

去甲泽拉木醛的体外抗真菌作用研究

韩蕾, 仲华, 王欣荣, 王彦

Study on antifungal effect of demethylzelamaldehyde *in vitro*

HAN Lei, ZHONG Hua, WANG Xinrong, WANG Yan

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202310011>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

马尾松叶低极性部位的GC-MS分析及协同氟康唑抗耐药白念珠菌活性研究

GC-MS analysis of low polarity extracts from *Pinus massoniana* Lamb. leaves and study on their synergistic activity of fluconazole against fluconazole-resistant *Candida albicans*

药学实践与服务. 2021, 39(5): 399-402, 441 DOI: [10.12206/j.issn.1006-0111.202101011](https://doi.org/10.12206/j.issn.1006-0111.202101011)

转录因子Cup2对白念珠菌铜离子代谢、氧化应激调控作用的初步研究

Regulation and control of transcription factor *Cup2* on Cu^{2+} metabolism and oxidative stress in *Candida albicans*

药学实践与服务. 2017, 35(3): 224-228 DOI: [10.3969/j.issn.1006-0111.2017.03.008](https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-0111.2017.03.008)

吩嗪类衍生物的抗真菌活性研究

Study on the antifungal activity of phenazine derivatives

药学实践与服务. 2021, 39(3): 249-254 DOI: [10.12206/j.issn.1006-0111.202103083](https://doi.org/10.12206/j.issn.1006-0111.202103083)

没食子酰哌嗪类化合物的合成及抗真菌作用研究

Study on synthesis and antifungal activities of galloyl piperazine derivatives

药学实践与服务. 2020, 38(6): 506-508, 542 DOI: [10.12206/j.issn.1006-0111.201908127](https://doi.org/10.12206/j.issn.1006-0111.201908127)

新型含喹啉和噻吩结构的抗真菌化合物的设计与合成

Design and synthesis of novel antifungal compounds bearing quinoline and thiophene moieties

药学实践与服务. 2017, 35(1): 17-21, 86 DOI: [10.3969/j.issn.1006-0111.2017.01.005](https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-0111.2017.01.005)

阿司匹林联合阿托伐他汀协同抑制非小细胞肺癌细胞增殖及其机制研究

Study on the synergistic effects of aspirin and atorvastatin on cell proliferation of non-small cell lung cancer cells

药学实践与服务. 2021, 39(1): 38-43 DOI: [10.12206/j.issn.1006-0111.202003191](https://doi.org/10.12206/j.issn.1006-0111.202003191)



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

去甲泽拉木醛的体外抗真菌作用研究

韩 蕾¹, 仲 华^{2,3}, 王欣荣², 王 彦^{1,2,3} (1. 福建中医药大学药学院, 福建 福州 350122; 2. 海军军医大学药理学系, 上海 200433; 3. 真菌感染性疾病教育部医药基础研究创新中心, 上海 200433)

[摘要] 目的 研究去甲泽拉木醛的体外抗真菌作用。方法 采用微量液基稀释法测定去甲泽拉木醛与氟康唑单独应用于23株真菌的最低抑菌浓度(MIC),以棋盘式微量液基稀释法测定两药联合抗耐药白念珠菌的协同指数(FICI),判断两药联合抗菌效果;并通过纸片扩散实验直观验证两药联合的协同作用。最后通过CCK-8法测定去甲泽拉木醛的细胞毒性。结果 去甲泽拉木醛单用时呈现广谱的抗真菌作用, MIC范围为4~32 g/L。两药联用时,可将氟康唑的有效浓度从大于64 g/L降至0.25 g/L, FICI值介于0.129~0.254之间,两药表现出协同抗耐药白念珠菌作用。CCK-8结果显示,去甲泽拉木醛在高于MIC值4倍浓度下才展示出细胞毒性。结论 去甲泽拉木醛表现出较好的抗真菌作用,与氟康唑联合时有很好的协同效果,且毒性较低。

[关键词] 白念珠菌; 去甲泽拉木醛; 氟康唑; 协同作用; 耐药

[文章编号] 2097-2024(2024)04-0151-06 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202310011

