黄芩汤的抗须癣毛癣菌活性及作用机制研究Δ

沈成英[1*]，罗　忠[2]，章　佩[1]，邓冯沂[3]，申宝德[4]，胡建新[1#]［1.江西省人民医院（南昌医学院第一附属医院）药学部，南昌　330006；2.南昌大学药学院，南昌　330006；3.江西省人民医院（南昌医学院第一附属医院）临床医学研究所，南昌　330006；4.江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室，南昌　330004］

中图分类号　R275.9；R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）03-0311-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.03.08

摘　要　研究黄芩汤（HQD）的抗须癣毛癣菌活性及作用机制。**方法**　通过测定最小抑菌浓度（MIC）、最小杀菌浓度（MFC）、菌丝长度、孢子萌发率、生物量和观察菌丝超微结构评价HQD的抗须癣毛癣菌活性；通过山梨醇保护实验检测HQD对须癣毛癣菌细胞壁的影响；通过测定麦角固醇含量和角鲨烯环氧酶（SE）、羊毛甾醇14α-去甲基化酶（CYP51）的活性考察HQD对须癣毛癣菌细胞膜的影响；通过测定线粒体中苹果酸脱氢酶（MDH）、琥珀酸脱氢酶（SDH）及ATP酶（包括钠钾ATP酶、钙镁ATP酶和总ATP酶）的活性考察HQD对须癣毛癣菌线粒体的影响。**结果**　HQD对须癣毛癣菌具有显著的抑菌活性，MIC、MFC值分别为3.13、25 mg/mL。经HQD干预后，须癣毛癣菌菌丝长度均显著缩短（$P<0.05$）；孢子萌发率、生物量、细胞膜中麦角固醇含量和SE、CYP51活性以及线粒体中MDH、SDH、各种ATP酶的活性均显著降低（$P<0.05$）；细胞结构受到了一定程度的破坏，但细胞壁的完整性没有受影响。**结论**　HQD具有显著的抗须癣毛癣菌活性，其作用机制与降低细胞膜中麦角固醇含量和SE、CYP51活性以及线粒体相关酶活性有关。

关键词　黄芩汤；须癣毛癣菌；抗真菌活性；作用机制；细胞膜；线粒体

Study on the antifungal activity and mechanism of Huangqin decoction against *Trichophyton mentagrophytes*

SHEN Chengying[1], LUO Zhong[2], ZHANG Pei[1], DENG Fengyi[3], SHEN Baode[4], HU Jianxin[1]［1. Dept. of Pharmacy, Jiangxi Provincial People's Hospital (the First Affiliated Hospital of Nanchang Medical College), Nanchang 330006, China; 2. School of Pharmacy, Nanchang University, Nanchang 330006, China; 3. Institute of Clinical Medicine, Jiangxi Provincial People's Hospital (the First Affiliated Hospital of Nanchang Medical College), Nanchang 330006, China; 4. Key Laboratory of Modern Traditional Chinese Medicine Formulations Co-constructed by Ministry of Education, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China］

ABSTRACT　**OBJECTIVE** To study the antifungal activity of Huangqin decoction (HQD) against *Trichophyton mentagrophytes* and explore its mechanism. **METHODS** Minimal inhibitory concentration (MIC), minimal fungicidal concentration (MFC), mycelial length, spore germination rate, biomass and mycelium ultrastructure observation were performed to evaluate the antifungal activity of HQD against *T. mentagrophytes*. The effects of HQD on the cell wall of *T. mentagrophytes* were detected through sorbitol protection experiment. By measuring the content of ergosterol and the activities of squalene epoxide (SE) and lanosterol 14α-demethylase (CYP51), the activity of HQD on the cell membrane of *T. mentagrophytes* was investigated. The effects of HQD on *T. mentagrophytes* mitochondria were investigated by determining the activities of malate dehydrogenase (MDH), succinate dehydrogenase (SDH), and ATPases (including sodium potassium ATPase, calcium magnesium ATPase, and total ATPase). **RESULTS** HQD exhibited significant antifungal activity against *T. mentagrophytes* with MIC of 3.13 mg/mL and MFC of 25 mg/mL. After intervention with HQD, the mycelial length of *T. mentagrophytes* was significantly shortened ($P<0.05$); spore germination rate, biomass, the content of ergosterol in the cell membrane, the activities of SE and CYP51 in the cell membrane and MDH, SDH and ATPase in mitochondria were all decreased significantly ($P<0.05$); cell structure had been damaged to a certain extent, but the integrity of the cell wall had not been affected. **CONCLUSIONS** HQD shows significant antifungal activity against *T. mentagrophytes*, the mechanism of which may be associated with reducing the content of ergosterol in the cell membrane and the activities of SE, CYP51, and mitochondria-related enzymes.

