

飞龙掌血乙醇提取物对白色念珠菌抑菌作用的研究

许颖¹, 郭婧玉^{1*}, 刘学², 西玉立³, 范淑霞¹

(1. 佳木斯大学附属第二医院 牙体牙髓病二科, 黑龙江 佳木斯 154004;

2. 佳木斯大学药学院, 黑龙江 佳木斯 154007;

3. 牡丹江医学院附属红旗医院 一门诊口腔, 黑龙江 牡丹江 157000)

[摘要] 目的: 研究飞龙掌血乙醇提取物体外抑制白色念珠菌生长作用, 为进一步开发根管消毒新药提供理论依据。方法: 微量肉汤稀释法确定飞龙掌血乙醇提取物体外抑制白色念珠菌生长的最小抑菌浓度(MIC)及最小杀菌浓度(MBC); 常规扫描电镜制样, 观察细菌细胞形态的变化; 采用 RT-PCR 技术获得互补 DNA, PCR 技术扩增白色念珠菌毒力因子 SNF2 和 PDE2 基因片段, 产物进行电泳分析。结果: 飞龙掌血乙醇提取物对白色念珠菌的最小抑菌浓度为 $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 最小杀菌浓度为 $15.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; 扫描电镜观察药物作用后菌体呈现不规则形态, 表面有明显的凹陷、裂痕; 随着药物浓度增加, 毒力因子 SNF2 和 PDE2 的表达量呈明显下降趋势。结论: 飞龙掌血乙醇提取物对白色念珠菌有较好的抑菌活性; 推断该药物是通过抑制或干扰毒力因子 SNF2 和 PDE2 转录过程的表达, 从而抑制致病性菌丝形态的形成及破坏细菌细胞壁的完整性, 达到抑菌作用。

[关键词] 飞龙掌血; 白色念珠菌; 扫描电镜; 基因表达

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0270-05

The Antibacterial Activity of the Ethanol Extract *Toddalia asiatica* against *Candida albicans*

XU Ying¹, GUO Jing-yu^{1*}, LIU Xue², XI Yu-li³, FAN Shu-xia¹

(1. The Second Affiliated Hospital of Jiamusi University, Jiamusi 154004, China;

[收稿日期] 20111115(022)

[基金项目] 2011 年佳木斯大学研究生创新科研项目(YJSCX2011-022JD)

[第一作者] 许颖, 本科, 教授, 主任医师, Tel:13836642730, E-mail: xuyingjiayi@126.com

[通讯作者] * 郭婧玉, 硕士研究生, Tel:13803651636, E-mail: guojingyujiayi@163.com

[参考文献]

- [1] 翁小刚, 朱晓南, 杨庆, 等. 非酒精性脂肪肝的实验研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(11):104.
- [2] 孙喜灵, 刘颖, 刘孟安. 调脂合剂治疗高脂血症的临床研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(5):223.
- [3] Comar K M, Sterling R K. Review article: drug therapy for non-alcoholic fatty liver disease [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2006, 23:207.
- [4] 苏菁, 徐宗佩. 中医高脂血症治疗进展[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(7):1287.
- [5] 王凤荣, 杨关林, 刘彤. 大柴胡汤对家兔实验性动脉粥样硬化的形成及 PHGPX 的影响[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(3):454.
- [6] 陈良, 张梅, 李长江, 等. 复方丹参滴丸对动脉粥样硬化粘附因子的作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, 15(2):101.
- [7] 马路, 江梦溪, 刘剑刚, 等. 决明子和山楂组分配伍对兔肝细胞膜高密度脂蛋白受体活性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(1):24.
- [8] 何正显, 信玉琼, 陈明. 大黄的化学成分、药理作用及其在临床急症中的应用[J]. 中国中医急症, 2007, 16(2):227.
- [9] 牛向荣. 柴胡药理作用研究概述[J]. 中国药师, 2009, 12(9):1310.
- [10] 康文艺, 李晓梅, 郭曙光, 等. 山楂提取物不同部位体内降血脂作用[J]. 中草药, 2002, 33(1):50.
- [11] 杨艳, 梁日欣, 杨滨, 等. 黄芩等 5 种中药醇提物的抗脂质过氧化作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(9):46.

