

山茱萸水提液银纳米颗粒的制备及其抑菌活性的研究

魏思敏^{1,2}, 唐志书^{1,2*}, 李慧敏^{1,2}, 张可可^{1,2}, 宋忠兴^{1,2}

1. 陕西中医药大学 陕西省中药资源产业化协同创新中心, 陕西 咸阳 712083

2. 陕西省创新药物研究中心, 陕西 咸阳 712083

摘要: **目的** 使用山茱萸水提液在温和条件下制备银纳米颗粒(AgNPs)、探究还原反应机制并研究其抑菌活性。**方法** 采用紫外-可见光谱监测 AgNPs 的生成, 红外光谱研究还原机制, 激光粒度仪和透射电镜表征粒径, 表面性质和形貌, 2 倍稀释法研究 AgNPs 的抑菌活性。**结果** 山茱萸水提液在 pH 9.0 时超声反应 4 h 是还原制备 AgNPs 的最佳条件, 得近球形 AgNPs, 平均粒径 58.73 nm, 均匀稳定、分散性好。黄酮类化合物可能起还原作用, 同时水提液中活性成分在 AgNPs 表面形成保护层, 防止团聚, 增加了 AgNPs 的稳定性, 制得的 AgNPs 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制率比化学法制备的 AgNPs 分别增加 20、40 倍。**结论** 山茱萸水提液可在温和条件下制备 AgNPs, 该 AgNPs 与化学制备法相比有更强的抗菌性能。结果表明该方法合成出的 AgNPs 性能稳定, 可以作为新型抗菌剂。

关键词: 生物还原法; 山茱萸水提液; 银纳米颗粒; 抗菌活性; 大肠杆菌; 金黄色葡萄球菌

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)01-0052-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.01.010

Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized by *Cornus officinalis* aqueous extract

WEI Si-min^{1,2}, TANG Zhi-shu^{1,2}, LI Hui-min^{1,2}, ZHANG Ke-ke^{1,2}, SONG Zhong-xing^{1,2}

1. Shaanxi Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712083, China

2. Shaanxi Research Center Discovery & Innovation of New Medicine, Xianyang 712083, China

Abstract: Objective To develop a novel method to generate silver nanoparticles (AgNPs) in a mild condition by using the *Cornus officinalis* aqueous extract, study their antibacterial activity, and explore the mechanism of reduction reaction. **Methods** The formation of AgNPs was confirmed by UV-visible spectroscopy; The particle size, surface properties, and morphology features of AgNPs were characterized by laser particle analyzer as well as transmission electron microscopy; The mechanism of reduction reaction was studied by IR. The antibacterial activity of AgNPs was investigated by disk agar diffusion method. **Results** The AgNPs were prepared under mild reaction conditions by *C. officinalis* aqueous extract, the optimum condition is ultrasonic reaction for 4 h (pH 9.0). Quasi-spherical shaped AgNPs were synthesized with average particle size of 58.73 nm, which was uniform, stable, and well dispersed. The presence of flavonoids in *C. officinalis* aqueous extract may be the reductant to produce the AgNPs. In the meantime, the active components in the aqueous extract form a protective layer on the surface of AgNPs to prevent aggregation and increase the stability of AgNPs. Compared with the chemically synthesized AgNPs, the antibacterial activity of AgNPs generated by *C. officinalis* aqueous extract increased 20-fold and 40-fold for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, respectively. **Conclusion** *C. officinalis* aqueous extract can prepare AgNPs under mild conditions, the flavonoids in the extract may be the reductive reagent and can stabilize AgNPs. The AgNPs prepared by this method have stronger antibacterial properties than those prepared by chemical method. The AgNPs synthesized by this method are stable and can be used as a new antimicrobial agent.

Key words: bio-synthesis; *Cornus officinalis* aqueous extract; silver nanoparticles; antibacterial activity; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*

收稿日期: 2018-09-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21705029); 陕西中医药大学校级基金资助项目(2017QN22); 陕西中医药大学博士科研启动金(10408001)

作者简介: 魏思敏(1989—), 女, 博士, 讲师, 主要从事新型纳米材料制备和应用的研究。E-mail: weismiccas@163.com

*通信作者 唐志书(1972—), 男, 硕士生导师, 教授, 主要从事中药制剂制备技术的研究。E-mail: tzs6565@163.com

细菌的耐药性一直是医药界研究的重点和热点。近年来,由于抗生素的不当使用造成细菌耐药性增强,导致药物治疗效果不断降低、患者医疗费用增加^[1],这些因素使得抗生素的应用受到了极大的限制,因此寻找疗效好、适用性广、毒性低的抗菌药物显得尤为重要^[2]。

