



## 新疆鼠尾草花提取物对变异链球菌的抑制活性研究\*

王丽娃<sup>1</sup>, 张莎<sup>1</sup>, 王林洋<sup>1</sup>, 官海燕<sup>2</sup>, 田树革<sup>1△</sup>

1. 新疆医科大学中医学院(乌鲁木齐 830017); 2. 新疆医科大学第五附属医院(乌鲁木齐 830011)

**【摘要】目的** 研究新疆鼠尾草花提取物(*Salvia deserta* Schang flower extracts, SFE)对变异链球菌(*Streptococcus mutans*, *S. mutans*)的体外抑菌活性。**方法** 通过琼脂打孔法和微量稀释法测定SFE对*S. mutans*浮游菌的抑菌作用及其生长过程的影响;结晶紫染色法和MTT还原试验测定SFE对*S. mutans*生物膜的影响;蒽酮-硫酸法测定SFE对细菌生物膜产胞外多糖(exopolysaccharides, EPS)量的影响;乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)比色法测定*S. mutans*的胞内LDH活性;采用pH计测定SFE对*S. mutans*产酸能力的影响。**结果** SFE对*S. mutans*的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)为14 μg/μL, 1/8 MIC到MIC浓度的SFE在30 h内均能抑制*S. mutans*的生长速度,且与对照组相比能显著抑制其LDH活性( $P<0.0001$ ), 4 MIC到1/4 MIC浓度的SFE对*S. mutans*终产酸量有显著抑制作用( $P<0.001$ ),并且能有效抑制*S. mutans*生物膜的形成,同时能使生物膜产生的EPS量明显减少( $P<0.01$ )。**结论** SFE能有效抑制*S. mutans*及其生物膜活性,初步探讨其抑制机制为:通过减少细菌EPS的产量来干扰微生物的粘附和聚集,从而抑制细菌生物膜的形成;通过降低细菌LDH活性来干扰*S. mutans*的糖酵解,从而抑制*S. mutans*产酸。

**【关键词】** 新疆鼠尾草花 变异链球菌 生物膜 乳酸脱氢酶

**Inhibitory Activity of Flower Extracts from *Salvia deserta* Schang on *Streptococcus mutans*** WANG Li-wa<sup>1</sup>, ZHANG Sha<sup>1</sup>, WANG Lin-yang<sup>1</sup>, GONG Hai-yan<sup>2</sup>, TIAN Shu-ge<sup>1△</sup>. 1. College of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830017, China; 2. The Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China  
△ Corresponding author, E-mail: tianshugue@xjmu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To examine the *in vitro* inhibitory effect of flower extracts from *Salvia deserta* Schang (SFE) on *Streptococcus mutans* (*S. mutans*). **Methods** The inhibitory effect of SFE on planktonic *S. mutans* and the effect of SFE on the growth process of planktonic *S. mutans* were determined by the agar drilling method and the microdilution method. Crystal violet staining and MTT reduction assay were conducted to determine the effect of SFE on *S. mutans* biofilm formation. The effect of SFE on the production of exopolysaccharides (EPS) in *S. mutans* biofilm was determined by anthrone-sulfuric acid method. The intracellular lactate dehydrogenase (LDH) activity in *S. mutans* was determined by LDH colorimetric assay. The effects of SFE on the acid-producing capacity of *S. mutans* was determined by pH meter. **Results** The minimum inhibitory concentration (MIC) of SFE against *S. mutans* was 14 μg/μL. SFE of the the concentration between 1/8 MIC and MIC could inhibit the growth rate of *S. mutans* within 30 h and it could significantly inhibit the LDH activity compared with the control group ( $P<0.0001$ ). SFE of the concentration between 4 MIC and 1/4 MIC had an inhibitory effect on the acid production of *S. mutans* ( $P<0.001$ ). Moreover, it could effectively restrain the formation of *S. mutans* biofilm and significantly reduce the amount of EPS produced by biofilm ( $P<0.01$ ). **Conclusion** SFE can effectively inhibit the activity of *S. mutans* and its biofilm. The mechanism of inhibiting *S. mutans* by SFE was preliminarily discussed as follows, it interferes with microbial adhesion and aggregation by reducing the production of bacterial EPS, thus inhibiting the formation of bacterial biofilms. In addition, it interferes with glycolysis of *S. mutans* by reducing the LDH activity of bacteria, thus inhibiting the acid production of *S. mutans*.

