

保护^[14,15];黄芪甲苷高、低剂量作用短暂性前脑缺血模型大鼠 14 d 后可显著增加海马 DG 区 BrdU/MAP-2 双阳性细胞数量,对 NGF mRNA 无明显影响。提示黄芪甲苷能够增加神经干细胞来源的神经元的数量,黄芪甲苷是在短暂性前脑缺血后短期内上调 NGF mRNA,起到修复损伤的神经元和促进 NSCs 增殖的作用,具体的机制还需进一步研究。

参考文献:

- [1] 张艳军, 范 祥, 胡利民, 等. 不同治则中药单体对体外培养神经干细胞分化的影响 [J]. 天津中医药, 2004, 21(2): 156-157.
- [2] Nakatomi H. Regeneration of hippocampal pyramidal neurons after ischemic brain injury by recruitment of endogenous neural progenitors [J]. *Cell*, 2002, 110: 429-441.
- [3] Jiang W, Gu W, Brännström T, *et al.* Cortical neurogenesis in adult rats after transient middle cerebral artery occlusion [J]. *Stroke*, 2001, 32(5): 1201-1207.
- [4] Nakatomi H, Kuriu T. Regeneration of hippocampal pyramidal neurons after ischemic brain injury by recruitment of endogenous neural progenitors [J]. *Cell*, 2002, 23, 110: 429-441.
- [5] Sharp F R, Liu J, Bernabeu R. Neurogenesis following brain ischemia [J]. *Brain Res Dev Brain Res*, 2002, 31, 134(1-2): 23-30.
- [6] Sato K, Hayashi T, Sasaki C, *et al.* Temporal and spatial differences of PSA-NCAM expression between young-adult and aged rats in normal and ischemic brains [J]. *Brain Res*, 2001, 922: 135-139.

- [7] B dard A, Gravel C, Parent A. Chemical characterization of newly generated neurons in the striatum of adult primates [J]. *Exp Brain Res*, 2006, 170(4): 501-512.
- [8] Yagita Y, Kitagawa K, Ohtsuki T, *et al.* Neurogenesis by progenitor cells in the ischemic adult rat hippocampus [J]. *Stroke*, 2001, 32: 1890-1896.
- [9] Baydas Q, Tuzcu M. Protective effects of melatonin against ethanol-induced reactive gliosis in hippocampus and cortex of young and aged rats [J]. *Exp-Neurol*, 2005, 194: 175-181.
- [10] Korzhevskii D E, Otellin V A, Grigor'ev I P, *et al.* Structural organization of astrocytes in the rat hippocampus in the post-ischemic period [J]. *Neurosci Behav Physiol*, 2005, 35: 389-392.
- [11] Tohru K, Henrik A, Par T, *et al.* Intracerebral infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor promotes striatal neurogenesis after stroke in adult rats [J]. *Stroke*, 2006, 37: 2361-2367.
- [12] Seri B, Garcia-Verdugo J M, McEwen B S, *et al.* Astrocytes give rise to new neurons in the adult mammalian hippocampus [J]. *J Neurosci*, 2001, 21: 7153-7160.
- [13] Luo Y, Qin Z, Hong Z, *et al.* Astragaloside ⑤ protects against ischemic brain injury in a murine model of transient focal ischemia [J]. *Neurosci Lett*, 2004, 363(3): 218-223.
- [14] 徐正东, 李贵维, BDNF, NGF 在大鼠局灶性脑缺血的表达变化及葛根素对其影响的实验研究 [J]. 中国实验诊断学, 2005, 9(4): 578.
- [15] 范郁山, 罗 燕. 浅刺针法对脑梗塞大鼠的脑组织缺血半暗带 NGF 表达的影响 [J]. 针灸临床杂志, 2008, 24(3): 36-39.

