

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2019.09.01

青蒿琥酯对大肠杆菌临床分离株 抗生素敏感性的影响研究

魏思敏^{1,2}, 汪培嘉^{1,2}, 田启明^{1,2}, 陶 娅^{1,2}, 刘明江^{1,2}, 李金贵^{1,2*}

(1. 扬州大学兽医学院, 江苏扬州 225009; 2. 江苏省动物重要疫病与人畜共患病防控协同中心, 江苏扬州 225009)

[收稿日期] 2019-06-09 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2019) 09-0001-06 [中图分类号] S852.61

[摘要] 探讨青蒿琥酯 (Artesunate, ARS) 的体外抗菌活性及其与临床常用抗生素联合对临床耐药大肠杆菌 (*Escherichia coli*, *E. coli*) 的作用效果。采用微量肉汤稀释法测定 ARS 与 7 种抗生素分别对 6 株临床分离 *E. coli* 的敏感性; 采用棋盘稀释法测定 ARS 分别与 7 种抗生素联合对耐药 *E. coli* 的分级抑菌浓度 (fractional inhibitory concentration, FIC), 判定联合抑菌效应; 采用平皿打孔法测定 ARS 预处理对抗生素抑菌圈直径的影响。结果显示, 单独使用 ARS 无明显抑菌作用, 但当 ARS $\geq 512 \mu\text{g/mL}$ 时, 与抗生素联用可显著降低抗生素 MIC 值, 其中除链霉素 FIC 指数为 0.6, 表现为相加作用外, 其余抗菌药 FIC 指数均小于 0.5, 表现为协同效应。使用 512 $\mu\text{g/mL}$ 和 1024 $\mu\text{g/mL}$ ARS 前处理耐药 *E. coli* 仅增加链霉素和黏菌素的抑菌圈直径。结果表明, ARS 本身不具有抑菌活性, 但与受测试抗生素同时使用可显著增加抗生素对耐药 *E. coli* 的抗菌效果, 而 ARS 预处理对受测试抗生素的增敏效果有限。

[关键词] 青蒿琥酯; 抗生素敏感性; 耐药大肠杆菌

The Effects of Artesunate on the Sensitivity of Antibiotics against Clinical Isolated Drug-resistant *Escherichia coli*

WEI Si-min^{1,2}, WANG Pei-jia^{1,2}, TIAN Qi-Ming^{1,2}, TAO Ya^{1,2}, LIU Ming-jiang^{1,2}, LI Jin-gui^{1,2*}

(1. School of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China;

2. Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

Corresponding author: LI Jin-gui, E-mail: jgli@yzu.edu.cn

Abstract: The antibacterial activity of artesunate (ARS) *in vitro* and its effect on clinical drug-resistant *Escherichia coli* (*E. coli*) in combination with antibiotics were investigated. The sensitivity of ARS and 7 antibiotics to 6 clinical isolates of *E. coli* were determined by micro-broth dilution method. The fractional

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31672595, 31272548); 江苏省高校优势学科建设工程项目

作者简介: 魏思敏, 硕士研究生, 从事细菌耐药性与中兽医临床研究。

通讯作者: 李金贵。E-mail: jgli@yzu.edu.cn

inhibitory concentration (FIC) of ARS combining with 7 antibiotics against resistant *E. coli* was determined by checkerboard dilution method. The plate perforation method was used to study the effect of ARS pretreatment on the diameter of antibiotic inhibition zone. ARS had no obvious antibacterial effect when used alone. However, when combined with antibiotics, ARS ($\geq 512 \mu\text{g/mL}$) could significantly reduce the MIC value of antibiotics. The FIC indexes of 6 antibiotics were all less than 0.5 except for streptomycin, showing synergistic effects. In addition, pretreatment by $512 \mu\text{g/mL}$ and $1024 \mu\text{g/mL}$ ARS increased the inhibition zone diameter of both streptomycin and colistin against resistant *E. coli*, with no effects to other tested antibiotics. Taken together, ARS has no inherent antibacterial activity, but it can significantly enhance the antibacterial effect of antibiotics against drug-resistant *E. coli*.

