



## HMS-01的遗传毒性评价

陈弋, 孙青葵, 黎翔, 孙旻, 刘霞

### Genotoxicity evaluation of HMS-01

CHEN Yi, SUN Qingyan, LI Xiang, SUN Yang, LIU Xia

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202308061>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### Wentilactone A的遗传毒性评价

Genotoxicity evaluation of Wentilactone A

药学实践与服务. 2020, 38(6): 533-538 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202004089

#### HMS-01在大鼠体内的药动学研究

Pharmacokinetics of HMS-01 in rats

药学实践与服务. 2020, 38(3): 237-240, 249 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.201907036

#### 益母草碱对胚胎-胎仔发育毒性和遗传毒性的评价

Evaluation for embryo-fetal developmental toxicity and genetic toxicity of leonurine

药学实践与服务. 2020, 38(5): 451-457 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202004105

#### 辣木叶和种子的提取及急性毒性评价

The extraction and acute toxicity testing of *Moringa oleifera* leaves and seeds

药学实践与服务. 2017, 35(4): 334-336,370 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.04.011

#### 盐酸溴己新滴鼻剂的研制及含量测定与透皮性能评价

Preparation and assay of bromhexine hydrochloride nasal drop and its transdermal performance evaluation

药学实践与服务. 2019, 37(2): 166-169 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.02.013

#### 比较万古霉素持续输注与间断输注引起肾毒性的荟萃分析

Meta-analysis on renal toxicity of vancomycin given by continuous infusion vs intermittent infusion

药学实践与服务. 2018, 36(2): 136-139,146 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.02.009



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

## HMS-01 的遗传毒性评价

陈 弋<sup>1</sup>, 孙青葵<sup>2</sup>, 黎 翔<sup>1</sup>, 孙 旻<sup>1</sup>, 刘 霞<sup>1</sup> (1. 海军军医大学药理学系临床药理学教研室, 上海 200433; 2. 先导物成药性研究国家重点实验室, 上海 201203)

**[摘要]** 目的 检测 HMS-01 的遗传毒性, 并对其临床前安全评价研究, 为后续该药物进入临床试验提供支持。方法 采用鼠伤寒沙门氏菌进行细菌回复突变试验(Ames 试验)评价 HMS-01 的遗传毒性。结果 HMS-01 在 20.6、61.7、185.2、555.6、1 666.7、5 000 μg/皿的 6 个剂量下, 无论有无代谢活化条件, 对鼠伤寒沙门氏菌均无致突变性。结论 在本实验剂量范围内, HMS-01 未见致突变性。

**[关键词]** HMS-01; 细菌回复突变试验 Ames; 致突变性; 遗传毒性

**[文章编号]** 2097-2024(2024)04-0147-04 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202308061

## Genotoxicity evaluation of HMS-01

CHEN Yi<sup>1</sup>, SUN Qingyan<sup>2</sup>, LI Xiang<sup>1</sup>, SUN Yang<sup>1</sup>, LIU Xia<sup>1</sup> (1. Department of Clinical Pharmacy, School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China; 2. National Key Laboratory of Lead Druggability Research, Shanghai 201203, China)

**[Abstract]** **Objective** To provide a toxicological basis for HMS-01 in future clinical trials, through genotoxicity testing of safety evaluation. **Methods** The genotoxicity of HMS-01 was evaluated by Bacterial Reverse Mutation Assay (Ames test) with *Salmonella typhimurium*. **Results** HMS-01 was non-mutagenic against *Salmonella typhimurium* at six doses of 20.6, 61.7, 185.2, 555.6, 1 666.7, and 5 000 μg/dish with (or without) a metabolic activation system. **Conclusion** HMS-01 was not found to be mutagenic in the dose range of this experiment.

