

吡喃鎓衍生物N2的体外抗真菌活性研究

邓忠宇, 郭士瑾, 郭熠凡, 冯峻程, 吕权真, 邱丽娟

Investigation on the antifungal activity of pyranium derivatives N2

DENG Zhongyu, GUO Shijin, GUO Yifan, FENG Juncheng, LV Quanzhen, QIU Lijuan

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202305035>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

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

新型氮唑类化合物的合成及抗真菌活性研究

Synthesis and antifungal activity of the novel azole compounds

药学实践与服务. 2017, 35(1): 22-25,59 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.01.006

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

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 Cu²⁺ 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

中国西沙群岛沐浴海绵的化学成分研究

Chemical constituents from *Spongia* sp., a marine sponge in Xisha Islands

药学实践与服务. 2017, 35(4): 315-320,382 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.04.007

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 synergetic 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



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

吡喃鎓衍生物 N2 的体外抗真菌活性研究

邓忠宇^a, 郭士瑾^a, 郭熠凡^a, 冯峻程^a, 吕权真^b, 邱丽娟^a (海军军医大学: a. 基础医学院; b. 药理学系, 上海 200433)

[摘要] 目的 研究 N2 系列化合物的抗真菌作用。方法 利用微量液基稀释法考察化合物 N2 系列化合物的体外抗真菌活性; 在菌丝和被膜诱导条件下考察 N2 化合物对白念珠菌菌丝和被膜形成的抑制效果。结果 N2 化合物对临床常见条件致病真菌白念珠菌有明显抗真菌活性; N2 化合物可以明显抑制白念珠菌菌丝生长和被膜的形成; N2 化合物可以通过损伤白念珠菌细胞膜和细胞壁发挥杀菌作用。结论 N2 化合物具有较为广泛的抗真菌谱, 能起到明显的体外抗真菌效果, 对真菌菌丝和生物被膜的形成均有明显的抑制作用, 可以认为 N2 化合物具有抗真菌潜力, 可作为先导化合物, 指导进一步改造。筛选获得了具有抗真菌活性的 N2 化合物, 为抗真菌药物研发和解决真菌耐药问题提供新思路。

[关键词] N2 化合物; 抗真菌活性; 白念珠菌; 菌丝形成

[文章编号] 2097-2024(2023)10-0610-06

[DOI] 10.12206/j.issn.2097-2024.202305035

Investigation on the antifungal activity of pyranium derivatives N2

DENG Zhongyu^a, GUO Shijin^a, GUO Yifan^a, FENG Juncheng^a, LV Quanzhen^b, QIU Lijuan^a (a. Basic Medicine School; b. School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To study the antifungal activity of N2 derivatives. **Methods** The anti-fungal activity of N2 compounds was investigated by micro-liquid dilution. Then the activity of N2 compounds on hyphal and biofilm formation was investigated. **Results** N2 compounds had significant antifungal activity against *Candida albicans*. It also expressed actively inhibitory effect on hyphal and biofilm formation. The mechanism of its fungicidal function was to damage the structure of *Candida albicans*' cell membrane and cell wall. **Conclusion** The results showed that N2 had obvious antifungal activity against *Candida albicans*, which provided a new idea for the development of antifungal drugs and the solution of antifungal drugs resistance.

[Key words] N2 compound; antifungal activity; *Candida albicans*; hyphae formation

随着唑类抗真菌药物的长期广泛使用, 真菌耐药的问题更加凸显^[1]。目前, 临床上从患者体内分离出的真菌以念珠菌为主, 而其中白念珠菌占比 40% 以上^[2]。然而, 抗真菌药物极为有限, 迫切需要研发新的抗真菌药物。