Key words: artesunate; sensitivity of antibiotics; drug-resistant *E. coli*

抗生素的发现和大规模生产与使用是医学史上的巨大进步,挽救了数以亿计的病人。除临床使用外,抗生素还作为饲料添加剂广泛应用于动物养殖业,在预防和治疗动物传染性疾病,促进动物生长及提高饲料转化率等方面发挥了重要作用。但抗生素的不合理使用,甚至滥用,导致细菌耐药性不断发展,在各类致病菌及人与动物共生菌中都出现了抗生素耐药性,并由单一耐药发展为多重耐药^[1]。多重耐药菌的增多与新型抗生素研发进展缓慢之间的矛盾日益凸显,并可能导致无药可用的“后抗生素时代”或“耐药时代”。因此,亟需寻找不同的途径来解决耐药问题^[2]。在没有新抗生素的情况下,对耐药菌可根据药敏试验结果采用联合两种或两种以上抗生素进行治疗^[3]。研究表明,青蒿素的衍生物青蒿琥酯(artesunate, ARS)除了具有抗疟作用外,对于临床常见的致病菌如大肠埃希菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)、金黄色葡萄球菌、痢疾杆菌等感染的治疗均有一定效果^[4-5],且可增强大肠杆菌和铜绿假单胞菌对头孢类抗生素的敏感性^[6-7]。但目前 ARS 与抗生素联合抑菌的研究还比较有限,本研究拟通过肉汤稀释法和平皿打孔法检测 ARS 单独或联合抗生素对畜禽源临床分离 *E. coli* 耐药株的体外抑菌效果,以期 ARS 的临床使用提供参考。

1 材料

1.1 主要试剂 ARS 购自桂林南药股份有限公司,含量 $>97\%$; 抗生素购自上海吉至生化科技有

限公司,包括阿米卡星(amikacin, AMK)、链霉素(streptomycin, STR)、环丙沙星(ciprofloxacin, CIP)、头孢噻肟(cefotaxime, CTX)、粘菌素(colistin, COL)、土霉素(terramycin, TER)和多西环素(doxycycline, DOX); 细菌培养基均购于青岛高科园海博科技有限公司(青岛海博生物技术有限公司)。

1.2 试验菌株及菌液制备 临床分离畜禽源 *E. coli* MC02、AHM5C23、SHPP23-3、AHCH24-1T、SNJ23、SHPP41,由扬州大学动物医院王彦红博士提供。标准菌株 *E. coli* ATCC25922 由本实验室保存。

将 *E. coli* 复壮并增菌培养 2~3 代,挑选单个菌落接种于 LB 培养基,置于 37°C 培养箱中培养至对数生长期。

1.3 ARS 及抗生素的制备 将 60 mg ARS 溶于 1 mL 5% 碳酸氢钠水溶液中混匀备用。精确称取抗生素,用各自对应的缓冲液将抗生素配制成浓度为 $5120 \mu\text{g/mL}$ 的母液备用。

2 方法

2.1 最小抑菌浓度(Minimum inhibitory concentration, MIC)的测定 参照临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)发布的标准(M100, 2017),采用微量肉汤稀释法测定大肠杆菌对 ARS 以及 10 种抗生素的敏感性。在 96 孔板中对受试药物进行连续二倍稀释,并使用钙离子调节的 MH 肉汤将培养至对数生长期的 *E. coli* 稀释为 1.0×10^5 CFU/mL,随后将其接种到

含有药物的 96 孔板中^[8]。在 37 °C 下孵育 16 ~ 20 h 后读取结果。质控菌株选用 *E. coli* ATCC 25922 标准菌株,所有抗生素和培养基均在质控范围内。

2.2 抗生素与 ARS 联合药敏试验 采用肉汤棋盘稀释法测定 ARS 分别与 AMK、STR、CIP、CTX、COL、TER、DOX 7 种抗生素联合时的分级抑菌浓度 (fractional inhibitory concentration, FIC)。

根据所测得的每种药物对每种菌株的 MIC 值,将 ARS 与其他抗生素分别用钙离子调节的无菌 MH 肉汤在 96 孔板中倍比稀释为 2 MIC、1 MIC、1/2 MIC、1/4 MIC、1/8 MIC、1/16 MIC,随后将培养至对数生长期的 *E. coli* 稀释为 2.0×10^5 CFU/mL 并接种到含有药物的 96 孔板中使终体积为 200 μ L。以无菌 MH 肉汤作为阴性对照,不含药物的稀释菌液作为阳性对照,在 37 °C 培养箱中孵育 16 ~ 20 h 后读取结果,以无细菌生长的最低药物浓度为联用 MIC。通过公式计算 FIC 指数,进而判断 ARS 与其他抗生素联用的作用效果。

