释法测定最低抑菌浓度 按照美国国家临床实验室标准委员会 NCCLS-M7 方法实验。按照肉汤倍比稀释法确定各种药物浓度范围,将各药物储备液分别用 CAMHB 培养基按 CLSI-M7^[9] 推荐的方法稀释至 2 倍终浓度(256 $\mu\text{g}/\text{ml}$)。将各浓度药液每孔 50 μl 依次加入 96 孔板中,再加入 50 μl 稀释菌液(0.5 McFarland Standard 菌液:CAMHB 培养基 = 1:100)。培养板应放置 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱培养 24 h。以无细菌生长的最低药物浓度作为该药的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)。计算不同实验菌株对双醋瑞因的 MIC 范围、抑制 50% 菌株的最低抑菌浓度(MIC₅₀)和抑制 90% 菌株的最低抑菌浓度(MIC₉₀)。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。本研究定量资料经 W 检验呈正态分布,以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,各组药物抑菌圈直径比较采用独立样本 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 双醋瑞因对致病革兰阳性球菌的抑菌活性

药物敏感性试验结果显示,双醋瑞因对表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、中间葡萄球菌等 42 株致病革兰阳性球菌均有不同程度的抑制作用,其中对表皮葡萄球菌呈高度敏感,抑菌圈最大,金黄色葡萄球菌、中

间葡萄球菌次之。双醋瑞因与左氧氟沙星对表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、中间葡萄球菌的抑菌圈比较,差异均无统计学意义($t = 1.330, 0.372, -1.393$, 均 $P > 0.05$) (表 1)。

2.2 双醋瑞因对致病杆菌的抑菌活性

药物敏感性试验结果显示,双醋瑞因对 10 株革兰阳性致病棒状杆菌具有高度抑菌活性,其抑菌圈直径与左氧氟沙星比较,差异无统计学意义($t = 0.458, P = 0.657$)。双醋瑞因对 23 株革兰阴性致病杆菌和铜绿假单胞菌均无抑菌活性(表 2)。

表 1 双醋瑞因和左氧氟沙星对眼表分离革兰阳性致病球菌的抑菌活性比较
Table 1 Comparison of bacteriostatic activity of diacerein and levofloxacin against Gram-positive pathogenic cocci isolated from ocular surface

组别	不同革兰阳性致病球菌的抑菌圈直径 (mean±SD, mm)						
	表皮葡萄球菌 (n=28)	金黄色葡萄球菌 (n=4)	中间葡萄球菌 (n=4)	溶血葡萄球菌 (n=2)	木糖葡萄球菌 (n=2)	人葡萄球菌 (n=1)	头葡萄球菌 (n=1)
双醋瑞因组	25.36±4.76	23.75±6.08	22.50±7.59	19.50	18.50	30.00	22.00
左氧氟沙星组	23.54±5.46	22.50±4.62	28.00±2.16	25.50	29.50	31.00	30.00
t 值	1.330	0.372	-1.393	-	-	-	-
P 值	0.189	0.723	0.213	-	-	-	-

(独立样本 t 检验)
(independent sample t-test)

表 2 双醋瑞因和左氧氟沙星对眼表分离致病杆菌的抑菌活性比较 (mean±SD, mm)
Table 2 comparison of bacteriostatic activity of diacerein and levofloxacin against pathogenic bacteria isolated from ocular surface (mean±SD, mm)

组别	不同致病杆菌的抑菌圈直径										
	G ⁺ 棒状杆菌 (n=10)	G ⁻ 铜绿假单胞菌 (n=10)	G ⁻ 非发酵菌 (n=3)	G ⁻ 肠杆菌 (n=2)	G ⁻ 大肠埃希菌 (n=2)	G ⁻ 肺炎克雷伯菌 (n=1)	G ⁻ 酸克雷伯菌 (n=1)	G ⁻ 沙雷氏菌 (n=1)	G ⁻ 不动杆菌 (n=1)	G ⁻ 洋葱霍乱菌 (n=1)	G ⁻ 嗜麦芽窄食单胞菌 (n=1)
双醋瑞因组	22.89±3.69	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
左氧氟沙星组	21.00±11.82	30.12±7.79	25.00±0.00	19.50	32.00	34.00	20.00	33.00	33.00	30.00	30.00
t 值	0.458	-10.275	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P 值	0.657	<0.001	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注:(独立样本 t 检验) G⁺:革兰阳性;G⁻:革兰阴性;抑菌圈直径 6 mm 表示耐药,无抑菌活性;直径>6 mm 有抑菌活性
Note:(independent sample t-test) G⁺:gram positive;G⁻:Gram negative;bacteriostatic zone diameter 6 mm indicates drug resistance and no antibacterial activity;diameter larger than 6 mm has antibacterial activity