地锦草提取物抗真菌作用及对皮肤真菌超微结构的影响

李治建¹, 古力娜·达吾提², 肖 威¹, 斯拉甫·艾白^{2,3*}

(1. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832000; 2. 新疆维吾尔自治区维吾尔医医院, 新疆 乌鲁木齐 830049;

3. 新疆维吾尔自治区维吾尔医药研究所, 新疆 乌鲁木齐 830049)

摘要:目的 研究地锦草提取物体外抗真菌活性, 评价其抗真菌作用, 探讨其抗真菌作用机制。方法 参照美国临床实验室标准化委员会 (NCCLS) 推荐的《产孢丝状真菌的液基稀释法抗真菌药物敏感性试验方案》(M38-A), 测定地锦草提取物对 60 株临床常见皮肤癣菌的最小抑菌浓度 (MIC) 值, 扫描电镜和透射电镜下观察其细胞表面形态结构变化和细胞内超微结构变化。结果 地锦草提取物对红色毛癣菌的平均 MIC 为 446 $\mu\text{g/mL}$, 对石膏样毛癣菌的平均 MIC 为 539 $\mu\text{g/mL}$; 扫描电镜下观察地锦草提取物作用于皮肤癣菌后, 细胞表面皱缩不平, 有严重皱褶、破裂现象; 透射电镜下可见, 真菌细胞壁不完整, 局部有缺损, 厚薄不均; 细胞膜轮廓不清, 局部有破损; 胞内细胞器损伤严重, 多见空泡化, 细胞内成分聚集成电子密度较高的团块。结论 地锦草提取物对真菌的生长具有显著地抑制作用, 可使其形态和超微结构发生明显的改变。

关键词: 地锦草提取物; 抗真菌; 最低抑菌浓度

中图分类号: R286.85

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)05-0758-06

* 收稿日期: 2008-08-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30760308)

作者简介: 李治建 (1982—), 男, 河南夏邑人, 硕士研究生, 研究方向为药理学。E-mail: lizhijian0220@126.com

* 通讯作者 斯拉甫·艾白 Tel: (0991) 2563702 13999193503 Fax: (0991) 2557730

Antifungi of *Euphorbia humifusa* extract and its effect on ultrastructure of dermatophytes

LI Zhi-jian¹, DAWUTI • Gulnar², XIAO Wei¹, AIBAI • Silafu^{2,3}

(1. College of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832000, China; 2. Xinjiang Uighur Medicine Hospital, Urumqi 830049, China; 3. Xinjiang Institute of Traditional Uighur Medicine, Urumqi 830049, China)

Abstract: Objective By measuring the minimal inhibitory concentration (MIC) of *Euphorbia humifusa* extract *in vitro* to examine its antifungal effect and observe the effect of *E. humifusa* extract on the ultrastructure of dermatophytes, so as to explore the potential mechanism of its antifungal action. **Methods** Applying the standard approved by the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS): *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi* (M38-A) to investigating the MICs of *E. humifusa* extract against 60 strains of common clinical dermatophytes. Treated the sample with the routine method, the ultrastructure of dermatophytes was observed with scanning electron microscope (SEM) and transmission electron microscope (TEM). **Results** The mean MIC of *E. humifusa* extract against *Trichophyton rubrum* was 446 $\mu\text{g}/\text{mL}$; The mean MIC of *E. humifusa* extract against *Trichophyton mentagrophytes* was 539 $\mu\text{g}/\text{mL}$. After exposing to *E. humifusa* extract, cell surface wrinkled, and folds and cell breakage were observed under SEM. The cell wall was incomplete, the thickness of cell wall became uneven, the density of the cell wall decreased, and the cell membrane became discontinuous with TEM observation. The organelles such as mitochondria and endoplasmic reticulum were deeply damaged. The cytoplasm was aggregated and some high density electron light areas as well as vacuoles were formed. **Conclusion** *E. humifusa* extract has a strong antifungal effect which could obviously change the conformation and the ultrastructure of dermatophytes.

Key words: *Euphorbia humifusa* extract; anti-fungus; minimal inhibitory concentration (MIC)

地锦草, 维吾尔名为夏塔热其尼 (Xiahatareqini), 为大戟科植物地锦 *Euphorbia humifusa* Willd. 或斑地锦 *Euphorbia maculata* L. 的干燥全草, 是维吾尔医常用药材, 临床主要用于治疗手癣、体癣、足癣、花斑癣、银屑病^[1]。为了研究地锦草提取物的体外抗真菌作用, 笔者参照美国临床实验室标准化委员会 (NCCLS) 推荐的《产孢丝状真菌的液基稀释法抗真菌药物敏感性试验方案》(M38-A)^[2], 探讨地锦草提取物的体外抗真菌活性, 并利用扫描电子显微镜和透射电子显微镜观察其作用于皮肤癣菌后对其超微结构的影响, 进一步证实其抗真菌活性, 为其抗真菌作用机制的研究提供线索。