**【Key words】** *Salvia deserta* Schang flower *Streptococcus mutans* Biofilm Lactate dehydrogenase

龋齿是最常见的人类口腔疾病之一<sup>[1]</sup>。变异链球菌(*Streptococcus mutans*, *S. mutans*)是参与龋齿发展的主要致病菌<sup>[2-3]</sup>;可代谢生物膜中的碳水化合物并产生多种酸性产物,导致牙釉质的酸性破坏和脱矿<sup>[4]</sup>;是生物膜中发现的产酸最多的微生物之一;并有强大的耐酸能力<sup>[5]</sup>, *S. mutans*还可以利用糖基转移酶(glucosyltransferases,

GTFS)从碳水化合物中产生胞外多糖(exopolysaccharides, EPS)<sup>[6]</sup>,其中不溶性EPS被认为是致龋生物膜的主要组成部分<sup>[7]</sup>。迄今为止,许多抗菌药物如季铵盐、抗菌肽和氯己定等已被应用于抗龋领域<sup>[8]</sup>。然而,这些化学抗菌剂仍然存在很多问题<sup>[9]</sup>,且抗菌药物的长期给药会导致细菌耐药性。目前在口腔领域中有许多天然草本植物作为新型抗菌药物的来源。

新疆鼠尾草花系唇形科鼠尾草属新疆鼠尾草(*Salvia deserta* Schang)的干燥花<sup>[10]</sup>,主要功效为清热解暑、祛痰

\* 国家自然科学基金项目(No. 82060748)和新疆维吾尔自治区重大科技项目(No. 2017A03005-2)资助

△ 通信作者, E-mail: tianshugue@xjmu.edu.cn

止咳、抗菌消炎等<sup>[11]</sup>,其主要含多酚和萜类化合物<sup>[12-14]</sup>,其中单体成分迷迭香酸<sup>[15]</sup>、咖啡酸、原儿茶酸<sup>[16]</sup>和熊果酸<sup>[17]</sup>对口腔细菌*S. mutans*均表现出良好的抑菌活性(分子结构式见图1)。现代药理学研究表明新疆鼠尾草具有抗氧化、抗血栓、抑制血小板聚集和凝血失活等活性<sup>[18]</sup>。目前新疆鼠尾草花提取物(*Salvia deserta* Schang flower extracts, SFE)对*S. mutans*的抑菌作用尚未报道。因此,本文旨在研究SFE对*S. mutans*的抑菌效果,为天然药物在龋病防治中的应用提供依据。

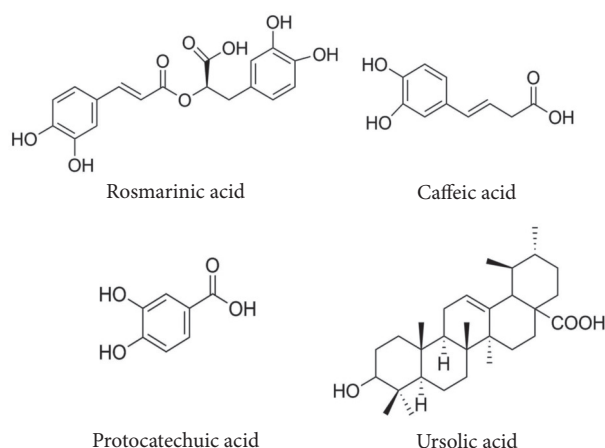


图 1 新疆鼠尾草花抑菌活性成分化学结构图

Fig 1 Chemical structure diagram of antibacterial active components in SFE

## 1 材料与方法

### 1.1 SFE溶液的制备

新疆鼠尾草花自然阴干后粉碎过50目筛作为实验材料,称取药材粉末置于具塞锥形瓶中,用体积分数40%的乙醇溶液(料液体积比为1:25,200 W)超声提取30 min,过滤后浓缩,蒸干得到SFE,备用。称取一定量的SFE,用脑心浸出液(BHI)液体培养基溶解制成终质量浓度为50  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的储备液,再采用二倍稀释法将储备液依次稀释成系列浓度的SFE溶液。

### 1.2 菌种及培养条件

*S. mutans*浮游菌用BHI培养,*S. mutans*生物膜用BHI加1%蔗糖(BHIs)于37  $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数5%  $\text{CO}_2$ 中培养。取标准菌株*S. mutans*(ATCC700610,新疆医科大学中心实验室)的磁珠冻存管,接种于BHI液体培养基中培养,复苏48 h后,取出在平板划线,培养24 h后置于4  $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。按实验要求制备不同浓度的*S. mutans*菌悬液备用。

### 1.3 药敏试验

取100  $\mu\text{L}$ 制备得到的*S. mutans*菌悬液( $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$  CFU/mL)均匀涂布在BHI固体培养基中,打孔器在培