银纳米粒子是一类功能性的金属纳米材料,由于具有更大的比表面积,抗菌能力是微米级银颗粒的200倍以上^[3],是一类理想的抗菌材料,因此银纳米颗粒(AgNPs)的制备及性质研究成为各国科研工作者关注的焦点^[4-7]。目前制备AgNPs的方法主要有3大类:物理法、化学法以及生物法^[8-9]。物理法包含有蒸发冷凝法、机械合金化法、溅射法等,这类方法主要是依赖于大型仪器,其缺点是耗能高、成本较高;化学法主要利用液相反应,在反应过程中需要加入还原剂以及稳定剂,使用大量的化学试剂对环境有一定的危害性^[10];生物还原法利用其含有的活性成分作为稳定剂和还原剂制备AgNPs^[11],具有成本低、效率高、绿色无污染、产物状态稳定等优点,可以克服物理法和化学法的缺点,因此备受科研工作者的关注。

中药是天然的植物资源,来源广泛、活性成分多样,大量的研究证实其含有的生物碱^[12]、多糖^[13]、黄酮类化合物^[14]等具有抑菌活性和抗氧化作用。Gardea-Torresdey等^[15-16]利用紫花苜蓿制备金纳米颗粒,开创了植物还原法制备金属纳米颗粒的先河,利用中药制备AgNPs不但成本低、操作简便、环境污染小,更重要的是中药的生物相容性好,更适合进一步的临床研究。

有研究表明,银纳米材料对微生物具有很好的抑制作用而对正常细胞的毒性较低^[17]。虽然文献报道利用一些植物成功合成了AgNPs^[18-23],但是目前关于中药生物物质还原制备AgNPs及其抗菌活性的研究还不够全面、深入,甚至于有些中药在制备AgNPs时需要高温等十分苛刻的条件,极大地限制了中药在还原制备AgNPs方面的应用,因此优化中药还原制备AgNPs的方法、探究还原机制以及研究其抗菌性能,对于这一领域的发展具有重要意义。

本研究采用山茱萸水提液作为还原剂、硝酸银作为银源,在温和的条件下(pH 9.0时超声反应4h)将银离子还原制备出山茱萸AgNPs。通过对山茱萸水提液还原过程的工艺路线进行优化,确立了最佳

还原条件。初步探讨了山茱萸水提液制备AgNPs的机制,同时研究了山茱萸AgNPs的抗菌活性,为AgNPs的制备提供了理论基础,同时为山茱萸资源的利用和开发提供了新的思路。

1 试剂与材料

UV-2600型紫外可见分光光度计,岛津(日本)公司;ZEN 3600激光粒度仪,英国马尔文仪器有限公司;傅里叶变换红外光谱仪T-27,岛津(日本)公司;JEM-2010型透射电子显微镜,东京理化株式会社(日本);CAP225D电子天平,北京赛多利斯科学仪器有限公司;101型电热鼓风干燥箱,北京科伟永兴仪器有限公司;SHA-B数显水浴恒温振荡器,金坛市双捷实验仪器厂;TGL-20B离心机,上海安亭科学仪器厂;LDZX-50KBS立式压力蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂。

硝酸银(质量分数>99%)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP K30)、柠檬酸钠、胰蛋白胨、氯化钠、酵母粉、琼脂粉均为分析纯,购于成都科隆化学品有限公司。

实验所用中药材山茱萸饮片购于陕西兴盛德药业有限公司,经陕西中医药大学刘世军高级工程师鉴定为山茱萸科山茱萸属植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉,符合《中国药典》2015年版相关规定。供试菌种大肠杆菌 *Escherichia coli*、金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 均由陕西中医药大学陕西省中药资源产业化协同创新中心提供,购于陕西乐博生化有限科技公司,由陕西中医药大学副教授王征经过形态学和生化学鉴定。

2 方法

2.1 山茱萸水提液的制备

准确称取干燥山茱萸药材5.0g(粉碎),加入100mL纯化水超声提取4h,滤过得滤液,备用。

2.2 山茱萸水提液制备AgNPs

2.2.1 原药液制备AgNPs 取5mL山茱萸水提液,向其中加入0.01mol/L的AgNO₃溶液5mL,室温下超声,反应过程中使用紫外-可见光谱监测AgNPs的生成。