FIC 指数 = (甲药联用 MIC/甲药单用 MIC) + (乙药联用 MIC/乙药单用 MIC),FIC 指数判读结果如下:FIC 指数 ≤ 0.5 时,两药为协同作用; $0.5 < \text{FIC 指数} \leq 1$ 时,两药为相加作用; $1 < \text{FIC 指数} \leq 4$ 时,两药为无关作用;FIC 指数 > 4 时,两药为拮抗作用^[9]。

2.3 ARS 对抗生素抑菌圈直径影响试验

2.3.1 *E. coli* 预处理 将生长至对数生长期的 *E. coli* 母液分别接种至含有 512、256、128 μ g/mL ARS 的 10 mL MH 肉汤中,细菌终浓度为 1×10^5 CFU/mL,并设置不加 ARS 的空白对照组,于 200 r/min,37 °C 摇床中培养大肠杆菌至对数增长期进行抗生素抑菌圈测定。

2.3.2 打孔法测定抑菌圈直径 将预处理的各组菌液分别稀释至 5×10^5 CFU/mL 后,吸取 200 μ L 滴加到 MH 琼脂平皿中均匀涂布,用直径为 4 mm 的无菌打孔器于平皿表面打孔后加入抗生素,根据 CLSI 标准,抗生素含量如下:AMK 30 μ g,STE 10 μ g,CIP 5 μ g,CTX 30 μ g,COL 10 μ g,TER 30 μ g,DOX 30 μ g。37 °C 培养 16 ~ 18 h 后,使用游标卡尺测定抑菌圈直径大小^[10]。

2.4 统计分析 采用 GraphPad Prism 6 软件对数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA),统计数据采用“平均数 \pm 标准差”表示, $P < 0.05$ 作为组间差异显著性的判断标准。每组试验均重复三次以上。

3 结果与分析

3.1 抗生素与 ARS 的 MIC ARS 与 7 种抗生素对 6 株临床分离 *E. coli* 的 MIC 结果见表 1。结果表明,每种受试菌株对本试验采用的 7 种抗生素至少两种耐药,其中 *E. coli* MC02 和 *E. coli* AHM5C23 对 5 种以上抗生素耐药。另外,ARS 单独使用时 5120 μ g/mL 仍没有抗菌作用。

表 1 抗生素与 ARS 对 6 株临床分离 *E. coli* 的 MIC

Tab 1 MICs (μ g/mL) of different antibiotics for 6 clinical *E. coli* isolates.

<i>E. coli</i> 菌株	抗生素来源	MIC/ (μ g \cdot mL ⁻¹)							
		AMK	STR	CIP	CTX	COL	TER	DOX	ARS
MC02	鸡	256 ^R	32	4 ^R	>512 ^R	2	512 ^R	32 ^R	>5120
AHM5C23	鸡	>512 ^R	16	8 ^R	>512 ^R	2	512 ^R	16 ^R	>5120
SHPP23-3	猪	2	>512	0.5	1	4	1	32 ^R	>5120
AHCH24-1T	鸡	>512 ^R	>512	0.5	1	16	32 ^R	32 ^R	>5120
SNJ23	猪	4	128	1	0.5	2	512 ^R	16 ^R	>5120
SHPP41	猪	4	128	2	>512 ^R	8	1	1	>5120
ATCC25922		4	4	<0.015625	8	0.5	4	0.5	>5120

肩标“R”表示耐药。AMK;敏感,MIC ≤ 16 μ g/mL 和耐药 MIC > 64 μ g/mL;CIP;敏感,MIC ≤ 1 μ g/mL 和耐药 MIC > 4 μ g/mL;CTX;敏感,MIC ≤ 1 μ g/mL 和耐药 MIC > 4 μ g/mL;COL;敏感,MIC ≤ 2 μ g/mL 和耐药 MIC > 4 μ g/mL;TER;敏感,MIC ≤ 4 μ g/mL 和耐药 MIC > 16 μ g/mL;DOX;敏感,MIC ≤ 4 μ g/mL 和耐药 MIC > 16 μ g/mL;STR 尚无 MIC 解释标准 (CLSI, 2017)。

“R” means resistance. AMK; Susceptible, MIC ≤ 16 μg/mL and resistant MIC > 64 μg/mL; CIP; Susceptible, MIC ≤ 1 μg/mL and resistant MIC > 4 μg/mL; CTX; Susceptible, MIC ≤ 1 μg/mL and resistant MIC > 4 μg/mL; COL; Susceptible, MIC ≤ 2 μg/mL and resistant MIC > 6 μg/mL; TER; Susceptible, MIC ≤ 4 μg/mL and resistant MIC > 16 μg/mL; DOX; Susceptible, MIC ≤ 4 μg/mL and resistant MIC > 16 μg/mL; breakpoints of STR is not defined (CLSI, 2017).