1 材料

1.1 药物: 地锦草提取物, 由新疆维吾尔自治区维吾尔医药研究所药剂室提供, 提取方法及质量控制, 参照《中华人民共和国药品标准维吾尔药分册》中百癣夏塔热片之地锦草提取方法及质量控制^[3], 用 100% DMSO 溶解制成质量浓度为 102.4 mg/mL 的储存液, 存于 -60 °C 冰箱备用。阳性对照药特比奈酚, 诺华公司, 批号 010482, 质量分数 99.9%, 用 DMSO 溶解制成质量浓度为 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的储存液, 存于 -60 °C 冰箱备用。

1.2 菌株: 红色毛癣菌 *Trichophyton rubrum* 20 株, 石膏样毛癣菌 *Trichophyton mentagrophytes*

40 株, 质量控制菌株为近平滑念珠菌 *Candida parapsilosis* 1 株, 均来自新疆医科大学真菌与真菌病研究中心菌种保藏库。

1.3 试剂: RPMI 1640 培养基 (美国 Gibco 公司); 三氮吗啡琳丙磺酸 (MOPS, 美国 Sigma 公司); 马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (PDA), 批号 20070825, 北京奥博星生物科技有限公司; 环氧树脂 (Epon812, DDSA、NMA、DMP-30), 美国 SP1-CHEM。

1.4 仪器: FM 型生化培养箱, 上海福玛实验设备有限公司; 日本 Hitachi Hus-5GB 真空喷镀仪; 瑞典 LKB-7800 Knifemaker 制刀机; 德国 Leica Ultracut R 超薄切片机; 德国 Leo 1430VP 扫描电镜; 日本 Hitachi H-600 型透射电镜。

2 方法

2.1 最低抑菌浓度 (MIC) 的测定: 根据 NCCLS 推荐的《产孢丝状真菌的液基稀释法抗真菌药物敏感性试验方案》(M38-A)^[2], 测定地锦草提取物对 60 株红色毛癣菌、石膏样毛癣菌的 MIC。

2.1.1 药物稀释液的制备: 将地锦草提取物储存液、特比奈酚储存液, 分别用 RPMI 1640 培养基倍比稀释成 2 倍终质量浓度。地锦草提取物的 2 倍终质量浓度由高向低依次为: 2.048、1.024、512、256、128、64、32、16、8、4 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 特比奈酚的 2 倍终质量浓度由高向低依次为: 160、80、40、20、10、5、2.5、

1. 25、0.625、0.312 5 mg/mL。

2.1.2 菌接种液的制备: 皮肤癣菌, 将受试的皮肤癣菌接种于马铃薯培养基 (PDA) 上, 26 ℃ 培养 7~14 d, 吸取 2 mL 无菌 0.85% NaCl 溶液, 冲洗菌落表面的菌丝和孢子, 将含有菌丝和孢子的冲洗液用血细胞计数板记数, 将其浓度调至 $1 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ cfu/mL, 用 RPMI 1640 培养基稀释 50 倍至 2 倍终浓度。念珠菌, 将受试的念珠菌接种于 PDA 上, 36 ℃ 培养 48 h, 挑取菌落, 加入 2 mL 无菌 0.85% NaCl 溶液中, 用 0.5# McFarland standard 比浊管比浊, 用 RPMI 1640 液基稀释 100 倍后再稀释 20 倍至 2 倍终浓度。

2.1.3 接种: 将 100 μ L 的 2 倍稀释药液, 由第 1 孔至第 10 孔分别由高质量浓度到低质量浓度加入至无菌 96 孔细胞培养板中, 第 11 孔为生长对照孔 (仅加菌悬液 100 μ L 和 RPMI 1640 培养基 100 μ L, 不加药物), 第 12 孔为空白对照孔 (真菌、药物都不加, 只加 RPMI 1640 培养基 200 μ L)。将调好的菌接种液 100 μ L, 分别加入相应的微孔内, 这将使每一梯度的抗真菌药物和菌接种液 (2 倍终浓度) 分别被 1:1 稀释。