近年来, 靶向于真菌线粒体的药物是抗真菌药物研究的重要方向, 如正在开展临床研究的 F901318、聚酮类化合物 Ilicicolin-H 等^[3-4]。课题组前期在靶向线粒体的药物研究中发现, 亲脂性吡喃鎓盐可以破坏白念珠菌的线粒体功能, 发挥抗真菌作用, 其中带正电荷的吡喃鎓结构是其抗真菌活性的关键^[5-6]。为了进一步筛选通过阳离子靶向线粒体的新骨架类型的化合物, 我们从国外 ChemDiv 化合物库, 筛选了具有吡喃鎓结构的化合物, 考察其抗真菌活性。其中 N1 ~ N9 是已知化合物, 但此

前并未有该类化合物应用于抗真菌领域的相关报道。本文通过研究其体外抗真菌效果, 探讨其作为抗真菌先导化合物。

1 仪器和材料

1.1 仪器

洁净工作台 [HPeafe-1200LC(A2) 上海力申科学仪器有限公司]; 振荡培养箱 (HZ-2111K-B 江苏太仓市实验设备厂); 微量加样器 (Biohit); 小型冷冻离心机 (HitachiCT15RE); 蒸汽灭菌锅 (KG-SX500 KAGOSHIMA SELSAKUSYO, Japan); 多功能酶标仪 (TECAN Infinite M200); 倒置相差显微镜 (Amersham Pharmacia AMG EVOS×1); 紫外分光光度计 (Amersham Biosciences Mltrospec10)。

1.2 材料

白念珠菌标准菌株 SC5314 由美国 Georgetown 大学 William A Fonzi 教授赠送, 临床分离的 10 株氟康唑耐药的白念珠菌 (103、538、876、311、911、849、100、32、1010)、隐球菌 2 株、光滑念珠菌

[基金项目] 海军军医大学大学生创新能力培养基金

[作者简介] 邓忠宇, 本科生, Email: 2463594426@qq.com

[通信作者] 邱丽娟, 硕士, 实验师, 研究方向: 药理学研究, Email: qiulijuan@smmu.edu.cn

1株、热带念珠菌1株、近平滑念珠菌1株、克柔念珠菌1株,来自海军军医大学附属长征医院、长海医院皮肤科并经生化和形态学鉴定,N1-N9化合物购自 ChemDiv, Inc, 二甲基亚砜(DMSO)购自博光生物试剂有限公司,酵母提取物、甘露醇、营养肉汤购自 BD 公司,蛋白胨、葡萄糖、琼脂购自上海生工生物技术有限公司,RPMI1640 购自 Gibco 公司,氟康唑购自阿拉丁试剂有限公司。

2 方法

2.1 微量稀释法筛选 N 系列化合物对氟康唑耐药白念珠菌 103、538 的抗菌活性

将保存在 SDA 固体培养皿的白念珠菌单克隆菌株转接到 1 ml YEPD 培养基, 30 °C、200 r/min, 培养过夜,使真菌菌株处于指数生长平台期。①洗菌:将活化好的菌株转移到 1.5 ml 离心管中,用无菌 PBS 缓冲液洗 3 次,再用 1 ml PBS 重悬。②调节浓度:用 RPMI 1640 稀释菌液至终浓度为 $(1 \sim 5) \times 10^3$ CFU/ml。③制备药敏实验板:取 96 孔板,第 1 列加入 100 μ l RPMI 1640 液体培养基做空白对照;第 12 列加入 100 μ l 上述菌液做阳性对照;第 2 ~ 11 列采用倍比稀释的方法制成不同梯度的加药处理菌液,于 30 °C 恒温培养过夜,用酶标仪在 $\lambda=630$ nm 测吸光度(A_{630})值,使 A 值下降 80% 以上的对应的药物浓度为 MIC_{80} 值^[7]。

2.2 微量液稀释法测定 N2 化合物对临床常见致病菌的抗真菌谱

在 N 系列化合物中筛选活性较强的化合物 N2 进行进一步的抗真菌谱测定。菌株活化、菌液浓度调节、药敏反应板制备、测定 A 值 (600 nm) 值同上,更换实验室常用的菌株,测定化合物 N2 对多种真菌的作用,重复上述实验步骤进行实验。