Δ **基金项目**　江西省自然科学基金项目（No.20232BAB216124）；江西省卫生健康委科技计划项目（No.202310011）；江西省中医药中青年骨干人才（第四批）培养计划（No.赣中医药科教字〔2022〕7号）；江西省中医药管理局中药制剂临床安全监测和转化应用重点研究室项目

＊**第一作者**　主管中药师，博士。研究方向：中药新型给药系统。电话：0791-86891529。E-mail：984075899@qq.com

\# **通信作者**　主任药师。研究方向：医院药学。电话：0791-86895684。E-mail：hjx0108@163.com

KEYWORDS Huangqin decoction; *Trichophyton mentagrophytes*; antifungal activity; mechanism of action; cell membrane; mitochondria

皮肤癣菌病是皮肤癣菌侵犯人和动物的皮肤、毛发、甲板等所引起的一类疾病，根据发病部位可以分为头癣、体癣、手癣、甲癣等。头癣表现多样，严重者可造成永久性脱发。甲癣可表现为指甲肥厚、变色、浑浊等，其他皮肤癣菌病多表现为瘙痒性皮疹。世界上有20%～25%的人受到其影响，特别是老年人、糖尿病患者或免疫缺陷者[1]。近年来，因真菌耐药性不断增强，皮肤癣菌病的发病率也在逐年上升。目前用于治疗该病的药物种类有限，主要为传统的抗真菌药物，包括唑类、三唑类、烯丙胺类等[2]。然而，这些药物由于治疗时间长、副作用大且耐药性强，其临床应用受到一定限制[3]。

中药具有疗效好、来源广泛、不良反应少、耐药性弱等优势，为研发天然抗真菌药物提供了宝贵资源。黄芩汤（Huangqin decoction，HQD）首载于张仲景的《伤寒论》，由黄芩、白芍、炙甘草、大枣组成，具有清热止痢、和中止痛的作用[4]。现代药理研究表明，HQD具有抗菌、抗炎、解热、镇痛、解痉等作用[5－6]。本课题组前期研究发现，HQD对临床分离的常见皮肤癣菌具有抑制作用，其最小抑菌浓度（minimal inhibitory concentration，MIC）为1.75～5.90 mg/mL[7]，但具体作用机制尚不明确。基于此，本研究以须癣毛癣菌为模型菌株，考察HQD对该菌的菌丝生长、孢子萌发和生物量等的影响，并探讨其作用机制，为HQD治疗皮肤癣菌病提供理论基础。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有XS105DU型十万分之一天平（瑞士Mettler Toledo公司）、Multiskan FC型酶标仪（美国Thermo Fisher Scientific公司）、LC-2010A型高效液相色谱仪（日本Shimadzu公司）、SPX-25085H-Ⅱ型生化培养箱（上海新苗医疗器械制造有限公司）、HC-2517型高速离心机（安徽中科中佳科学仪器有限公司）、NP80型紫外分光光度计（德国Implen公司）、JEM1200型透射电子显微镜（日本JEOL公司）。

