

新型抗白念珠菌药物的作用靶点

梁蓉梅, 曹永兵, 姜远英*

(第二军医大学药学院药理学教研室, 上海 200433)

[摘要] 随着氮唑类药物广泛应用, 白念珠菌耐药现象快速发展, 已出现药物间交叉耐药, 对临床治疗带来严重威胁。近年来相继提出了许多抗白念珠菌药物作用的新靶点并成功开发出一些活性强大, 疗效确切的抗真菌药, 如以真菌细胞壁为靶点开发出棘白菌素类药物卡泊芬净、米卡芬净等, 该类物质主要抑制 β -葡聚糖合成酶, 体外对氟康唑耐药的念珠菌属及真菌生物被膜表现出强大的抗菌活性, 又由于 β -葡聚糖合成酶在哺乳类动物细胞内不存在, 故具有高效低毒的临床效果, 是一极具前途的新型抗真菌药; 以真菌细胞膜为靶点开发出 Histatin 类药物, 虽然作用机制目前还不完全明了, 但其作用不同于临床常用的多烯类和氮唑类, 并已经发现 Histatin5 对两性霉素 B 和氮唑类耐药的念珠菌有效, 并且对非白念珠菌如光滑念珠菌、克柔氏念珠菌、隐球菌等也有杀灭作用; 通过对植物药物的研究发现黄连素和丁香罗勒 (*Ocimum gratissimum* L.) 具有较强大的抗真菌活性, 其中黄连素提取物小檗碱对 24-MST 抑制作用强大, 并对菌丝生长形式抑制作用强于酵母生长形式。增强白念珠菌对药物敏感性的新方法包括改变细胞膜成分、改变某些基因、利用光灭活作用、使用抗菌药增敏剂以及抗真菌药物的联合使用等。本文就近年来开发的新型抗真菌药以及提出的抗白念珠菌药物作用新靶点进行综述。

[关键词] 抗真菌药; 白念珠菌; 作用靶点

[中图分类号] R 978.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2006)09-1006-05

Target sites of new anti-*Candida albicans* agents

LIANG Rong-mei, CAO Yong-bing, JIANG Yuan-ying* (Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] With the wide use of azoles, drug tolerance and cross tolerance of *Candida albicans* has seriously hampered the clinical treatments of *Candida albicans*. New antifungal agents (potent and effective) have been developed over the past years based on the discovery of many new target sites of *Candida albicans*. For example, Echinocandins (caspofungin and micafungin), aiming at the cell wall of *Candida albicans*, showed strong antifungal activities to fluconazole resistant candidas and fungal biofilm. Moreover, because β -glucan synthase does not exist on the cell membrane of mammalian cells, Echinocandins has a low toxicity and a promising clinical future. Though the mechanism of Histatin (targeting fungal membrane) is not clear, it has strong activity not only on candida resistant of polyene and azole, but also to *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* and *Cryptococcus neoformans*. Berberine and *Ocimum gratissimum* L. were also found to have prominent anti-fungi activities. Berberine extract can intensively inhibit 24-SMT in a dose-depended manner; besides, it has more potent inhibitory activity against the growth of mycelia than against that of yeast. Various new methods can be used to increase the susceptibility of *Candida albicans* to antifungal agents, such as altering fungi membrane composition, changing some genes, adopting the photodynamic inactivation method, employing hypersensitization agents and combining antifungal agents. This article reviews the newly-developed antifungal agents and newly-proposed target sites of *Candida albicans*.

[KEY WORDS] antifungal agents; *Candida albicans*; action targets

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(9):1006-1010]

白念珠菌是一种条件致病菌, 在免疫缺陷或过度疲劳患者身上极易发生感染。由于氮唑类药物的广泛使用已经导致白念珠菌对该类药物耐药现象的快速发展, 对药物治疗带来严重威胁。如何有效对抗真菌耐药性是医药领域研究的重点和热点。近年来相继提出了许多抗白念珠菌药物作用的新靶点并成功开发出一些活性强大、疗效确切的抗真菌药, 为临床抗真菌的治疗带来了巨大希望, 现将其综述如下。