2.2.2 原药液调节pH 9.0制备AgNPs 取5mL山茱萸水提液,调节pH至9.0,向其中加入0.01mol/L的AgNO₃溶液5mL,室温下超声,反应过程中使用紫外-可见光谱监测AgNPs的生成。待反应完成后取反应悬浮液,9000r/min离心30min,弃上清

液取沉淀,用超纯水洗涤 3 次,收集沉淀,60 °C 下干燥 12 h 至恒定质量。

2.3 化学还原法制备 AgNPs

取硝酸银溶于超纯水,加入 PVP 搅拌均匀备用,称取柠檬酸钠溶于超纯水中,按照柠檬酸钠-硝酸银的物质的量比为 5:1,将柠檬酸钠溶液逐渐滴入硝酸银溶液中,滴加完毕后加热回流,反应时间 1 h,取悬浮液,9 000 r/min 离心 30 min,弃上清液取沉淀,用超纯水洗涤 3 次,收集沉淀,60 °C 下干燥 12 h 至恒定质量。

2.4 AgNPs 的表征

分别采用 UV-2600 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司)、ZEN 3600 激光粒度仪(英国马尔文仪器有限公司)、T-27 傅里叶变换红外光谱仪(日本岛津公司)、JEM-2010 型透射电子显微镜(TEM,日本电子株式会社)对 AgNPs 进行表征。

2.5 AgNPs 抗菌性能研究

2.5.1 菌悬液的制备 将测试用的细菌 *E. coli*、*S. aureus* 分别接种于 LB 固体培养基的培养皿中划线,37 °C 培养 18 h。取灭菌好的试管两支分别加入 LB 液体培养基约 15 mL,用接种环挑取一环单菌落于试管中,放置于水浴摇床,37 °C、150 r/min 培养 18 h。超净工作台上,取少许活化的菌体置于生理盐水试管中,摇匀,制备成 1×10^5 cfu/mL 的菌悬液备用。

2.5.2 最小抑菌浓度(MIC)的测定 采用 2 倍稀释法测定 MIC。称取一定量的山茱萸 AgNPs、化学法制备的 AgNPs,用无菌水进行配制,使其最终质量浓度为 4 000 μ g/mL,随后依次用无菌水采用逐级稀释法稀释其质量浓度至 2 000.0、1 000.0、500.0、250.0、125.0、62.5、25.0、12.5、6.2、3.1 μ g/mL;将待测的药液分别加入 96 孔板上,每孔中加入 50 μ L 的药液与 50 μ L 制备好的菌悬液,每个样品重复 3 次,每次都加有无菌水 100 μ L 阴性对照和 100 μ L 菌液作为阳性对照。将 96 孔板置于 37 °C 的培养箱中培养 24 h 后观察,以不产生浑浊的孔所对应的最低质量浓度为该药液对该菌的 MIC。

2.5.3 最小杀菌浓度(MBC)的测定 在得到 MIC 的结果后,从实验组的澄清孔中取 10 μ L 培养物,再向其中加入 90 μ L 的 LB 液体培养基,每个样品重复 3 次,放入 37 °C 培养箱中培养 48 h,每次伴有阴性对照和阳性对照。无细菌生长的最低质量浓度为该药液对该菌的 MBC。

3 结果与讨论

3.1 AgNPs 表征

金属表面的等离子体共振(SPR)是描述其导电电子在电磁场作用下集体振荡的一个物理概念,这种共振在宏观上表现为金属纳米粒子对光的吸收,比如 AgNPs 在紫外-可见(UV-Vis)吸收光谱上 400 nm 左右会出现特征的等离子体共振吸收峰^[24],因此可以通过 UV-Vis 吸收光谱确定 AgNPs 的生成。

首先,利用山茱萸水提液原液制备 AgNPs,以山茱萸水提液原液作为对照,UV-Vis 吸收光谱数据显示(图 1),山茱萸水提液在 410 nm 左右没有明显吸收,向山茱萸水提液中加入 AgNO₃ 溶液,反应 5 min 后在 410 nm 左右只有 1 个很弱的吸收峰(410 nm 为 AgNPs 的 SPR 吸收峰),表明只有极少量 AgNPs 生成(图 1),从以上数据可以确认山茱萸水提液原液中有活性成分可以还原硝酸银得到 AgNPs,但是还原效率不高。