1.2 主要药品与试剂

黄芩、白芍、炙甘草、大枣饮片购自江西彭氏国药堂饮片有限公司，经江西省人民医院药学部胡建新主任药师鉴定，分别为唇形科植物黄芩*Scutellaria baicalensis* Georgi.的干燥根、毛茛科植物芍药*Paeonia lactiflora* Pall.的干燥根、豆科植物甘草*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.的干燥根和根茎以及鼠李科植物枣*Ziziphus jujuba* Mill.的干燥成熟果实。葡萄糖、吐温-20、山梨醇购自上海生工生物工程股份有限公司；蛋白胨购自北京奥博星生物技术有限责任公司；麦角固醇（纯度＞98%，批号HR20525B1）购自宝鸡辰光生物科技有限公司；氯霉素、特比萘芬（terbinafine，TBF）、咪康唑（miconazole，MCZ）、两性霉素B（amphotericin B，AMB）、卡泊芬净（caspofungin，CAS）（纯度均大于98%，批号分别为829J047、713T011、623M012、715V036、420O021）均购自北京索莱宝科技有限公司；RPMI-1640培养基（批号2496521）购自赛默飞世尔科技（中国）有限公司；角鲨烯环氧酶（squalene epoxidase，SE）、羊毛甾醇14α-去甲基化酶（CYP51）试剂盒（批号分别为YX-190500、YX-032516）均购自上海优选生物科技有限公司；苹果酸脱氢酶（malate dehydrogenase，MDH）、琥珀酸脱氢酶（succinate dehydrogenase，SDH）和钠钾ATP酶、钙镁ATP酶、总ATP酶试剂盒（批号分别为A021-2-1、A022-1-1、A070-6-1）均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 菌株

须癣毛癣菌临床分离株由国家卫生健康委员会真菌病监测网江西分中心暨江西省人民医院临床医学研究所分离鉴定并保存。

2 方法与结果

2.1 HQD的制备

按照文献[8]方法制备HQD：取黄芩、白芍、炙甘草和大枣按照3∶2∶2∶2的比例称取适量，加10倍量（mL/g，下同）水，煎煮1 h，趁热过滤；药渣加8倍量水继续煎煮1 h，过滤药液；合并2次药液，浓缩成每毫升含1 g生药的药液，经冷冻干燥后保存备用。

2.2 HQD的抗菌活性评价

2.2.1 MIC和最小杀菌浓度的测定

参照美国临床和实验室标准协会的《丝状真菌肉汤稀释抗真菌药敏试验的参考方法》（M38-3rd）配制须癣毛癣菌终浓度为（1～5）×10^4 cfu/mL的菌悬液，备用。取96孔板，每孔均加入100 μL RPMI 1640培养基，然后向第1孔中加入200 mg/mL HQD 100 μL，用移液枪混匀后吸取100 μL至第2孔，如法依次进行2倍稀释至第10孔，使各孔中HQD的终浓度分别为100、50、25、12.50、6.25、3.13、1.56、0.78、0.39、0.20 mg/mL。向第1～10、12孔中加入配制好的菌悬液100 μL，以第11孔为阴性对照，第12孔为阳性对照。AMB（0.031 25～16 μg/mL）、TBF（0.003 9～2 μg/mL）、MCZ（0.39～200 μg/mL）、CAS（0.39～200 μg/mL）为阳性对照药物。将上述96孔板置于生化培养箱中，以28 ℃培养4 d，肉眼观察各孔真菌的生长情况，并与阳性、阴性对照孔比较，以肉眼观察到无

真菌生长的最低药物质量浓度为MIC值。结果显示，HQD、AMB、TBF、MCZ、CAS的MIC值分别为3.13 mg/mL、1 μg/mL、0.062 5 μg/mL、6.25 μg/mL、50 μg/mL。上述药敏实验结束后，吸取HQD各给药组的内容物200 μL至沙氏葡萄糖琼脂培养基（Sabouraud dextrose agar，SDA）培养板上培养7 d，以不长菌落的最低药物质量浓度为最小杀菌浓度（minimal fungicidal concentration，MFC）。结果显示，HQD的MFC值为25 mg/mL。