2.3 双醋瑞因对致病丝状真菌及白色念珠菌的抑菌活性

真菌药物敏感性试验结果表明,双醋瑞因对腐皮镰孢菌、黄曲霉和白念珠菌均无抑菌活性,而伏立康唑对这 3 种真菌均有明显的抑菌作用。

2.4 双醋瑞因对部分眼表敏感病原菌的 MIC

双醋瑞因对表皮葡萄球菌的 MIC₅₀、MIC₉₀ 分别为 8 μg/ml 和 16 μg/ml;对金黄色葡萄球菌的 MIC₉₀ 为 8 μg/ml;对中间葡萄球菌的 MIC₅₀、MIC₉₀ 分别为 8 μg/ml 和 16 μg/ml;对例数较少的其他葡萄球菌的 MIC₅₀、MIC₉₀ 分别为 8 μg/ml 和 32 μg/ml。

3 讨论

研究证实大多数萘醌类化合物有体外抗菌作用,该化合物可通过破坏细菌的氧化还原过程或者作为膜

破坏剂发挥抑菌活性^[10-12]。萘醌类化合物对多种细菌均有不同程度的抑制作用,其中以葡萄球菌最敏感,短链杆菌、假单胞菌等次之^[13]。双醋瑞因属萘醌类化合物,但目前尚无双醋瑞因抗菌机制的相关研究。本研究中分离的病原菌药物敏感性试验结果显示,双醋瑞因对表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、中间葡萄球菌等大多数革兰阳性球菌和棒状杆菌等少数革兰阳性杆菌有显著抑菌作用。表皮葡萄球菌是眼部感染常见的致病菌^[14-15]。本研究中分离的致病菌中居首位的是表皮葡萄球菌,其次为铜绿假单胞菌、棒状杆菌,与孙声桃等^[14-15]和高敏等^[16]的研究结果一致。

Comini 等^[17]和 Yang 等^[18]研究发现萘醌类化合物对真菌(黑孢菌、绣菌科等)具有抑制作用,但本研究结果表明,双醋瑞因对眼部分离的大多数丝状真菌和念珠菌等无体外抑菌活性,推测可能与萘醌类化合

物母核中的基因差异有关。

本研究在药物敏感性试验的基础上,进一步对敏感革兰阳性病原菌(葡萄球菌属细菌)进行了 MIC 测定,双醋瑞因的 MIC 范围为 1~32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。由于双醋瑞因是小分子化合物,容易透过角膜上皮屏障,角膜内浓度较高;在前期的研究中我们制备了双醋瑞因滴眼液,进行小鼠双醋瑞因滴眼液点眼后,并研究其在角膜中的药代动力学,角膜内双醋瑞因浓度为 143.59 \pm 2.37 $\mu\text{g}/\text{g}$,远远高于双醋瑞因 MIC 的最大值,说明双醋瑞因对葡萄球菌属细菌具有抑菌活性。同时双醋瑞因是白细胞介素-1 受体拮抗剂,是一种抗炎药物,因此双醋瑞因可能是治疗细菌性角膜炎,特别是眼表炎症性疾病的潜在药物^[19-20]。

本课题组前期实验结果显示,双醋瑞因对革兰阳性菌有明显抗菌效果,提示双醋瑞因的抗菌作用可能与蒽醌类化合物的抗菌机制相似:抑制细菌的呼吸代谢;破坏细菌细胞膜、细胞壁;抑制细菌蛋白合成及作用于遗传物质;干预细菌或真菌生物膜形成过程;抗内毒素。双醋瑞因的具体抗菌作用机制需要进一步实验进行研究。

