

中药抗真菌的实验研究进展

张翠林¹, 赵建国² (1. 株洲田心医院, 湖南 株洲 412001; 2. 湖南中医学院, 湖南 长沙 410007)

摘要:目的 通过对现有抗真菌中药研究状况的介绍为该项研究提供参考依据。**方法** 查阅国内文献, 综述了 1995 年以来人类在寻找抗真菌中药过程的实验方面取得的进展。**结果与结论** 目前的研究主要集中在单味中药及其活性成分的体外实验研究, 对新的抗真菌中药的动物疾病模型研究及抗真菌机理研究较少。

关键词: 抗真菌; 中药; 实验研究

The Development of the Experiment Investigation with Chinese Medicine in Anti-fungus

ZHANG Cui-lin¹, ZHAO Jian-guo² (1. Zhuzhou Tianxin Hospital Hunan Zhuzhou 412001, China; 2. Hunan College of Tradition Chinese Medicine Hunan Changsha 410007, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To give some reference to the research by introducing the status quo of the experiment investigation with Chinese medicine in anti-fungus. **METHOD** Consulting many internal documentation and summarizing the achievement our human beings have got in the research on the anti-fungus medicine since 1995. **CONCLUSION** In nowadays, the research mainly focused on making experiments with one single Chinese medicine and its active ingredient on living object. However, in the field of the animal disease model and the mechanism of anti-fungus of new Chinese medicine for anti-fungus, we pay less attention to it. Compared with the former, the latter has more development space.

KEY WORDS: Anti-fungus; Chinese Medicine; Experiment Investigation

致病真菌对人类的危害是广泛而严重的。目前临床上应用的抗真菌药大部分为化学合成药, 主要有多烯类、氨基甲酸酯类和咪唑类。它们有各自的适应症, 对酵母菌引起的感染较好, 对曲霉菌和侧孢菌感染疗效欠理想, 加上易被耐药且毒副作用大等因素使得人们不断寻找新的高效低毒的

抗真菌中药。国内外学者运用中药治疗真菌病取得了较为满意的效果, 现已发现有 300 多种中药有抗真菌作用^[1]。本文综述了中药在抗真菌的实验研究方面的进展。

1 中药抗真菌实验研究方法

1.1 试管法与平板琼脂扩散法

将中药用适当的溶剂(水、乙醇、乙醚等)提取,浓缩干燥后用水、乙醇等溶剂配成一定浓度的溶液^[2],有效成分溶解于水、乙醇等溶剂^[3],加入规定温度的琼脂,采用系列倍数浓度稀释法制备成各种药物浓度的培养基。经无菌试验合格后,用接种环挑取实验用菌株进行接种,在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 恒温箱中培养7d,观察真菌生长情况,计算出MIC与MFC;或用戊二醛^[4]、1% 锇酸固定,常规方法制作电镜标本,进行电镜观察真菌细胞结构与形态的变化以此证明有无抗真菌作用;还可以观察中药对真菌芽管的形成影响作为观察指标^[5]。

1.2 动物真菌病模型法

目前应用的动物模型可分为浅部真菌病模型与深部真菌病模型两种。浅部真菌病模型包括皮肤癣病模型与皮肤念珠菌病模型。癣病动物模型一般有石膏样毛癣菌感染豚鼠,造模方法有“穿刺感染法”、“爪间感染法”、“皮肤创伤感染法”等,观察指标前者有病灶直径大小,后者主为病灶的病变程度和病灶皮肤(屑)真菌培养的转阴率。深部真菌病模型主要有白色念珠菌病模型、隐球菌病模型、曲霉菌病模型等,如家兔阴道粘膜总体真菌感染模型、肺部感染白色念珠菌模型。判断药效的指标主要是生存保护率、平均存活天数和靶器官的病变程度等。