2.1.4 结果的判定: 皮肤癣菌, 26 ℃ 孵育 7~14 d 观察结果; 念珠菌, 36 ℃ 孵育 48 h 观察结果。读取 MIC 值时, 应在不搅动的情况下与生长对照孔按下列标准比较: 0 为肉眼清晰, 1 为略模糊 (80% 受抑制), 2 为浊度显著减低 (50% 受抑制), 3 为浊度轻度减低, 4 为浊度未减低。本试验药物取 1 (略模糊) 或 2 (浊度显著减低) 为判定终点。

2.1.5 质量控制: 按照 NCCLS 方案, 对近平滑念珠菌 *C. p5001* 进行反复测定, 其两性霉素 B 的 MIC 值为 0.5~4.0 μ g/mL, 氟康唑的 MIC 值为 1.0~4.0 μ g/mL, 5 氟胞嘧啶的 MIC 值为 0.12~0.5 μ g/mL。每次试验以此菌株为对照, 只有当药物 MIC 值介于其质控范围之内时, 方认为试验操作准确可靠。且只有当生长对照孔生长良好, 空白对照无生长, 其他孔随药物浓度升高, 呈现真菌生长梯度受抑制时, 方证明试验成功。

2.2 最小杀真菌浓度 (minimal fungicidal concentration, MFC) 的测定: 按文献方法^[4] 取药敏实验中肉眼判断无菌生长的培养液 (同时取对照孔) 接种于 PDA 上, 继续培养。皮肤癣菌观察 14 d, 14 d 后观察其是否有真菌生长。MFC 即为无菌生长所对应的最低药物浓度。

2.3 电镜观察

2.3.1 试验分组: 生长对照组为正常红色毛癣菌和石膏样毛癣菌扫描电镜 (SEM) 和透射电镜 (TEM) 观察组。试验组为不同质量浓度地锦草提取物作用红色毛癣菌后 SEM 和 TEM 观察组; 不同质量浓度地锦草提取物作用石膏样毛癣菌后 SEM 和 TEM 观察组。地锦草提取物的试验质量浓度由低向高依次为 32、64、128、256 μ g/mL。

2.3.2 扫描电镜样品制备及观察^[5]: 将各孔菌丝挑出, 分别置于无菌的 1.5 mL 离心管中, 4 ℃ 冰箱中以 3% 戊二醛固定 2 h, PBS 溶液洗 3 次, 每次 20 min, 再浸泡于 1% 钨酸溶液中, 4 ℃ 下 2 h 左右; 用 30%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、100%、100% 乙醇各脱水 20 min, 丙酮脱水 3 次, 每次 20 min, 临界点干燥, 真空镀膜, 扫描电镜观察。

2.3.3 透射电镜样品制备及观察^[5]: 样品的固定、脱水处理等步骤同扫描电镜, 脱水处理后, 环氧树脂 Epon812 包埋, 超薄切片, 醋酸铀和柠檬酸铅染色, 透射电镜观察。

3 结果

3.1 对红色毛癣菌、石膏样毛癣菌的 MIC 值测定结果, 见表 1。

3.2 杀菌实验结果: 从对红色毛癣菌、石膏样毛癣菌杀菌活性的结果可见, 地锦草提取物作用后 6 株皮肤癣菌均生长; 特比奈酚作用后, 6 株皮肤癣菌均未生长, 见表 2。

表 1 地锦草提取物对 60 株皮肤癣菌的 MIC 值

Table 1 MIC Value of *E. humifusa* extract to 60 strains of dermatophytes

药物	红色毛癣菌 (20 株)			石膏样毛癣菌 (40 株)		
	MIC 范围	平均 MIC/	MIC95/	MIC 范围	平均 MIC/	MIC95/
	(μ g $\cdot$ mL ⁻¹)	(μ g $\cdot$ mL ⁻¹)	(μ g $\cdot$ mL ⁻¹)	(μ g $\cdot$ mL ⁻¹)	(μ g $\cdot$ mL ⁻¹)	(μ g $\cdot$ mL ⁻¹)
地锦草提取物	128~1024	446	1024	128~1024	539	1024
特比奈酚	0.0025~0.005	0.0046	0.005	0.0025~0.005	0.0042	0.005