1 根据白念珠菌耐药机制开发新型抗真菌药

白念珠菌耐药机制研究已经比较透彻, 多数学者认为: (1) 念珠菌细胞膜固醇类成分的改变导致唑类药物的通透性

降低; (2) 唑类药物作用的靶酶, 羊毛甾醇 14-去甲基酶的过度表达或突变; (3) 编码药物流出泵基因, 包括属于 ATP-结合盒(ABC)超家族的 CDR1 和 CDR2 基因以及属于易化扩散超家族(MFS)的 MDR1 转运子的过度表达; (4) 靶酶基因突变导致唑类药物的亲和力降低。其中膜通透性的改变在

[基金项目] 上海市基础研究重点项目(04JC14003)。Supported by Key Project in Basic Research of Shanghai Municipal Government (04JC14003)。

[作者简介] 梁蓉梅, 硕士, 主管药师。

* Corresponding author. E-mail: Jiangyy@smmu.edu.cn

耐药性的产生中可能起关键作用,而氮唑类药物交叉耐药的产生与抑制羊毛甾醇 14-去甲基酶活性使真菌细胞膜的主要脂质-麦角固醇合成受阻,进而导致真菌细胞抑制或死亡有关,靶酶编码基因和膜上转运泵编码基因的突变、缺失和过表达是交叉耐药产生的物质基础。

1.1 以真菌细胞壁作为靶点开发新药 细胞壁是真菌细胞生物学过程和致病力各个方面所必需的特殊动力学结构。作为真菌最外层部分,细胞壁调节着宿主与真菌之间的相互作用,包括对宿主器官的黏附以及宿主抗念珠菌免疫反应的调解。通过抑制或阻断被公认的致病因子来改变宿主-真菌间的相互作用,破坏真菌在宿主体内的定植以及削弱真菌感染的过程。或者开发细胞壁抗原的特殊抗体,保护宿主免受真菌感染。另外还可以抑制细胞壁的生物合成,削弱细胞壁的完整性,破坏细胞活性。棘白菌素类药物如卡泊芬净、米卡芬净等是目前开发比较成功的药物之一。

棘白菌素类与传统作用于真菌胞质膜麦角固醇的抗真菌药不同,棘白菌素类药物是一种新的葡聚糖合成酶抑制剂,非竞争性地抑制 β -(1,3)-D-葡聚糖的合成从而发挥杀菌作用。葡聚糖是一种真菌细胞壁多糖,是细胞壁的重要组成部分,用于维持细胞壁完整性和渗透压稳定性。在酿酒酵母菌的研究中发现,葡聚糖合成酶是由 *FKS1* 和 *FKS2* 基因共同编码而成。*FKS1* 基因在无性期表达,而 *FKS2* 基因主要在产孢期表达。棘白菌素类通过对这两种基因的作用发挥对葡聚糖合成酶的抑制作用。该类药不影响核酸和甘露聚糖的生物合成,但有另外一种次级效应,如降低麦角甾醇和羊毛甾醇组分的合成及增加几丁质的合成。棘白菌素类体外对氟康唑耐药的念珠菌属及真菌生物被膜表现出强大的抗菌活性,又由于 β -葡聚糖合成酶在哺乳类动物细胞内不存在,故具有高效低毒的临床效果,因此是一极具前途的新型抗真菌药^[1,2],也是目前抗真菌药开发的热点。已有证据表明念珠菌生物被膜已经急剧降低抗真菌药物的敏感性,对临床药物治疗带来严重威胁。体外实验显示^[3],卡泊芬净对白念珠菌生物被膜的杀菌活性优于两性霉素 B,前者在 24 h 和 48 h 杀死 99% 菌株的浓度分别为 0.12 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和 1.0 $\mu\text{g}/\text{L}$,在其有效治疗浓度范围内,远远强于后者。Kuhn 等^[4]研究了生长在假体模型上的白念珠菌和近平滑念珠菌生物被膜对抗真菌药的敏感性,结果表明:具有生物被膜的念珠菌对氟康唑、制霉菌素、洗必泰、两性霉素 B、扶立康唑和氟康唑均无活性,而棘白菌素类(卡泊芬净和米卡芬净)及两性霉素 B 脂质体则具强大活性。经 CSLM(共聚焦雷射显微镜扫描)发现无生物被膜的白念珠菌经卡泊芬净处理后细胞壁显著变形,胞质着色最少,细胞无活性;两性霉素 B 脂质体处理后细胞变小,胞质黄染,细胞缺乏活性并有大的空泡存在;氟康唑处理后的细胞也表明缺乏活性。虽然两者细胞壁结构均有一定变形,但程度均低于卡泊芬净。用上述药物处理具生物被膜的白念珠菌后观察对细胞结构,尤其对基础芽生孢子层的影响。结果发现:卡泊芬净处理后尽管与对照

