

芍药提取物的抗菌活性

何艳 叶岩荣 陶佳佳*

上海市复旦大学附属中山医院 上海 200032

摘要: 目的: 细菌耐药已经逐渐演变为严重的公共卫生问题, 寻找新的抗菌药物是解决目前细菌耐药现状的一个有效手段, 我们以耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 为例, 探讨芍药乙醇提取物潜在的抗菌活性。方法: 通过体外的抑菌试验, 测定芍药乙醇提取物及其水提取物对 MRSA 的最低抑菌浓度 (MIC)。结果: 芍药乙醇提取物对 MRSA 的 MIC 为 3.13-6.25 mg/mL, 芍药的水提取物与乙醇提取物的抗菌活性基本一致, 同时芍药提取物与多种抗生素联用 (四环素, 阿莫西林, 氨苄青霉素) 均有协同作用。结论: 芍药提取物对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌具有显著的抗菌活性, 同时可以促进其他抗生素的抗菌活性。

关键词: 芍药提取物; 抗菌; 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌

Antibacterial Activity of Shaoyao (*Paeonia lactiflora* Pall) Extract

Yan He, Yanrong Ye, Jiajia Tao *

The Affiliated Zhongshan Hospital of Fudan University in Shanghai, Shanghai, 200032

Abstract: **Objective:** Bacterial drug resistance has gradually evolved into a serious public health problem. Finding new antibacterial drugs is an effective means to solve the current situation of bacterial drug resistance. We take methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) as an example to discuss Potential antibacterial activity of ethanol extract of Shaoyao. **Methods:** Through the antibacterial test in vitro, the minimum inhibitory concentration (MIC) of ethanol extract of Shaoyao and its water extract on MRSA was detected. **Results:** The MIC against MRSA was 3.13-6.25 mg/mL. With (tetracycline, amoxicillin, ampicillin) have a synergistic effect. **Conclusion:** Shaoyao extract has significant antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, and can promote the antibacterial activity of other antibiotics.

Keywords: Shaoyao extract; antibacterial; MRSA

芍药, 又称作白芍, 是芍药科芍药属的多年生宿根草本植物, 芍药的根部可药用, 《神农本草经》中有记载, 芍药“味苦平, 主邪气腹痛, 除血痹, 破坚积寒热, 疝瘕, 止痛, 利小便, 益气”。黄玉璐 (字元御) 在《长沙药解》中谓芍药“入肝家而清风, 伸腿足之挛急最消腹里痛满”^[1-5]。抗菌药物是现代医疗卫生的基础之一。以青霉素的发现为代表, 这是人类历史上第一次可以安全有效地治疗由细菌感染引起的疾病^[6,7]。随着对抗菌药物系统的研究和开发, 多种类型的抗菌药物, 如头孢菌素类、喹诺酮类以及大环内酯类等开始在临床上大规模的使用, 这使得全球人类的平均寿命至少延长了15年^[8-10]。但是由于抗菌药物的滥用、细菌固有的耐药基因在细菌之间水平传播等因素, 致使现有的抗菌药物在全球范围内都出现了耐药的情况, 细菌耐药现象的出现伴随了整个抗菌药物研发的历史^[11-13]。目前解决细菌耐药的一个重要策略就是寻找新的抗菌药物。前期研究发现, 芍药对金黄色葡萄球菌有较好的抑菌作用。本实验根据芍药的民间用法及文献参考, 以乙醇提

取物及其水提取物作为供试药物对MRSA进行体外抗菌实验。

一、材料和方法

1.1 药材

芍药购于商家“阿里健康大药房”, 经复旦大学药学院中药教研室老师鉴定, 确认为芍药的根部。药材粉碎为粗粉备用。

1.2 MRSA菌株

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌菌株 ATCC43300 和 ATCC33591 来源于美国典型菌种保藏中心。

1.3 培养基和试剂

Mueller-Hinton Agar (MHA) 购自英国OXOID公司; TSB培养基购于青岛海博生物; 营养琼脂购自北京奥博星生物技术有限责任公司; Tween-80购自美伦生物技术有限公司; 96孔板购自加拿大JET BIOFIL公司。