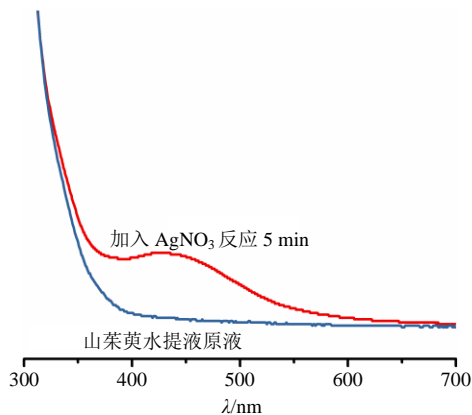


图 1 山茱萸水提液原液及加入硝酸银溶液 5 min 后反应混合液的 UV-Vis 吸收光谱

Fig. 1 UV-Vis spectra of *C. officinalis* aqueous extract in presence and absence of AgNO₃

根据文献报道^[25],植物还原法制备纳米粒子过程中黄酮类化合物可能起到还原作用。碱性条件下黄酮类化合物中羟基更容易失去质子,具有更强的还原性,因此设想可以通过提高山茱萸水提液原液的 pH 值来加快还原反应的速率。随后将山茱萸水提液 pH 调至 9.0 进行了实验,当向 pH 9.0 的山茱萸水提液中加入硝酸银溶液稍微反应后,混合液的颜色快速加深变为棕色悬浮液,如图 2-A 所示,初步表明混合液中有 AgNPs 生成。

本实验进行了不同反应时间后 UV-Vis 吸收光谱实验,进一步确认 AgNPs 的生成,以加入 AgNO₃

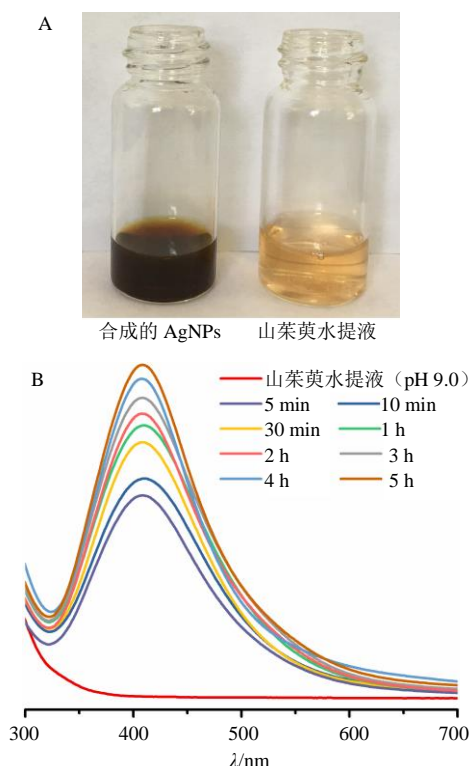


图 2 AgNPs 溶液外观 (A) 和山茱萸水提液 (pH 9.0) 及加入硝酸银溶液反应不同时间后反应混合液的 UV-Vis 吸收光谱 (B)

Fig. 2 Appearance of silver nano solution (A) and UV-Vis spectra of *C. officinalis* aqueous extract (pH 9.0) in presence and absence of AgNO_3 at different time (B)

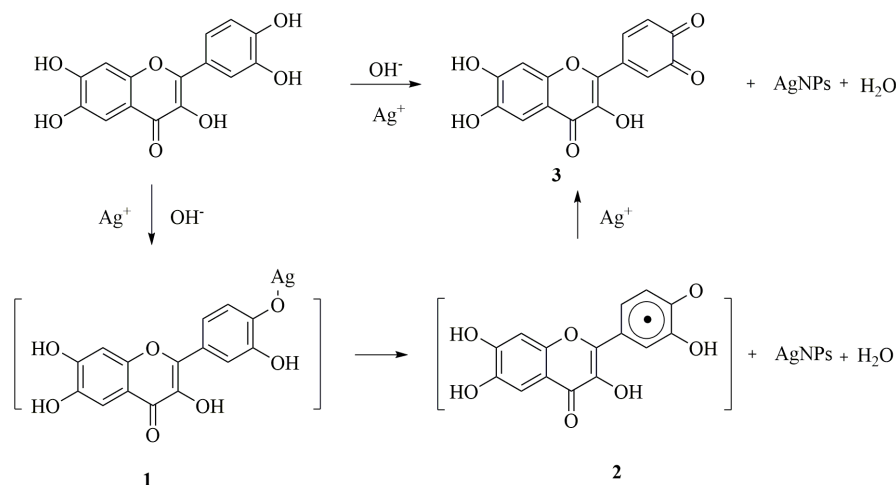


图 3 碱性条件下山茱萸水提液还原 Ag^+ 生成 AgNPs 的可能机制

Fig. 3 Proposed reductive mechanism of Ag^+ in *C. officinalis* aqueous extract under alkaline condition