**[Key words]** HMS-01; bacterial reverse mutation assay; mutagenicity; genetic toxicity

### 0 前言

肥胖是因体内脂肪过度蓄积导致健康损害的一种机体状态。目前已证实与肥胖相关联的疾病多达 21 种, 广泛涉及心血管、消化、呼吸、神经、肌肉骨骼等系统相关疾病甚至传染性疾病<sup>[1]</sup>。根据 2023 年 3 月世界肥胖联盟(WOF)公布的《2023 世界肥胖地图》, 预计到 2035 年, 肥胖或超重(WHO 标准 BMI ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>)率将达到 51%, 引起的经济损失超过 4 万亿美元<sup>[2]</sup>。中国同样面临肥胖发病率逐年增高的严峻问题, 根据最新报道, 按照中国人的 BMI 分级 (BMI ≥ 24 kg/m<sup>2</sup>), 我国目前已有 34.8% 的人超重, 14.1% 的人肥胖<sup>[3]</sup>。而我国上市

的关于肥胖的治疗药物却屈指可数, 自 2007 年脂肪酶抑制剂奥利司他获批以来, 只有胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 受体激动剂利拉鲁肽和贝纳鲁肽于 2023 年 7 月获批超重(肥胖)适应证<sup>[4]</sup>。但这两类药物仍存在各自的弊端: 奥利司他因严重脂肪泻导致部分患者不耐受, 且因减肥效果有限而不被推荐用于合并并发症的肥胖治疗<sup>[5]</sup>; 利拉鲁肽和贝纳鲁肽减肥效果优异<sup>[6]</sup>, 但需注射给药且价格昂贵, 近期还有报道称此类药物胃肠道不良反应远比其他公布的重要<sup>[7]</sup>, 并有可能增加肠梗阻风险, 甚至使少数使用者产生自杀念头<sup>[8]</sup>。因此, 研发可有效治疗肥胖且不良反应小的药物对治疗肥胖、减少并发症具有重要的意义。

研究人员前期发现, 脂肪因子血清类粘蛋白 (ORM) 可作用于下丘脑瘦素受体, 抑制摄食并调控能量平衡<sup>[9]</sup>, 是潜在的减重药物研发靶点(专利号: ZL201510230870.2)。但 ORM 为高度糖基化的大分子蛋白质, 制备困难且需注射给药, 限制了其药物开发前景。研究人员前期筛选到一个全新小分子化合物 HMS-01, 该化合物由大环内酯类抗菌药红霉素改造而来, 为一种未上市的在研新药,

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(82073907, 82073842); 上海市科委生物医药领域科技支撑项目(20S11902700); 上海市 2021 年度“科技创新行动计划”优秀学术/技术带头人计划项目(21XD1404700)

**[作者简介]** 陈 弋, 硕士研究生, Tel: 15651270023, Email: 100397337@qq.com

**[通信作者]** 孙 旻, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 代谢性疾病药物药理, Email: DawnySun@126.com; 刘 霞, 教授, 博士生导师, 研究方向: 心脑血管药理学, Email: lxfling@aliyun.com

可显著升高 ORM 并降低肥胖小鼠体质量,且具有可经消化道用药、无抗菌活性的特征,有望为药物治疗肥胖开辟新赛道。

根据创新药物临床前研究的国际国内指导原则<sup>[10-11]</sup>,新药上市前需通过药效学和毒理学研究评估药物的有效性和安全性,其中,遗传毒性研究是毒理学研究的重要部分。遗传毒性是指化合物能直接或间接损伤生物体遗传物质,造成基因改变或突变,危及生物体及其后代健康。近年来,因具有致突变性而引起的药品召回事件时有发生<sup>[9]</sup>。本研究通过鼠伤寒沙门氏菌回复突变试验(Ames 试验)对该化合物的遗传毒性进行实验探究,以期创新药物的遗传安全性及其临床前毒理学评估提供支持。

## 1 实验材料

### 1.1 受试样品及对照品

受试样品: HMS-0(西安秦申嘉合药物研究有限公司,批号 20190127,纯度 98%)。阴性对照品:二甲亚砜(DMSO, Sigma-aldrich, CAS:67-68-5)。阳性对照品:吡啶诱变剂 ICR-191(Sigma-aldrich, CAS: 17070-45-0)、2-硝基苄(Sigma-aldrich, CAS: 607-57-8)、叠氮钠(Sigma-aldrich, CAS: 26628-22-8)、甲基磺酸甲酯(Sigma-aldrich, CAS: 66-27-3)、2-氨基蒽(Sigma-aldrich, CAS: 613-13-8)。