养皿上打孔后,每孔内添加40  $\mu\text{L}$ 药液(孔直径为6 mm),试验组药液分别为不同质量浓度(50、25、12.5  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ )的SFE,阳性对照组为复方氯己定含漱液。培养24 h后用游标卡尺测定抑菌圈直径。药敏试验以抑菌圈直径进行敏感性判断<sup>[19]</sup>,抑菌圈直径为6 mm表明无抑菌活性。

### 1.4 最小抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 和最小杀菌浓度 (minimum bactericidal concentration, MBC) 的测定

将100  $\mu\text{L}$ 菌悬液( $1 \sim 5 \times 10^6$  CFU/mL)和不同质量浓度的SFE溶液以1:1的体积比加入96孔板中混合均匀,每个质量浓度3个复孔,阴性对照组为含有双蒸水的BHI稀释菌悬液,阳性对照组为含有复方氯己定含漱液的BHI稀释菌悬液,37  $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数5%  $\text{CO}_2$ 中培养24 h后,以肉眼观察孔内菌液清澈透明,无*S. mutans*生长的孔对应的SFE质量浓度为MIC。取MIC以及之前无细菌生长的孔,将孔中的菌液全部吸入固体培养基中,涂布均匀后培养24 h,观察以菌落数不超过5个的平板所对应的孔的SFE质量浓度即为该药物的MBC。

### 1.5 *S. mutans*生长曲线测定

用BHI液体培养基分别制备浓度为MIC、1/2 MIC、1/4 MIC、1/8 MIC的SFE溶液,将上述SFE溶液与菌悬液( $1 \sim 5 \times 10^6$  CFU/mL)分别等比例混合加入96孔板中,每个浓度平行3个复孔,等量菌悬液和BHI液体培养基作为菌液对照组,然后培养0、2、4、6、8、12、24、30 h后在600 nm下测定*S. mutans*的光密度(OD)值。为避免药液本身颜色的影响,取不同时间段的OD值与初始OD值的差值来计算 $\Delta\text{OD}$ ,然后绘制*S. mutans*的生长曲线图。

### 1.6 SFE对*S. mutans*生物膜生长的影响

采用MTT比色法和结晶紫染色法来评估SFE对细菌生物膜的影响。将100  $\mu\text{L}$  *S. mutans*菌悬液(每孔约 $1 \sim 5 \times 10^7$  CFU/mL)与不同质量浓度SFE按体积比1:1混合接种于96孔板中,等量菌悬液和BHIs液体培养基作为对照组,孵育24 h后取出96孔板。对于结晶紫实验,去除96孔中的培养基,用PBS润洗2次后用2%甲基纤维素固定15 min,干燥,用0.1%结晶紫200  $\mu\text{L}$ 染色15 min后,弃去孔中的液体,用PBS洗涤2次,然后向孔中加入95%乙醇溶液200  $\mu\text{L}$ 溶解染色,并震荡使结晶物完全溶解,在600 nm处测定OD值<sup>[20]</sup>。对于MTT实验,小心除去孔中培养基,用PBS润洗2次后,向各孔中加入100  $\mu\text{L}$ 的MTT染液(5 mg/mL)。37  $^{\circ}\text{C}$ 避光染色3 h,小心吸除上清液后,在室温加入200  $\mu\text{L}$  DMSO溶解染液10 min,并震荡使结晶物完全溶解后在590 nm下测定OD值<sup>[21]</sup>。

采用L-7012-LIVE/DEAD Bacterial Viability Kit荧光

染料染色后在激光共聚焦下(laser scanning confocal microscopy, LSCM)观察SFE处理后的细菌生物膜形态及其中的活死细菌的生长形态。将菌悬液与不同质量浓度的SFE(阴性对照、MIC、1/2 MIC、1/4 MIC)各500  $\mu$ L以体积比1:1混合后加入四分格共聚焦培养皿中, BHI菌悬液作为阴性对照。37  $^{\circ}$ C培养48 h后去除上清液, 用PBS洗涤两次。用2%甲基纤维素固定后, 加入混合好的荧光染料20  $\mu$ L(将荧光染料SYTO9和PI分别溶解在2.5 mL灭菌水中, 然后按照1:1的比例混合, 以上操作都是避光进行)。室温下避光孵育30 min后在LSCM下观察(物镜60倍, 目镜10倍)。