羟基上的 H^+ 生成氧负离子, 其更容易通过静电相互作用与 AgNO_3 中的 Ag^+ 结合生成离子对中间体 1, 中间体 1 将氧原子上的电子转移到 Ag^+ 上, Ag^+ 得到电子发生还原反应生成 AgNPs, 黄酮类化合物则形成半醌式自由基中间体 2, 自由基中间体 2 又

溶液开始计算反应时间, 分别测试反应 0、5、10、30 min 及 1、2、3、4、5 h 后反应混合液的紫外-可见吸收光谱。如图 2-B 所示, 和山茱萸水提液原液一样, pH 9.0 时山茱萸水提液在 410 nm 也没有明显的吸收 (0 min), 当反应 5 min 后混合液在 410 nm 便有很强的吸收, 这与 AgNPs 的 SPR 吸收峰一致, 表明混合液中有大量 AgNPs 生成, 与山茱萸水提液原液相比, 碱性山茱萸水提液使还原反应的速率大大提高; 同时从图 2 可以看出, AgNPs 在反应初期生成速度十分快, 然而随着反应进行, AgNPs 虽然还在不断产生, 但是生成速率明显变慢, 这可能是因为在刚开始反应时, 山茱萸水提液中具有还原性的多羟基化合物含量较多, 但是随着还原反应进行, 反应物逐渐消耗, 浓度降低, 因此反应速度也变慢。

从山茱萸水提液原液和碱性溶液的实验结果可以看出, 碱性条件可以大大加快还原反应速度, 结合文献报道^[26], 推测主要是因为碱性条件下, 山茱萸水提液中具有还原性的多羟基化合物, 比如黄酮类物质, 更容易失去 1 个 H^+ 从而使得整个分子带负电荷, 这种带有负电荷的黄酮类化合物不但更容易与 Ag^+ 作用, 而且更容易失去电子发生还原反应。具体来说, 山茱萸水提液中的黄酮类化合物 (以槲皮素为例, 图 3), 在碱性条件下黄酮类化合物失去

将分子中的电子转移至另一分子的 Ag^+ 进一步发生还原反应, 将 Ag^+ 还原生成 AgNPs, 最终黄酮类化合物经过反应生成苯醌类化合物 (3)。由此可见 1 分子的黄酮类化合物可以与 2 分子的 Ag^+ 发生反应生成 AgNPs, 这也说明该反应具有高效性。

3.2 山茱萸 AgNPs 的傅里叶变换红外光谱

为了验证“3.1”项提出的机制,首先进行了红外光谱实验,因为利用反应前后山茱萸水提液(pH 9.0)红外光谱的变化可以判断水提液中参与还原反应的物质。如图 4 所示,反应前山茱萸水提液在 $800\sim 2\,000\text{ cm}^{-1}$ 有明显的红外吸收峰,具体表现为 941 cm^{-1} 是 C-O 的伸缩振动, $1\,635$ 、 $1\,653$ 、 $1\,683\text{ cm}^{-1}$ 处是与苯环连接的 C=O 伸缩振动, $1\,481$ 、 $1\,445$ 、 $1\,549\text{ cm}^{-1}$ 是苯环上 C=C 的伸缩振动,这与文献报道的山茱萸水提液红外光谱基本一致。根据山茱萸水提液成分的研究,山茱萸水提液中含有丰富的生物碱、黄酮和鞣质等物质,山茱萸水提液(pH 9.0)反应前红外光谱实验表明所制备的提取液中的确含有黄酮类等多羟基的化合物。而山茱萸水提液(pH 9.0)和硝酸银反应后红外特征吸收峰位置并没有明显变化,只是强度发生微弱的变化,这表明山茱萸水提液中的黄酮类等物质的确和 AgNPs 发生了相互作用,这些物质有可能会吸附在 AgNPs 表面起保护和稳定纳米粒子的作用。