1.4 实验方法

菌液制备: 取受试菌进行活化, 竹签划线接种于平板上,

放置于 37°C 恒温培养箱中培养。培养 8 h 后, 挑取单菌落接种于 TSB 培养基中, 将其放置在 37°C 摇床(120 rpm)培养至对数期^[14]。

最小抑菌浓度 MIC 的测定^[15]: 无菌操作条件下, 用 DMSO 将样品配制成 6.40 mg/mL 的浓度。用 TSB 培养基将 10^8 CFU/mL (OD600 = 0.4) 的菌液稀释, 先稀释十倍再稀释一百倍, 使得浓度调整至 10^5 CFU/mL。将 96 孔板首孔中分别加入 2 μ L 的样品和 98 μ L 已稀释的菌液, 使其终体积达到 100 μ L, 第二至八孔中分别加入 50 μ L 已稀释至 2×10^5 CFU/mL 的菌液, 第九孔中加入 100 μ L 的菌液作为对照, 第十孔中加入 100 μ L 的 TSB 培养液作为阴性对照, 用排枪从第一列吸取 50 μ L 的菌液于第二列, 然后从第二列吸取 50 μ L 的菌液于第三列, 每次都需要混匀, 以此二倍梯度稀释法直到第八列, 第八列混匀后吸出 50 μ L 丢弃, 使其终体积均达到 100 μ L。该二倍稀释法在 96 孔板内将待测组分稀释为 8 个浓度梯度(128、64、32、16、8、4、2、1 μ g/mL)。阴性对照组中加入 0.64% 的 DMSO, 每组样品的测试需要重复 3 次, 96 孔板的四周都加入 100 μ L 的无菌水。恒温培养箱中 37°C 培养 24 h 后, 在黑色光源背景下观察培养基的浑浊程度, 菌液对照孔中显示浑浊, 阴性对照孔中显示清亮, 以无菌生长孔所对应的质量浓度为该组的 MIC。其中, 联合给药时, 加入的抗生素浓度与芍药提取物的浓度相同。

1.5 芍药提取物的制备

芍药乙醇提取物的制备^[16]: 取白芍粗粉 100 g, 加 8 倍量 70% 乙醇加热回流 3 次, 每次 2 小时, 合并滤液, 回收乙醇, 滤液过已处理好的大孔吸附树脂, 先用水洗涤, 再用 70% 乙醇洗脱, 回收乙醇, 干燥, 得棕褐色粉末, 即为白芍乙醇提取物。

芍药水提取物的制备^[17]: 取白芍粗粉 100 g, 加 10 倍水加热回流 3 次, 每次 1 h, 过滤, 合并滤液, 浓缩成浸膏, 4 °C 冰箱储存备用。

实验前所有药液均用 0.22 μ M 滤膜过滤除菌。

二、结果

2.1 芍药提取物抗 MRSA 活性

我们挑选了两个不同的 MRSA 菌株, ATCC43300 和 ATCC33591, 这些菌株是由美国典型菌种保藏中心提供, 通常被用于抗菌活性和药物敏感性测试。

结果表明, 芍药提取物对两种不同的 MRSA 菌株都有明显的抗菌活性。具体来说, 芍药的乙醇提取物和水提取物对 ATCC43300 具有同等的抗菌活性, 最小抑菌浓度(MIC)

均在 3.13-6.25 mg/mL 之间。然而, 芍药乙醇提取物对 ATCC33591 的抗菌活性稍弱, 其 MIC 在 6.25-12.5 之间, 而芍药水提取物对该菌株的活性比乙醇提取物稍高。

这些结果显示, 芍药提取物对 MRSA 的抗菌活性可能与 MRSA 菌株的基因组和耐药性模式有关。此外, 提取方法可能也会影响芍药提取物的抗菌活性。进一步的研究将需要更多的菌株和更多的提取方法, 以便更全面地了解芍药提取物的抗菌特性。(表 1)