组比较细胞活力急剧降低,但细胞结构变形却最小;两性霉素 B 脂质体处理后细胞皱缩,有大空泡且无活性;氟康唑处理后虽然失活细胞的数量增加并有轻微细胞结构的变形,但对被膜活性的影响却很小。

1.2 以真菌细胞膜为靶点开发新药 最近几年的研究发现,在一些多细胞生物中能产生一种被称为抗菌肽的阳离子肽,该类物质进化久远,能被快速调动起来防御多种微生物所致的感染。阳离子抗菌肽通过核蛋白体核酸循环生成,蛋白水解产物为包含 50% 疏水性残基和过多正电荷的 12~50 个氨基酸。通常在微生物入侵处的上皮细胞表面和吞噬细胞内可发现其存在^[5]。具两性分子的抗菌肽主要结合入侵微生物磷脂双分子层外部的酸性磷脂、酸性多糖和脂多糖而不是结合人类宿主富含胆固醇的中性血浆细胞膜表面。阳离子抗菌肽通过在细胞膜表面聚合而改变脂质双分子层结构,破坏细胞膜功能达到杀灭入侵微生物包括真菌的目的。某些阳离子多肽也可以影响细胞内的靶位,包括线粒体、DNA、RNA 的代谢。由于抗菌肽作用机制比较特殊,因而也不易产生耐药性,是今后看好的一类抗真菌药。

Histatin 是阳离子抗菌肽的一种,其相对分子质量低,富含组胺酸,在人类唾液内存在,具广谱、强效抗真菌活性。Histatin1 和 histatin3 分别由 *HIS1* 与 *HIS2* 基因编码产生, Histatin2 和 histatin 4-12 是它们的蛋白水解产物。临床研究表明患者唾液中 Histatin 先天低水平表达的患者口腔容易携带酵母菌,然而表达 Histatin 患者对于念珠菌感染的反应性将上调。实验表明 Histatin5 是杀死囊胚期和芽生期白念珠菌最强的抗真菌药,其次是 Histatin3。虽然 Histatin 的作用机制目前还不完全明了,但其作用途径不同于临床常用的多烯类和氮唑类,最重要的是已经发现 Histatin5 对两性霉素 B 和氮唑类耐药的念珠菌有效,并且对非白念珠菌如光滑念珠菌、克柔念珠菌、隐球菌等也有杀灭作用。

最近 Monk 等^[6]人工合成建立了含有 1 800 000 个成分的 D-8 肽组合库,每种成分均具有 5 肽 N 末端和酰胺化的 3 个精氨酸 C 末端。C 末端模仿阳离子抗菌肽正电荷片段,可将药物浓集在真菌细胞表面。经过对酿酒酵母和白念珠菌生长抑制的体外初级筛选及以酿酒酵母胞质膜质子泵 ATP 酶为靶位的次级筛选获得了结构 D-NH₂-RFWWFRRR-CONH₂ 的八肽 BM₀,经结构优化合成了结构为 D-NH₂-RRRFWWFRRR-C 的十肽 BM₂(R 为精氨酸)。后者对酿酒酵母、念珠菌属和新型隐球菌具有广谱抗菌活性。一系列实验表明^[6],BM₂ 及其类似物是目前已知最强的质子泵 ATP 酶非共价抑制剂,与真菌细胞膜表面强力结合,影响质子泵 ATP 酶的生理活性,IC₅₀ 为 0.5~2.5 $\mu\text{mol}/\text{L}$,但对细胞质的质子泵 ATP 酶影响不大或无影响。BM₂ 在低于 MIC 浓度时(5 $\mu\text{mol}/\text{L}$)可促进耐药基因高表达菌株对氟康唑或伊曲康唑的敏感。BM₂ 抑制真菌生长时的浓度不会引起真菌细胞的渗透、明显的红细胞溶血及培养的 Hep-2 上皮细胞的死亡。总之,BM₂ 代表新一代广谱的具表面活性,以质子泵