Study on antifungal effect of demethylzelamaldehyde *in vitro*

HAN Lei¹, ZHONG Hua^{2,3}, WANG Xinrong², WANG Yan^{1,2,3} (1. School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China; 2. School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China; 3. Innovation Center for Medical Basic Research on Fungal Infectious Diseases, Ministry of Education, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To study the antifungal effect of demethylzelamaldehyde *in vitro*. **Methods** The minimum inhibitory concentrations (MIC) of demethylzelamaldehyde and fluconazole against 23 fungal strains were determined by micro liquid dilution method. The synergistic index (FICI) of the two drugs was determined using a checkerboard micro liquid dilution method. The synergistic effect of the combination of the two drugs was visually verified by paper diffusion experiments. Finally, the cytotoxicity of demethylzelamaldehyde was determined by CCK-8 method. **Results** Demethylzelamaldehyde showed a broad spectrum of antifungal activity when used alone, with MICs ranging from 4 g/L to 32 g/L. When combined with fluconazole, the effective concentration of fluconazole could be reduced from over 64 g/L to 0.25 g/L, with FICI values ranging from 0.129 to 0.254, indicating the synergistic effect of the two drugs. The CCK-8 results showed that demethylzelamaldehyde exhibited cytotoxicity only at concentrations four times higher than the MIC value. **Conclusion** Demethylzelamaldehyde exhibited good antifungal effect and synergistic effect with fluconazole, and its toxicity was low.

[Key words] *Candida albicans*; demethylzelamaldehyde; fluconazole; synergistic effects; drug resistance

近年来,侵袭性真菌感染(IFD)的发病率和病死率逐年增高,临床上常见的侵袭性真菌主要有以念珠菌为主的酵母样真菌和以曲霉为主的丝状真菌。而念珠菌引起的IFD的总发病率达0.03%~0.50%,病死率可达35%~80%^[1],白念珠菌(*Candida albicans*)是侵袭性真菌感染中最常见的致病真菌,约占40.1%^[2]。尽管目前已研发出有效的抗真菌药

物可供临床治疗,但仍存在着耐药性、价格昂贵、毒性大等问题亟需解决^[3]。随着抗真菌药物经年累月使用,耐药性问题越发突出。唑类药物是临床常用的抗真菌药物,疗效好、毒性低,但因应用历史较长,临床上对其耐药的真菌越来越多^[4]。目前,临床可选择的药物数量有限,解决真菌对药物的耐药性问题便成为一个必须攻克的难关。联合用药是一种有效的克服药物耐药性的方法,两者的协同作用不仅可以克服药物的耐药性,还可以增强原有药物的抗真菌作用^[4]。

去甲泽拉木醛(DMZ)是从雷公藤根皮中提取的三萜类单体化合物,是雷公藤中含量较高的单体成分,其分子式是C₂₉H₃₆O₆(图1)。DMZ具有抗

[基金项目] 军队生物安全项目(20SWAQQ29-1-6, 145AHQ08 2021000X);国家自然科学基金(82204470)

[作者简介] 韩 蕾, 硕士研究生, Tel: 13917309698, Email: hanxiaohua1999@163.com

[通信作者] 王 彦, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 药理学, Email: wangyansmmu@126.com

炎、抗癌、免疫调节、抗生育、雌激素代谢调节等药理活性^[5], 但其在抗真菌方面的研究尚未见报道。本研究发现, DMZ 具有良好的广谱抗真菌活性, 并且与氟康唑联合使用具有协同抗耐药真菌作用。

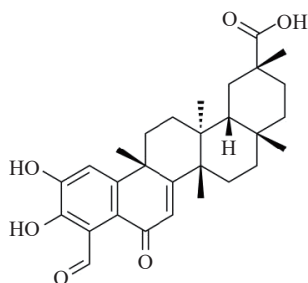


图1 DMZ 的化学结构

1 实验材料

1.1 实验菌株及细胞

白念珠菌实验株 SC5314 来自美国 Georgetown 大学。白念珠菌 (*C. albicans*) 临床株 103、7879、9161、10066、9296、10060、10061、7654、901、904、632, 耳念珠菌 (*Candida auris*) 0029, 克柔念珠菌 (*Candida krusei*) 62588、4996、10153, 热带念珠菌 (*Candida tropicalis*) 8915、409, 烟曲霉 (*Aspergillus fumigatus*) 7544, 近平滑念珠菌 (*Candida parapsilosis*) 22019、90018, 须毛癣菌 (*Trichophyton mentagrophytes*) T5a、T5b 由海军军医大学第二附属医院提供。小鼠胚胎成纤维细胞 (NIH/3T3) 来自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。