2 单味中药及其活性成分抗真菌的研究

张军东等^[6]从条纹拟海牛(*Philinopsis lineolate*)中提取得到四种新的羊毛烷型三萜皂苷 *philinopside A*、*B*、*C*、*D*,它们对四种酵母菌均表现出抗菌活性,MIC₈₀ 值为 $16\mu\text{g/mL} \sim 128\mu\text{g/mL}$,对白色念珠菌的MIC₈₀ 值为 $16\mu\text{g/mL}$,对热带念珠菌的MIC₈₀ 值为 $32\mu\text{g/mL}$,对红色毛癣菌的MIC₈₀ 值为 $16\mu\text{g/mL} \sim 32\mu\text{g/mL}$,对烟曲霉菌 *philinopside D* 作用较强,其MIC₈₀ 值为 $32\mu\text{g/mL}$ 。关洪全等^[7]对生姜对常见污染食品真菌抗菌活性进行了探讨,结果表明生姜对空气中落下的杂菌和易引起食品发霉、对理化因素抵抗力较强的曲霉、青霉、枝孢霉等常见真菌有抗菌作用,但抗菌活性不强。王理达等^[2,8]对13种生药的醇提取物和13种单体化合物进行啤酒酵母变态性GL7和威克海姆原藻敏感性测试,结果表明黄柏、丁香、乌梅、黄连、山豆根对两者抑制作用较强;紫草和龙胆草对前者抑制作用很强,对后者则无作用,白芷则相反;小檗碱对后者作用较前者好;紫草素则对前者生长无影响,对后者有较强的抑制作用;其它几种药根碱、麻黄碱、浙贝素乙、贝母素甲、鬼臼毒素、巴马汀及苦参碱未表现出抗真菌活性,其作用靶点不在甾醇生物合成途径上。澳洲茄胺是甾醇生物合成途径阻断剂,紫檀芪、白鲜皮等有较好的抑菌作用,但对2种微生物中甾醇生物合成途径没有影响。经进一步实验证明,澳洲茄胺、紫檀芪及白鲜皮直接或间接影响2种真菌的遗传物质的正常合成以致不能完成正常的细胞周期,从而抑制真菌生长导致死亡。王晓晨等^[9]从天麻中分离一种10KD的凝集素类似蛋白(GAFP-1),在体外对绿色木霉、梨黑腐皮壳、立枯丝核菌、小麦赤霉菌的多个生理小种、紫芝菌及灰葡萄菌等真菌生长有明显的抑制作用,绿色木霉的孢子萌发和菌丝延伸有显著抑制效果,抑制率分别为30%和