2.2.2　HQD对须癣毛癣菌菌丝生长的影响

参照文献[9]方法测定HQD对须癣毛癣菌菌丝生长的影响。实验分为阴性对照组、TBF组（0.062 5 μg/mL，剂量根据“2.2.1”项下结果设置）和HQD低、中、高剂量组（1.56、3.13、6.25 mg/mL，剂量根据“2.2.1”项下结果设置）。将须癣毛癣菌接种在SDA培养板上，培养一段时间后，用直径为9 mm的打孔器取菌块作为菌饼备用。取不同质量浓度的HQD与预热的SDA培养基混合均匀后倒入直径为9 cm的无菌培养皿中制备含药培养基，在此培养皿中用9 mm的打孔器除去中间培养基并接种上述9 mm的菌饼，用封口膜密封培养皿，置于28 ℃培养箱中培养6 d，采用十字交叉法测量菌丝长度。菌丝长度（mm）＝菌丝长度测量平均值－9。实验重复3次。采用SPSS 21.0软件对数据进行统计分析，数据以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，检验水准$\alpha=0.05$（下同）。由表1可知，与阴性对照组相比，TBF组和HQD各剂量组须癣毛癣菌菌丝长度均显著缩短（$P<0.05$），且TBF组和HQD高剂量组须癣毛癣菌菌丝长度显著短于HQD低剂量组（$P<0.05$）。

表1　各组须癣毛癣菌菌丝长度、孢子萌发率、生物量的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	菌丝长度/mm	孢子萌发率/%	生物量/mg
阴性对照组	15.25±1.00	89.33±8.08	21.55±3.80
TBF组	12.29±0.38^{ab}	30.00±6.00^{ab}	10.95±3.21^{a}
HQD低剂量组	13.67±0.44^{a}	44.00±6.00^{a}	15.88±1.94^{a}
HQD中剂量组	12.63±0.78^{a}	26.00±6.00^{ab}	13.33±3.28^{a}
HQD高剂量组	11.33±0.80^{ab}	18.67±7.02^{abc}	10.43±1.91^{ab}

a：与阴性对照组比较，$P<0.05$；b：与HQD低剂量组比较，$P<0.05$；c：与HQD中剂量组比较，$P<0.05$。

2.2.3　HQD对须癣毛癣菌孢子萌发的影响

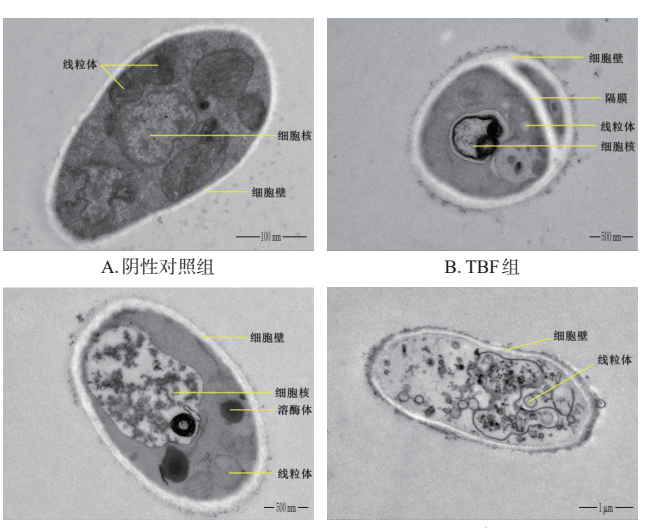
实验分为阴性对照组、TBF组（0.062 5 μg/mL）和HQD低、中、高剂量组（1.56、3.13、6.25 mg/mL），将相应药液与须癣毛癣菌菌悬液（5.0×10^5 cfu/mL）充分振荡混合均匀后，接种于含有SDA的凹玻片上，置于湿盒中，于28 ℃培养24 h。采用显微镜观察孢子萌发情况（以抽出芽管、长出菌丝为萌发），计算每100个孢子中萌发的孢子数，孢子萌发率＝发芽孢子数/检查孢子总数×100%[10]。实验重复3次。由表1可知，与阴性对照组相比，TBF组和HQD各剂量组须癣毛癣菌孢子萌发率均显著降低（$P<0.05$），且HQD的抑制作用呈剂量依赖性。