1.2 实验试剂

DMZ 购自陶术生物有限公司; 氟康唑 (FLC) 购自 Macklin 公司; 二甲基亚砜 (DMSO) 购自国药集团化学试剂有限公司。

1.3 培养基及其配制

YPD 培养液: 酵母浸膏 10.0 g, 蛋白胨 20.0 g, D-葡萄糖 20.0 g, 加超纯水 800 ml 溶解, 再以超纯水定容至 1 000 ml, 经高压蒸汽灭菌 (121°C, 15 min), 自然冷却至室温后于 4°C 保存备用。

PBS 缓冲溶液: NaCl 8.0 g, Na₂HPO₄·12H₂O 3.57 g, KCl 0.2 g, KH₂PO₄ 0.24 g, 用三蒸水溶解并定容至 1 000 ml, 高温高压灭菌 (121°C, 15 min) 后室温保存。

RPMI 1640 培养基: RPMI 1640 (Gibco BRL) 10.0 g, NaHCO₃ 2.0 g, 3-吗啉丙磺酸 (MOPS) 34.5 g, NaOH 2.7 g, 以超纯水定容至 1 000 ml, 经 0.22 μm 微孔滤膜抽滤灭菌后于 4°C 保存备用。

含药 SDA 培养基: 蛋白胨 10 g, D-葡萄糖 40 g, 琼脂 20 g, 加超纯水 800 ml 溶解, 调整 PH 为 7.0, 以超纯水定容至 1 000 ml, 高压蒸汽灭菌 (121 °C, 15 min)。待冷却至 50 ~ 55 °C, 将适当药物溶液加入液体状态的 SDA 培养液中, 混合均匀, 分倒入 9 mm 细菌培养皿中, 自然冷却凝固后于 4 °C 保存备用。

DMEM 完全培养基: 45 ml DMEM 高糖培养基中加入 5 ml 小牛血清, 充分混匀后置于 4 °C 保存。

1.4 仪器

生物安全柜 (BSC-1004II A2, 苏州安泰空气技术有限公司); 生物显微镜 (LW100T, 北京测维光电技术有限公司); 霉菌培养箱 (MJ-150-I, 上海一恒科学仪器有限公司); 酶标仪 (Thermo Multiskan FC, 赛默飞世尔上海仪器有限公司)。

2 实验方法

2.1 待测菌株的活化及菌悬液的配制

于 -80°C 低温保存箱中取出冻存的待测菌株, 吸取 10 μl 菌液加入装有 1 ml YPD 培养液的 15 ml 玻璃摇菌管中, 置于 30°C 气浴恒温振荡培养箱中, 200 r/min 振荡培养。24 h 后从 YPD 菌悬液中吸取 10 μl 加入到新的 1 ml YPD 培养液中, 继续 30°C 振荡培养 16 h, 活化完成, 此时的真菌即处于指数生长末期。

取处于指数生长末期的待测菌株置于 1.5 ml 离心管中, 离心 (3 000 r/min, 1 min), 吸弃上清液, 用 1 ml PBS 缓冲溶液洗涤菌株, 离心 (3 000 r/min, 1 min), 吸弃上清液, 重复洗涤 3 次。取 10 μl 真菌原液稀释 100 倍后, 使用血细胞计数板于生物显微镜下计数, 计算出真菌原液的菌浓度, 然后用 RPMI 1640 培养液稀释配制成实验所需浓度的菌悬液。

2.2 微量液基稀释法测定最低抑菌浓度 (MIC)