2.3 纸片扩散实验对比 N2 化合物与氟康唑的药效

稀释菌液至 1×10^6 CFU/ml, 均匀涂布于 2 个 SDA 固体培养基上并在 2 块培养基上分别放置 5 片小圆纸片。取一块培养基,在 5 片纸片上分别滴加 0、0.25、0.5、1、2 μ g N2 化合物,另一块按相同方式滴加等量氟康唑。于恒温箱中 30 °C 培养 24 h 后观察并记录 2 块培养皿上的抑菌圈大小及形态。

2.4 时间-生长曲线和时间-杀菌曲线测定

生长曲线测定:菌株活化、洗菌步骤同前所述,用 YPD 培养基稀释菌液至 1×10^6 CFU /ml ($A_{630}=0.01$)。取 3 支摇菌管加入相同起始菌液量,并对各管进行加药处理,使 3 支摇菌管中 N2 浓度分别

为 0、2、4 μ g/ml。30 °C、200 r/min 振荡培养。分别在 0、3、6、9、12、24 h 测定各管菌液的 A 值 (630 nm)。以 A 值 (630 nm) 值对时间做时间-生长曲线^[8]。

杀菌曲线测定:菌株活化、洗菌步骤同前所述,用 RPMI 1640 培养基稀释菌液至 1×10^3 CFU /ml。取 4 支摇菌管,各加入 1 ml 菌液和一定浓度的 N2 化合物,使 4 支摇菌管的药物浓度分别为 0、2、4、8 μ g/ml。30 °C、200 r/min 振荡培养。分别在 0、3、6、9、12、24 h 取 100 μ l 菌液,用无菌 PBS 以 10 倍浓度梯度稀释,各取 100 μ l 涂于 SDA 固体培养基表面,30 °C 静置培养 24 h ~ 48 h 后统计培养基内的菌落克隆数。以 lgCFU/ml 对时间做时间-杀菌曲线^[9]。

2.5 对白念珠菌菌丝和被膜形成能力的影响

N2 化合物对于白念珠菌菌丝形成诱导影响:过夜活化的白念珠菌 SC5314 分别用 Spider 培养液和 RPMI 1640 培养液稀释至菌浓度为 5×10^5 CFU/ml, 分别加药使 N2 终浓度为 0.5、0.25、0.125 μ g/ml。空白对照加入同体积的 DMSO,充分混匀,转移至 12 孔板中,37 °C,静置培养 3 h,倒置显微镜观察菌丝形态。

XTT 法测定 N2 化合物抗生物被膜形成实验:活化白念珠菌 SC5314,离心后去除培养基,用无菌 PBS 洗菌 3 次,然后用 RPMI 1640 液体培养基稀释菌液至 1×10^6 CFU/ml。取 TC 处理的 96 孔板制备反应板,37 °C 恒温培养培养 30 min,使细胞沉降黏附在孔板底面。然后吸弃上清,用 PBS 缓冲液洗涤 3 次。在处理完成的 96 孔板第一列加入 RPMI 1640 培养基,第 12 列加入菌液,第 2 ~ 11 列每 2 列为一组,分别加入一定量的 N2 化合物使其浓度为 32、16、8、4、2 μ g/ml。将 96 孔板置于恒温培养箱中 37 °C 静置培养 24 h,随后吸弃上清液并用 PBS 洗涤 3 次。之后每孔加入 200 μ l XTT/Menadione 溶液,37 °C 避光孵育 3 h。每孔吸取 100 μ l 上层液体并转移到另一块 96 孔板对应的位置,用酶标仪测定各孔 A 值 (490 nm)^[10-11]。