2.2.4　HQD对须癣毛癣菌生物量的影响

实验分为阴性对照组、TBF组（0.062 5 μg/mL）和HQD低、中、高剂量组（1.56、3.13、6.25 mg/mL）。取无菌摇菌管，加入5 mL含药沙氏葡萄糖液体培养基（Sabouraud dextrose broth，SDB）和1 mL含有5.0×10^5 cfu/mL的须癣毛癣菌菌悬液，用封口膜密封摇菌管，在28 ℃条件下以120 r/min振荡6 d；过滤收集菌丝体，烘干，称重，将其作为须癣毛癣菌的生物量。实验重复3次。由表1可知，与阴性对照组比较，TBF组和HQD各剂量组须癣毛癣菌生物量均显著降低（$P<0.05$），且HQD高剂量组的生物量显著低于HQD低剂量组（$P<0.05$）。

2.2.5　HQD对须癣毛癣菌菌丝超微结构的影响

实验分为阴性对照组、TBF组（0.062 5 μg/mL）和HQD低、中、高剂量组（1.56、3.13、6.25 mg/mL）。首先，将浓度为5×10^3 cfu/mL的须癣毛癣菌菌悬液在28 ℃下培养3 d，然后加入相应药液，继续培养5 d；过滤菌丝并用无菌蒸馏水洗涤后，置于2.5%戊二醛中固定过夜；取出固定后的菌丝，用磷酸盐缓冲液漂洗、锇酸固定、磷酸盐缓冲液再漂洗、乙醇梯度脱水后，依次用丙酮和树脂混合液（1∶0、3∶1、1∶1、1∶3）处理，纯树脂包埋，切薄片，经醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色后使用透射电镜观察。由图1（HQD低剂量组图略）可知，阴性对照组须癣毛癣菌菌丝显示出清晰和完整的细胞结构，具有典型的细胞核和线粒体等；与阴性对照组相比，各给药组菌丝的细胞结构均受到了一定程度的破坏，HQD低剂量组菌丝部分线粒体内容物被破坏；TBF组和HQD中剂量组细胞核被破坏，线粒体肿胀，细胞内容物渗漏；HQD高剂量组菌丝高度空泡化，线粒体严重肿胀，细胞内容物流失严重。



A. 阴性对照组　B. TBF组　C. HQD中剂量组　D. HQD高剂量组

图1　各组须癣毛癣菌菌丝的透射电镜图

2.3 HQD的抗菌机制

2.3.1 HQD对须癣毛癣菌细胞壁的影响

同“2.2.1”项下方法测定在有/无0.8 mol/L山梨醇时，HQD的MIC值（以CAS为阳性对照药）。结果显示，在无山梨醇的条件下，CAS的MIC为50 μg/mL，而在加入0.8 mol/L山梨醇的条件下，CAS的MIC从50 μg/mL提高至200 μg/mL，表明CAS抗须癣毛癣菌的机制与细胞壁有关。而HQD无论是否有山梨醇存在，其MIC值均为3.13 mg/mL，表明HQD可能对须癣毛癣菌细胞壁无作用。