ATP 酶为靶点的真菌杀菌剂,可增加氮唑类的效能并拮抗氮唑类耐药。

2 开发植物类抗真菌药

目前常规的抗真菌药如多烯类(两性霉素 B)和氮唑类由于毒副作用和耐药菌株的出现一定程度上限制了它们的进一步使用。因此对临床上长期使用的具有一定抗微生物活性中药材有效成分的探索 and 开发已经成为研究新型抗真菌药的重要方向之一。黄连素和丁香罗勒(*Ocimum gratissimum* L.)就是其中的热点。

从中草药黄连当中提取的小檗碱是一种黄色苜基异喹啉生物碱,具多种生物活性,对许多微生物均有作用,已表明对白念珠菌、光滑念珠菌、热带念珠菌的生长具抑制作用。它可通过独特的不同于沙汀类药物作用机制降低胆固醇,为一新型降脂药^[7]。目前已应用于腹泻、高血压、高血脂的治疗以及控制肿瘤生长。虽然其抗真菌作用临床报道不多,但由于广泛的抗微生物活性以及近两百年长期临床应用未发现严重毒副作用,可能成为很有希望的高效低毒、机制新颖的新型抗真菌药。小檗碱作用机制研究表明其作用靶位不是麦角甾醇碳链合成的酶,而是剂量依赖性非竞争抑制 24-甲基转移酶(24-MST)。该酶是惟一催化从 S-腺苷蛋氨酸中转移甲基的酶,由于小檗碱显著抑制此酶活性,阻止真菌利用 L-甲基-蛋氨酸合成麦角甾醇从而导致麦角甾烷-8,24-二烯-3 β 醇的堆积和麦角甾醇的缺失。小檗碱对 24-MST 抑制作用强大但对几丁质合成影响不大,并且对菌丝生长形式抑制作用强于酵母生长形式。

丁香罗勒属于薄荷科植物,早期已经报道体外具抗细菌和皮肤真菌的活性^[8]。Lemos 等^[9]检测了丁香罗勒提取物对临床分离的 25 种隐球菌的敏感性。结果表明所有提取成分在体外对隐球菌均有活性,其中氯仿提取成分和丁香酚的抑菌效力最强。前者在浓度为 62.5 g/ml 时可抑制 92% 的隐球菌,后者在浓度为 0.9 g/ml 时可抑制 16% 的隐球菌。总之丁香罗勒叶中的精油、丁香酚和氯仿提取物是新型抗真菌药的重要资源。

3 利用生化及物理化方法提高药物对白念珠菌的敏感性

3.1 通过改变细胞膜成分提高白念珠菌对药物敏感性

多位学者最近研究表明抗真菌药的作用是通过真菌细胞膜脂质成分的细微变化调节的^[10,11]。临床或因环境适应性改变的氮唑类耐药白念珠菌显示其膜磷脂和甾醇成分发生改变。典型酵母脂质当中,细胞膜甾醇是氮唑类的重要靶点和细胞膜重要成分之一,它主要用于维持生理应激时细胞的刚性、稳定性和抵抗力。因此甾醇的缺失将会导致细胞膜稳定性丧失,引起细胞膜通透性增加和酵母细胞对药物的敏感性改变。白念珠菌鞘类磷脂是另外一种重要的脂质成分,与哺乳动物细胞不同,他们结构简单,以磷脂酰肌醇作为极性首基的一部分。最近有人报道在脂质双分子层上存在个别的细