2.6 透射电镜观察 N2 化合物对白念珠菌细胞膜和细胞壁的影响

为进一步明确 N2 化合物对白念珠菌细胞壁和细胞膜的影响,研究设置了 2 组白念珠菌。一组用 2 μ g/ml 的 N2 化合物处理,另一组不进行加药处理,作为对照。处理 16 h 后用 2% 的戊二醛固定,随后采用透射电镜详细观察 2 组白念珠菌的形态结构。

3 结果

3.1 N2、N6和N8化合物具有明显的体外抗氟康唑耐药白念珠菌的活性

在RPMI 1640培养液中,采用临床分离的氟康唑耐药白念珠菌103和538(氟康唑单用时, $MIC_{80} > 32 \mu\text{g/ml}$),考察N系列化合物的抗真菌活性。通

过对N系列化合物9种衍生物的体外抗真菌活性研究发现,N系列化合物中N2、N6和N8单用对白念珠菌均有一定的抗真菌活性,而N2化合物的MIC最低,为 $0.5 \mu\text{g/ml}$ 和 $1 \mu\text{g/ml}$,抗真菌作用显著,这些结果表明吡啶鎓类化合物具有体外抗真菌活性,后续可以通过结构改造进一步获得活性更高的类似物开展深入研究。结果见表1。

表1 N系列化合物对氟康唑耐药白念珠菌103和538的 MIC_{80} 值

化合物	结构式	白念珠菌103 MIC_{80} ($\mu\text{g/ml}$)	白念珠菌538 MIC_{80} ($\mu\text{g/ml}$)
N1		>16	>16
N2		0.5	1
N3		>16	16
N4		>16	>16
N5		>16	>16
N6		8	8
N7		>16	>16
N8		16	8
N9		>16	>16

3.2 N2化合物对临床常见致病菌有明显的抗菌活性 通过对N1-N9化合物的初步筛选,发现N2的

抗真菌活性最强。因此,我们选定N2进行了抗真菌谱的考察。为探究临床常见致病真菌对N2化合

物的敏感性, 选用国际标准菌 *C. albicans* SC 5314 以及 9 种氟康唑耐药的白念珠菌 (*C. albicans* 876、*C. albicans* 311、*C. albicans* 538、*C. albicans* 103、*C. albicans* 911、*C. albicans* 849、*C. albicans* 100、*C. albicans* 32、*C. albicans* 1010)、隐球菌(*Cryptococcus* H99、*Cryptococcus* 32609)、光滑念珠菌 *C. glabrata* 537、热带念珠菌 *C. tropicalis* 293、近平滑念珠菌 *C. parapsilosis* 22019、克柔念珠菌 *C. krusei* 463, 用微量液基稀释法测定了这些菌株对应的 MIC₈₀ 值。通过不同菌株对应的 MIC₈₀ 值可以发现, N2 化合物对这些临床上常见的致病真菌均起到了明显的抑制作用, 结果见表 2, 这些结果表明吡啶鎓类化合物 N2 具有广谱的抗真菌活性, 对于临床常见的具有致病性的酵母菌均有较强的体外抗真菌活性。

表 2 N2 化合物处理后菌株对应 MIC₈₀ 值

菌株名称	N2 MIC ₈₀ (μg/ml)
<i>C. albicans</i> SC5314	0.5
<i>C. albicans</i> 876	1.0
<i>C. albicans</i> 311	0.5
<i>C. albicans</i> 538	1.0
<i>C. albicans</i> 103	0.5
<i>C. albicans</i> 911	0.5
<i>C. albicans</i> 849	1.0
<i>C. albicans</i> 100	1.0
<i>C. albicans</i> 32	0.5
<i>C. albicans</i> 1010	1.0
<i>Cryptococcus</i> H99	1.0
<i>Cryptococcus</i> 30609	2.0
<i>C. glabrata</i> 537	0.5
<i>C. tropicalis</i> 293	0.5
<i>C. parapsilosis</i> 22019	0.5
<i>C. krusei</i> 463	2.0