59.7%。江涛等^[3]采用试管内基法及电镜观察,对22种中药有效成分抗真菌进行研究,结果 β -松油烯、松油烯4-醇、二氢黄酮、姜黄醇、桉叶醇、柠檬醛、丁香酚具有强抗真菌作用,MIC 值为 $10\mu\text{g/mL} \sim 0.009\mu\text{g/mL}$ 。其中 β -松油烯和松油烯4-醇是珊瑚姜中的有效成分,二氢黄酮和姜黄醇是姜黄中的有效成分,桉叶醇是桉叶的有效成分,柠檬醛是山苍子的有效成分,丁香酚是丁香的有效成分。颜鸣等^[10]应用沙氏培养基倍比稀释法观察了大扶康、大蒜素和大蒜油注射液抗深部真菌的药效学研究,其结果表明大扶康对白色念珠菌、热带念珠菌、新型隐球菌有较好的抑制,对其它真菌无抑制或杀灭作用;大蒜素、大蒜油注射液均有抑制作用。常颂平等^[4]采用平板培养基法结合电镜观察冰片对患者外耳道内分泌物中分离出的黑曲菌的作用,其结果表明冰片对该菌的MIC 为5%,MFC 为10%,电镜观察其作用机制是破坏真菌细胞的结构,导致真菌溶解死亡,从而表现出抑菌杀菌功能。欧阳录明等^[11]采用菌基混合加药法、双倍稀释法体外测定8种中药抗白色念珠菌的效果,结果表明生大蒜汁和七叶一枝花有很强的抗菌作用,MIC 分别为 1.0mg/mL 和 1.5mg/mL ,抗菌效价为 3.12mg/mL 和 6.25mg/mL ;丁香、一口钟MIC 均为 2.0mg/mL ,抗菌效价为 12.5mg/mL ,表现抗菌作用较强;虎杖、土槿皮、木鳖子抗菌作用较弱,MIC 均为 2.5mg/mL ,抗菌效价为 50mg/mL 。杨得坡等^[12]研究竹叶楠叶挥发油在培养基浓度 $< 2.0\mu\text{g/mL}$ 下能完全抑制新型隐球菌、申克氏孢子菌、羊毛状小孢子菌、石膏样小孢子菌和球毛壳霉等皮肤真菌的生长繁殖。他们也发现藿香和广藿香挥发油能完全抑制12种皮肤癣菌的条件致病菌和球毛壳霉等的生长繁殖^[13]。刘春平等^[14]研究射干95%乙醇提取物及提取物的乙醚、乙酸乙酯及正丁醇萃取部分的体外抑菌作用,结果对红色毛癣菌、石膏样小孢子菌等抑菌作用强弱顺序为:95%乙醇提取物 $\geq$ 乙醚部分 $>$ 乙酸乙酯部分 $>$ 正丁醇部分(该部分无效),其MIC 值分别为 $1.25\text{mg/mL} \sim 2.5\text{mg/mL}$ 、 $1.25\text{mg/mL} \sim 2.5\text{mg/mL}$ 和 20mg/mL 。马廉兰等^[5]采用出芽实验法和琼脂扩散法筛选了116种中草药抗白色念珠菌作用。杨得坡等^[15]发现了山胡藜果水蒸汽蒸馏的挥发油体外对4种皮肤致病真菌和5种污染霉菌均有明显抑制作用,MIC 分别为 $0.03\text{mL/L} \sim 0.5\text{mL/L}$ 、 $1.0\text{mL/L} \sim 1.5\text{mL/L}$,溶剂提取部分活性弱。张宏桂等^[16]发现野生东北刺人参对红色毛癣菌等7种皮肤癣菌抗菌活性强,MIC 为 $0.063\% \sim 0.125\%$,MFC 为 $0.125\% \sim 0.25\%$,有效成分为里哪醇和对聚伞花素等。王昊等^[17,18]发现茵陈、黄连、胡黄连、白头翁(MIC 9.38%)水提液在5%时即产生抑制真菌作用,丹皮、青藜、白鲜皮、秦皮、射干、羌活的MIC 为11.88%。唐书谦等^[19]采用常规试管法和平皿打孔法进行测定姜黄挥发油、水浸出液体外抗真菌试验,结果挥发油对13种常见真菌的MIC 为 $1.5\% \sim 0.08\%$,水浸出液的MIC 为 $2.5\% \sim 0.16\%$,用常规试管法较敏感。白玫等^[20]研究了茴香醛对18种46株真菌进行抗真菌实验,结果显示对多种真菌病有抑杀作用,MIC 为 $0.039\text{mg/mL} \sim 1.25\text{mg/mL}$,MFC 为 0.156mg/mL

~510mg/mL。吕小迅等^[21]采用平皿培养法研究了黄芩、黄精联合应用抗真菌作用,结果表明两药联合用药,对深部真菌感染的申克氏孢子菌、白色念珠菌等有协同作用,并发现单一黄芩无抗真菌作用。张贵君等^[22]研究了全蝎乙醇提取物和蝎毒素体外抗浅致病真菌作用,结果表明全蝎乙醇提取物8种表浅致病真菌均有抑制作用,尤其对紧密着色菌、裴氏着色菌、申克氏孢子菌,石膏样小孢子菌、絮状表皮癣菌等较敏感,其抗真菌作用优于大蒜水浸出物,蝎毒素在此实验条件下无抑制作用。宋军等^[23]采用固体琼脂法以水杨酸为对照测定丁香酚的抗真菌活性。结果表明对所试10种皮肤癣菌、5种深部真菌、3种酵母及酵母样菌均有抑制和杀灭作用,其MIC为12.5mg/mL~400mg/mL, MFC为50mg/mL~800mg/mL;对照组MIC为200mg/mL~800mg/mL, MFC为大于200mg/mL,作用机制为作用于细胞壁,达到杀灭真菌的目的。方玉复等^[24]采用试管法研究了陈皮对浅部真菌的抑制作用,结果表明25%和50%的陈皮对浅部真菌有抑制作用,对白色念珠菌无效。12.5%的陈皮对红色毛癣菌、羊毛状小孢子菌均有抑制作用。何进等^[25]采用试管法研究了大蒜油 β -CD包合物对申克氏孢子菌最敏感, MIC和MBC均为6.25 μ g/mL,对总状毛霉菌最弱, MIC为50 μ g/mL;就杀菌而言,对白色念珠菌最不敏感, MBC为100 μ g/mL。吕小迅等^[26,27]应用试管法对黄芩、黄精、虎杖、大黄分别对6种真菌抗真菌作用及活性部位的研究,发现不同中药对不同种真菌抑制作用不同,不同部位活性也不同;黄芩和黄精的水溶性部位对供试菌株有较强的抗真菌作用,醇溶性部位活性不强,证明有效成分存在于水溶性部位。张文鹏^[28]对桂皮醛抗条件致病真菌作用进行研究,结果表明桂皮醛对22种条件致病真菌均有抑制作用, MIC分别为0.0625mg/mL~1mg/mL, MFC为0.125mg/mL~5mg/mL。