胞膜微域作为脂质救生卵筏,主要由鞘磷脂和甾醇组成^[12,13]。有趣的是组成脂质救生卵筏的类脂和蛋白质的上调已经在耐药的哺乳动物细胞中发现^[14]。有人报道白念珠菌 ABC 药物转运子蛋白 Cdr1p 的一种同系物 p 糖蛋白/多药耐药蛋白(Pgp/MDR1),绝大部分集中在富含胆固醇的细胞膜区域,清空此区域的胆固醇可削弱人类 Pgp/MDR1 介导的药物转运。这些发现表明作为单个成分的鞘类磷脂和甾醇以及他们的相互影响在 ABC 药物流出泵蛋白的功能中具有重要作用。

Mukhopadhyay 等^[15]采用 3 种独立实验方法测定缺乏麦角甾醇成分的 erg 突变白念珠菌以及由于选择性阻断鞘类磷脂生物合成导致鞘类磷脂成分降低的白念珠菌细胞的敏感性。斑点法和滤片分析法表明:白念珠菌 erg2 和 erg16 突变细胞几乎对所有被测药物如 4-硝基喹啉氧化物、特比萘芬、邻二氮菲、伊曲康唑、酮康唑等高度敏感。根据 MIC₈₀, 真菌细胞对酮康唑和特比萘芬的敏感性增加 4 倍多。使用烟曲霉素 B1 处理野生型白念珠菌细胞使 45% 鞘类磷脂生物合成抑制,结果引起细胞对上述药物高度敏感。虽然 erg 突变可以增加细胞膜的流动性和被动扩散,但是这些单独变化并不能充分说明实际观察到的 erg 突变细胞感受性过强的表型。例如通过细胞膜液化物苯甲基乙醇体外诱导,使白念珠菌细胞膜流动性改变 12%,结果并不影响念珠菌细胞对药物的敏感性。另外,绿色荧光蛋白标记白念珠菌药物流出泵蛋白 cdr1p,结果显示麦角甾醇和鞘类磷脂相互作用中出现任何损害将会干扰真菌细胞本身的表面固定和功能。在 erg 突变菌株或者在鞘类磷脂成分降低的细胞中,Cdr1p 底物若丹明 6G 的流出率降低 50% 的证据表明细胞膜脂质和主要流出泵蛋白质间存在强烈相关性。细胞膜主要脂质成分麦角甾醇与鞘类磷脂任何一种成分降低,均可使念珠菌细胞对大多数测试药物变得高度敏感。同时两种成分之间的相互作用又是主要药物流出泵蛋白 Cdr1p 表面定位的重要决定子,这反过来又影响白念珠菌细胞对药物的敏感性。

3.2 改变某些基因提高药物敏感性

白念珠菌对氮唑类药物的耐药性通常是因为药物外流增多或者是细胞膜重要组成成分麦角甾醇合成途径发生改变。然而,对于介导药物耐药性的转录因子人们却知之甚少。在酿酒酵母菌中,2 个高度相关的转录子激活物 Upc2p 和 Ecm22p 调节麦角甾醇生物合成基因(ERG 基因)的表达。MacPherson 等^[16]已经在白念珠菌中鉴定出酿酒酵母菌 UPC2/ECM22 基因的同系物 Upc2p,敲除此基因会使缺氧条件下真菌的生长受损并且导致真菌细胞对抗真菌药酮康唑、氟康唑高度敏感。相反,Upc2p 高度表达则会增加真菌对上述药物的耐药性。虽然在敲除 Upc2p 菌株中氮唑诱导的 ERG 基因表达被取消,但 these mRNAs 的基础水平仍然保持不变。Upc2p 纯化的 DNA 结合域体外被认为与 ERG2 启动因子中的甾醇反应元件相结合,这表明 Upc2p 通过直接结合 ERG 的启动因子增加 ERG 基因的表达。