表 2 地锦草提取物对 6 株皮肤癣菌的 MFC

Table 2 MFC of *E. humifusa* extract to six strains of dermatophytes

药物	对红色毛癣菌的 MFC/(μ g $\cdot$ mL ⁻¹)			对石膏样毛癣菌的 MFC/(μ g $\cdot$ mL ⁻¹)		
	XYZ40002	XYZ40003	XYZ40005	XYZ60008	XYZ60009	XYZ60010
地锦草提取物	>512	>512	>512	>512	>512	>512
特比奈酚	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01

3.3 对红色毛癣菌的 SEM 和 TEM 观察

3.3.1 红色毛癣菌生长对照组: 未经药物处理的红色毛癣菌菌丝 SEM 下观察, 形态规则、粗细均匀、表面光滑饱满、有分支、生长良好。TEM 下观察, 菌丝切面的细胞壁完整、厚薄均匀、质地致密; 细胞

基质均匀, 密度较大, 细胞器丰富, 胞质内清晰可见细胞核、线粒体、脂滴等(图 1)。

3.3.2 不同质量浓度地锦草提取物作用后红色毛癣菌超微结构的变化: SEM 观察地锦草提取物以 $32 \mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度作用后, 红色毛癣菌菌丝形态基本正常, 仅有少数菌丝出现内陷; 以 $64 \mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度作用后, 菌丝粗细不均, 表面粗糙、肿胀膨大、偶有断裂; 以 $128 \mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度作用后, 菌丝形

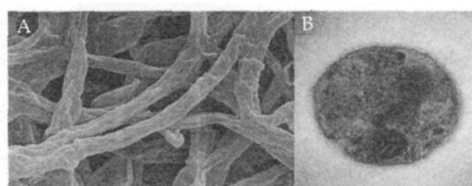
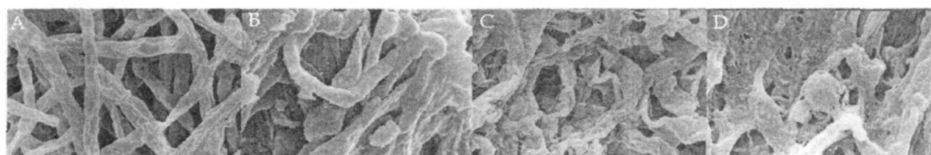


图 1 正常红色毛癣菌的扫描电镜 (A) 和透射电镜观察 (B)

Fig. 1 SEM (A) and TEM (B) results of normal *T. rubrum*

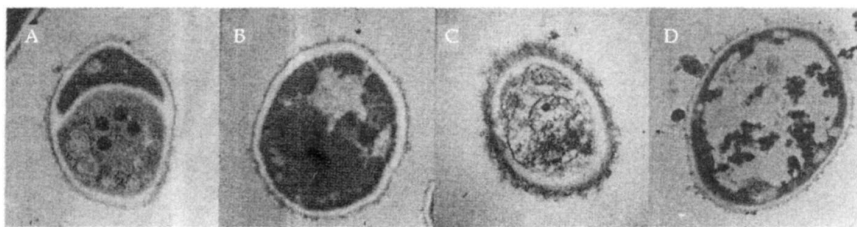


A~D 地锦草提取物 $32, 64, 128, 256 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

A~D *E. humifusa* extract $32, 64, 128, \text{ and } 256 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

图 2 不同质量浓度地锦草提取物作用红色毛癣菌后扫描电镜观察结果

Fig. 2 SEM Results of *E. humifusa* extract against *T. rubrum*



A~D 地锦草提取物 $32, 64, 128, 256 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

A~D *E. humifusa* extract $32, 64, 128, \text{ and } 256 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

图 3 不同质量浓度地锦草提取物作用红色毛癣菌后透射电镜观察结果

Fig. 3 TEM Results of *E. humifusa* extract against *T. rubrum*

3.4.1 石膏样毛癣菌生长对照组: 未经药物处理的石膏样毛癣菌菌丝 SEM 下观察, 菌丝表面光滑饱满, 有分支, 生长良好。TEM: 菌丝切面的细胞壁完整, 厚薄均匀, 胞质内核区清晰, 细胞基质较密(图 4)。