### 1.7 SFE对*S. mutans*生物膜产EPS的影响

将菌悬液与质量浓度为4 MIC、2 MIC、MIC、1/2 MIC、1/4 MIC的SFE按体积比1:1混合加入12孔板中, 以不含药液的BHI作为对照组, 然后将12孔板培养24 h后取出, 用PBS轻柔润洗2次以除去浮游细菌, 每孔用1.0 mL PBS用力吹打收集生物膜并转移到无菌离心管中, 离心5 min后收集沉淀并用1 mL 0.4 mol/L NaOH混合, 并在37  $^{\circ}$ C下孵育2 h后离心, 吸取上清液到另一个离心管中, 然后将600  $\mu$ L葱酮试液(称取葱酮200 mg, 加100 mL硫酸溶液即得, 当日配制使用)加入200  $\mu$ L上清液中, 将反应混合物在100  $^{\circ}$ C下孵育6 min, 然后在冰水浴中冷却放置15 min, 最后不同处理组各吸取200  $\mu$ L在625 nm处记录每个孔的OD值。

### 1.8 SFE对*S. mutans*中乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)活性的影响

将4 mL菌悬液(约 $1 \sim 5 \times 10^6$  CFU/mL)与不同质量浓度SFE(MIC、1/2 MIC、1/4 MIC、1/8 MIC)按体积比1:1混合后培养24 h取出, 离心5 min后收集菌体沉淀, 用PBS柔和清洗两次后向其中加入1 mL含5 mg/mL的溶菌酶的TE缓冲液, 混合均匀后孵育1 h, 取出离心10 min收集上清液放在4  $^{\circ}$ C备用, 以不含SFE的菌悬液作为对照组。采用LDH试剂盒测定SFE对*S. mutans* LDH活性的影响, 操作步骤如下, 标准孔: 加入双蒸水5  $\mu$ L, 不同浓度标准品溶液20  $\mu$ L, 基质缓冲液25  $\mu$ L; 测定孔: 加入待测样本20  $\mu$ L, 基质缓冲液25  $\mu$ L, 辅酶I应用液5  $\mu$ L; 对照孔: 加入双蒸水5  $\mu$ L, 待测样本20  $\mu$ L, 基质缓冲液25  $\mu$ L。将上述不同孔中试剂分别混匀后, 37  $^{\circ}$ C孵育15 min, 再分别向各孔中加入碱液250  $\mu$ L, 混匀, 室温静置5 min后, 在波长450 nm下测定各孔OD值。LDH活性定义为每克组织蛋白37  $^{\circ}$ C与基质作用15 min, 在反应体系中产生1  $\mu$ mol丙酮酸为1个LDH活力单位(U)。用BCA法按照试剂盒流程测定*S. mutans*中的蛋白质浓度。

### 1.9 SFE对*S. mutans*产酸能力检测

将4 mL菌悬液( $1 \sim 5 \times 10^9$  CFU/mL)离心5 min后弃上清, 用PBS轻柔洗涤2次后, 菌体沉淀用4 mL缓冲液(含50 mmol/L氯化钾, 1 mmol/L的氯化镁, 质量分数1%的葡萄糖)重悬<sup>[22]</sup>, 设置含质量浓度为4 MIC、2 MIC、MIC、1/2 MIC、1/4 MIC的SFE的缓冲液为实验组, 以空白缓冲液为对照组。用pH计检测不同浓度SFE处理的*S. mutans*产酸情况。

### 1.10 统计学方法

定量资料均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较使用配对t检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 SFE对*S. mutans*的抑菌圈直径

结果发现当SFE质量浓度为50  $\mu$ g/ $\mu$ L时, 抑菌圈直径为(20.63 $\pm$ 0.41) mm, 对*S. mutans*表现为高敏感性。SFE质量浓度为25  $\mu$ g/ $\mu$ L和12.5  $\mu$ g/ $\mu$ L时, 其抑菌圈直径分别为(17.30 $\pm$ 0.10) mm和(14.33 $\pm$ 0.23) mm, 其中阳性对照组为(20.73 $\pm$ 0.42) mm, 表明SFE质量浓度在12.5 ~ 50  $\mu$ g/ $\mu$ L时对浮游状态下的*S. mutans*均具有生长抑制作用。

### 2.2 MIC和MBC

肉眼观察14  $\mu$ g/ $\mu$ L的孔内液体清澈透明无浑浊沉淀生长, 平板培养24 h后, 观察实验组为15  $\mu$ g/ $\mu$ L的菌落数 $<$ 5个, 即SFE对*S. mutans*的MIC为14  $\mu$ g/ $\mu$ L, MBC为15  $\mu$ g/ $\mu$ L。