3 复方制剂抗真菌作用的实验研究

林静瑜等^[29]用平皿挖洞灌药法研究了癣药膏(丁香,蜂房等组成)的抗炎抗菌试验。结果表明癣药膏对多种真菌呈抑制作用,无明显毒性反应,为中药手足癣的临床应用提供了实验依据。谭元生等^[30]报告了复方苦参液(苦参、蛇床子、百部、冰片等)能较好地抑制真菌生长从而控制由真菌感染造成的阴道粘膜炎症。徐文跃等^[31]报道了“白莲洗剂”(白头翁、半边莲、蛇床子、黄连、黄柏、百部、地肤子等)的体外抑菌实验和动物实验的研究,结果表明该品种对白色念珠菌有显著抑制作用,其抗菌谱广,有杀灭阴道毛滴虫之功效;阴道毒性试验和最大耐受量测定显示该品种低毒、安全。刘殿秀等^[32]报道了肤康液(金钱白花蛇、八角莲、白薇、千斤藤、麝香等)对红色毛癣菌等浓度在12.5%以上有较好地抑制作用,对白色念珠菌浓度在25%以上有较好抑制作用。张长生等^[33]采用试管内药基法观察了复方虎杖液(虎杖、枯矾、冰片等)对红色毛癣菌、石膏样小孢子菌、白色念珠菌、裴氏着色菌等浓度在40%以上时均有抑制作用。刘延华等^[34]报道了炎痒净(黄柏、黄芩、苦参、蛇床子、金银花、连翘、大黄、薄荷、明矾等水煎配制而成)体外对红色毛癣菌、石膏样

小孢子菌等均有较强抑制作用,其MIC分别为0.625g/l和0.625g/l。卢全德等^[35]报道了肤疾安喷雾剂(金银花、苦参、薄荷脑等用酒精渗漉法提取)对絮状表皮癣菌、红色毛癣菌、羊毛状小孢子菌、白色念珠菌等有抑制作用, MIC为0.39mg/mL~1.56mg/mL。姜欣等^[36]报道了补中益气汤可增强抗真菌药的疗效,提高免疫功能低下肺部感染白色念珠菌动物的生存率。孟作仁等^[37]采用试管内药基法研究速效脚癣粉(黄柏、地榆、百部、枯矾、硫磺、苦参、白鲜皮、冰片、铜绿、珍珠和人工牛黄等)对10种真菌的抗真菌药敏感试验。结果表明红色毛癣菌、羊毛状小孢子菌、奥杜小孢子菌等10种真菌的MIC为1.0g/l~2.5g/l,白色念珠菌的MIC为2.5g/l。陈家欢等^[38]报道足癣宁(大枫子、紫草、黄柏等)对多种真菌有明显抑制作用,对实验性动物皮肤感染石膏样小孢子菌及白色念珠菌有显著治疗作用,对角叉菜胶引起的大鼠急性炎症有明显抑制作用,可明显提高豚鼠的致痒阈,表明能治疗真菌病。范瑞强等^[39]报道了中药香莲复方(丁香、藿香、黄连、龙胆草等)对常见皮肤致病真菌有较强的抑制和杀灭作用。