2.3.2 HQD对须癣毛癣菌细胞膜的影响

同“2.2.5”项下方法培养、分组、给药、收集湿菌丝体。称取湿菌丝体约0.2 g，加入5 mL新鲜配制的25%氢氧化钾乙醇溶液（25 g KOH和30 mL无菌蒸馏水用100%乙醇稀释至100 mL），涡旋混合5 min，然后参考文献[11—12]方法测定须癣毛癣菌细胞膜中麦角固醇的含量。另外，同“2.2.5”项下方法培养、分组（另设置MCZ组作为检测CYP51活性的阳性对照）、给药、收集湿菌丝体，然后按相应试剂盒方法操作，检测须癣毛癣菌细胞膜中SE和CYP51的活性。实验重复3次。由表2可知，与阴性对照组相比，TBF组和HQD各剂量组须癣毛癣菌细胞膜中麦角固醇的含量均显著降低（$P<0.05$），且HQD的抑制作用呈剂量依赖性；TBF组和HQD中、高剂量组须癣毛癣菌细胞膜中SE活性以及MCZ组和HQD中、高剂量组须癣毛癣菌细胞膜中CYP51活性均显著降低（$P<0.05$），且MCZ组和HQD高剂量组须癣毛癣菌细胞膜中CYP51活性显著低于HQD低剂量组（$P<0.01$）。

表2 各组须癣毛癣菌中麦角固醇含量和SE、CYP51活性的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	麦角固醇含量/(μg/g)	SE活性	CYP51活性
阴性对照组	419.04±16.98	629.29±55.77	319.54±41.21
TBF组	296.16±14.51^{ab}	424.15±52.24^{a}	－
MCZ组	－	－	204.38±23.64^{ab}
HQD低剂量组	366.18±11.82^{a}	522.37±41.91	274.22±23.34
HQD中剂量组	305.67±22.70^{ab}	426.75±92.06^{a}	241.38±27.27^{a}
HQD高剂量组	193.56±24.80^{abc}	375.47±56.83^{a}	216.41±37.38^{ab}

a：与阴性对照组比较，$P<0.05$；b：与HQD低剂量组比较，$P<0.01$；c：与HQD中剂量组比较，$P<0.01$；－：无相应数据。

2.3.3 HQD对须癣毛癣菌线粒体中MDH、SDH及ATP酶活性的影响

同“2.2.5”项下方法培养、分组、给药、收集湿菌丝体，提取线粒体，然后参考相应试剂盒说明书方法操作，检测线粒体中MDH、SDH及ATP酶（钠钾ATP酶、钙镁ATP酶和总ATP酶）的活性。实验重复3次。由表3可知，与阴性对照组比较，TBF组和HQD中、高剂量组须癣毛癣菌线粒体中MDH、SDH、钠钾ATP酶、钙镁ATP酶、总ATP酶活性均显著降低（$P<0.05$）；且相比HQD低剂量组，HQD中、高剂量组的部分指标活性更低（$P<0.05$）。

表3 各组须癣毛癣菌线粒体中MDH、SDH及ATP酶活性的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	MDH	SDH	钠钾ATP酶	钙镁ATP酶	总ATP酶
阴性对照组	4.56±1.23	17.46±2.17	3.08±0.17	5.33±0.42	11.67±1.23
TBF组	2.52±0.44^{a}	10.33±0.64^{ab}	1.68±0.28^{a}	3.24±0.37^{ab}	7.99±1.94^{a}
HQD低剂量组	3.59±0.72	13.88±1.28^{a}	2.22±0.72	4.46±0.19	6.39±1.10
HQD中剂量组	2.57±1.57^{a}	10.61±2.11^{ab}	1.63±0.72^{a}	2.98±0.90^{ab}	8.60±1.69^{a}
HQD高剂量组	1.66±0.57^{ab}	9.38±2.04^{abc}	1.13±0.19^{ab}	2.24±0.97^{abc}	6.39±1.10^{ab}

a：与阴性对照组比较，$P<0.05$；b：与HQD低剂量组比较，$P<0.05$；c：与HQD中剂量组比较，$P<0.05$。

3 讨论

须癣毛癣菌可导致人体和动物各个部位感染，已成为第二大常见的皮肤癣菌，但现有治疗药物有限，且副作用大，因此从传统中药中寻找高效、低毒、低耐药的天然抗真菌药物具有重要意义。本研究发现，HQD对须癣毛癣菌的MIC和MFC值分别为3.13、25 mg/mL，且可显著抑制须癣毛癣菌菌丝生长、孢子萌发和生物量的产生，表明HQD可能是一种具有临床应用前景的抗真菌药物。