3.4.2 不同质量浓度地锦草提取物作用后石膏样毛癣菌超微结构的变化: SEM 观察地锦草提取物以 $32 \mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度作用后, 石膏样毛癣菌菌丝形态基本正常, 仅有少数菌丝出现内陷; 以 $64 \mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度作用后, 菌丝出现变形, 表面粗糙、少数菌

态明显变化, 菌丝干瘪变形, 出现多处破坏和断裂; 以 $256 \mu\text{g}/\text{mL}$ 高质量浓度药物处理后, 菌丝普遍出现明显变形膨胀, 且可见表层剥离, 菌丝破裂, 呈黏糊状, 细胞内容物流失(图 2)。

TEM 观察地锦草提取物以 $32 \mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度作用后, 红色毛癣菌细胞内无明显变化, 仅见细胞壁有所增厚, 细胞器丰富; 以 $64 \mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度作用后, 细胞壁粗糙, 细胞基质变淡, 胞内开始空泡化, 胞内形成高电子密度的颗粒结构; 以 $128 \mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度作用后, 细胞壁剥脱、破裂, 细胞膜皱缩、破裂, 细胞外表面有明显高电子致密颗粒聚集, 细胞肿胀明显, 在细胞内可见较多的泡状结构, 已无完整的细胞器结构; 当以 $256 \mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度作用后, 细胞壁缺损严重, 细胞膜内陷、破裂; 细胞基质溶解、变淡、消失、空泡化, 细胞内残存多处高电子密度凝集块(图 3)。

3.4 对石膏样毛癣菌作用的 SEM 和 TEM 观察

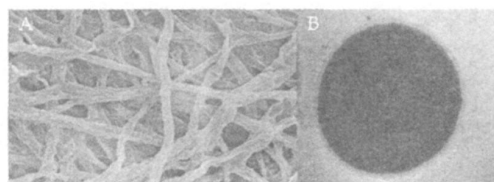


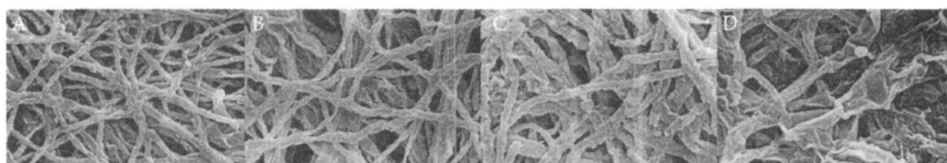
图 4 正常石膏样毛癣菌的扫描电镜 (A) 和透射电镜观察 (B)

Fig. 4 SEM (A) and TEM (B) results of normal *T. mentagrophytes*

丝破裂,粗细不一;以 $128 \mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度作用后,菌丝形态以断裂为主,皱缩,顶端膨大;以 $256 \mu\text{g}/\text{mL}$ 高质量浓度药物处理后,菌丝普遍出现明显变形、干瘪、破裂,细胞内容物流失(图 5)。

TEM 观察地锦草提取物以 $32 \mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度作用后,石膏样毛癣菌细胞内无明显变化,仅见局部细胞壁有所增厚、质地疏松;以 $64 \mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓

度作用后,细胞壁出现破坏,细胞膜皱缩,胞内出现空泡样结构;以 $128 \mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度作用时,细胞壁破坏严重,细胞肿胀明显,在细胞内可见较大的空泡状结构,有明显高电子致密颗粒聚集,细胞基质变淡;当以 $256 \mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度作用时,细胞壁剥脱、破裂,细胞膜大部分消失,细胞基质溶解,消失,空泡化,已无完整的细胞器存在(图 6)。

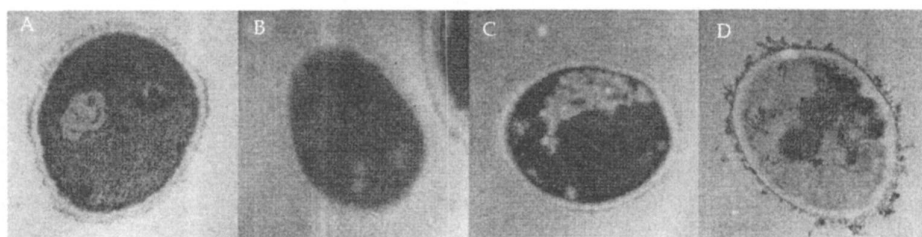


A~D-地锦草提取物 $32, 64, 128, 256 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