根据 CLSI 出版的微量液基稀释法实验手册 M27-A3 所推荐的标准实验方法来测定^[6]。取处于指数生长末期的待测菌株, 用 RPMI 1640 培养基稀释配置成 1×10³ CFU/ml 的菌悬液。取 96 孔细胞培养板, 于第 1 列加入 100 μl RPMI 1640 培养基作为空白对照; 第 2 列加入 200 μl 菌液, 3 ~ 12 列加入 100 μl 菌液, 于第 2 列每孔分别加入 6.4 μl 药液, 依次 2 倍倍比稀释至 11 列, 最高药物浓度为 64 g/L, 12 号孔菌液作为生长对照。96 孔板置于 30°C 恒温培养箱中静置培养 (白念珠菌 24 h, 烟曲霉 48 h), 之后用酶标仪测定 630 nm 处 A 值。与生长对照孔比较, 抑制 80% 以上真菌生长对应的最低药物浓度即为 MIC₈₀。实验至少重复 3 次, 取较

为稳定的结果作为最终的测定结果。

2.3 棋盘式微量液基稀释法考察两药合用的协同效果

取处于指数生长末期的待测菌株,用RPMI 1640培养基稀释配置成 1×10^3 CFU/ml的菌悬液。将配制好的菌悬液涡旋均匀后,转移至6孔细胞培养板中,第1孔加入2.6 ml,第2~6孔每孔加入1.3 ml。取83.2 μ l待测化合物溶液加入第1孔中使其终浓度为64 g/L,依次进行倍半稀释,使得第1~6孔中的化合物终浓度分别为64、32、16、8、4、2 g/L。将在6孔细胞培养板中配制好的含药菌悬液按化合物浓度从高到低(64 \rightarrow 2 g/L)依次对应转移至96孔细胞培养板的A~F行中,第1列每孔加入200 μ l,第2~10列每孔加入100 μ l。第11列的A11~F11孔和第G行的G1~G10孔中加入未加药的空白菌悬液100 μ l/孔。将配制好的FLC溶液分别加入第1列的A1~G1孔中,每孔加入6.4 μ l使其终浓度为64 g/L。各列从左到右依次进行倍半稀释,使得第1~9列的FLC终浓度分别为64 \rightarrow 0.25 g/L。96孔细胞培养板第11列的A11~F11孔中为未加任何药物作用的菌悬液,作为阴性对照组。第12列和H行各孔中分别加入100 μ l的RPMI 1640培养液,作为空白对照组。将96孔细胞培养板置于30 $^{\circ}$ C恒温培养箱中静置培养,48 h后使用酶标仪测定每孔真菌在630 nm处的光密度值 A_{630} 。以阴性对照组的 A_{630} 值为100%,利用公式计算协同指数FICI。FICI的计算公式为: $FICI = \frac{MIC_{80} \text{ 化合物(联用)}}{MIC_{80} \text{ 化合物(单用)} + \frac{MIC_{80} \text{ FLC(联用)}}{MIC_{80} \text{ FLC(单用)}}$

2.4 纸片扩散实验

取已洗涤的待测真菌,用PBS缓冲溶液稀释配制成实验所需浓度(1×10^6 CFU/ml)的菌悬液,吸取100 μ l均匀涂布于含药的SDA培养基中(考察协同作用时培养基中应加入适宜浓度的DMZ)。在培养基中等距放置7枚灭菌纸片,向纸片中滴加药液,使纸片载药量分别为0、2、4、8、16、32 μ g(载药量视实验情况而定),置于30 $^{\circ}$ C恒温培养箱中静置培养48 h,观察真菌生长情况并拍照记录^[7]。

2.5 CCK-8法考察药物的细胞毒性

取小鼠胚胎成纤维细胞(NIH/3T3),胰酶消化后,离心收集细胞并用DMEM完全培养基重悬。血细胞计数板计数后调整细胞密度至 5×10^4 个/ml。取96孔板划分出实验区、对照区、无细胞区。实验区、对照区每孔加入100 μ l细胞液,无细胞区加100 μ l DMEM完全培养基,注意尽量使孔内细胞分

布均匀。细胞于37 $^{\circ}$ C培养箱中贴壁过夜。第2天,取无菌EP管,用DMEM完全培养基对待测药物进行倍比稀释,随后取出96孔板,吸弃培养基。每孔加100 μ l含不同浓度药物的DMEM完全培养基,37 $^{\circ}$ C继续孵育24 h。取出96孔板,吸弃培养基,每孔加110 μ l含CCK-8的DMEM完全培养基(CCK-8:DMEM完全培养基=1:10),37 $^{\circ}$ C孵育2 h。测量各孔的 A_{450} 。处理结果时用实验区、对照区A值减去无细胞区的A值,以对照区细胞活力为1.0,计算各组细胞活力。重复3次实验,用GraphPad作图并统计分析。