4 讨论与展望

近年来对抗真菌中药进行了大量的研究,临床应用也取得了令人满意的效果,但也存在一定的问题。

试管法实验中不同实验条件如培养基的种类及pH值、供试真菌的种类及株数、接种的菌量、接种后判断的时间等对结果影响较大。如山苍子油对8种霉菌的抗菌效力的最适pH值为4.5~8.5,超过此范围则作用减弱或无明显抗真菌作用^[40]。不同真菌对同一药物的敏感性不同,甚至同一种不同株也有差别。向含药基中接种菌量大小直接影响抗真菌药物的抗菌效果。一般情况下,在一定范围内,抗菌效果与接种菌量成反比。接种后培养时间的长短对多数抗真菌药物的抗菌效果有很大影响,如培养时间过长,有些药物则会分解而降低或失去抗菌作用。

中药粗提取物或水煎剂的抗真菌有效成分含量少,进入动物体内后较难达到有效浓度,导致一些在试管内有明显抗真菌效果的中药在动物体内的疗效不明显,所以应加强中药抗真菌部分有效成分的动物实验及其作用机理的研究。

从抗真菌的类型来看,主要是研究抗浅部真菌,对深部真菌病的研究较少,应加强抗深部真菌的中药研究,以寻找新的高效低毒的抗真菌新药。

参考文献

- [1] 许冰. 抗真菌中药研究概况[J]. 云南医药, 1984, 5(1): 5.
- [2] 王理达, 屠鹏飞. 13种生药提取物及化学成分的抗真菌活性筛选[J]. 中草药, 2001, 32(3): 241.
- [3] 江涛, 曹煜, 赵秀华. 22种中草药有效成分抗真菌研究及新剂型应用[J]. 中华皮肤科杂志, 1999, 32(5): 316.
- [4] 常颂平, 李玉春. 冰片对真菌细胞超微结构的影响及治疗化脓性中耳炎的临床应用[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(5): 306.
- [5] 马廉兰, 张文平, 曾祥凤. 116种中草药对白色念珠菌的抑菌