3.3 N2 体外抗菌效果优于氟康唑

通过纸片扩散法, 我们以氟康唑为对照探究了 N2 化合物的抑菌效果。结果显示, 相同剂量下, N2 化合物和氟康唑均可在培养皿上形成圆形抑菌圈, 直径随药量增加而增大。N2 化合物处理组抑菌圈内无散在菌落, 边界清晰, 在培养皿上形成的抑菌圈直径明显大于氟康唑处理组。据此, 我们可以认为 N2 化合物体外抑菌效果优于氟康唑。N2 化合物处理组内部无克隆生长提示 N2 化合物可能具有一定的杀菌能力而不仅仅是抑制作用, 结果如图 1。

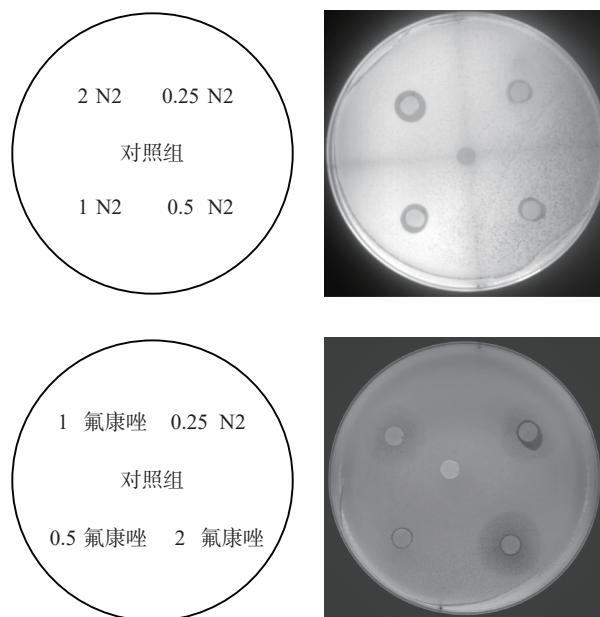


图 1 纸片扩散法抑菌实验单位 (m/μg)

3.4 N2 可以显著抑制白念珠菌的生长增殖并具有一定的杀菌活性

为了进一步考察 N2 对白念珠菌的抑制作用, 测定了 N2 抑制白念珠菌的时间-生长曲线。A 值 (600 nm) 反映了白念珠菌的生长情况, 通过不同时间点的测定发现, 浓度为 2 μg/ml 时, N2 对白念珠菌的生长增殖有明显的抑制作用 ($P < 0.05$), 白念珠菌在 12 h 内, A 值 (600 nm) 的值几乎没有升高, 而在 24 h 时, A 值 (600 nm) 的值仍显著低于未加药组。当 N2 的浓度增加至 4 μg/ml 时, 白念珠菌在 24 h 内几乎不能增殖, A 值 (600 nm) 与起始的测定值相当, 结果如图 2。上述结果表明, 化合物 N2 具有明显的抑制真菌增殖的作用。

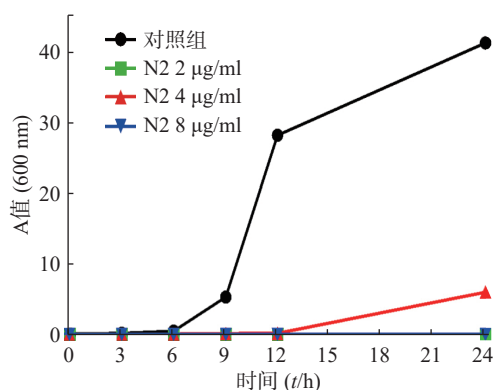


图 2 生长曲线

为明确化合物 N2 是否有杀菌功效, 我们使用 N2 化合物处理白念珠菌后, 进行涂板培养。测定了 0、3、6、9、12、24 h 培养基内存活的菌落数。通过测定 N2 化合物浓度为 0、2、4、8 μg/ml 时对应的时间-杀菌曲线, 发现 N2 浓度为 8 μg/ml 时, 可