3 实验结果

3.1 DMZ的抗菌谱

测定DMZ对临床中常见的病原真菌的抗菌活性,共计23株。实验结果显示,DMZ对所试真菌都有一定的抑制效果(表1)。对白念珠菌(含11株

表1 DMZ与FLC单独应用于23株真菌的MIC值

菌种	菌株	MIC ₈₀ (g/L)	
		FLC	DMZ
白念珠菌	FLC敏感菌株		
	SC5314	0.25	8
	7654	0.25	4
	103	2	16
	9161	0.25	4
	10066	2	8
	10060	0.25	4
	10061	0.25	4
	7879	1	8
	9296	0.25	8
	FLC耐药菌株		
	901	64	8
	904	64	8
	632	64	8
耳念珠菌	0029	64	32
热带念珠菌	8915	16	8
	409	1	16
烟曲霉	7544	64	32
近平滑念珠菌	22019	2	4
	90018	1	8
克柔念珠菌	4996	16	8
	62588	16	8
	10153	32	2
须毛癣菌	T5b	32	2
	T5a	32	2

临床株)的MIC范围为4~16 g/L,值得注意的是,其中有3株临床菌对FLC显示出较强的耐药性(901、904、632),DMZ对它们的MIC稳定在8 g/L,表现出与敏感菌类似的抗菌活性。对FLC天然耐药的耳念珠菌与克柔念珠菌,DMZ也表现出较好的抗真菌活性,MIC分别为32 g/L、2~8 g/L。对其他的念珠菌如热带念珠菌、近平滑念珠菌也有较强的抗菌活性,MIC为4~16 g/L,对丝状菌如烟曲霉菌、须毛癣菌有较好的抗菌活性,MIC分别为32 g/L和2 g/L。以上结果表明,DMZ对常见的病原真菌均表现出较好的抗菌活性,抗菌谱较广。

3.2 DMZ与FLC协同抗耐药白念珠菌作用

选取3株对FLC耐药的白念珠菌901、904和632,采用棋盘微量液基稀释法考察DMZ与FLC联合使用是否存在协同作用。结果显示,在与2 g/L DMZ联合使用的情况下,FLC对上述3株耐药菌的有效浓度从64 g/L降低至0.25 g/L(表2),

是原抗菌浓度的1/256,两药联合使用的FICI为0.129~0.254,表明DMZ与FLC具有较强的协同抗耐药菌作用。

表2 DMZ与FLC的协同抗氟康唑耐药白念珠菌的作用

菌株	MIC ₈₀ (g/L)				协同指数
	单用FLC	单用DMZ	联用FLC	联用DMZ	
901	64	8	0.25	2	0.129
904	64	16	0.25	2	0.254
632	64	8	0.25	2	0.254

应用琼脂平板扩散实验更直观地验证了DMZ与FLC的协同抗真菌作用。结果显示,在单用DMZ的情况下,不同浓度的DMZ均产生了明显的抑菌圈,但抑菌圈直径的大小并没有显示出剂量依赖性;单用FLC能产生较大的抑菌圈,但抑菌作用较弱,抑菌圈内部仍有少量真菌菌落生长(图2A)。进一步用抑菌圈实验验证两药联用对耐药菌的抗