3.2 抗生素与 ARS 的协同作用 在测试六株临床分离株中, *E. coli* MC02 和 *E. coli* AHM5C23 耐药最为严重, 因此, 将 ARS 分别与抗生素联合使用, 由表 2 和表 3 可见, 抗生素与 ARS 联用后, MIC 值随 ARS 浓度增加呈下降趋势, 当 ARS 为 512 μg/mL 时, 7 种抗生素分别与 ARS 联用对 *E. coli* MC02 的 FIC 指数均小于 0.5, 表现为协同作用。对于 *E. coli* AHM5C23, 除 STR 与 ARS 联用的 FIC 指数为 0.6, 表现为相加作用外, 其余 6 种受试抗生素与 ARS 联用均表现为协同效应。

表 2 抗生素联合 ARS 抗 *E. coli* MC02 的作用效果

Tab 2 Results of antibiotics in combination with ARS for *E. coli* MC02.

抗生素	ARS 不同浓度时抗生素的					ΣFIC	联合效应
	MIC/(μg · mL ⁻¹)						
	ARS 浓度/(μg · mL ⁻¹)						
	0	64	128	256	512		
AMK	256	512	256	128	32	0.225	协同
STR	32	16	16	16	8	0.35	协同
CIP	32	32	16	16	8	0.35	协同
CTX	>512	512	512	64	16	0.13125	协同
COL	2	2	1	0.5	0.125	0.1625	协同
TER	512	512	256	256	64	0.225	协同
DOX	32	16	4	4	2	0.1625	协同

表 3 ARS 联合抗生素抗 *E. coli* AHM5C23 的作用效果

Tab 3 Results of antibiotics in combination with ARS for *E. coli* AHM5C23

抗生素	ARS 不同浓度时抗生素的					ΣFIC	联合效应
	MIC/(μg · mL ⁻¹)						
	ARS 浓度/(μg · mL ⁻¹)						
	0	64	128	256	512		
AMK	>512	512	256	128	32	0.1625	协同
STR	16	16	16	16	8	0.6	相加
CIP	64	64	16	16	8	0.225	协同
CTX	>512	512	512	64	16	0.13125	协同
COL	2	1	1	0.5	0.25	0.225	协同
TER	512	512	256	256	32	0.1625	协同
DOX	16	16	2	2	0.5	0.13125	协同

3.3 ARS 增加抗生素对临床耐药 *E. coli* 的抑菌圈直径 对于耐药 *E. coli* MC02 和 *E. coli* AHM5C23, ARS 对抗生素抑菌圈影响的结果如图 1 所示, 浓度为 1024 μg/mL 的 ARS 能够增大 STR 与 COL 的抑菌圈直径; ARS 浓度为 512 μg/mL 时, COL 对 *E. coli* AHM5C23 和 STR 对 *E. coli* MC02 的抑菌圈增加, 其余五种抗生素的抑菌圈未有显著改变。

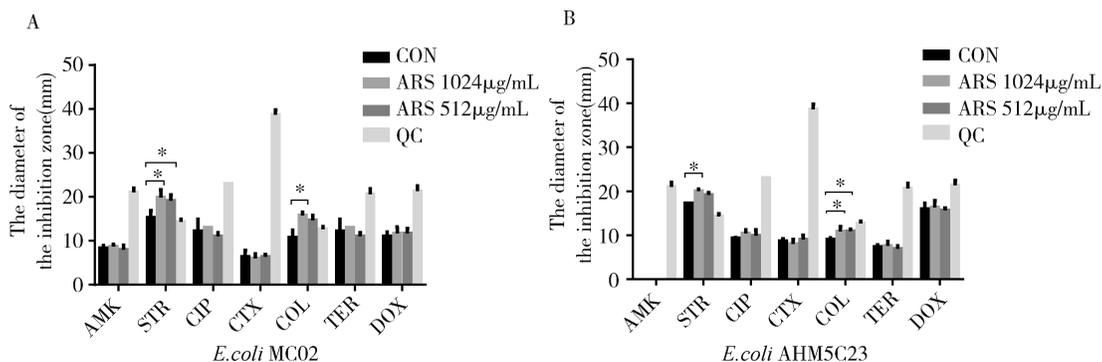


图 1 ARS 对抗生素抑菌圈直径的影响 (A. 抗生素对 *E. coli* MC02 抑菌圈直径; B. 抗生素对 *E. coli* AHM5C23 抑菌圈直径; CON: 空白对照组 (Control); QC: 质控 (Quality control); * $P < 0.05$ vs control)