[责任编辑 聂淑琴]

2. College of Pharmacy, Jiamusi University, Jiamusi 154007, China;

3. Mudanjiang Medical School Affiliated Hospital of Red Flag, Mudanjiang 157000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the inhibition action of ethanol extract *Toddalia asiatica* *in vitro* against *candida albicans* growth and provide the theory basis for new drugs for the further development of the root canal disinfection. **Method:** Trace broth dilution method was used to determine the minimum inhibition concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the ethanol extract *T. asiatica* *in vitro*. Conventional scanning electron microscopy sample preparation was used to observe change of bacterial cells. The RT-PCR technology used to obtain complementary DNA, PCR amplification technology used to obtain SNF2 and PDE2 gene fragments of *C. albicans* virulence factors, products electrophoresis analysis was performed. **Result:** The MIC was $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, MBC was $15.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; scanning electron microscopy showed a irregular morphological changes of bacteria, the surface had obvious sag, crack; with the increased drug concentration, SNF2 and PDE2 expression was obviously declined. **Conclusion:** The ethanol extract *T. asiatica* on *C. albicans* has a good antibacterial action, which may be related to inhibiting expression of SNF2 and PDE2.

[Key words] *Toddalia asiatica*; *Candida albicans*; scanning electron microscopy; gene expression

白色念珠菌 (*Monilia albicans* 或 *Candida albicans*) 作为重要的条件致病性真菌是引起根尖周炎特别是根管治疗失败及顽固性根尖周炎三大菌种之一。顽固性根尖周炎 (refractory and chronic periapical periodontitis) 以其疗效差、病程长、再感染率高等特点, 已成为临床治疗中十分棘手的病症。近年来, 随着广谱抗生素的大量使用, 白色念珠菌的耐药现象越来越普遍, 耐药程度也越来越高, 日益严重的耐药现象和有限的治疗药物使白色念珠菌感染成为临床上迫切需要解决的问题。飞龙掌血是芸香科飞龙掌血属唯一植物, 以根或叶入药。具有散瘀止血、祛风除湿、消肿解毒等功效。研究发现, 飞龙掌血具有显著的抑菌效果, 但有关飞龙掌血对白色念珠菌抑制作用的研究尚未见报道。本实验从基因表达的角度出发, 探索治疗白色念珠菌感染的新策略, 为寻求一种高效低毒的临床抑菌药物提供相应的理论依据。

1 材料

1.1 药材 采购双子叶芸香科植物飞龙掌血 *Toddalia asiatica* (Linn.) Lam 的根皮, 黑龙江佳木斯大学宗新明教授鉴定。

1.2 试剂 沙氏液体培养基, 沙氏琼脂培养基, $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液, 戊二醛, 叔丁醇, Total RNA 提取试剂 (大连宝生物工程有限公司), PCR 反应试剂 (大连宝生物工程有限公司), 引物 (上海生工生物工程有限公司)。

1.3 仪器 BSA 2245 电子分析天平 [赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司], SKP-02300 恒温培养箱,

无菌操作台 (苏州市百神科技有限公司), Jeol-Jsm-6400 扫描电子显微镜 (日本), SMART SPEC™ PLUS 超微量分光光度计 (美国), BIO-RAD S1000 Thermal Cycler PCR 扩增仪 (美国), BIO-RAD Wide Mini-Sub Cell-TG 电泳仪 (美国), BIO-RAD Chemi Doc XRS 凝胶成像仪 (美国), 光学显微镜 (上海宙山光学仪器厂), Sigma-15PK 高速冷冻离心机 (德国)。

1.4 菌株及菌液的制备

1.4.1 菌株 白色念珠菌 ATCC 10231, 购于中国药品生物制品检定所。

1.4.2 培养基的制备 沙氏液体培养基: 蛋白胨 1 g, 葡萄糖 4 g, 加蒸馏水至 100 mL, 121 °C 高压灭菌 20 min, 备用。沙氏琼脂培养基: 蛋白胨 5 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 7.5 g, 加蒸馏水至 500 mL, 121 °C 高压灭菌 20 min 后待冷却至 50 °C 左右, 倒入无菌培养皿中, 备用。

1.4.3 菌液的制备 复苏菌株接种于沙氏琼脂培养基上, 恒温培养箱培养 24 h 后, 取生长良好的单菌落接种于沙氏液体培养基中, 37 °C 恒温摇床培养 24 h^[1], 血球计数板计数, 用沙氏液体培养基调整菌悬液密度为 1×10^6 个/mL, $A_{520 \text{ nm}} = 0.38$, 待用。