### 1.2 主要试剂及配制方法

营养肉汤(赛默飞, CM0067);磷酸盐缓冲液(生工生物);顶层琼脂培养基(Solarbio, 货号: LA3080);底层培养基(Solarbio, 货号: 3090);S<sub>9</sub>混合液溶剂(按照 180 ml 试验用量配制):氯化钾(生工生物, CAS: 7447-40-7)6.6 mmol、氯化镁(生工生物, CAS: 7791-18-6)1.6 mmol、葡糖-6-磷酸(Sigma-aldrich, CAS: 3671-99-6)1 mmol、辅酶 II(Sigma-aldrich, CAS: 24292-60-2)0.8 mmol、0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液(20×PBS 缓冲液, Solarbio, 货号: P1032)120 ml、去离子水定容至 180 ml;S<sub>9</sub>混合液:代谢活化系统 S<sub>9</sub>是经苯巴比妥/β-萘黄酮诱导的雄性 SD 大鼠肝匀浆上清液制备而成,购自 Molecular Toxicology,使用前与 S<sub>9</sub>溶剂按照 1:9(V/V)的比例配制。

### 1.3 主要仪器设备

全自动 Ames 实验仪(北京慧荣和科技有限公司,型号: HRH-AMES116);全自动菌落分析仪(杭州泽析生物科技有限公司,型号: DTS3);倒置显微镜[徕卡贸易(上海)有限公司,型号: Leica DMi8 M/C/A]。

## 1.4 试验菌株

此次试验所使用的组氨酸营养缺陷型(*his*<sup>-</sup>)鼠伤寒沙门氏菌 TA97a、TA98、TA100、TA102 和 TA1535,购自 Molecular Toxicology 公司,符合实验要求。

## 2 方法

根据毒理学研究的国际标准<sup>[12-13]</sup>,设计制定 Ames 试验以检测受试药物 HMS-01 的遗传毒性。Ames 试验亦称细菌回复突变实验,是利用伤寒沙门氏菌具有回复突变的特性,以鉴定受试物是否具有致突变性的一种试验方法。*his*<sup>-</sup>鼠伤寒沙门氏菌,因不能自主合成组氨酸而不能在缺乏组氨酸的培养基上生长,但在外界致突变因素的作用下可突变为能自主合成组氨酸的原养型沙门氏菌,从而能在无组氨酸的培养基上正常生长。因此,可通过观测其经受试物作用后,在无组氨酸培养基上的菌落生长情况来判定受试物是否具有致突变毒性。

试验结果要求应满足以下条件:①阴性对照组的回复突变菌落均数在历史阴性/溶媒对照范围内;②阳性对照组的回复突变菌落均数为其对应的阴性对照组的 3 倍以上;③污染平皿数不超过平皿总数的 5%。

### 2.1 试验菌鉴定及扩增培养

5 种试验菌(TA97a、TA98、TA100、TA102、TA1535)应具备表 1 所示的特性,因此于实验前进行如下生物学特性鉴定:*his*<sup>-</sup>鉴定、脂多糖屏障缺陷(*rfa* 突变)鉴定、氨基青霉素抗性(菌株 R 因子缺失)鉴定、紫外线敏感性( $\Delta$ *uvrB* 突变)鉴定、四环素(pAQ1)抗性的鉴定、自发回变菌落数(*his*<sup>+</sup>)测定、对阳性诱变剂的回变敏感性测定,以确定试验菌株符合试验标准。

表 1 各试验菌株生物学特性

菌株名称	组氨酸缺陷	脂多糖屏障缺陷	R因子缺失	$\Delta$ <i>uvrB</i> 突变	抗四环素	自发回落数
TA97a	+	+	+	+	-	90~180
TA98	+	+	+	+	-	30~50
TA100	+	+	+	+	-	120~200
TA102	+	+	+	-	+	240~320
TA1535	+	+	-	+	-	10~35

取鉴定合格试验菌分别接种于装有 7 ml 营养肉汤培养基的试管中,于(35±2)℃、(120±25) r/min 条件下在空气恒温振荡器中扩增培养 16~18 h,使用酶标仪检测菌液光密度并估算活菌浓度,待浓度达 1×10<sup>9</sup> 个/ml 以上时可用于试验。

## 2.2 试验分组

设置6个HMS-01实验组,最高剂量为HMS-01 5 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,其下等比稀释设置5个剂量组分别为1 666.7、555.6、185.2、61.7、20.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。除此之外,另设置空白对照组及各菌对应的阳性对照组,分组情况见表2。