A—D-E. *humifusa* extract $32, 64, 128, \text{ and } 256 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

图 5 不同质量浓度地锦草提取物作用石膏样毛癣菌后扫描电镜观察结果

Fig. 5 SEM Results of *E. humifusa* extract against *T. mentagrophytes*



A~D-地锦草提取物 $32, 64, 128, 256 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

A—D-E. *humifusa* extract $32, 64, 128, \text{ and } 256 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

图 6 不同质量浓度地锦草提取物作用石膏样毛癣菌后透射电镜观察结果

Fig. 6 TEM Results of *E. humifusa* extract against *T. mentagrophytes*

4 讨论

本研究采用 NCCLS 推荐的 M38-A 方案,以特比奈酚为阳性对照药,研究了地锦草提取物对 60 株皮肤癣菌的体外抗真菌活性。结果,地锦草提取物对红色毛癣菌、石膏样毛癣菌的 MIC 值范围均为 $128 \sim 1024 \mu\text{g}/\text{mL}$, 平均 MIC 分别为 $446, 539 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。阳性对照药对 60 株皮肤癣菌的 MIC 范围均在 $0.0025 \sim 0.005 \mu\text{g}/\text{mL}$, 与文献报道一致^[6]。从地锦草提取物对皮肤癣菌的杀菌活性结果可见,6 株皮肤癣菌均生长,提示地锦草提取物抗皮肤癣菌的活性,主要是通过抑制真菌的生长而起作用。

红色毛癣菌和石膏样毛癣菌是临床常见的皮肤癣菌,也是浅部真菌病的主要病原菌。主要侵犯人的皮肤、指甲(趾甲)、毛发,所致癣菌病病程持久,难治愈,易复发^[7]。本实验结果可见,从低质量浓度至高质量浓度的地锦草提取物作用于红色毛癣菌和石膏样毛癣菌后,先是细胞壁和细胞膜的变化,再出现细胞器、细胞核损伤,直至细胞空泡化坏死。由此推测,地锦草提取物抗真菌的药理作用是破坏真菌细

胞壁,对细胞膜也有损伤。其机制可能是通过抑制真菌细胞膜麦角甾醇的生物合成,引起细胞膜的损伤。麦角甾醇是真菌细胞膜所特有的脂质,是真菌细胞膜的重要结构组成成分,可以通过与磷脂结合,稳定膜结构,具有调节真菌细胞膜流动性的功能,在确保膜结构的完整性、膜结合酶的活性、细胞活力以及物质运输等方面起着重要作用。一旦麦角甾醇缺乏,必将引起真菌细胞膜功能异常,甚至发生细胞破裂^[8]。真菌细胞膜、细胞壁一旦受损,真菌细胞不能维持其固有形态,细胞内外物质交换受到阻碍,结合于胞膜上的各种酶不能正常发挥作用,使真菌细胞对营养物质的吸收降低,生物大分子的合成受阻,导致细胞凋亡。本实验所提供的信息,将为进一步揭示地锦草的抗真菌作用机制奠定基础。

参考文献:

- [1] 维吾尔药材标准(上册) [S]. 1993
- [2] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard (M38-A) [M]. Pennsylvania: CLSI, 2002

- [3] 中华人民共和国卫生部药品标准维吾尔药分册 [S]. 1999
- [4] 邓淑文, 哈木拉提. 百癣夏塔热体外抗真菌活性研究 [J]. 中药药理与临床, 2006, 22(3,4): 166-169
- [5] 王端礼, 李若瑜, 王爱平, 等. 医学真菌学 实验室检验指南 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004
- [6] 古力娜·达吾提, 尤丽吐孜, 艾则孜·亚森, 等. 维药地锦草软膏的体外抗真菌及其对豚鼠皮肤真菌感染的治疗作用研究 [J]. 中药药理与临床, 2007, 23(5): 178-180
- [7] Santos D A, Barros M E, Hamdan J S. Establishing a method of inoculum preparation for susceptibility testing of *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes* [J]. *Clin Microbiol*, 2006, 44(1): 98-101
- [8] Maertens J A. History of the development of azole derivatives [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2004, 10(suppl 1): 1-10