- 实验[J]. 赣南医学院学报,1998,18(3):189.
- [6] 张军东,许强芝,谷莉,等. 条纹拟海牛中提取的四种新活性成分的抗真菌作用[J]. 第二军医大学学报,2002,23(11):1221.
- [7] 吴洪全,李海波. 生姜对常见污染食品的真菌抗菌活性探讨[J]. 辽宁中医学院学报,2000,2(3):216.
- [8] 王理达,果德安,袁兰,等. 3种抗真菌生药活性成分对两种真菌细胞遗传物质的影响[J]. 药学学报,2000,35(11):860.
- [9] 王晓晨,徐庆,刘颖,等. 天麻中一种凝集素类似蛋白对植物病原真菌的抑制作用[J]. 微生物学通报,1999,26(4):356.
- [10] 颜鸣,郭清,张美侠,等. 大扶康、大蒜素、大蒜油注射液对深部真菌的抑杀作用[J]. 沈阳药科大学学报,2000,17(3):214.
- [11] 欧阳录明,黄晓敏,吴兴无等. 中草药体外抗白色念珠菌的实验研究[J]. 中国中医药信息杂志,2000,7(3):26.
- [12] 杨得坡,王发松,张宏达,等. 竹叶楠叶挥发油化学成分与抗真菌活性研究[J]. 广西植物,2000,20(2):181.
- [13] 杨得坡,等. 藿香和广藿香挥发油对皮肤癣菌和条件致病菌的抑制作用[J]. 中国药学杂志,2000,35(1):9.
- [14] 刘春平,王凤荣,南国荣,等. 中药射干提取物对皮肤癣菌抑菌作用研究[J]. 中华皮肤科杂志,1998,31(5):310.
- [15] 杨得坡,王发松,任三香,等. 山胡椒果挥发油的化学成分及抗真菌活性[J]. 中药材,1999,22(6):295.
- [16] 张宏桂,刘松艳,付爱华. 野生东北刺人参茎挥发油成分及其抗皮肤癣菌作用[J]. 中国药学杂志,1999,34(6):369.
- [17] 王昊,杨红伟,杨风琴,等. 丹参、苦参、蛇床子等十种中草药对致病性浅部真菌的抑菌实验研究[J]. 宁夏医学杂志,1997,19(4):193.
- [18] 王昊,杨红伟,杨风琴,等. 10种中草药对致病性浅部真菌的抑菌实验研究[J]. 中医杂志,1997,38(7):431.
- [19] 唐书谦,叶庆俏,钟白玉. 姜黄挥发油、水浸出液体抗真菌试验[J]. 第三军医大学学报,1997,19(6):569.
- [20] 白玫,张玉萍,董君,等. 茴香醛抗真菌实验及临床研究[J]. 中华皮肤科杂志,1995,28(6):364.
- [21] 吕小迅,周玉珍,方丹云,等. 黄芩黄精联合应用的抗真菌实验研究[J]. 中国皮肤性病杂志,1996,10(2):80.
- [22] 张贵君. 全蝎乙醇提取物及蝎毒素体外抗浅表致病真菌的实验研究[J]. 中国中医药科技,1996,3(3):46.
- [23] 宋军,李鹤玉,赵小秋,等. 丁香酚抗真菌作用的实验研究[J]. 中国皮肤性病杂志,1996,10(4):203.
- [24] 方玉复,魏玉平,于香安,等. 陈皮对浅部真菌的试管内抑菌实验报告[J]. 兰州医学院学报,1997,23(1):32.
- [25] 何进,何力,张美霞,等. 大蒜油 β -环糊精包合物的抗深部真菌作用[J]. 沈阳药科大学学报,1998,15(2):134.
- [26] 吕小迅,周玉珍,方丹云等. 黄精黄芩等四种中药抗真菌实验研究[J]. 广东药学院学报,1995,11(1):18.
- [27] 吕小迅,周玉珍,吕华冲破等. 黄芩黄精抗真菌作用活性部位实验研究[J]. 广东药学院学报,1995,11(3):180.
- [28] 张文鹏. 桂皮醛抗条件致病性真菌作用的研究[J]. 临床皮肤科杂志,1995,24(4):219.
- [29] 林静瑜,洪华炜,倪峰. 癣药膏的抗炎抗菌及急性毒性实验[J]. 福建中医学院学报,2001,11(1):47.
- [30] 谭元生,胡宏. 复方苦参洗液抗家兔阴道粘膜整体真菌感染的实验研究[J]. 中国中医药科技,1999,6(3):156.
- [31] 徐文跃,姜平,于钱珍. 白莲洗剂抗菌作用的试验研究[J]. 药学进展,2000,24(2):110.
- [32] 刘殿秀,夏清,孙曾拯,等. 肤康液对真菌抑制的试验报告[J]. 现代中西医结合杂志,2000,9(2):115.
- [33] 张长生,曾志良,李骊. 复方虎杖液对四种致病性真菌的抑菌试验报告[J]. 湖北中医学院学报,2000,2(2):50.
- [34] 刘延华,黄庆山,李凤静. 炎痒净抗真菌作用研究[J]. 中国皮肤性病杂志,1998,12(4):219.
- [35] 卢全德,杨瑞平,陈桃香. 肤疾安喷雾剂的制备及对致病真菌的作用[J]. 中国医院药学杂志,1997,17(9):411.
- [36] 姜欣,王晓波,杨淑芝. 补中益气汤对肺部真菌感染辅助治疗作用的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,1997,3(3):28.
- [37] 孟作仁,袁卓峰,肖文彤,等. 速效脚癣粉体外抗真菌试验研究[J]. 中国皮肤性病杂志,1995,9(3):145.
- [38] 陈家欢,杨斌,林军,等. 足癣宁药效学研究[J]. 广西医学,1996,18(2):113.
- [39] 范瑞强,鲁长明. 中药香莲复方抗真菌作用的研究[J]. 实用医学杂志,1995,11(1):67.
- [40] 余伯良. 山苍子油对霉菌抗菌性及其与黄曲霉产毒关系的研究[J]. 微生物学通报,1998,25(3):144.

收稿日期:2003-09-29