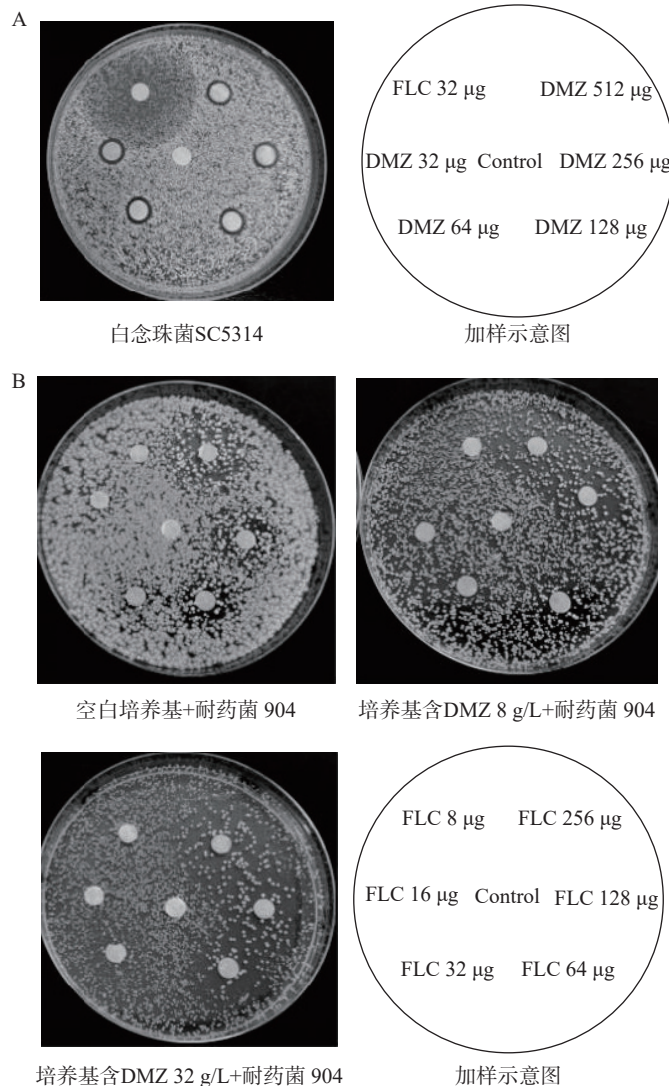


图2 单用DMZ对白念珠菌SC5314的抑菌作用以及DMZ与FLC联用对耐药菌904的抑菌作用

真菌效果。结果显示,在含有一定浓度 DMZ 的琼脂中,真菌长得稀薄,DMZ 的浓度越高,真菌长得越稀薄,表现出剂量依赖性。在含有不同浓度 FLC 的纸片周围都出现了直径较大的抑菌圈(图 2B),抑菌圈的大小与 FLC 的含量呈现出明显的剂量依赖关系。上述实验结果表明,DMZ 与 FLC 联合使用具有协同抗耐药菌的作用。

3.3 DMZ 的细胞毒性

利用 CCK-8 法考察 DMZ 对小鼠胚胎成纤维细胞的毒性。CCK-8 试剂中含有 WST-8,在电子载体的作用下被细胞中的脱氢酶还原为具有高度水溶性的黄色甲瓞产物,生成的甲瓞物的数量与活细胞的数量成正比。因此,可利用这一特性考察 DMZ 对哺乳动物细胞的毒性。结果显示,当 DMZ 浓度为 32 g/L 时,小鼠胚胎成纤维细胞的存活率下降到 54%,显示出一定毒性,而低于 32 g/L 时 DMZ 的毒性较低,没有表现出显著的细胞毒作用(图 3)。实验结果通过单因素方差分析(ANOVA),然后进行事后 Dunnett-*t* 检验,标准偏差基于 3 次独立实验。

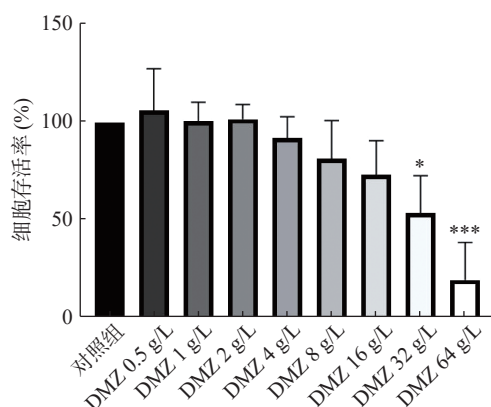


图 3 DMZ 对小鼠成纤维细胞的细胞毒性
* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, 与对照组比较。

4 讨论

中药作为我国传统药物,在抗真菌病方面有极佳的待研发前景,从中草药中提取出疗效佳、毒副作用小、不易耐药、价格低廉的新型抗真菌药物已成为目前的研究热点^[8]。DMZ 是从雷公藤树皮中分离提取的酚性去甲基三萜化合物,是雷公藤中含量较高的单体,是一种结构明确、易分离的天然产物^[9]。本研究考察了 DMZ 的抗真菌作用和协同 FLC 抗真菌的作用。