细胞壁可以保护细胞形态免受外部渗透冲击，在没有渗透稳定剂（山梨醇）的情况下，药物可破坏细胞壁的完整性导致真菌细胞溶解，甚至死亡[13—14]。因此，山梨醇保护试验可用于探索HQD对真菌细胞壁是否有影响，若有影响，在含有山梨醇培养基中，HQD的MIC值将增大。而本研究中加入0.8 mol/L山梨醇后，HQD的MIC值无变化，表明HQD对须癣毛癣菌的细胞壁无作用。细胞膜是一种动态结构，由嵌入了酶和转运蛋白的脂质双分子层组成；麦角固醇是细胞膜的主要甾醇成分，不仅可参与调节细胞膜的通透性和流动性，还可维持细胞膜结构的完整性[15]。SE是一种黄素腺嘌呤二核苷酸，其可催化角鲨烯环氧化为2，3-氧化角鲨烯，从而导致麦角固醇生物合成途径的级联反应；CYP51的阻断可导致羊毛甾醇和其他14α-甲基化甾醇在真菌细胞膜中积累，从而导致膜通透性变化和膜蛋白功能障碍[12，16]。线粒体是ATP合成的主要细胞器，是细胞进行有氧呼吸的主要场所，其脱氢酶（包括MDH和SDH）是ATP生物合成中非常重要的酶[17]。基于此，笔者在抗真菌机制研究中，选择不同的药物作为阳性对照：（1）TBF能降低生物膜中麦角固醇含量，还能通过抑制SE活性来抑制真菌细胞膜中麦角固醇的合成并影响线粒体酶活性[18]，因此，在麦角固醇含量测定、SE和MDH、SDH以及ATP酶活性检测实验中，笔者选择TBF作为阳性对照药物。（2）MCZ作为CYP51的抑制剂，可以与细胞色素P450的血红素铁原子结合，阻止羊毛甾醇14α-甲基的氧化去除[19]，因此，在CYP51活性测定实验中，笔者选择MCZ

作为阳性对照药物。(3)CAS可影响细胞壁完整性[20]，因此，本研究将其作为考察细胞壁完整性的阳性对照药物。本研究发现，HQD对须癣毛癣菌细胞壁无作用，但是其可能通过降低麦角固醇含量和SE、CYP51的活性影响须癣毛癣菌细胞膜，还可通过降低MDH、SDH、钠钾ATP酶、钙镁ATP酶和总ATP酶的活性影响须癣毛癣菌线粒体，进而发挥抗菌作用。

综上所述，HQD具有显著的抗须癣毛癣菌活性，其作用机制与降低细胞膜中麦角固醇含量和SE、CYP51活性以及线粒体相关酶活性有关。

参考文献

[1] DE OLIVEIRA PEREIRA F, GOMES S M, LIMA DA SILVA S, et al. The prevalence of dermatophytoses in Brazil: a systematic review[J]. J Med Microbiol, 2021, 70(3): 1-12.

[2] CAMPOY S, ADRIO J L. Antifungals[J]. Biochem Pharmacol, 2017, 133: 86-96.

[3] BEN-AMI R, KONTOYIANNIS D P. Resistance to antifungal drugs[J]. Infect Dis Clin North Am, 2021, 35(2): 279-311.

[4] LI M Y, LI M X, XU N, et al. Effects of Huangqin decoction on ulcerative colitis by targeting estrogen receptor alpha and ameliorating endothelial dysfunction based on system pharmacology[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 271: 113886.

[5] CHEN P D, ZHOU X, ZHANG L, et al. Anti-inflammatory effects of Huangqin tang extract in mice on ulcerative colitis[J]. J Ethnopharmacol, 2015, 162: 207-214.