3.3 利用光灭活作用提高抗真菌药物敏感性 逐渐增多的抗真菌药耐药性已经让科学家们开始重新寻求可供选择的治疗模式,其中光灭活作用(PDI)可能是一种有效的具有极大潜力的被选方案。阳离子卟啉,5-苯基-10,15,20-三羟(N-甲基-4-吡啶基)卟啉氯化物 TriP[4]是一种光敏剂,与光结合能够使细菌、真菌、病毒失活。为了进一步提高对临床相关性真菌如白念珠菌光灭活作用的效能,Lambrechts等^[17]使用荧光共聚焦显微镜以及冰冻断裂电子显微镜检查暴露于光灭活作用中的白念珠菌的响应去理解光灭活作用的机制。在黑暗条件下观察到, TriP[4]与白念珠菌细胞被膜结合,没有或极少数 TriP[4]进入细胞内。光照条件下,细胞膜被损伤, TriP[4]最终变得可以透过细胞膜。一旦 TriP[4]穿过细胞膜,只有液泡膜对于 PDI 诱导的膜损伤具有抵抗性。光照之前增加用 TriP[4]孵育白念珠菌的时间并不增加 TriP[4]进入细胞内的流动或者增加 PDI 的效能。用 10%磷酸盐缓冲生理盐水(PBS)替代 100%的磷酸盐缓冲生理盐水作为培养基后,白念珠菌在暗处孵育期间对 TriP[4]变得可通透并且 PDI 的效能急剧增加。总之,白念珠菌通过阳离子卟啉 TriP[4]能够被成功灭活,细胞膜是其攻击的靶细胞器, TriP[4]只有在细胞死亡后才会出现内流。

3.4 使用抗菌药增敏剂 二辛基琥珀酰磺酸钠在非抑制浓度(1 000 mg/L)时能够增加四环素对于不敏感细菌和真菌的抗微生物活性。Simonetti等^[18]在抑菌实验中用二辛基琥珀酰磺酸钠预处理菌株后,测得 10 株白念珠菌对四环素的 MIC 几何均值降低 52 倍($P < 0.01$),10 株 *E. coli* 菌株降低 165 倍($P < 0.001$),3 株克柔念珠菌和光滑念珠菌对四环素的 MIC 几何均值也有显著降低。在杀菌实验中,四环素联合二辛基琥珀酰磺酸钠在 15 min 内杀死 cfu 四环素耐药的白念珠菌,在 3 min 内杀死 10^4 CFU 耐药 *E. coli* 菌($P < 0.001$)。采用 N-乙酰葡萄糖胺试验测定菌丝细胞数量,四环素(50 mg/L,非抑制浓度)联合二辛基琥珀酰磺酸钠(25 mg/L)导致白念珠菌菌丝细胞的抑制增加 50 倍($P < 0.001$)。四环素联合二辛基琥珀酰磺酸钠处理后,白念珠菌细胞表面丧失疏水性($P < 0.001$)。四环素抗菌活性的增加可能归因于破坏或改变微生物细胞膜屏障并且清除了对微生物毒力起重要作用的巯基。

4 抗真菌药的联合使用

联合用药是目前抗真菌药的研究热点之一,不仅能够缩短治疗周期、降低药物毒副作用和剂量,而且还可扩大药物抗菌谱、避免耐药性的出现。由于两性霉素 B 对细胞膜的渗透性差,剂量增加经常会导致严重的副作用如肾损害、神经毒性。为降低其副作用,常与其他抗真菌药联合使用。最近的研究^[19]表明,两性霉素 B 与小檗碱联合治疗白念珠菌感染导致的小鼠播散性念珠菌病具协同作用,可降低 75%的两性霉素 B 剂量。光滑念珠菌是最近临床出现的重要病原菌,先天对氟康唑和两性霉素 B 缺乏敏感性,Francesco 等^[20]通