以显著降低培养基中白念珠菌的数量,显示出明显的杀菌活性。当N2浓度为2 $\mu\text{g/ml}$ 时,白念珠菌3 h时数量减少,而后续数量会增加,提示2 $\mu\text{g/ml}$ 的N2基本不能杀灭培养基中的白念珠菌,结果如图3。上述结果表明,白念珠菌在低浓度时发挥抑菌活性,而当浓度升高时,展现出杀菌活性。

3.5 化合物N2可以抑制白念珠菌的菌丝形成

酵母态向菌丝态的转换是白念珠菌在体内发生侵袭的重要过程。为了考察N2对白念珠菌菌丝形成的抑制作用,我们采用了不同的菌丝诱导模型考察化合物N2对白念珠菌菌丝形成的作用。结果显示,37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,无论在菌丝诱导培养基 YPD+FBS% 或 RPMI 1640 培养基中,当N2的浓度高于1 $\mu\text{g/ml}$ 时,白念珠菌基本维持在酵母态,菌丝形成被完全抑制,结果如图4。同时,化合物N2的菌丝

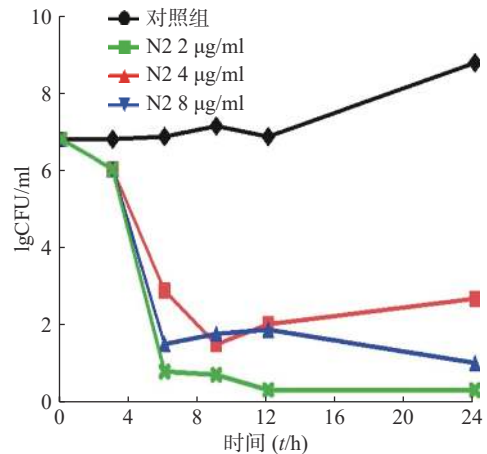


图3 杀菌曲线

抑制的浓度与表2中检测的MIC₈₀值相当,这一结果表明,化合物N2在1 $\mu\text{g/ml}$ 以上的浓度时,可以同时抑制菌丝形成和白念珠菌增殖。

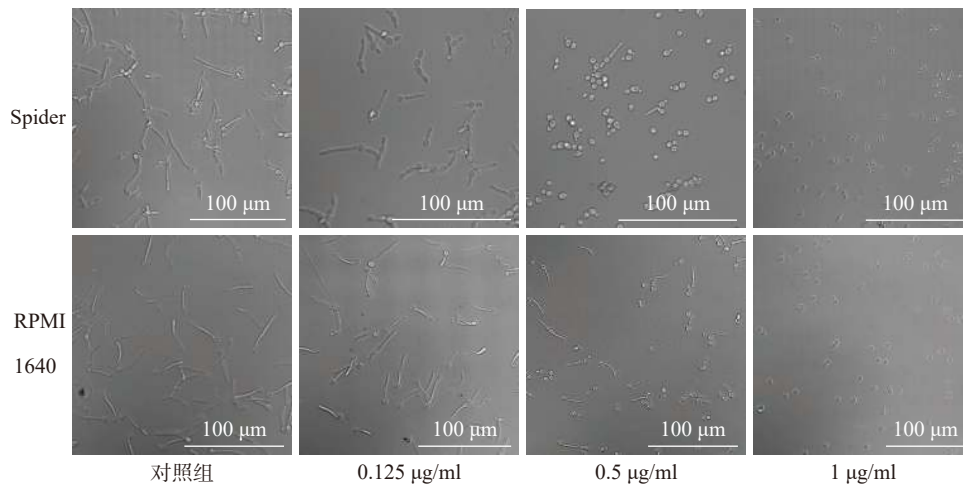


图4 N2处理后白念珠菌菌丝形态

3.6 化合物N2可以显著抑制白念珠菌的被膜形成

采用XTT法考察了化合物N2对白念珠菌被膜形成的抑制作用。结果显示,在RPMI 1640培养基中,4 $\mu\text{g/ml}$ 和8 $\mu\text{g/ml}$ 的N2可以抑制约50%的被膜形成,而当浓度继续升高至16 $\mu\text{g/ml}$ 或32 $\mu\text{g/ml}$ 时,N2对被膜的抑制率到达70%左右,结果如图5。上述结果表明化合物N2可以显著抑制白念珠菌的被膜形成,后续的结构改造和深入研究可以为抗被膜形成药物的研发提供新的方向。