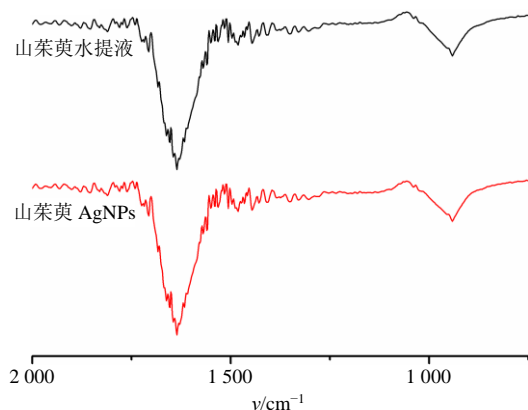


图 4 山茱萸水提液和山茱萸 AgNPs 的红外光谱

Fig. 4 FT-IR spectra of synthesized AgNPs and *C. officinalis* aqueous extract

3.3 山茱萸 AgNPs 的 Zeta 电位

Zeta 电位实验结果如图 5-A 所示,电位为 -39.6 mV ,说明制得的 AgNPs 稳定性较好;Zeta 电位的结果也表明制得的 AgNPs 表面吸附了带有负电性的化合物,这种形式提高了纳米粒子的稳定性,也在一定程度上说明了黄酮类等活性物质可能以带负电荷的形式吸附在 AgNPs 表面。

3.4 激光粒度仪测量山茱萸 AgNPs 粒径

随后,对山茱萸水提液(pH 9.0)还原 AgNO_3 制得的 AgNPs 进行了粒径测量。实验中,取 1 mL 山茱萸 AgNPs 溶液置于激光粒度仪的测试皿中,测

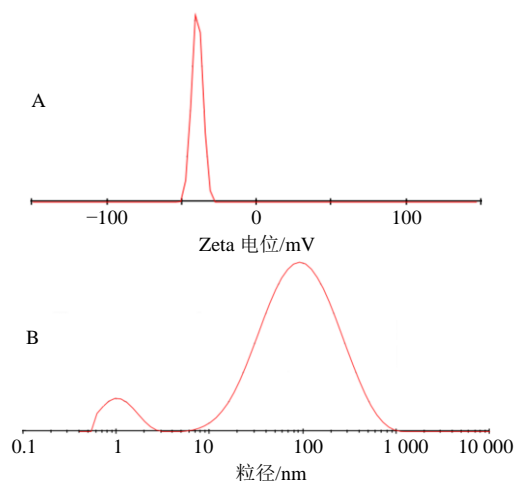


图 5 AgNPs 的 Zeta 电位 (A) 和粒径 (B) 分析

Fig. 5 Zeta potential (A) and particle size (B) of synthesized AgNP

试温度 $25\text{ }^\circ\text{C}$,结果如图 5-B 所示,其平均粒径为 $(58.73\pm 1.10)\text{ nm}$ 。

3.5 TEM 表征山茱萸 AgNPs 形貌

使用 TEM 对制备的 AgNPs 形貌进行表征。具体步骤如下:将制备得到的山茱萸 AgNPs 悬浮液稀释 3 倍,滴加 1 滴在铜网附有碳膜支持的一面,铜网自然晾干 3 h 后,利用透射电镜对制得的 AgNPs 形貌进行表征。如图 6 所示,制备得到的 AgNPs 呈近球形,分布均匀、分散均匀,粒径在 50 nm 左右,与粒度仪测定的粒径完全符合。

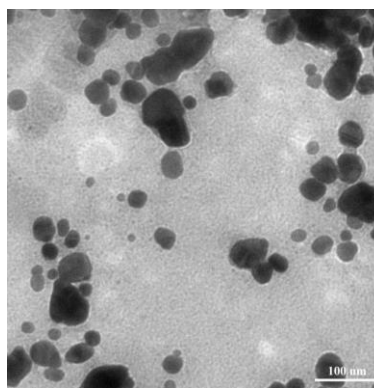


图 6 AgNPs 的 TEM 图片

Fig. 6 TEM image of synthesized AgNP

3.6 AgNPs 抑菌活性实验

化学方法制备的 AgNPs 平均粒径 $(55.13\pm 0.90)\text{ nm}$,Zeta 电位为 -38.1 mV ,山茱萸水提液制备得到的 AgNPs 相比化学方法制备的 AgNPs (制备方法详见“2.3”) [27],其抗菌活性大大提高,山茱萸 AgNPs 对大肠杆菌的 MIC 为 $25.0\text{ }\mu\text{g/mL}$,对