### 2.3 *S. mutans*生长曲线

如图2所示, 低质量浓度实验组(1/2 ~ 1/8 MIC)处理的*S. mutans*在4 h后进入对数生长期, 增长迅速, 12 h后增殖速度变缓, 24 h后进入稳定期。其中在4 ~ 30 h内各实验组*S. mutans*的增殖速度均小于对照组, 在培养30 h后, 各实验组与菌液对照组相比差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ), 尤其SFE质量浓度为MIC的实验组与对照组相比, 差异显著( $P < 0.0001$ )。

### 2.4 SFE对*S. mutans*生物膜生长的抑制作用

本实验按照结晶紫和MTT染色实验分别测定了SFE对*S. mutans*生物膜的影响。结果如图3A所示, 结晶紫实验显示高质量浓度SFE(4 MIC到2 MIC)能显著抑制*S. mutans*生物膜的生物量( $P < 0.0001$ ), MIC到1/4 MIC的SFE处理组对*S. mutans*生物膜中的生物量较对照组也均下降, 且差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。MTT染色实验结果见图3B, 药液质量浓度为4 MIC到1/2 MIC的细菌生物膜活性与对照组相比, 差异有统计学意义( $P < 0.0001$ ), 而1/4 MIC质量浓度对细菌生物膜代谢活性与对照组相

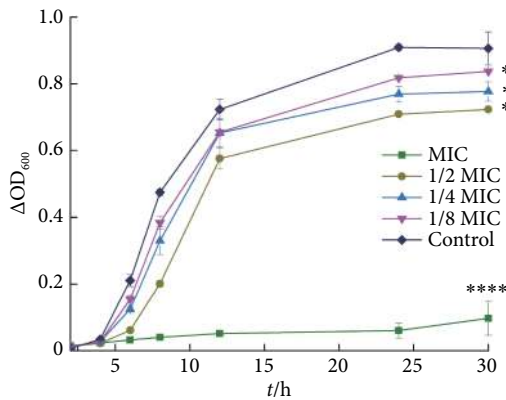


图 2 *S. mutans*在不同SFE浓度下的生长曲线

Fig 2 Growth curves of *S. mutans* under different concentrations of SFE  
n=3; \* P<0.05, \*\*\*\* P<0.0001, vs. control at 30 h.

比差异无统计学意义。LSCM得到的结果如图3C所示,处理组为MIC到1/4 MIC的SFE与对照组相比活菌数量大量减少,显著降低了生物膜中活菌和死菌的比例。此外,当SFE质量浓度为MIC时,与对照组相比,玻片上几乎没有形成结构化生物膜。以上表明了SFE可以有

效抑制*S. mutans*生物膜中细菌量的变化和细菌细胞的代谢活性。

2.5 SFE对*S. mutans*产EPS的影响

如图4A所示,质量浓度为4 MIC到1/4 MIC的SFE处理的细菌生物膜产生的EPS量与对照组相比均显著减少,差异有统计学意义(P<0.01),当SFE质量浓度为4 MIC ~ 1/2 MIC,抑制效果尤为显著(P<0.0001)。

2.6 LDH活性测定

如图4B所示,实验组质量浓度从1/8 MIC到MIC, LDH活性较对照组均显著下降(P<0.0001),表明SFE对1%蔗糖浓度下*S. mutans*的胞内LDH活性明显有抑制作用。

2.7 *S. mutans*产酸测定

结果如图4C所示,随着时间的延长,实验组均对*S. mutans*产酸有抑制作用,各实验组(4 MIC ~ 1/4 MIC)的终产酸量与对照组相比,差异均有统计学意义(P<0.001)。对照组在3 h内pH从5.38降到了3.84, ΔpH达到了1.54,而SFE处理下的溶液体系的pH下降平缓,尤其高质量浓度(4 MIC)实验组的ΔpH仅为0.04。