IFD 每年的发病率为每 6 万人中约有 100 例^[10]。侵袭性念珠菌感染(IC)在 IFD 中占主要地位,约有 80% 的 IFD 是 IC 引起的^[11]。其中,白念珠菌是

导致 IC 的最主要的念珠菌种类^[12],但近年来,其他念珠菌的占比在逐渐升高^[13]。DMZ 的抗菌谱很广,对常见的念珠菌如白念珠菌、热带念珠菌、近平滑念珠菌、克柔念珠菌等均有较好的抗菌活性, MIC 在 2 ~ 16 g/L,对其他 IFD 中常见的病原菌如烟曲霉菌也有很好的抗菌活性。耳念珠菌是近年来新兴的一种念珠菌,因其多重耐药性而受到关注,又被称为“超级真菌”,不到 10 年的时间里已在全球范围内传播,且发病率、病死率高^[14]。有研究表明^[15],耳念珠菌中有高达 90% 的分离株对氟康唑产生耐药。DMZ 对耳念珠菌也有一定的抗菌活性(MIC 值为 32 g/L),为研发抗耳念珠菌的药物提供了新的选择。

FLC 是一种典型的唑类抗真菌药物,已在临床上使用近 30 年。鉴于 FLC 的抗真菌作用强且安全性高,长期以来都是一线抗真菌药物。然而,唑类药物的广泛使用导致了真菌对其有严重的耐药性,从而降低了治疗效果。其耐药机制主要包括:药物靶点的突变、甾醇生物合成途径的变化以及转录因子的功能突变导致麦角甾醇生物合成基因和多药外排泵的组成性上调等^[16]。DMZ 对氟康唑耐药的念珠菌有类似于敏感菌的抗菌活性,这表明 DMZ 的抗菌作用机制可能与 FLC 不同,有潜力用于抗耐药真菌。已有研究报道,DMZ 通过激活外源性细胞凋亡在体外抑制癌细胞的细胞生长,并降低了癌细胞中的线粒体膜电位^[17],这将为 DMZ 的抗真菌机制提供研究方向。

药物联合使用是应对耐药菌的一种常用策略。DMZ 与 FLC 具有较强的协同抗菌效果,能有效抑制耐药菌的生长。两药联用可以将 FLC 的有效浓度降低数百倍,DMZ 的疗效也增加数倍。细胞毒性实验结果表明,DMZ 在抗真菌作用浓度范围时(特别是与 FLC 联合使用时),毒性相对较低。两药联合使用时,DMZ 起效浓度仅有细胞毒浓度的几十分之一。在增加药物疗效的同时,降低了药物用量,从而减少了毒副作用。另外,DMZ 与 FLC 作为两种不同作用机制的抗真菌药物联合使用,还能起到预防真菌耐药的作用。总之,DMZ 作为一种广谱、高效的抗真菌天然产物,具有较强的与 FLC 协同抗真菌能力,有潜力成为抗真菌候选先导化合物。同时,还有潜力成为一种增效剂,与 FLC 联合使用应对耐药真菌。