复方瑞康欣胶囊对吗啡依赖戒断大鼠焦虑行为及海马突触素表达的影响

何继锋¹, 钱刚¹, 罗素元^{1*}, 吴明松¹, 凌铎², 李晓东³

(1. 遵义医学院 细胞生物学与遗传学教研室, 贵州 遵义 563003; 2. 遵义医学院 中心实验室, 贵州 遵义 563003; 3. 珠海瑞桦戒毒康复中心, 广东 珠海 519047)

摘要:目的 观察复方瑞康欣对吗啡依赖戒断大鼠焦虑行为的影响,并探讨其作用机制。方法 健康雄性 SD 大鼠,剂量递增法 sc 吗啡 10 d,确认吗啡依赖模型建立成功后,在吗啡自然戒断的 1~3 d,复方瑞康欣 100、200、300 mg/kg 和丁螺环酮 15 mg/kg ig 治疗 (2 次/d),于末次吗啡注射后 72 h,高架十字迷宫实验评价大鼠的焦虑水平,免疫组化检测各组大鼠海马突触素的表达。结果 与生理盐水 (NS) 治疗组比较,复方瑞康欣 200、300 mg/kg 和丁螺环酮治疗能明显增加大鼠进入开臂次数和时间的比例 ($P < 0.01, 0.05$),同时海马突触素的表达显著降低 ($P < 0.01$)。结论 复方瑞康欣对吗啡依赖大鼠戒断后的焦虑治疗效果明显;逆转焦虑大鼠海马增高的突触素/突触,可能是复方瑞康欣临床治疗吗啡戒断后焦虑的机制之一。

关键词: 复方瑞康欣; 吗啡戒断; 焦虑; 突触素; 海马

中图分类号: R286.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)05-0763-05

Effects of Compound Ruikangxin Capsula on anxiety-like behavior and relative expression of hippocampal synaptophysin in morphine-withdrawal rats

HE Ji-feng¹, QIAN Gang¹, LUO Su-yuan¹, WU Ming-song¹, LING Xin², LI Xiao-dong³

(1. Department of Cell Biology and Genetics, Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China; 2. Central Laboratory, Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China; 3. Isolation and Healing Institute of Ruihua, Zhuhai 519047, China)

Abstract: Objective To observe effect of Compound Ruikangxin Capsula (CRC) on anxiety-like symptoms of morphine-withdrawal rats and investigate its mechanism. **Methods** The elevating doses were applied to validating anxiety-like behavior in SD male rats with sc morphine for 10 d. Treatments with ig administration of CRC (100, 200, and 300 mg/kg) and buspirone (15 mg/kg) were performed during 1—3 d morphine withdrawal (twice every day). The plus elevated maze was applied to validating anxiety-like symptom in rats. The expression levels of synaptophysin were detected on hippocampus in groups by immunohistochemistry 72 h after sc morphine. **Results** As compared with the control group, animals treated with CRC (200 and 300 mg/kg) and buspirone had higher ratio of entry into open arm ($P < 0.01$), as well as time of remaining in open arm ($P < 0.05$). At that, lower level of synaptophysin was measured on hippocampus from those rats ($P < 0.01$). **Conclusion** CRC would play an important role in rehabilitating the anxiety-like behavior in morphine-withdrawal rats. Reversal of synaptophysin on hippocampus of anxious rats could be contributed to exploring the mechanism.

Key words: Compound Ruikangxin Capsula (CRC); morphine withdrawal; anxiety; synaptophysin; hippocampus

* 收稿日期: 2008-12-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30860373); 教育部科学技术重点项目 (206136);

贵州省教委重点项目 (黔教科 2005109)

作者简介: 何继锋 (1974—), 男, 河南省商丘市人, 在读硕士研究生, 执业药师, 主要从事阿片类药物依赖研究工作。

Tel: 15085114306 E-mail: hjf1125@126.com

* 通讯作者 罗素元 Tel: 13984276456 E-mail: swx_100@163.com