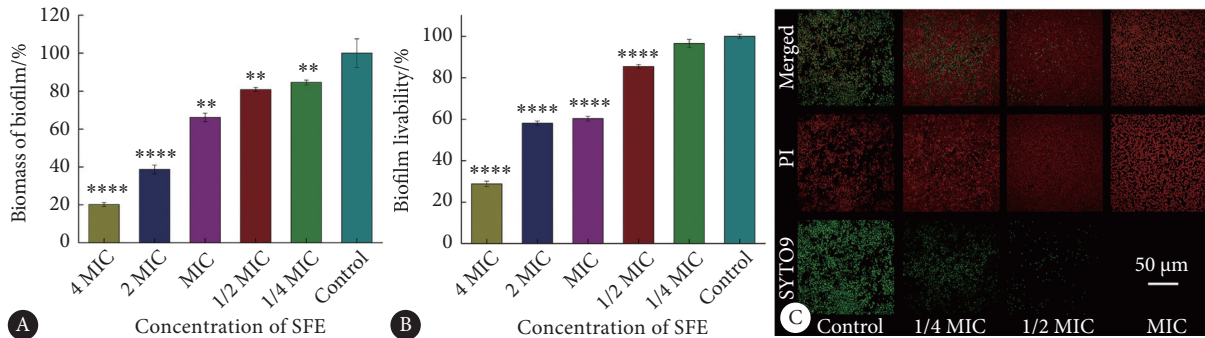


图 3 SFE对*S. mutans*生物膜的影响

Fig 3 Effect of SFE on the biofilm fromation of *S. mutans*

A: Results of crystal violet assay; B: MTT assay results; C: the effect of SFE treatment on bacterial biofilms was observed by LSCM (SYTO9: green fluorescence, which was used for both the dead and live bacteria; PI: red fluorescence, which was used for dead bacterial cells). n=6; \*\* P<0.01, \*\*\*\* P<0.0001, vs. control group.

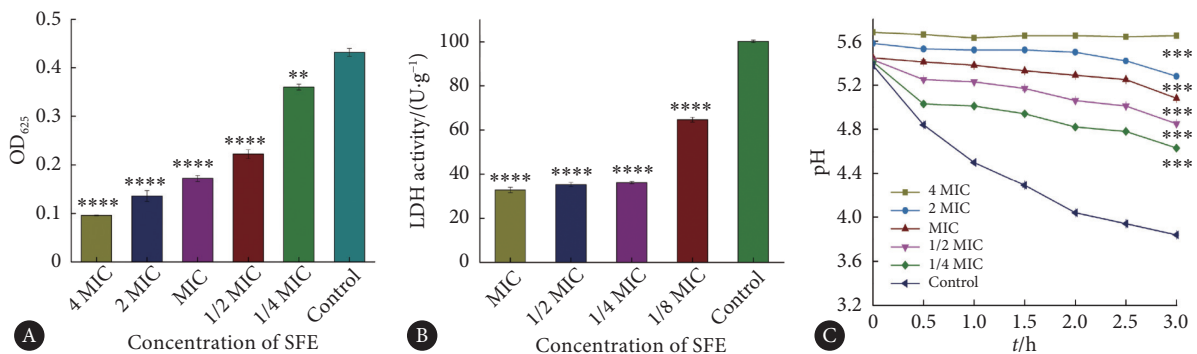


图 4 SFE对*S. mutans*产EPS、产酸和LDH活性的影响

Fig 4 Effects of SFE on EPS and acid production of *S. mutans* and its LDH activity

A: Effect of SFE on EPS production of *S. mutans*; B: effect of SFE on LDH activity of *S. mutans*; C: effect of SFE on acid production of *S. mutans*. n=3; \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001, \*\*\*\* P<0.0001, vs. control group.

### 3 讨论

本研究发现SFE能抑制*S. mutans*浮游菌及其细菌生物膜的活性。本文首次测定了SFE对*S. mutans*的MIC为14  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ,初步探讨SFE抑制*S. mutans*代谢和生长的机制为:通过减少细菌EPS的产量来干扰微生物的粘附和聚集,从而抑制细菌生物膜的形成;通过降低细菌胞内LDH的活性来干扰*S. mutans*的糖酵解过程,从而抑制*S. mutans*的产酸。EPS作为细胞外基质中的主要成分可以介导细菌在表面的粘附及其聚集,在保持细菌生物膜物理稳定性方面发挥了重要作用。SFE中富含熊果酸<sup>[14]</sup>,研究发现熊果酸抑制*S. mutans*是通过结合和抑制GTFS的活性来抑制EPS的合成,从而干扰细菌的粘附和聚集<sup>[17]</sup>,本研究发现SFE可以有效抑制EPS的合成,因此推断SFE可能影响了GTFS的活性。口腔内微生物利用碳水化合物在糖酵解过程中产生乳酸、甲酸、乙酸等有机酸导致牙面脱矿是龋病发生的直接原因<sup>[23]</sup>。研究表明在pH低于5.5时,牙釉质脱矿速度大大加快<sup>[4]</sup>,而且口腔环境中pH的降低也可导致其他口腔定植者的损害<sup>[24]</sup>。其中乳酸是*S. mutans*代谢糖产生的主要有机酸,LDH是*S. mutans*生成乳酸的关键酶<sup>[25]</sup>,对*S. mutans*的致龋能力有重要影响。LDH广泛存在于*S. mutans*细胞内,但在菌体外部也有分布,由于细菌细胞壁的存在,胞外和胞内LDH含量可能有很大差异,而且*S. mutans*胞外LDH活性易受外界干扰。故本研究测定*S. mutans*细胞内的LDH活性来探讨SFE对*S. mutans*产酸的影响,发现SFE对1%蔗糖浓度下*S. mutans*细胞内的LDH活性有显著抑制作用,这与孙艳伟等<sup>[26]</sup>在研究柠檬精油对*S. mutans*产酸时发现的机制相似,进一步推测SFE抑制*S. mutans* LDH的活性可能与抑制LDH的编码基因*ldh*的表达有关。