表2 各试验菌对应的阳性诱变剂及剂量

代谢活化	菌株名称	阳性诱变剂	剂量( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
-S <sub>9</sub>	TA97a	ICR-191	1
	TA98	2-硝基苄	1
	TA100	叠氮钠	2
	TA102	甲基磺酸甲酯	1.3
	TA1535	叠氮钠	2
+S <sub>9</sub>	TA97a	2-氨基蒽	3
	TA98	2-氨基蒽	3
	TA100	2-氨基蒽	3
	TA102	2-氨基蒽	30
	TA1535	2-氨基蒽	3

## 2.3 平板渗入法

用全自动 Ames 实验仪进行试验,即2 ml 融溶状态下的顶层琼脂培养基与下列物质混合:0.5 ml S<sub>9</sub> 混合液或0.5 ml 磷酸盐缓冲液、0.1 ml 对应受试药品、0.1 ml 扩增菌液,迅速混匀,室温静置,待平皿凝固后倒置于(37±1) °C 培养箱内培养48~72 h。

各组共设置3个平行皿,重复试验1次。

## 2.4 试验结果观察及判定

培养结束后肉眼或显微镜下观察各皿的受试药品是否有析出以及背景菌斑的生长情况,并计数各平行皿的回变菌落数。每个组分别求均值,并将结果以( $\bar{x} \pm s$ )的方式列出,各组平行数表示为*n*。

根据中国食品药品检定研究院发布的《细菌回复突变试验技术指导原则(征求意见稿)》制定的结果判断标准,对于TA97a、TA98、TA100及TA102,其诱导的回复突变菌落均数大于各自阴性对照组的2倍,且具有浓度依赖性 & 可重现性,即可判定为阳性结果;对于TA1535,其诱导的回复突变菌落均数高出各自阴性对照组的3倍,且具有浓度依赖性 & 可重现性,结果可判定为阳性。受试药品在加S<sub>9</sub> 或不加S<sub>9</sub> 混合液的条件下,经上述5种试验菌株测定后,只要有1种试验菌株为阳性,即可认定该受试药品的细菌回复突变试验为致突变阳性,反之则判断为阴性。

## 3 结果

### 3.1 受试样品析出及背景菌斑生长情况

受试药品HMS-01在有S<sub>9</sub> 处理条件下的TA97a和TA1535菌株实验中,1 666.7和5 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度组有观察到镜下非干扰沉淀,其余所有处理条件均未观察到供试品沉淀,结果见表3。所有试验组均未观察到背景菌斑抑制现象。

表3 HMS-01 细菌回复突变试验结果 (*n*=3)

代谢活化	组别	TA97a		TA98		TA100		TA102		TA1535	
		背景菌斑	沉淀	背景菌斑	沉淀	背景菌斑	沉淀	背景菌斑	沉淀	背景菌斑	沉淀
+S <sub>9</sub>	阴性对照组	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0
	20.6	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0
	61.7	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0
	185.2	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0
	555.6	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0
	1 666.7	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0
	5 000.0	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0
	阳性对照组	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0
-S <sub>9</sub>	阴性对照组	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0
	20.6	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0
	61.7	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0
	185.2	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0
	555.6	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0
	1 666.7	T0	P1	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P1
	5 000.0	T0	P1	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P1
	阳性对照组	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0	T0	P0

注: T0.正常; P0.正常; P1.镜下非干扰性沉淀。

### 3.2 回复突变菌落数

受试药品 HMS-01 在所有处理条件下的回复突变菌落平均数均小于各自阴性对照组的 2 倍,且无浓度依赖性升高,结果见表 4。本次试验条件

中,在有(或无)代谢活化条件时,受试品 HMS-01 对组氨酸营养缺陷型 (*his*<sup>-</sup>) 鼠伤寒沙门氏菌 TA97a、TA98、TA100、TA102 和 TA1535 均无潜在致突变性。

表 4 HMS-01 细菌回复突变试验结果 (n=3)