Fig 1 The Effect of ARS on the diameter of antibiotics inhibition zone (A. The diameter of inhibition zone for *E. coli* MC02. B. The diameter of inhibition zone for *E. coli* AHM5C23. CON: Control, QC: Quality control, * $P < 0.05$ vs control)

4 讨论与结论

抗生素被誉为“20 世纪医药领域最伟大成就之一”,但由于其广泛、持续甚至不当使用,细菌耐药问题越来越严重^[11],已被列为将会对世界经济产生深远影响的五项潜在因素之一^[12]。在耐药菌中,致病性 *E. coli* 作为对养殖业危害最大的细菌之一,其耐药问题一直是研究的热点。由耐药菌株引起的感染性疾病来势凶猛,常规抗生素很难抑制耐药菌株的生长,其发病率增高、治疗难度大、致死率高,严重影响人类的生存与健康 and 畜牧养殖业的发展^[13]。但新型抗菌药物的研发困难重重,因此,越来越多的研究学者开始把重点投向耐药菌株本身,包括如何提高其对抗菌药物的敏感性、如何逆转其耐药性等方面。中药含有多种有效的抗菌成分,中药及其复方的抗菌作用过程是多环节、多目标、多靶点的复杂作用过程^[14]。目前,鲜有中药耐药菌的报道,这让中药逆转耐药性的作用研究引起大家的注意,也成为研究的热点之一。在本试验中,发现 ARS 能增加多种抗生素对耐药大肠杆菌的敏感性,具有显著的协同效应,ARS 是一种半合成的青蒿素衍生物,除了具有显著的抗疟作用外,还被发现其他药理活性,如抗寄生虫、抗真菌、抗肿瘤等^[15]。然而,关于 ARS 的抗菌活性以及联合用药方面的报道仍不多见。本试验着重于研究 ARS 单独及其与抗生素联用时的体外抑菌效果。结果发现,ARS 对六株受试临床分离株的 MIC 均大于 5120 $\mu\text{g}/\text{mL}$,提示 ARS 单独作用时不具有抗菌作用,因此,考虑将其与抗生素联合,对受试菌株中多药耐药的 *E. coli* MC02 和 *E. coli* AHM5C23。进行体外联合抑菌实验。结果表明 ARS 与 7 种抗生素分别联用时,抗生素的 MIC 可以降低 2 ~ 32 倍以上,提示 ARS 与多种抗生素联用具有协同作用,能够明显降低抗生素的用量,或可作为抗菌增效剂使用,对提高抗生素安全性和延缓耐药具有重要意义。但目前 ARS 的增敏机制仍不明确,需结合体内实验,系统全面地揭示其作用,进一步明确 ARS 的增敏机制及其联合抗生素对耐药大肠杆菌病的作用效果。Feng 等研究发现 20 mg/kg ARS 用于类

风湿性关节炎大鼠模型能有效减轻炎症的发展,且没有肝脏毒性^[16],由此可以看出,虽然 ARS 在体外试验中发挥增敏作用的浓度较抗生素正常用量仍处于较高水平,但在体内试验中 ARS 的使用量符合常规用量。

使用联合药敏试验中 ARS 的有效浓度 512 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 及其 2 倍用量 1024 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 预处理两种耐药 *E. coli*,微量肉汤稀释法对其进行药敏试验,并未发现 MIC 值的改变,因此,采用平皿打孔法观察抗生素对 ARS 预处理后 *E. coli* 抑菌圈直径的细微变化,发现预处理后仅能增大 STR 和 COL 对 *E. coli* 的抑菌圈直径,其增敏作用远不及 ARS 与抗生素同时使用时的效果。因此,ARS 与抗生素同时使用会有更好的应用价值,这为 ARS 或中药(包括中药有效成分)在细菌性疾病领域的研究和临床实践提供了参考。