3.7 N2可能通过损伤白念珠菌的细胞膜和细胞壁发挥杀菌作用

通过对比N2化合物处理组和对照组白念珠菌的电镜照片,结果如图6,我们发现:N2处理后,白念珠菌的表面绒毛状明显增厚,细胞壁分布不均,细胞膜内层变薄,由此推断可能是几丁质和 β -1,3-葡聚糖变少。因此,N2化合物可能主要通过损伤

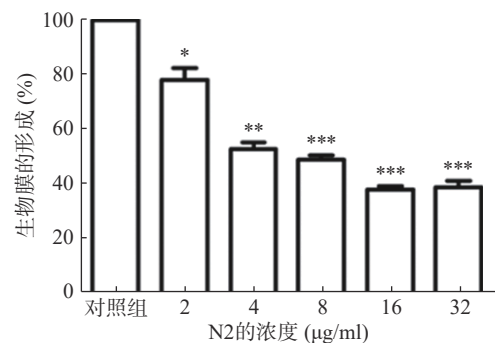


图5 N2抑制白念珠菌的生物被膜形成

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 与对照组比较

白念珠菌细胞膜和细胞壁发挥杀真菌作用。

4 讨论

近年来,随着免疫抑制剂的广泛使用、手术介入和免疫缺陷患者的增多,系统性真菌感染的发病

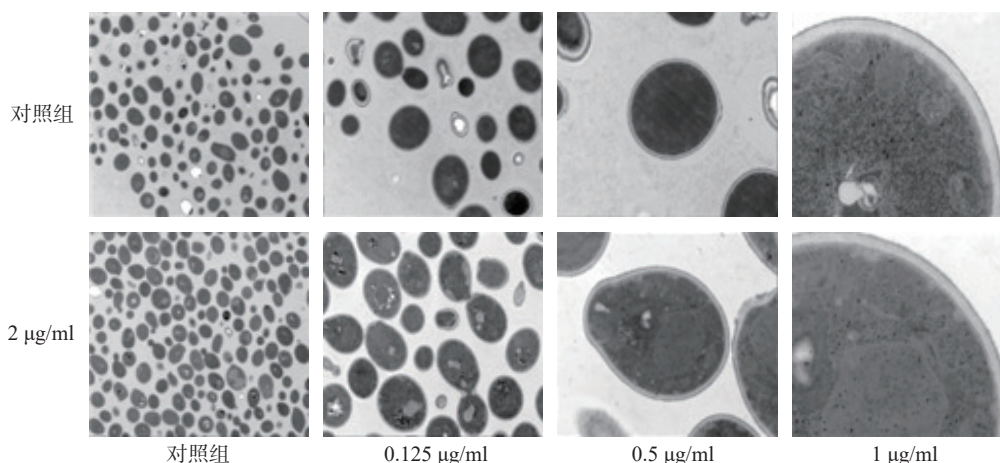


图6 白念珠菌透射电镜照片

率逐年攀升。但抗真菌药物的研发进展缓慢,现有的几类抗真菌药物在长期使用后也逐渐出现了耐药性。为解决临床真菌感染的问题,研发新的抗真菌药物意义重大。本课题组长期致力于抗真菌化合物的筛选和机制研究,前期在基于破坏真菌线粒体功能的研究中发现,亲脂性吡啶鎓盐具有较好的线粒体靶向性和抗真菌活性,因此课题组拓展了化合物的结构类型,本研究中考察了亲脂性吡啶鎓盐的作用。通过体外 MIC 测定和抗菌谱筛选发现了3个具有抗真菌活性的化合物 N2、N6 和 N8,其中 N2 结构中含有2个叔丁基的苯环结构, N6 含有一个长饱和碳链,均增加了吡啶鎓盐的亲脂性,这些亲脂性基团可能有利于增强吡啶鎓盐的抗真菌活性。后续可以根据上述结构,开展进一步的结构改造。研究前期通过体外筛选结果表明, N2 化合物具有体外抗真菌活性较高和抗菌谱广泛的特点,对包括部分氟康唑耐药菌在内的临床常见致病念珠菌和隐球菌均有一定的抑制作用。尤其是对临床上造成感染问题最为严重的白念珠菌, N2 化合物展现出较强的抗菌效果,能够高效地抑制和杀伤白念珠菌。而杀真菌药物是近年来研究的重要方向,通过杀菌活性将体内的念珠菌彻底清除,可以减少念珠菌感染的复发问题,缩短真菌感染的治疗周期。

本研究有望为抗真菌药物研发提供新的思路,但目前涉及的机制研究尚不深入,后续将基于吡啶鎓盐的线粒体靶向性,考察其对线粒体的形态、膜电位、线粒体 DNA 和线粒体能量代谢的影响,进一步明确该类化合物的作用机制,为后续的结构改造和靶点研究提供理论支撑。

【参考文献】

- [1] BERMAN J, KRYSAN D J. Drug resistance and tolerance in fungi[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2020, 18(6): 319-331.
- [2] LEE Y J, PUUMALA E, ROBBINS N, et al. Antifungal drug resistance: molecular mechanisms in *Candida albicans* and beyond[J]. *Chem Rev*, 2021, 121(6): 3390-3411.
- [3] OLIVER J D, SIBLEY G E M, BECKMANN N, et al. F901318 represents a novel class of antifungal drug that inhibits dihydroorotate dehydrogenase[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(45): 12809-12814.