代谢活化	组别	回复突变菌落数					
		TA97a	TA98	TA100	TA102	TA1535	
+S9	阴性对照组	157.7±15.5	29.3±3.1	138.3±4.7	326.0±7.5	21.3±4.0	
	20.6	156.7±17.8	34.7±7.1	119.3±8.0	334.3±16.7	21.0±5.2	
	61.7	159.0±7.2	31.7±8.5	140.0±9.8	250.0±113.2	19.3±3.1	
	185.2	147.7±22.7	33.3±4.2	151.7±6.0	319.0±6.2	18.7±0.6	
	555.6	168.3±7.6	34.7±2.5	130.7±10.0	340.0±6.1	19.3±4.0	
	1 666.7	157.7±2.1	34.7±5.8	148.7±2.9	287.0±84.1	20.3±4.6	
	5 000	143.7±19.9	38.3±6.7	122.3±8.1	304.0±22.9	17.0±1.7	
	阳性对照组	704.0±30.2	122.7±10.1	646.7±46.0	1 758.7±86.3	574.7±9.2	
	-S9	阴性对照组	171.7±5.1	36.7±3.2	151.3±8.7	340.3±3.8	23.7±1.5
		20.6	168.0±11.8	40.0±1.7	125.7±9.1	338.7±7.4	25.3±3.1
61.7		169.7±17.5	42.3±13.7	131.3±15.6	350.0±15.9	21.3±3.1	
185.2		152.0±13.1	34.3±5.5	148.0±8.7	366.0±5.0	24.7±3.2	
555.6		167.7±1.5	42.0±2.0	161.3±8.6	351.0±24.2	22.7±6.5	
1 666.7		163.0±3.6	45.3±3.2	156.0±3.6	376.7±25.7	22.3±3.1	
5 000		164.7±22.9	40.3±3.1	153.3±6.7	365.0±26.0	17.3±3.8	
阳性对照组		1 384.0±4.0	1 264.0±17.4	504.0±38.6	1 365.3±48.4	188.0±32.7	

## 4 讨论

遗传毒性因其对生物体及其后代影响巨大,一直是新药临床前毒理学评价的重要组成部分。细菌回复突变试验由美国加利福尼亚大学 B·N·Ames 教授于 1975 年建立并经后来者的不断发展完善,也称为 Ames 试验,现今已成为全球基因毒性测试中的最为公认的方法之一,通常作为体外毒理学测试的第 1 步,被广泛应用于药物致突变性的初筛检验。该试验以 *his*<sup>-</sup> 的沙门氏菌为指示生物,试验中包含了加与不加代谢活化系统,通过该菌特定的生物效应能检测基因突变,对受试物的遗传毒性进行分析。本研究利用细菌回复突变试验对受试药物 HMS-01 遗传毒性进行评价,结果显示,HMS-01 在有(或无)代谢活化条件下,均无致突变性,未发现其具有遗传毒性。该结果将为 HMS-01 的后续新药研发提供有力支撑。

### 【参考文献】

[1] KIVIMÄKI M, STRANDBERG T, PENTTI J, et al. Body-mass index and risk of obesity-related complex multimorbidity: an ob-

servational multicohort study[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2022, 10(4): 253-263.

[2] World Obesity Federation, World Obesity Atlas 2023[EB/OL]. (2023-03) [2023-08]. <https://data.worldobesity.org/publications/?cat=19>.

[3] CHEN K, SHEN Z W, GU W J, et al. Prevalence of obesity and associated complications in China: a cross-sectional, real-world study in 15.8 million adults[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2023, 25(11): 3390-3399.

[4] 国家药品监督管理局, 2023 年 07 月 04 日药品批准证明文件送达信息发布 [EB/OL]. (2023/07/04) [2023-08]. <https://www.nmpa.gov.cn/zwfw/sdxx/sdxxyp/yppjfb/20230704155106142.html>.

[5] GRUNVALD E, SHAH R, HERNAEZ R, et al. AGA clinical practice guideline on pharmacological interventions for adults with obesity[J]. *Gastroenterology*, 2022, 163(5): 1198-1225.

[6] SHI Q Y, WANG Y, HAO Q K, et al. Pharmacotherapy for adults with overweight and obesity: a systematic review and network meta-analysis of randomised controlled trials[J]. *Lancet*, 2022, 399(10321): 259-269.

[7] BULIK C M, HARDAWAY J A. Turning the tide on obesity?[J]. *Science*, 2023, 381(6657): 463.

- 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<sub>x</sub>PC-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/ggtg/ypggtg/ypqtggtg/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