

基于代谢组学技术的烟酰胺协同两性霉素B抑制白念珠菌的作用机制研究

万立志, 王境焯, 吴春蓉, 李玲

The mechanism of nicotinamide combined with amphotericin B against *Candida albicans* based on metabolomics technology

WAN Lizhi, WANG Jinghan, WU Chunrong, LI Ling

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202307034>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于D-SERS法表征两性霉素B对白色念珠菌抑制作用的研究

Research on the inhibitory effect of amphotericin B against *Candida albicans* by D-SERS

药学实践与服务. 2019, 37(2): 156-161,169 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.02.011

基于GC-MS技术的金钱草干预结晶肾损伤小鼠血清代谢组学研究

Metabolomics study of *Lysimachiae Herba* on mice with crystallization kidney injury by GC-MS

药学实践与服务. 2019, 37(4): 332-336 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.04.009

芪附汤对大鼠抗阿霉素心脏毒性作用的血清气相色谱-质谱代谢组学研究

Protective effect of Qifu decoction on adriamycin-induced cardiac injury based on GC-MS serum metabolomics

药学实践与服务. 2018, 36(4): 313-317 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.04.006

UHILIC-MS/MS法同时测定复方三维右旋泛酸钙糖浆中5种维生素的含量

Simultaneous determination of 5 B-vitamins in compound trivitamin and calcium pantothenate syrup by UHILIC-MS/MS

药学实践与服务. 2018, 36(6): 512-517,528 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.06.008

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

基于LC-MS技术的二氢丹参酮 I 抗肝纤维化肝脏代谢组学研究

Metabolomics study of dihydrotanshinone I on hepatic fibrosis with LC-MS technology

药学实践与服务. 2021, 39(5): 403-408, 471 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202101035



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

基于代谢组学技术的烟酰胺协同两性霉素 B 抑制白念珠菌的作用机制研究

万立志, 王境焯, 吴春蓉, 李玲 (海军军医大学药理学系, 上海 200433)

[摘要] **目的** 基于代谢组学的方法研究烟酰胺(NAM)协同两性霉素 B(AmB)抑制白念珠菌的潜在作用机制。**方法** 分别使用适当浓度的 NAM、AmB 单独处理和二者联用处理浮游型白念珠菌,再基于气相色谱-质谱联用技术分析其胞内代谢物,通过多元统计分析筛选差异代谢物,并用 NIST 数据库进行检索鉴定。**结果** 与对照组相比, NAM 单独干预组与之分离趋势不明显,而 AmB 组、联用组与之具有明显的分离趋势。AmB 干预后有 23 个代谢物发生显著性变化, NAM+AmB 联合干预后有 28 个代谢物发生显著性变化,包括氨基酸、有机酸、多胺、糖类等成分。**结论** NAM 是白念珠菌的内源性代谢物,其与 AmB 联用后可增强 AmB 在原代谢通路中的作用,同时一定程度上改变了其作用途径,推测 NAM 与 AmB 联用可能通过调整白念珠菌的三羧酸循环、干扰其氨基酸代谢、影响多胺的合成等途径来发挥其对 AmB 的增效作用。

[关键词] 气相色谱-质谱联用;两性霉素 B;烟酰胺;白念珠菌;代谢组学

[文章编号] 2097-2024(2024)00-0001-06

[DOI] 10.12206/j.issn.2097-2024.202307034

The mechanism of nicotinamide combined with amphotericin B against *Candida albicans* based on metabolomics technology

WAN Lizhi, WANG Jinghan, WU Chunrong, LI Ling (School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the potential mechanism of nicotinamide combined with amphotericin B against *Candida albicans* based on metabolomics. **Methods** The intracellular metabolites of *C. albicans* intervened by different drugs including NAM, AmB, and their combination with a proper concentration were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. The differential metabolites were screened by multivariate statistical analysis and identified by searching the NIST database. **Results** Compared with the control group, the NAM intervention group was hardly separated from it, while the AmB group and NAM+AmB group showed a clear trend separation. Under the intervention of AmB, 23 metabolites significantly changed compared with the control group, and 28 metabolites remarkably changed after NAM+AmB intervention, including amino acids, organic acids, sugars and other components. **Conclusion** NAM, as an endogenous metabolite of *C. albicans*, combined with AmB could enhance the effects of AmB in the original metabolic pathway and changed it to a certain extent. It is speculated that AmB combined with NAM may pose more antifungal effect on *Candida albicans* by regulating the tricarboxylic acid cycle, interfering with amino acid metabolism and influencing polyamine synthesis.