表 1. 芍药提取物的抗 MRSA 活性

菌株编号	芍药乙醇提取物 MIC (mg/mL)	芍药水提取物 MIC (mg/mL)	头孢吡肟 MIC (μ g/mL)
ATCC43300	3.13-6.25	3.13-6.25	16-32
ATCC33591	6.25-12.5	3.13-6.25	33-64

2.2 芍药提取物与抗生素联用

为了进一步研究芍药提取物在抗菌治疗中的应用, 研究人员选取了三种常见的抗生素, 包括四环素、阿莫西林和氨苄青霉素, 并测试了它们在单独使用和与芍药水提取物联用时对 ATCC43300 和 ATCC33591 两株 MRSA 菌株的抗菌活性。实验结果表明, 无论是 ATCC43300 还是 ATCC33591, 芍药水提取物均能明显提高这三种抗生素的抗菌活性。单独使用这三种抗生素时, 其对 ATCC43300 的 MIC 分别为 32-64 μ g/mL, 64-128 μ g/mL 和 128-256 μ g/mL。但在与芍药水提取物联用后, 这三种抗生素对 ATCC43300 的 MIC 则分别降低至 16-32 μ g/mL, 32-64 μ g/mL 和 64-128 μ g/mL。类似地, 在抗 ATCC33591 中, 这三种抗生素与芍药水提取物联用后也表现出类似的协同作用。这表明芍药水提取物可以与这些抗生素协同作用, 从而显著增强它们的抗菌活性, 为开发新型抗菌药物提供了一定的参考价值。但在临床应用时, 还需要进一步深入研究其毒副作用以及耐药性问题。(表 2)

表 2. 芍药水提取物与不同类型抗生素的联用

抗生素	ATCC43300		ATCC33591	
	单独使用 MIC (μ g/mL)	联用使用 MIC (μ g/mL)	单独使用 MIC (μ g/mL)	联合使用 MIC (μ g/mL)
四环素	32-64	16-32	64-128	32-64
阿莫西林	64-128	32-64	64-128	32-64
氨苄青霉素	128-256	64-128	128-256	32-64

三、讨论

这项实验的结果表明, 芍药提取物对 MRSA 具有抗菌活性, 并且能够增强某些抗生素的抗菌效果。这为开发新

的抗MRSA治疗方法提供了潜在的候选方案。不过,这些实验结果仅仅是初步的体外实验结果,因此需要更进一步的研究以证实这种联合治疗方法的可行性和安全性。

在进一步的研究方面,需要确定芍药提取物和抗生素的联合使用是否会导致药物相互作用,例如药物增强或削弱的效果。如果发现了这样的相互作用,就需要在研究过程中了解它们的机制,并且在临床使用中谨慎地评估潜在的药物相互作用。

另一个需要考虑的问题是,虽然这项实验提供了有关芍药提取物和抗生素联合使用的初步数据,但需要更多的实验研究来确定其在实际应用中的效果。例如,需要对不同的MRSA菌株进行测试,考虑不同剂量和疗程的应用,以及评估可能的副作用和药物相互作用。

此外,需要进一步研究,以确定芍药提取物和其他抗生素的联合使用是否可以用于治疗其他病原体感染,以及这种联合使用是否可以应用于其他类型的草药提取物和抗生素之间的组合。

最后,虽然芍药提取物和抗生素的联合使用可能是一种新的治疗方法,但对于人类健康的潜在影响还需要进行更多的研究。例如,需要对其对人体的毒性进行评估,以及对其对人体免疫系统的影响进行进一步的研究。

四、结论

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)是临床上常见的耐药菌,也是引起皮肤,器官等化脓性感染的主要病原菌。目前临床上解决细菌耐药的问题大多采用联合用药的策略,通过联用不同抗菌机制的抗菌药物来达到抑制细菌生长的目的。而要真正解决细菌耐药的这一困境,最关键的问题在于能否寻找到新的抗菌药物。