2 方法

2.1 飞龙掌血提取物的制备 飞龙掌血根皮, 粉碎, 过 24 目筛。根据飞龙掌血有效成分的性质及预试验结果, 得出最佳药物提取方案。称取飞龙掌血 100 g, 加入无水乙醇 600 mL 热水回流提取 5 h, 过滤, 将所得提取液用旋转蒸发器浓缩 ($55 \text{ }^\circ\text{C}$, $80 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$) 至约 100 mL, 减压回收无水乙醇, $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 真空恒温干

燥,得飞龙掌血乙醇提取物浸膏。将提取物溶于二甲基亚砜,并稀释为 5 个浓度,药物终质量浓度分别为 60.0,30.0,15.0,7.5,3.75 g·L⁻¹,二甲基亚砜终体积分数为 2.5%。

2.2 质量控制

2.2.1 标准曲线绘制 检测飞龙掌血根皮对照品在紫外中最大吸收波长为 623 nm。精确称真空干燥至恒重的飞龙掌血根皮对照品 10 mg,无水乙醇定容于 10 mL 量瓶中,备用。准确量取上述溶液 0,0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,0.6 mL 分别定容于 10 mL 量瓶中,紫外分光光度计测量吸光度(A),每个样品连续测定 3 次。线性回归方程为: $A = 9.933 9C - 0.001 73 (R^2 = 0.997 5)$ 。

2.2.2 飞龙掌血提取物含量测定 精确称取真空干燥的飞龙掌血根皮提取物 0.5 mg,无水乙醇定容于 100 mL 量瓶中,于 623 nm 处测定吸光度,计算有效含量。

2.3 分组 实验组:浓度校正后的菌悬液,加入达到要求的各浓度梯度药物稀释液。菌液对照组:浓度校正后的菌悬液,加入等体积沙氏液体培养基替代药物稀释液。阴性对照组:达到要求的药物稀释液,不加入菌悬液。空白组:只含沙氏液体培养基。二甲基亚砜对照组:浓度校正后的菌悬液,加入等体积二甲基亚砜替代药物稀释液。

2.4 抑菌实验 96 孔聚苯乙烯板紫外线照射 30 min,于 A 排 1 至 5 孔分别加入 100 μL 浓度校正约 1×10^6 个/mL 白色念珠菌菌悬液,再依次加入 100 μL 浓度梯度递减的药物稀释液,至菌药混悬液终质量浓度分别为 30.0,15.0,7.5,3.8,1.9 g·L⁻¹。6 孔阳性对照组加入 100 μL 菌悬液和 100 μL 沙氏液体培养基,第 7 孔阴性对照组加入 100 μL 药物稀释液和 100 μL 沙氏液体培养基,第 8 孔空白组加入 200 μL 沙氏液体培养基,第 9 孔二甲基亚砜对照组加入 100 μL 菌悬液和 100 μL 二甲基亚砜。以上各组相同配比设 4 个平行组 A,C,E,G 排。振荡 5 min 使各液充分混匀。37 °C 恒温培养箱培养 24 ~ 28 h。培养前后分别于紫外分光光度计 λ = 660 nm 处测定 A。以肉眼观察无细菌生长,培养前后 A 变化差异无显著性的最低药物浓度定为该药物的最小抑菌浓度(MIC)。将肉眼观察无细菌生长菌药混悬液接种于沙氏琼脂培养基上,37 °C 恒温培养 24 h 无细菌生长的最低药物浓度定为最小杀菌浓度(MBC)。

2.5 扫描电镜观察 扫描电镜样品制备 16 × 16 规格盖玻片平均切割成 4 × 4 mm² 大小,75% 乙醇浸泡

过夜,取出置无菌滤纸上吸取多余乙醇,鼓风干燥箱 40 °C 干燥 10 min。选取 15 g·L⁻¹ 药物浓度作用 24 h 后的菌悬液于低速台式离心机 1 000 r·min⁻¹ 离心 3 min,弃上清液,将细菌团块打散,滴于制备好的盖玻片上,静置 30 min,待自然干燥后,置光学显微镜下镜检,以菌体较密但又不堆在一起为宜,标记盖玻片小块有样品的一面。将上述样品置于 2.5% 戊二醛中 4 °C 冰箱固定过夜。次日用 0.2 mol·L⁻¹ 磷酸缓冲液冲洗 3 次,50%,70%,80%,90% 乙醇依次脱水 1 次,100% 乙醇脱水 2 次,每次 15 min。100% 叔丁醇脱水 3 次,每次 10 min^[2]。将 100% 叔丁醇浸没的电镜样品置 4 °C 冰箱中降温 10 min 后,放入真空干燥器中干燥 40 min。待干燥后的样品温度升至室温后取出,喷金镀膜,扫描电镜观察照相。