比化学方法制备的 AgNPs 的 (500 μg/mL) 活性增加了 20 倍。山茱萸 AgNPs 颗粒对金黄色葡萄球菌的 MIC 为 12.5 μg/mL, 相比于化学方法制备的 AgNPs 颗粒 (500 μg/mL) 其活性增加了 40 倍, 详见表 1。山茱萸水提液制备的 AgNPs 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均有很强的抑制作用, 优于化学方法制备的 AgNPs 和山茱萸水提液单独使用的效果, 原因可能是中药材还原制备 AgNPs 时, 中药材本身的抑菌效果与银纳米材料的抑菌效果产生了叠加作用。推测可能是 AgNPs 表面结合了山茱萸水提液中

的抑菌活性成分, 因此该方法制备的 AgNPs 比化学方法有更好的抗菌性。此外, 文献报道^[28]AgNPs 与细菌细胞膜接触后进入细菌细胞, 在光的催化作用下与细菌细胞中的水或者氧反应生成活性氧 (reactive oxygen species, ROS), 整个过程可以干扰细菌 DNA 的合成, 同时与细菌蛋白质结合使其变性, 从而产生抗菌效果。AgNPs 的粒径越小, 其具有越大的比表面积, 直接与细菌细胞膜或其他介质的接触面积越大, 进入细菌细胞的数量越多, 因此也进一步增强 AgNPs 的抗菌活性。

表 1 不同方法制备的 AgNPs 及山茱萸水提液的抑菌活性

Table 1 Antibacterial activity of AgNPs generating by different methods and *C. officinalis* aqueous extract

样品	大肠杆菌		金黄色葡萄球菌	
	MIC/(μg·mL ⁻¹)	MBC/(μg·mL ⁻¹)	MIC/(μg·mL ⁻¹)	MBC/(μg·mL ⁻¹)
化学法制备 AgNPs	500	500	500	2 000
山茱萸 AgNPs	25	125	12.5	250
山茱萸水提液	—	—	10 000	50 000

“—”表示待测中药液的 MIC>10 mg·mL⁻¹; MBC>10 mg·mL⁻¹

“—” indicates that MIC and MBC of *C. officinalis* aqueous extract were greater than 10 mg·mL⁻¹

4 结论

本研究利用山茱萸水提液 (pH 9.0) 在 25 °C 下超声反应 4 h 成功制备出 AgNPs, 反应条件十分温和, 制备得到的 AgNPs 呈近球形, 平均粒径为 58.73 nm, 分布均匀、结构稳定; 同时, 通过红外光谱实验对山茱萸水提液制备 AgNPs 的机制进行了初步研究, 发现在碱性条件下, 山茱萸水提液中黄酮类等物质可能起到还原作用, 提取液中含有的生物碱、类固醇、黄酮类等活性化合物可能结合到了 AgNPs 的表面, 形成保护层, 起到稳定剂的作用; 使用此方法制备得到的银纳米粒子对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均有很强的抑制作用, MIC 分别为 25.0、12.5 μg/mL, 对比化学法制备的 AgNPs 抑菌活性分别增加了 20 倍和 40 倍。本研究中采用的制备方法条件温和, 生物相容性好、所得 AgNPs 抗菌作用强, 本研究不仅提供了一种制备 AgNPs 的新方法同时也拓展了中药材山茱萸的应用, 具有广阔的应用前景。

参考文献

[1] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2014 年 CHINET 中国细菌耐药性监测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(5): 401-410.
 [2] Feng Q L, Wu J, Chen G Q, et al. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* [J]. *Biomed Mat Res*, 2000,

52(4): 662-668.

[3] Ellis G P, Luscombe D K. *In Progress in Medicine Chemistry* [M]. Nottingham: Elsevier, 1994.
 [4] Morones J R, Elechiguerra J L, Camacho A, et al. The bactericidal effect of silver nanoparticles [J]. *Nanotechnology*, 2005, 16(10): 2345-2353.
 [5] 高彩芳, 梁剑铭, 秦晶, 等. 共载紫杉醇和纳米银的叶酸-白蛋白纳米粒的制备和体外评价 [J]. 中草药, 2018, 49(12): 2786-2792.
 [6] 陈美婉, 余思琴, 杨志文, 等. 纳米银温敏喷雾凝胶的毒性试验研究 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(3): 174-178.
 [7] 柯发军, 谢丹, 翁志勇, 等. 胰岛素联合纳米银和湿润烧伤膏治疗中度烧伤创面感染的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2016, 31(7): 1088-1092.
 [8] 王中林主编. 纳米相和纳米结构材料-合成手册 [M]. 北京: 清华大学出版社, 2002.
 [9] 孙文杰, 陈彦, 高霞, 等. 地榆-纳米银复合物的制备与表征 [J]. 中草药, 2013, 44(24): 3465-3470.
 [10] Wang L, Zhang T, Li P, et al. Use of synchrotron radiation-analytical techniques to reveal chemical origin of silver-nanoparticle cytotoxicity [J]. *ACS Nano*, 2015, 9(6): 6532-6547.
 [11] Xie J, Lee J Y, Wang D I C, et al. Silver nanoplates: From biological to biomimetic synthesis [J]. *ACS Nano*, 2007, 1(5): 429-439.
 [12] 辛爱一, 柳军玺, 邸多隆, 阿朴菲类生物碱研究进展