过 3 种分析方法验证扶立康唑联合其他 3 种抗真菌药对于临床分离的 20 株白念珠菌的体外效应,结果如下:培养基稀释分析法,扶立康唑与特比萘芬联合显著降低两者 MIC 几何均值(分别从 0.2 $\mu\text{g/ml}$ 降至 0.05 $\mu\text{g/ml}$ 和 9.8 $\mu\text{g/ml}$ 降至 1.2 $\mu\text{g/ml}$),75%菌株观察到协同效应;与两性霉素 B 联合可显著降低两性霉素 B MIC 几何均值(从 1.5 $\mu\text{g/ml}$ 降至 0.39 $\mu\text{g/ml}$),但扶立康唑 MIC 降低无统计学意义,10%菌株显示协同;与 5-氟胞嘧啶联合可显著降低扶立康唑 MIC 几何均值(从 0.2 $\mu\text{g/ml}$ 降至 0.02 $\mu\text{g/ml}$),但 5-氟胞嘧啶下降不明显,仅 5%显示协同效应,该法未观察到拮抗效应。Halo 分析法显示扶立康唑与两性霉素 B 或特比萘芬联合产生无关效应,但与 5-氟胞嘧啶联合则出现协同效应。杀菌曲线分析法测定对增殖细胞效应:扶立康唑与特比萘芬联合为无关效应;与两性霉素 B 联合可产生协同效应,杀菌活性可持续 24 h;与 5-氟胞嘧啶联合虽显示无关效应,但杀菌速率增快,可持续 24 h;对于非增殖细胞,扶立康唑与上述药物联用均为无关效应。上述实验结果表明扶立康唑体外抗菌活性可通过联合与其作用机制不同或作用于麦角甾醇合成途径中不同步骤的其他抗真菌药而得到加强。体外研究报告已经表明特比萘芬联合氮唑类对于白念珠菌可产生协同作用,这一数据与治疗由足放线病菌感染的体内研究结果相一致。最近的一项临床实验比较了单用氟康唑和两性霉素 B 联合氟康唑治疗念珠菌病的临床疗效,结果显示两性霉素 B 与高剂量的氟康唑联合可提高治疗成功率并能更快地清除血流中的病原菌^[21]。也有实验表明氟康唑、两性霉素 B、与卡泊芬净两两联合对白念珠菌生物被膜的抗菌效应均表现为无关,但杀菌时间曲线则显示高剂量的氟康唑与卡泊芬净联合产生拮抗结果^[22],然而体内试验则表明两药联合不显示任何相加或拮抗效应。卡泊芬净与两性霉素 B^[23]、伊曲康唑^[24,25]、扶立康唑^[26]、泊沙康唑^[27]体外联合对于曲霉菌和镰孢菌可产生相加或协同效应,并且临床上采用卡泊芬净与伊曲康唑或两性霉素 B 脂质体的联合方案已经成功用于侵入性隐球菌感染的治疗^[28,29]。

[参考文献]

- [1] Jabra-Rizk MA, Falkler WA, Meiller TF. Fungal biofilms and drug resistance[J]. Emerg Infect Dis, 2004, 10: 14-19.
- [2] Denning DW. Echinocandins: a new class of antifungal[J]. J Antimicrob Chemother, 2002, 49: 889-891.
- [3] Hope WW, Taberner L, Denning DW, et al. Molecular mechanisms of primary resistance to flucytosine in *Candida albicans*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48: 4377-4386.
- [4] Kuhn DM, George T, Chandra J, et al. Antifungal susceptibility of *Candida* biofilms: unique efficacy of amphotericin B lipid formulations and echinocandins[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002, 46: 1773-1780.
- [5] Yeaman MR, Yount NY. Mechanisms of antimicrobial peptide-action and resistance[J]. Pharmacol Rev, 2003, 55: 27-55.
- [6] Monk BC, Niimi K, Lin S, et al. Surface-active fungicidal D-