【参考文献】

[1] CHEN M, XU Y, HONG N, et al. Epidemiology of fungal

- infections in China[J]. *Front Med*, 2018, 12(1): 58-75.
- [2] MCCARTY T P, WHITE C M, PAPPAS P G. Candidemia and invasive candidiasis[J]. *Infect Dis Clin N Am*, 2021, 35(2): 389-413.
- [3] PEREIRA R, SANTOS FONTENELLE R O, BRITO E H S, et al. Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance[J]. *J Appl Microbiol*, 2021, 131(1): 11-22.
- [4] 杨偲睿, 任彪, 彭显, 等. 药物联用逆转白色念珠菌唑类耐药机制的研究进展 [J]. *国际口腔医学杂志*, 2022, 49(5): 511-520.
- [5] BAI J P, SHI Y L, FANG X, et al. Effects of demethylzeylasteral and celastrol on spermatogenic cell Ca^{2+} channels and progesterone-induced sperm acrosome reaction[J]. *Eur J Pharmacol*, 2003, 464(1): 9-15.
- [6] PFALLER M A, BOYKEN L B, HOLLIS R J, et al. Validation of 24-hour fluconazole MIC readings versus the CLSI 48-hour broth microdilution reference method: results from a global *Candida* antifungal surveillance program[J]. *J Clin Microbiol*, 2008, 46(11): 3585-3590.
- [7] AHSAN H, REAGAN-SHAW S, BREUR J, et al. Sanguinarine induces apoptosis of human pancreatic carcinoma AsPC-1 and B_xPC-3 cells via modulations in Bcl-2 family proteins[J]. *Cancer Lett*, 2007, 249(2): 198-208.
- [8] 夏雅静. 我国中草药抗真菌的回顾性分析和研究方向的探讨 [D]. 昆明: 昆明医科大学, 2019.
- [9] 路璐. 创新药物去甲泽拉木醛质量控制和稳定性研究 [D]. 上海: 复旦大学, 2012.
- [10] VON LILIENFELD-TOAL M, WAGENER J, EINSELE H, et al. Invasive fungal infection[J]. *Deutsches Ärzteblatt Int*, 2019, 116(16): 271-278.
- [11] BASSETTI M, GARNACHO-MONTERO J, CALANDRA T, et al. Intensive care medicine research agenda on invasive fungal infection in critically ill patients[J]. *Intensive Care Med*, 2017, 43(9): 1225-1238.
- [12] ARMSTRONG-JAMES D, BROWN G D, NETEA M G, et al. Immunotherapeutic approaches to treatment of fungal diseases[J]. *Lancet Infect Dis*, 2017, 17(12): e393-e402.
- [13] BORMAN A M, SZEKELY A, JOHNSON E M. Comparative pathogenicity of United Kingdom isolates of the emerging pathogen *Candida auris* and other key pathogenic *Candida* species[J]. *mSphere*, 2016, 1(4): e00189-16.
- [14] BING J, HU T R, ZHENG Q S, et al. Experimental evolution identifies adaptive aneuploidy as a mechanism of fluconazole resistance in *Candida auris*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2020, 65(1): e01466-e01420.
- [15] SHAHI G, KUMAR M, SKWARECKI A S, et al. Fluconazole resistant *Candida auris* clinical isolates have increased levels of cell wall chitin and increased susceptibility to a glucosamine-6-phosphate synthase inhibitor[J]. *Cell Surf*, 2022, 8: 100076.
- [16] MORSCHHÄUSER J. The development of fluconazole resistance in *Candida albicans* - an example of microevolution of a fungal pathogen[J]. *J Microbiol*, 2016, 54(3): 192-201.
- [17] YANG Y, ZHAO M, HU T, et al. Identification of an antitumor effect of demethylzeylasteral on human gastric cancer cells[J]. *Oncol Lett*, 2021, 21(1): 49.
- [收稿日期] 2023-10-10 [修回日期] 2024-02-20
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 150 页)

- [8] PRILLAMAN M. Four key questions on the new wave of anti-obesity drugs[J]. *Nature*, 2023, 620(7972): 28-30.
- [9] SUN Y, YANG Y L, QIN Z, et al. The acute-phase protein orosomucoid regulates food intake and energy homeostasis via leptin receptor signaling pathway[J]. *Diabetes*, 2016, 65(6): 1630-1641.
- [10] European Medicines Agency, ICH guideline M3(R2) on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals[S/OL]. 2013, <https://www.ema.europa.eu/en/ich-m3-r2-non-clinical-safety-studies-conduct-human-clinical-trials-pharmaceuticals-scientific-current-effective-version-section>.
- [11] 食品药品监管总局. 药物遗传毒性研究技术指导原则 [EB/OL]. (2018.03.15) [2023-08]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/gggtg/ypggtg/ypqgtg/20180315160901208.html>.
- [12] FAQI A S. Introduction[M]. *A Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development*. Amsterdam: Elsevier, 2017: 1-4.
- [13] PROUDLOCK R. Genetic Toxicology testing A laboratory manual [M]. Amsterdam: Elsevier, 2013.
- [收稿日期] 2023-08-28 [修回日期] 2024-02-04
[本文编辑] 李睿旻