本研究中双醋瑞因具有体外抑菌作用。双醋瑞因对表皮葡萄球菌、棒状杆菌、金黄色葡萄球菌、中间葡萄球菌均显示了较好的抑菌活性,这一结果表明双醋瑞因作为新的抑菌剂具有潜在的临床应用价值。但本研究仅进行了体外实验,关于其在体外抗菌效果和作用机制仍需进一步研究。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

- 王明武.新时期细菌性角膜炎的临床处置要点[J].中华实验眼科杂志,2017,35(11):966-969. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.11.002.
Wang MW. Clinical management of bacterial keratitis in the new era [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2017, 35(11): 966-969. DOI: 10. 3760/ cma. j. issn. 2095-0160. 2017. 11. 002.
- 周天洋, 夏慧芸, 何继军, 等. 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯胶束对盐酸特比萘芬滴眼液角膜吸收的促进作用[J]. 中华实验眼科杂志, 2017, 35(11): 1009-1013. DOI: 10. 3760/ cma. j. issn. 2095-0160. 2017. 11. 011.
Zhou TY, Xia HY, He JJ, et al. Promoting effects of macrogol 15 hydroxystearate micelles on corneal absorption of terbinafine hydrochloride [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2017, 35(11): 1009-1013. DOI: 10. 3760/ cma. j. issn. 2095-0160. 2017. 11. 011.
- 张英俊, 张东蕾, 何伟. 明目中药活性单体的研究现状[J]. 中华实验眼科杂志, 2017, 35(12): 1147-1152. DOI: 10. 3760/ cma. j. issn. 2095-0160. 2017. 12. 020.
Zhang YJ, Zhang DL, He W. Advanced research on effective monomers of ophthalmological chinese traditional medicine [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2017, 35(12): 1147-1152. DOI: 10. 3760/ cma. j. issn. 2095-0160. 2017. 12. 020.
- de Isla NG, Stoltz JF. *In vitro* inhibition of IL-1 β catabolic effects on cartilage: a mechanism involved on diacerein anti-OA properties [J]. Bio rheology, 2008, 45(3-4): 433-438.
- Bu T, Wang C, Meng Q, et al. Hepatoprotective effect of rhein against methotrexate-induced liver toxicity [J]. Eur J Pharmacol, 2018, 834: 266-273. DOI: 10. 1016/ j. ejphar. 2018. 07. 031.
- 杨柯, 陈世伟, 窦新岩, 等. 2% 双醋瑞因滴眼液结膜囊多次与单次给药的角膜药代动力学差异 [J]. 国际眼科杂志, 2018, 18(4): 630-633. DOI: 10. 3980/ j. issn. 1672-5123. 2018. 4. 08.
Yang K, Chen SW, Dou XY, et al. Corneal pharmacokinetics of the 2% diacerein eye drops between multiple administration and single administration [J]. Intern J Ophthalmol, 2018, 18(4): 630-633. DOI: 10. 3980/ j. issn. 1672-5123. 2018. 4. 08.
- 窦新岩, 陈世伟, 杨柯, 等. 双醋瑞因在小鼠角膜中的药代动力学行为 [J]. 中成药, 2017, 39(11): 2289-2292. DOI: 10. 3969/ j. issn. 1001-1528. 2017. 11. 013.
Dou XY, Chen SW, Yang K, et al. Pharmacokinetic behaviors of diacerein in mouse corneas [J]. Chin Trad Patent Med, 2017, 39(11): 2289-2292. DOI: 10. 3969/ j. issn. 1001-1528. 2017. 11. 013.
- 邓丽红, 谢臻, 麦蓝尹, 等. 蒽醌类化合物抗菌活性及其机制研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2016, 25(21): 2450-2455.
Deng LH, Xie Z, Mai LY, et al. Advances in studies on antibacterial activity and mechanism of anthraquinone compounds [J]. Chin J New Drugs, 2016, 25(21): 2450-2455.
- Wayne PA. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically [M]. 10th ed. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015: 165.