参考文献:

- [1] 朱永官, 欧阳纬莹, 吴楠, 等. 抗生素耐药性的来源与控制对策[J]. 中国科学院院刊, 2015, (4): 509-516.
Zhu Y G, Ouyang W Y, Wu N, et al. Antibiotic resistance: sources and mitigation[J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2015, 30(4): 509-516.
- [2] 郭晓奎. 后抗生素时代我们如何征服细菌? [J]. 上海交通大学学报(医学版), 2012, 32(11): 1401-1403.
Guo X K. How do we conquer bacteria in the post-antibiotic era? [J]. Journal of Shanghai Jiaotong University (Medical Sciences), 2012, 32(11): 1401-1403.
- [3] 陈佰义, 何礼贤, 胡必杰, 等. 中国鲍曼不动杆菌感染诊治与防控专家共识[J]. 中华医学杂志, 2012, 92(2): 76-85.
Chen Y Y, He L X, Hu B J, et al. Expert consensus on diagnosis, treatment and prevention of *Acinetobacter baumannii* infection in China[J]. Journal of Chinese Medicine, 2012, 92(2): 76-85.
- [4] Wang J, Zhou H, Zheng J, et al. The antimalarial artemisinin synergizes with antibiotics to protect against lethal live *Escherichia coli* challenge by decreasing proinflammatory cytokine release[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2006, 50(7): 2420-2427.
- [5] 金慧玲, 张汝芝, 高玉祥, 等. 青蒿琥酯抗真菌、抗细菌的实验研究[J]. 中国微生态学杂志, 2003, 15(1): 26-28.

- Jin H L, Zhang Y Z, Gao Y X, *et al.* Experimental Study on Antifungal and Antibacterial Activity of Artesunate[J]. *Journal of Chinese Microecology*, 2003, 15(1): 26 - 28.
- [6] Li B, Yao Q, Pan X C, Wang N, *et al.* Artesunate enhances the antibacterial effect of β -lactam antibiotics against *Escherichia coli* by increasing antibiotic accumulation via inhibition of the multidrug efflux pump system AcrAB - TolC[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2011; 66(4): 769 - 77.
- [7] 李琛琛, 尹昆, 李敏, 等. 青蒿琥酯联合头孢曲松钠对铜绿假单胞菌抗菌作用研究[J]. *中国病原生物学杂志*, 2015, 10(10): 883 - 887.
- Li C C, Yin K, Li M, *et al.* Study on the antibacterial activity of artesunate in combination with ceftriaxone sodium[J]. *Journal of Pathogen Biology*, 2015, 10(10): 883 - 887.
- [8] Brinda C, Sundar P, Kaliappan I, *et al.* Inhibition of New Delhi Metallo - β - Lactamase 1 (NDM - 1) Producing *Escherichia coli* IR - 6 by Selected Plant Extracts and Their Synergistic Actions with Antibiotics[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1580.
- [9] Antonio C, Silvia P, Colavecchio O L, *et al.* Synergistic Activity of Colistin in Combination With Resveratrol Against Colistin - Resistant Gram - Negative Pathogens[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1808.
- [10] Salem A Z M, Khusro A, Elghandour M M Y, *et al.* Susceptibility of ruminal bacteria isolated from large and small ruminant to multiple conventional antibiotics[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2018, 121: 93 - 99.
- [11] Ling L L, Schneider T, Peoples A J, *et al.* Erratum: A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance[J]. *Nature*, 2015, 520(7547): 388 - 388.
- [12] G20 Leaders' Communique Hangzhou Summit [J]. *China Economic Weekly*, 2016, (36): 98 - 105.
- [13] Brown, David. Antibiotic resistance breakers: can repurposed drugs fill the antibiotic discovery void? [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2015, 14(12): 821 - 832.
- [14] Lin A X, Chan G, Hu Y, *et al.* Internationalization of traditional Chinese medicine: Current international market, internationalization challenges and prospective suggestions[J]. *Chinese Medicine*, 2018, 13(1): 9.
- [15] Ho W E, Peh H Y, Chan T K, *et al.* Artemisinins: Pharmacological actions beyond anti - malarial[J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2014, 142(1): 126 - 139.
- [16] Feng F B, Qiu H Y. Effects of Artesunate on chondrocyte proliferation, apoptosis and autophagy through the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in rat models with rheumatoid arthritis[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 102: 1209 - 1220.

(编辑:侯向辉)