- [4] MOTA FERNANDES C, DASILVA D, HARANAHALLI K, et al. The future of antifungal drug therapy: novel compounds and targets[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2021, 65(2): e01719-e01720.
- [5] WONG S S W, KAO R Y T, YUEN K Y, et al. *In vitro* and *in vivo* activity of a novel antifungal small molecule against *Candida* infections[J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e85836.
- [6] ZHANG Y E, LI Q H, CHAO W, et al. Design, synthesis and antifungal evaluation of novel pyrylium salt *in vitro* and *in vivo*[J]. *Molecules*, 2022, 27(14): 4450.
- [7] CHEN X Q, WU J Y, SUN L, et al. Antifungal effects and potential mechanisms of benserazide hydrochloride alone and in combination with fluconazole against *Candida albicans*[J]. *Drug Des Dev Ther*, 2021, 15: 4701-4711.
- [8] FENG W L, YANG J, MA Y, et al. Cotreatment with aspirin and azole drugs increases sensitivity of *Candida albicans in vitro*[J]. *Infect Drug Resist*, 2021, 14: 2027-2038.
- [9] VAN OS W, ZEITLINGER M. Predicting antimicrobial activity at the target site: pharmacokinetic/pharmacodynamic indices versus time-kill approaches[J]. *Antibiotics*, 2021, 10(12): 1485.
- [10] GIRARDOT M, MILLOT M, HAMION G, et al. Lichen polyphenolic compounds for the eradication of *Candida albicans* biofilms[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 698883.
- [11] FERNÁNDEZ-CALDERÓN M, HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ L, GÓMEZ-NAVIA C, et al. Antifungal and anti-biofilm activity of a new Spanish extract of propolis against *Candida glabrata*[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2021, 21(1): 147.

[收稿日期] 2023-05-20 [修回日期] 2023-09-21
[本文编辑] 李睿旻