- Chan KY, Zhang J, Chang CW. Mode of action investigation for the antibacterial cationic anthraquinone analogs [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2011, 21(21): 6353-6356. DOI: 10. 1016/ j. bmcl. 2011. 08. 107.
- Wang W, Chen R, Luo Z, et al. Antimicrobial activity and molecular docking studies of a novel anthraquinone from a marine-derived fungus *Aspergillus versicolor* [J]. Nat Prod Res, 2018, 32(5): 558-563. DOI: 10. 1080/ 14786419. 2017. 1329732.
- Khamthong N, Rukachaisirikul V, Phongpaichit S, et al. Bioactive polyketides from the sea fan-derived fungus *Penicillium citrinum* PSU-F51 [J]. Tetrahedron, 2012, 68(39): 8245-8250. DOI: 10. 1016/ j. tet. 2012. 07. 060.
- Pham DQ, Ba DT, Dao TN, et al. Antimicrobial efficacy of extracts and constituents fractionated from *Rheum tangicicum* Maxim. ex Balf. rhizomes against phytopathogenic fungi and bacteria [J]. Indust Crops Products, 2017, 108: 442-450. DOI: 10. 1016/ j. indcrop. 2017. 06. 067.
- 孙声桃, 陈祖基, 徐筠, 等. 氟喹诺酮药物的眼部表皮葡萄球菌耐药药突变浓度的测定 [J]. 中华眼科杂志, 2006, 42(11): 989-991.
Sun ST, Chen ZJ, Xu J, et al. The concentrations of fluoroquinolones in prevention of *Staphylococcus epidermidis* from mutant in ocular surface [J]. Chin J Ophthalmol, 2006, 42(11): 989-991.
- 孙声桃, 王丽娅, 张月琴, 等. 近六年眼部分离细菌及体外药物敏感性的变迁 [J]. 中华眼科杂志, 2012, 48(6): 542-547. DOI: 10. 3760/ cma. j. issn. 0412-4081. 2012. 06. 013.
Sun ST, Wang LY, Zhang YQ, et al. The changes of ocular bacterial isolates and *in vitro* antimicrobial susceptibility in the past six years [J]. Chin J Ophthalmol, 2012, 48(6): 542-547. DOI: 10. 3760/ cma. j. issn. 0412-4081. 2012. 06. 013.
- 高敏, 张阳, 肖扬, 等. 146 例细菌性角膜炎临床分析 [J]. 眼科, 2017, 26(3): 163-169.
- Comini LR, Montoya SC, Páez PL, et al. Antibacterial activity of anthraquinone derivatives from *Heterophyllaea pustulata* (Rubiaceae) [J]. J Photochem Photobiol B, 2011, 102(2): 108-114. DOI: 10. 1016/ j. jphotobiol. 2010. 09. 009.
- Yang WJ, Yang CS, Huang CJ, et al. Bostrycin, a novel coupling agent for protein immobilization and prevention of biomaterial-centered infection produced by *Nigrospora* sp. No. 407 [J]. Enzyme Microb Technol, 2012, 50(6-7): 287-292. DOI: 10. 1016/ j. enzmictec. 2012. 02. 002.
- Wang F, Liu J, Chen X, et al. IL-1 β receptor antagonist (IL-1Ra) combined with autophagy inducer (TAT-Becn1) is an effective alternative for attenuating extracellular matrix degradation in rat and human osteoarthritis chondrocytes [J]. Arthritis Res Ther, 2019, 21(1): 171. DOI: 10. 1186/ s13075-019-1952-5.
- Zhang H, Liu S, Yue J, et al. *In vitro* antimicrobial activity of diacerein on 76 isolates of Gram-positive Cocci from bacterial keratitis patients and *in vivo* study of diacerein eye drops on *staphylococcus aureus* keratitis in mice [J/OL]. Antimicrob Agents Chemother, 2019, 63(4): e01874-18 [2019-02-12]. https://www. ncbi. nlm. nih. gov/ pubmed/ 30718254. DOI: 10. 1128/ AAC. 01874-18.

(收稿日期:2019-08-22 修回日期:2020-01-30)

(本文编辑:张宇)