综上所述,相比于单体化合物复杂的精制和合成工艺,本研究中的提取物更易获取,经济适用性更高。SFE中含多种活性成分,多成分协同作用下不易产生细菌耐药性。因此,SFE作为天然草本植物可以在口腔领域中作为新型抗菌药物的来源,也为天然抗龋药物用于口腔疾病提供了新的研究思路 and 理论数据,但由于SFE中成分复杂,明确的抗菌成分需进一步去探讨,而且该药的分子作用机制以及在临床应用中的开发仍需进一步研究。

\*            \*            \*

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参 考 文 献

- against *Streptococcus mutans* and an anti-adhesion approach to biofilm formation. *Int J Med Microbiol*, 2021, 311: 151512. doi: 10.1016/j.ijmm.2021.151512.
- [2] ZHANG Y C, ZHU Y, ZUO Y P, *et al.* Effects of Rhein-8-O- $\beta$ -D-glucopyranoside on the biofilm formation of *streptococcus mutans*. *Curr Microbiol*, 2021, 78: 323–328. doi: 10.1007/s00284-020-02248-0.
- [3] DIMOU I, DRITSAS S, AGGELLOPOULOU P, *et al.* A development of a herbal mouthwash containing a mixture of essential oils and plant extracts and *in vitro* testing of its antimicrobial efficiency against the planktonic and biofilm-enclosed cariogenic bacterium *Streptococcus mutans*. *Biofouling*, 2021, 37(4): 397–409. doi: 10.1080/08927014.2021.1924693.
- [4] 陈东茹, 林焕彩. 变异链球菌致龋机制研究新进展. *四川大学学报(医学版)*, 2022, 53(2): 208–213. doi: 10.12182/20220360508.
- [5] LYU X, LI C, ZHANG J, *et al.* A novel small molecule, LCG-N25, inhibits oral streptococcal biofilm. *Front microbiol*, 2021, 12: 654692. doi: 10.3389/fmicb.2021.654692.
- [6] PHILIP N, BANDARA H, LEISHMAN S J, *et al.* Inhibitory effects of fruit berry extracts on *Streptococcus mutans* biofilms. *Eur J Oral Sci*, 2019, 127: 122–129. doi: 10.1111/eos.12602.
- [7] 黄晓晶, 江山, 蔡志宇, 等. 生物膜状态变异链球菌临床株合成胞外多糖能力的研究. *重庆医科大学学报*, 2011, 36(3): 281–285. doi: 10.13406/j.cnki.cyx.2011.03.036.
- [8] ZAYED S M, ABOULWafa M, HASHEM A M, *et al.* Biofilm formation by *Streptococcus mutans* and its inhibition by green tea extracts. *AMB Expr*, 2021, 11: 73. doi: 10.1186/s13568-021-01232-6.
- [9] BESINIS A, DEPERALTA T, HANDY R D. The antibacterial effects of silver, titanium dioxide and silica dioxide nanoparticles compared to the dental disinfectant chlorhexidine on *Streptococcus mutans* using a suite of bioassays. *Nanotoxicology*, 2014, 8(1): 1–16. doi: 10.3109/17435390.2012.742935.
- [10] 任春晖, 王晓梅, 王新玲, 等. 新疆鼠尾草根中酚酸类化学成分纯化工艺研究. *西北药学杂志*, 2021, 36(4): 527–532. doi: 10.3969/j.issn.1004-2407.2021.04.002.
- [11] 王晓梅, 任春晖, 王新玲, 等. 新疆鼠尾草酚酸类成分对HK-2细胞氧化损伤的保护作用及机制研究. *中国药房*, 2022, 33(19): 2348–2353. doi: 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.19.09.
- [12] ZHUSSPOVA A, ZHUMALIYEVA G, OGAY V, *et al.* Immunomodulatory effects of plant extracts from *Salvia deserta* Schang and *Salvia sclarea* L. *Plants*, 2022, 11(20): 2690. doi: 10.3390/plants11202690.
- [13] 王新玲, 王晓梅, 胡君萍, 等. 新疆鼠尾草不同部位不同极性提取物抗氧化活性. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(23): 62–65. doi: 10.13422/j.cnki.syfx.2017230062.
- [14] WANG L W, WU W X, TIAN S G. Qualitative and quantitative analyses of four active components in different organs of *Salvia deserta* Schang by high-performance thin-layer chromatography. *J Chromatogr Sci*, 2023, 61(3): 225–233. doi: 10.1093/chromsci/bmac014.
- [15] JEONG M J, LIM D S, JEONG S J, *et al.* Anti-oral microbial activity and