芍药作为传统的中药材,具有“主邪气腹痛,除血痹,破坚积寒热,疝瘕,止痛,利小便,益气”的功效,而在本研究中我们发现,芍药的提取物对两种不同亚型的MRSA均有较强的抗菌活性,其乙醇提取物和水提取物对ATCC43300和ATCC33591的MIC基本为3.13-6.25 mg/mL。说明芍药提取物中具有抗MRSA的活性成分,这也是我们发现新型抗菌药物的一个可能的途径。

芍药提取物除了本身具有抗MRSA活性外,我们还进一步考察了芍药水提取物与常见几种抗生素联用的情况,联合用药是临床上常见的对抗耐药菌的策略。结果我们发现,芍药水提取物与四环素,阿莫西林以及氨苄青霉素等联用时,会显著提高这些抗生素的抗菌活性,这也为后续临床设计合理的抗菌方案提供依据。

参考文献:

- [1]李姗姗,鲁美君,常佳怡.张仲景运用芍药浅析[J].中医药通报,2022,21(10):14-16.
- [2]汤春花,梁凤友,林碧珊,高永坚,曾杉.古代经典名方芍药甘草汤基准样品的制备工艺研究[J].广东药科大学学报,2022,38(05):70-75.
- [3]陈啸虎,范田家玉,张沁园.芍药在《伤寒杂病论》中配伍分析[J].辽宁中医药大学学报,2022,24(12):184-188.
- [4]惠晨阳,李晓东,李恒飞,肖明中.芍药甘草汤的古籍文献研究[J].中西医结合肝病杂志,2022,32(05):432-435.
- [5]廖鑫,邓凯文.浅谈芍药的解痉作用[J].中医临床研究,2022,14(13):34-37.
- [6]张岩,陶柏秋,白雪梅.青霉素的现状及发展[J].内蒙古教育(职教版),2012(05):78-79.
- [7]张帆.青霉素的发现简史[J].生物学教学,2008(07):70-71.
- [8]薛雨,陈宇瑛.头孢菌素类抗生素的最新研究进展[J].中国抗生素杂志,2011,36(02):86-92.
- [9]李喆宇,崔玉彬,张静霞,唐克慧.大环内酯类抗生素的研究新进展[J].国外医药(抗生素分册),2013,34(01):6-15.
- [10]汤雨晴,叶倩,郑维义.抗生素类药物的研究现状和进展[J].国外医药(抗生素分册),2019,40(04):295-301.
- [11]朱永官,欧阳玮莹,吴楠,苏建强,乔敏.抗生素耐药性的来源与控制对策[J].中国科学院院刊,2015,30(04):509-516.
- [12]袁文常.金黄色葡萄球菌适应性耐药及MRSA耐药调控机制的研究[D].第三军医大学,2013.
- [13]黄勋,邓子德,倪语星,邓敏,胡必杰,李六亿,李家斌,周伯平,王选锭,宗志勇,刘正印,任南,李卫光,邹明祥,徐修礼,周建英,侯铁英,鲜于舒铭,胡成平,艾宇航,王玉宝,秦秉玉,刘进,吴佳玉,郑波,孙树梅,赵鸣雁,吴安华.多重耐药菌医院感染预防与控制中国专家共识[J].中国感染控制杂志,2015,14(01):1-9.
- [14]王丽娜,冯紫艳.三种中药提取物的体外抑菌及稳定性研究[J].许昌学院学报,2022,41(02):64-67.
- [15]谷爱军,于文.抗(抑)菌剂最小抑菌浓度测定的应用研究[J].中国洗涤用品工业,2020(Z1):42-45.
- [16]朱殿明,葛家宏,杨俊杰,陆颖.芍药提取物对高脂诱导大鼠认知功能的影响[J].世界中医药,2020,15(22):3410-3413.
- [17]王红英,周楠,侯静静,贺建宇.白芍水提取物及芍药苷改善环磷酰胺致白细胞减少的对比研究[J].西北药学杂志,2012,27(05):447-449.