- [J]. 中草药, 2018, 49(3): 712-724.
- [13] 高蓓蓓, 彭颖, 李晓波. 四君子汤复方多糖肠道免疫调节作用及其机制研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(2): 462-467.
- [14] 黄梅桂, 徐云巧, 张忠明, 薰衣草残渣中黄酮的超声辅助提取工艺及其抗氧化活性 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(1): 214-220.
- [15] Gardea-Torresdey J L, Tiemann K J, Gamez Q, *et al.* Gold nanoparticles obtained by bio-precipitation from gold (III) solutions [J]. *J Nanopart Res*, 1999, 1(3): 397-404.
- [16] Gardea-Torresdey J L, Parsons J G, Gomez E, *et al.* Formation and growth of Au nanoparticles inside live alfalfa plants [J]. *Nano Lett*, 2002, 2(4): 397-401.
- [17] Jacob S J P, Finub J S, Narayanan A. Synthesis of silver nanoparticles using *Piper longum* leaf extracts and its cytotoxic activity against Hep-2 cell line [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2012, 91: 212-214.
- [18] Gardea-Torresdey J L, Gomez E, Peralta-Videa J R, *et al.* Alfalfa sprouts: A natural source for the synthesis of silver nanoparticles [J]. *Langmuir*, 2003, 19(4): 1357-1361.
- [19] Pugazhendhi S, Kirubha E, Palanisamy P K, *et al.* Synthesis and characterization of silver nanoparticles from *Alpinia calcarata* by green approach and its application in bactericidal and nonlinear optics [J]. *Appl Surf Sci*, 2015, 357: 1801-1808.
- [20] Mollick M R, Bhowmick B, Mondal D, *et al.* Anticancer (*in vitro*) and antimicrobial effect of gold nanoparticles synthesized using *Abelmoschus esculentus* (L.) pulp extract via a green route [J]. *RSC Adv*, 2014, 4(71): 37838-37848.
- [21] 刘冲冲, 王磊, 徐慧, 等. 姜提取物生物合成纳米银抑菌活性的研究 [J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(6): 590-597.
- [22] 蔡伟, 马月, 方杰, 等. 中药材生物质还原制备银纳米颗粒及其抑菌活性研究 [J]. 中草药, 2015, 46(7): 977-981.
- [23] Velmurugan P, Anbalagan K, Manosathyadevan M, *et al.* Green synthesis of silver and gold nanoparticles using *Zingiber officinale* root extract and antibacterial activity of silver nanoparticles against food pathogens [J]. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2014, 37(10): 1935-1943.
- [24] Mulvaney P. Surface plasmon spectroscopy of nanosized metal particles [J]. *Langmuir*, 1996, 12(3): 788-800.
- [25] Lee G J, Shin S I, Kim Y C, *et al.* Preparation of silver nanorods through the control of temperature and pH of reaction medium [J]. *Mater Chem Phys*, 2004, 84(2/3): 197-204.
- [26] Xie J, Lee J Y, Wang D I C, *et al.* Silver nanoplates: From biological to biomimetic synthesis [J]. *ACS Nano*, 2007, 1(5): 429-439.
- [27] Sadeghi B, Gholamhoseinpoor F. A study on the stability and green synthesis of silver nanoparticles using *Ziziphora tenuior* (Zt) extract at room temperature [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Mol Biomol Spectrosc*, 2015, 134: 310-315.
- [28] Eckhardt S, Brunetto P S, Gagnon J, *et al.* Nanobio silver: Its interactions with peptides and bacteria, and its uses in medicine [J]. *Chem Rev*, 2013, 113(7): 4708-4754.