2.6 毒力因子 SNF2 和 PDE2 基因表达的检测

2.6.1 总 RNA 的提取 选取药物作用 24 h,终浓度为 15,7.5,3.75 g·L⁻¹ 的菌悬液及阳性对照组,血球计数板调整浓度,取等量细菌进行总 RNA 的提取,操作方法遵照 RNAiso™ Plus(Total RNA 提取试剂)说明书,测定提取总 RNA 浓度。

2.6.2 引物及 PCR 扩增 见表 1。由生工生物工程(上海)有限公司设计并合成。

表 1 实验引物

基因	引物序列	产物长度 /bp
SNF2	P1:5'-TGCCAATACTGGTGGTCAAGATAAG-3'	877
	P2:5'-TTCTGTCTTCAGCAGTGGATTTg-3'	
PDE2	P1:5'-GTTATGCTGTGGACATTGGAg-3'	484
	P2:5'-TTGTAAGTAGTGCCGTTGGTg-3'	
TEF3(内参)	P1:5'-AGAAACCGTCCACTTGTg-3'	517
	P2:5'-GTGCAAGAAAATGTTGGCAAAT-3'	

遵照 TaKaRa RNA PCR Kit(AMV) Ver. 3.0 试剂盒说明的反应条件将提取的总 RNA 反转录成 cDNA。用上述 3 对引物进行 PCR 扩增。

2.6.3 琼脂糖凝胶电泳及分析 取 10 μL PCR 反应产物与 2 μL 含溴酚兰的 Loading buffer 混匀,加入 1% 的琼脂糖凝胶小孔中,120 V 电压下电泳 30 min。电泳完毕,EB 染色后,将琼脂糖凝胶置 UVI 凝胶成像仪中,紫外灯下观察结果,凝胶成像系统成像保存及分析。

3 结果

3.1 飞龙掌血标准曲线的建立及其根皮提取物的质量检测 飞龙掌血根皮提取物质量浓度与吸光度

值的线性回归方程为 $A = 7.7x + 0.0117$, 相关系数 $R = 0.9998$, 线性范围为 $0.01 \sim 0.06 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 内线性关系良好。RSD 值小于 0.00595, $P < 0.0001$ 符合分析要求。

经检测飞龙掌血根皮提取物有效含量达到对照品含量的 90% 以上, 符合国家有关中药原药材提取物质量标准的相关规定。

3.2 飞龙掌血对白色念珠菌生长的影响 见表 2。

①培养后实验组 1, 2, 3, 4 的 A 明显低于菌液对照组, 方差分析, 所有 $P < 0.05$, 有统计学意义, 说明实验中所选不同浓度药物稀释液对白色念珠菌生长均有一定抑制作用。②飞龙掌血为 $30, 15, 7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 肉眼观察无细菌生长, 方差分析培养前后实验组 A 的变化, 无统计学意义, 认为此浓度下培养前后细

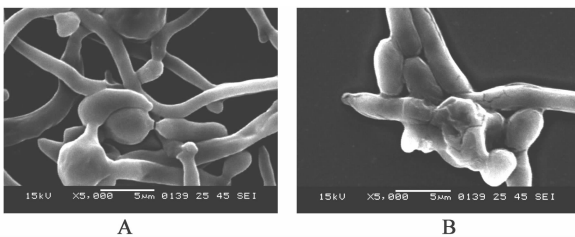
菌总量无变化, 即生长被抑制, 得飞龙掌血对白色念珠菌的 MIC 为 $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。③飞龙掌血为 $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时平板接种有菌落形成, 而质量浓度为 30.0, $15.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时却未见菌落形成, 得飞龙掌血对白色念珠菌的 MBC 为 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。④飞龙掌血为 $3.8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 肉眼观察、平板接种观察及培养前后 A 的变化均显示有细菌生长, 但统计分析表明, 该实验组 A 与菌液对照组 A 有显著差异, 说明该浓度的飞龙掌血对白色念珠菌的生长仍有一定抑制作用, 生长抑制率为 72.7%。⑤DMSO(二甲基亚砜)与菌液对照组, 肉眼观察细菌大量生长, 方差分析培养后 A 变化, 无统计学意义, 认为两组对照组的细菌繁殖量无差异, 即二甲基亚砜无抑菌作用, 对该实验无明显影响。