[1] HU P, LV B B, YANG K X, *et al.* Discovery of myricetin as an inhibitor

- anti-inflammatory effects of rosmarinic acid in lipopolysaccharide-stimulated MC3T3-E1 osteoblastic cells on a titanium surface. *J Dent Sci*, 2020, 20: 221–229. doi: [10.17135/jdhs.2020.20.4.221](https://doi.org/10.17135/jdhs.2020.20.4.221).
- [16] ALMEIDA A A P, NAGHETINI C C, SANTOS V R, *et al*. Influence of natural coffee compounds, coffee extracts and increased levels of caffeine on the inhibition of *Streptococcus mutans*. *Food Res Int*, 2012, 49: 459–461. doi: [10.1016/j.foodres.2012.07.026](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.026).
- [17] LIU Y C, HUANG Y X, FAN C, *et al*. Ursolic acid targets glucosyltransferase and inhibits its activity to prevent *Streptococcus mutans* biofilm formation. *Front microbiol*, 2021, 12: 743305. doi: [10.3389/fmicb.2021.743305](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.743305).
- [18] 阿孜古丽·阿里木, 王启文, 刘阳, 等. 高效液相色谱结合 Box-Behnken 响应面法优选新疆鼠尾草根萜类成分提取纯化工艺. *中国医院药学杂志*, 2023, 43(8): 855–862. doi: [10.13286/j.1001-5213.2023.08.05](https://doi.org/10.13286/j.1001-5213.2023.08.05).
- [19] 杨艾华, 宋姗姗, 王微微. 火炭母提取物对金黄色葡萄球菌的抑菌活性及稳定性研究. *食品与机械*, 2021, 37(11): 148–152. doi: [10.13652/j.issn.1003-5788.2021.11.026](https://doi.org/10.13652/j.issn.1003-5788.2021.11.026).
- [20] 吴菊, 王玲, 刘兴容. 黄芩苷对变异链球菌 UA159 体外的抑制作用. *口腔疾病防治*, 2021, 29(7): 462–467. doi: [10.12016/j.issn.2096-1456.2021.07.005](https://doi.org/10.12016/j.issn.2096-1456.2021.07.005).
- [21] KIM M A, KIM J H, NAM O H. Tea extracts differentially inhibit *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* biofilm colonization depending on the steeping temperature. *Biofouling*, 2020, 36(3): 256–265. doi: [10.1080/08927014.2020.1755429](https://doi.org/10.1080/08927014.2020.1755429).
- [22] PRIYA A, SELVARAJ A, DIVYA D, *et al*. *In vitro and in vivo* anti-infective potential of thymol against early childhood caries causing dual species *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 760768. doi: [10.3389/fphar.2021.760768](https://doi.org/10.3389/fphar.2021.760768).
- [23] ELANGO A V, VASUDEVAN S, SHANMUGAM K, *et al*. Exploring the anti-caries properties of baicalin against *Streptococcus mutans*: an *in vitro* study. *Biofouling*, 2021, 37(3): 267–275. doi: [10.1080/08927014.2021.1897789](https://doi.org/10.1080/08927014.2021.1897789).
- [24] TAKAHASHI N, NYVAD B. The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *J Dent Res*, 2011, 90: 294–303. doi: [10.1177/0022034510379602](https://doi.org/10.1177/0022034510379602).
- [25] 范骏. 翻译后修饰与肿瘤代谢重编程. *中山大学学报(医学科学版)*, 2022, 43(2): 161–172. doi: [10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ\(med.sci\).2022.0201](https://doi.org/10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2022.0201).
- [26] 孙艳伟, 刘雅丽, 赵晓雪, 等. 柠檬精油对变异链球菌产酸及乳酸脱氢酶活性影响的实验研究. *口腔医学研究*, 2018, 34(1): 27–31. doi: [10.13701/j.cnki.kqyxj.2018.01.007](https://doi.org/10.13701/j.cnki.kqyxj.2018.01.007).

(2022 – 12 – 13 收稿, 2023 – 04 – 18 修回)

编辑 吕熙