[6] WANG J Y, LI R, ZHANG M N, et al. Influence of Huangqin decoction on the immune function and fecal microbiome of chicks after experimental infection with *Escherichia coli* O78[J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 16632.

[7] 沈成英，邓冯沂，侯雄军，等. 黄芩汤对临床常见真菌的体外抑菌效果初步观察[J]. 解放军药学学报，2022，35(6)：479-481，488.
SHEN C Y, DENG F Y, HOU X J, et al. *In vitro* observation of antifungal effect of Huangqin Decoction against common clinical fungi[J]. Pharm J Chin People's Liberation Army, 2022, 35(6): 479-481, 488.

[8] 李涛. 黄芩汤物质基础与药代动力学特征研究[D]. 北京：中国中医科学院，2013.
LI T. Study on the chemical basis and pharmacokinetics of Huangqin tang[D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2013.

[9] DE OLIVEIRA LIMA M I, ARAÚJO DE MEDEIROS A C, SOUZA SILVA K V, et al. Investigation of the antifungal potential of linalool against clinical isolates of fluconazole resistant *Trichophyton rubrum*[J]. J Mycol Med, 2017, 27(2): 195-202.

[10] ZENG H, CHEN X P, LIANG J N. *In vitro* antifungal activity and mechanism of essential oil from fennel (*Foeniculum vulgare* L.) on dermatophyte species[J]. J Med Microbiol, 2015, 64(Pt1): 93-103.

[11] LIN H Q, LIU X P, SHEN Z B, et al. The effect of isoflavaspidic acid PB extracted from *Dryopteris fragrans* L. Schott on planktonic and biofilm growth of dermatophytes and the possible mechanism of antibiofilm[J]. J Ethnopharmacol, 2019, 241: 111956.

[12] LUO N X, JIN L, YANG C Q, et al. Antifungal activity and potential mechanism of magnoflorine against *Trichophyton rubrum*[J]. J Antibiot, 2021, 74(3): 206-214.

[13] BOWMAN S M, FREE S J. The structure and synthesis of the fungal cell wall[J]. Bioessays, 2006, 28(8): 799-808.

[14] DE OLIVEIRA PEREIRA F, MENDES J M, DE OLIVEIRA LIMA E. Investigation on mechanism of antifungal activity of eugenol against *Trichophyton rubrum* [J]. Med Mycol, 2013, 51(5): 507-513.

[15] ZHANG Z S, LIU X P, SHEN Z B, et al. Isoflavaspidic acid PB extracted from *Dryopteris fragrans* L. Schott inhibits *Trichophyton rubrum* growth via membrane permeability alternation and ergosterol biosynthesis disruption [J]. Biomed Res Int, 2022, 2022: 6230193.

[16] AN Y F, LIU W X, XIE H L, et al. Construction and activity evaluation of novel benzodioxane derivatives as dual-target antifungal inhibitors[J]. Eur J Med Chem, 2022, 227: 113950.

[17] WU X Z, CHENG A X, SUN L M, et al. Plagiochin E, an antifungal bis(bibenzyl), exerts its antifungal activity through mitochondrial dysfunction-induced reactive oxygen species accumulation in *Candida albicans*[J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1790(8): 770-777.

[18] SHEKHOVA E, KNIEMEYER O, BRAKHAGE A A. Induction of mitochondrial reactive oxygen species production by itraconazole, terbinafine, and amphotericin B as a mode of action against *Aspergillus fumigatus*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2017, 61(11): e00978-e00917.

[19] NIVOIX Y, LEDOUX M P, HERBRECHT R. Antifungal therapy: new and evolving therapies[J]. Semin Respir Crit Care Med, 2020, 41(1): 158-174.

[20] SZYMAŃSKI M, CHMIELEWSKA S, CZYŻEWSKA U, et al. Echinocandins: structure, mechanism of action and use in antifungal therapy[J]. J Enzyme Inhib Med Chem, 2022, 37(1): 876-894.

（收稿日期：2023-08-03　修回日期：2023-12-22）

（编辑：唐晓莲）