表 2 飞龙掌血不同质量浓度对白色念珠菌生长的影响 ($n = 4$)

组别	终质量浓度 / $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	培养前 $A(\bar{x} + s)$	培养后			生长抑制率 /%
			肉眼观察	平板接种	$A(\bar{x} + s)$	
1	30.0	0.499 3 ± 0.007 4	-	-	0.511 3 ± 0.006 6	98.9
2	15.0	0.468 3 ± 0.006 3	-	+	0.474 2 ± 0.005 6	99.5
3	7.5	0.441 8 ± 0.006 3	-	+	0.574 0 ± 0.006 6	86.4
4	3.8	0.414 5 ± 0.005 5	+	+	0.679 0 ± 0.007 5	72.7
5	1.9	0.292 5 ± 0.007 9	+	+	0.940 7 ± 0.007 1	33.5
菌液对照	-	0.012 5 ± 0.004 8	+	+	0.984 5 ± 0.006 0	-
DMSO	-	0.011 9 ± 0.004 5	+	+	0.983 0 ± 0.007 3	-

注:与菌液对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ (表 3 同)。

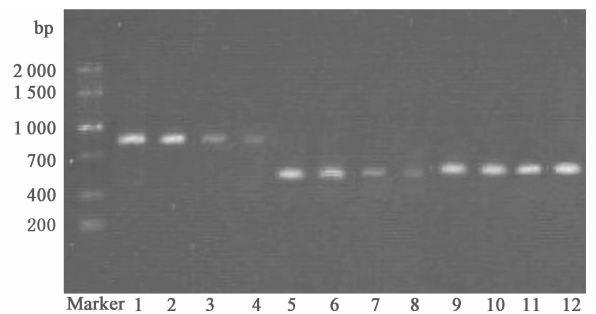
3.3 飞龙掌血对白色念珠菌形态的影响 未受药物影响的细菌菌丝表面光滑, 菌丝间界限分明, 折光均匀。飞龙掌血 $15.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 作用 24 h 后, 菌丝表面折光性增强, 部分区域出现凹陷、裂痕。见图 1。



A. 未受药物作用; B. 飞龙掌血 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 作用 24 h

图 1 飞龙掌血 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 作用 24 h 后对白色念珠菌菌丝形态的影响

3.4 飞龙掌血对毒力因子 SNF2 和 PDE2 表达水平的影响 如图 2 所示, 选取作用 24 h 后阳性对照组及药物终浓度分别为 $3.8, 7.5, 15.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的菌药混悬液测定毒力因子 SNF2、PDE2 和内参 TEF3 的表达水平。①阳性对照组及药物终浓度为 $3.75 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$



1-4 为 SNF2 基因标本, 5-8 为 PDE2 基因标本, 9-12 为 TEF3 内参基因。1, 5. 为菌液对照组, 2~4, 5~8 飞龙掌血 $3.75, 7.5, 15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的菌药混悬液组

图 2 PCR 产物电泳图谱

时 PCR 扩增的毒力因子 SNF2 和 PDE2 电泳条带较清晰; 药物终浓度为 $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 PCR 扩增基因的电泳条带亮度变淡; 药物终浓度为 $15.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 特异性条带亮度更加暗淡。②阳性对照组及各梯度药物浓度作用的菌药混悬液内参基因 TEF3 的电泳条带均清晰且亮度无差异。③4 组平行组同等条件下

重复实验操作,凝胶成像系统软件对图像进行电泳条带吸光度值测定。见表 3,方差分析 SNF2 和 PDE2 基因 $P < 0.05$,差异具有统计学意义,说明各浓度药物对白色念珠菌基因表达产生不同程度的抑制或干扰;TEF3(内参)基因,无统计学意义,证明实验中所提取各标本样菌悬液浓度基本一致。

表 3 飞龙掌血不同浓度作用后毒力因子 SNF2 和 PDE2 的转录表达水平($\bar{x} \pm s$)

终质量浓度 /g·L ⁻¹	基因		
	SNF2	PDE2	TEF3(内参)
-	265.46 ± 5.48	218.68 ± 5.11	245.79 ± 5.03
3.8	234.92 ± 6.74 ¹⁾	205.26 ± 7.05 ¹⁾	244.98 ± 5.10
7.5	190.16 ± 6.36 ¹⁾	126.68 ± 3.52 ¹⁾	245.18 ± 5.07
15.0	118.81 ± 7.96 ¹⁾	100.26 ± 6.32 ¹⁾	245.77 ± 4.99