- peptide inhibitors of the plasma membrane proton pump that block azole resistance [J]. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005,49:57-70.
- [7] Kong W, Wei J, Abidi P, et al. Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins[J]. *Nature Med.* 2004,10:1344-1351.
- [8] Passos XS, Castro AC, Pires JS, et al. Composition and antifungal activity of the essential oils of *Caryocar brasiliensis* [J]. *Pharm Biol.* 2003,41:321-326.
- [9] Lemos Jde A, Passos XS, Fernandes Ode F, et al. Antifungal activity from *Ocimum gratissimum* L. towards *Cryptococcus neoformans* [J]. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2005,100:55-58.
- [10] Smriti KA, Mukhopadhyay K, Rattan A, et al. *In vitro* low-level resistance to azoles in *Candida albicans* is associated with changes in membrane lipid fluidity and asymmetry[J]. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002,46:1046-1052.
- [11] Mukhopadhyay K, Kohli A, Prasad R. Drug susceptibilities of yeast cells are affected by membrane lipid composition[J]. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002,46:3695-3705.
- [12] Maxfield FR. Plasma membrane microdomains[J]. *Curr Opin Cell Biol.* 2002,14:483-487.
- [13] Xu X, Bittman R, Duportail G, et al. Effect of the structure of natural sterols and sphingolipids on the formation of ordered sphingolipid/sterol domains (rafts) [J]. *J Biol Chem.* 2001,276:33540-33546.
- [14] Lavie Y, Liscovitch M. Changes in lipid and protein constituents of rafts and caveolae in multidrug resistance cancer cells and their functional consequences[J]. *Glycoconjugate J.* 2001,17:253-259.
- [15] Mukhopadhyay K, Prasad T, Saini P, et al. Membrane sphingolipid-ergosterol interactions are important determinants of multidrug resistance in *Candida albicans* [J]. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004,48:1778-1787.
- [16] MacPherson S, Akache B, Weber S, et al. *Candida albicans* zinc cluster protein Upc2p confers resistance to antifungal drugs and is an activator of ergosterol biosynthetic genes[J]. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005,49:1745-1752.
- [17] Lambrechts S, Aalders M, Van Marle J. Mechanistic study of the photodynamic inactivation of *Candida albicans* by a cationic porphyrin[J]. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005,49:2026-2034.
- [18] Simonetti G, Simonetti N, Villa A. Tetracycline in combination with sodium dioctyl sulfosuccinate show increased antimicrobial activity in resistant microorganisms[J]. *J Chemother.* 2004,16:38-44.
- [19] Han Y, Lee J. Berberine Synergy with amphotericin B against disseminated Candidiasis in mice[J]. *Biol Pharm Bull.* 2005,28:541-544.
- [20] Barchiesi F, Spreghini E, Maracci M, et al. *In vitro* activities of voriconazole in combination with three other antifungal agents against *Candida glabrata* [J]. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004,48:3317-3322.
- [21] Rex JH, Pappas PG, Karchmer AW, et al. A randomized and blinded multicenter trial of high-dose fluconazole plus placebo versus fluconazole plus amphotericin B as therapy for candidemia and its consequences in nonneutropenic subjects[J]. *Clin Infect Dis.* 2003,36:1221-1228.
- [22] Bachmann S, Ramage G, Vande Walle K, et al. Antifungal combinations against *Candida albicans* biofilms *in vitro* [J]. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003,47:3657-3659.
- [23] Graybill J, Bocanegra R, Najvar L, et al. Addition of caspofungin to fluconazole does not improve outcome in murine candidiasis[J]. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003,47:2373-2375.
- [24] Arikian S, Lozano-Chiu M, Paetznick V, et al. *In vitro* synergy of caspofungin and amphotericin B against *Aspergillus* and *Fusarium* spp [J]. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002,46:245-247.
- [25] Shalit I, Shadkchan Y, Samra Z, et al. *In vitro* synergy of caspofungin and itraconazole against *Aspergillus* spp, MIC versus minimum effective concentration end points[J]. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003,47:1416-1418.
- [26] Perea S, Gonzalez G, Fothergill A, et al. *In vitro* interaction of caspofungin acetate with voriconazole against clinical isolates of *Aspergillus* spp [J]. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002,46:3039-3041.
- [27] Manavathu EK, Alangaden GJ, Chandrasekar PH. Differential activity of triazoles in two-drug combinations with the echinocandin caspofungin against *Aspergillus fumigatus* [J]. *J Antimicrob Chemother.* 2003,51:1423-1425.
- [28] Kontoyiannis DP, Hachem R, Lewis RE, et al. Efficacy and toxicity of caspofungin in combination with liposomal amphotericin B as primary or salvage treatment of invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancies[J]. *Cancer.* 2003,98:292-299.
- [29] Aliff TB, Maslak PG, Jurcic JG, et al. Refractory *Aspergillus* pneumonia in patients with acute leukemia; successful therapy with combination of asposfungin and liposomal amphotericin B [J]. *Cancer.* 2003,97:1025-1032.

[收稿日期] 2006-03-30

[修回日期] 2006-06-29

[本文编辑] 尹 茶