4 讨论

飞龙掌血是我国传统中药,经研究发现其对枯草杆菌、痢疾杆菌、啤酒酵母菌均有极显著的抑菌效果,本实验采用微量肉汤稀释法进行抑菌实验,致力于定量测定飞龙掌血抑制白色念珠菌生长的能力。该实验在肉眼观察的基础上,对培养物进行吸光度测定及统计学分析,保证了结果的可靠性。得出飞龙掌血在其药物质量浓度达 7.5 g·L⁻¹时即对白色念珠菌表现出极为明显的抑菌作用,而终质量浓度达 15.0 g·L⁻¹时即可完全杀死白色念珠菌。

白色念珠菌是重要的人体致病真菌,其细胞形态分为孢子、假菌丝及菌丝形态。在机体免疫功能、一般防御力下降或正常菌群相互制约作用失调,就会大量繁殖并改变生长形式(菌丝形态)侵入细胞引起疾病。研究报道白色念珠菌细胞形态之间的转换能力是其重要的毒性决定因素,控制真菌细胞的侵入和菌落的形成。而其在不同的生长条件下所发生的显著形态变化是被多种调控因子与信号转导途径所调控的^[3]。经研究证实毒力因子 SNF2 基因片段的缺失会导致白色念珠菌无法形成菌丝形态^[4]。细胞壁是科学家研究真菌的另一个重要切入点,它的变化决定整个真菌细胞的形状,同时也决定着真菌细胞与宿主细胞间的黏附关系。研究报道白色念珠菌中编码高亲和力 cAMP 磷酸二酯酶的 PDE2 基因的缺失可以造成缺失菌株细胞壁的不完整^[5-6]。本实验旨在初步探索飞龙掌血抑制白色念珠菌生长

机制,以寻求将白色念珠菌阻断在任何一种非致病生长形式下或破坏其真菌细胞壁的完整性使其致病能力大大下降或者消失^[7-8]。实验发现光学显微镜下观察白色念珠菌在受到药物作用后形态由孢子转变为菌丝的速度明显低于未受药物作用的菌株。经扫描电镜观察在药物作用后的菌丝表面折光性增强,部分区域出现凹陷、裂痕现象。并且随着飞龙掌血药物浓度的梯度增加,毒力因子 SNF2 和 PDE2 的 PCR 产物电泳图谱亮度逐渐变暗,表明其表达量呈明显下降趋势。可以推断,飞龙掌血对白色念珠菌生长的影响是由于其抑制或干扰了毒力因子 SNF2 和 PDE2 基因片段转录过程中的表达,从而导致菌丝无法形成以及细胞壁的破裂。

基于飞龙掌血原料资源广泛易于获得,制作成本低廉,可配置成多种剂型,药性平和,毒副作用小,安全性高,为开发研制一种理想的新型高效低毒根管消毒药物提供了新的思路。

[参考文献]

- [1] 刘丽英,刘涛,毕文超,等. 白色念珠菌的生长曲线和世代时间测定[J]. 武警医学院学报, 2009(3):230.
- [2] 谢家仪,董光军,刘振英. 扫描电镜的微生物样品制备方法[J]. 电子显微学报,2005,24(4):440.
- [3] Cao F, Lane S, Raniga P P, et al. The Flo8 transcription factor is essential for hyphal development and virulence in *Candida albicans* [J]. Mol Biol Cell, 2006, 17, 295.
- [4] 毛旭明. 白念珠菌 Swi/Snf 复合物在白念珠菌菌丝发育中的功能研究[D]. 北京:中国科学院研究生院博士学位论文, 2006.
- [5] Jung W H, Warm P, Ragni E, et al. Deletion of PDE2, the gene encoding the high-affinity cAMP phosphodiesterase results in changes of the cell wall and membrane in *Candida albicans* [J]. Yeast, 2005, 22: 285.
- [6] 王继红. 白色念珠菌基因 CaFSP1 的功能研究和 CaMCI4 基因的敲除[D]. 天津:天津大学药物科学与技术学院, 2007.
- [7] 王海涛. 大豆异黄酮的抑菌活性及其机制的研究[D]. 大连:辽宁师范大学, 2009.
- [8] 黄杉. 黄芩素抗白念珠菌的作用机制研究[D]. 上海:第二军医大学, 2009.

[责任编辑 聂淑琴]