[Key words] gas chromatography-mass spectrometry; amphotericin B; nicotinamide; *candida albicans*; metabolomics

白念珠菌(*candida albicans*)是一种机会致病菌,通常存在于人体的消化道及泌尿生殖道。当人体免疫力下降时,白念珠菌可能侵入人体,造成侵袭性真菌感染。近年来,随着器官移植者、艾滋病患者等免疫功能低下人群数量的增多,白念珠菌的侵袭性感染愈发常见^[1,2]。目前,临床用于预防和治疗侵袭性真菌感染的药物主要包括棘白菌素类、多烯类和三唑类等,其中两性霉素 B(AmB)为多烯类抗真菌药物的代表,主要通过破坏真菌的细胞膜,

引起细胞内液外溢,致使真菌死亡^[3]。AmB 具有抗菌谱广、疗效好等优点,但长期用药存在肝肾毒性、低钾血症和静脉炎等不良反应,并产生严重耐药性^[4,5]。

通常,不同种类药物联合使用可有协同或拮抗作用,其中协同作用的药物联合使用具有扩大抗菌谱、减轻毒副作用和减少耐药等优点,因此在临床上越来越受到关注^[6]。针对抗真菌药物的联合用药,目前在进行多维度的试验和可行性探索。临床上常将 AmB 与氮唑类药物联合应用以减少副作用的发生。此外,中药活性成分丁香酚与 AmB 联用可以促进活性氧的产生,从而发挥协同抗真菌作用^[7]。

烟酰胺(NAM)是维生素 B3 的衍生物,在抗真菌药物和护肤品中均有广泛的应用^[7]。课题组前期

[基金项目] 国家自然科学基金(82104127)

[作者简介] 万立志,本科生。研究方向:体内药物分析和代谢组学。Email: wlzorfy@163.com

[通信作者] 李玲,高级实验师。研究方向:体内药物分析和代谢组学。Tel: (021)81871336, Email: 316262150@163.com

研究表明, NAM 是一种有效的抗真菌药物增效剂, 与多种抗真菌药物联合应用均能发挥协同作用, 其作用机制包括增加细胞内活性氧的产生, 增强对细胞被膜的抑制作用等^[8,9]。本研究将 NAM 与 AmB 联用, 从代谢组学角度探究 NAM 协同 AmB 抑制白念珠菌的潜在作用机制, 为临床抗真菌药物的联用提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Thermo Trace GC Ultra and DSQII 气相色谱-质谱联用仪(Thermo fisher, USA); METTLER AE 240 型电子天平(瑞士梅特勒公司); SW-CT-IF 型超净化工作台(苏州安泰空气技术有限公司); HZ-9610KB 恒温培养箱(江苏太仓实验设备厂); 电子分析天平 AUW 220D(日本 SHIMADZU 公司); Infinite M200 多功能酶标仪(Austria TECAN 公司)。

1.2 试剂

甲氧基胺盐酸盐(Sigma Aldrich 公司); 吡啶(Sigma Aldrich 公司); N-甲基-N-(三甲基硅烷)三氟乙酰胺(MSTFA, Sigma Aldrich 公司); 三甲基氯硅烷(TMCS, Sigma Aldrich 公司); 二甲基亚砜(DMSO, Sigma Aldrich 公司); 烟酰胺(Sigma Aldrich 公司); 两性霉素 B(中国食品药品检定研究院); 正己烷(分析纯, 购于国药试剂公司)。

1.3 菌株及培养基

白念珠菌 SC5314(由瑞士 Vaudois 州立大学医学中心 Dominique Sanglard 教授惠赠); 酵母浸出粉胨葡萄糖(YPD)培养液: 酵母浸膏 10 g, 蛋白胨 20 g, 葡萄糖 20 g, 溶解于 1000 ml 三蒸水, 高压灭菌, 4 °C 保存; RPMI 1640 培养基: RPMI 1640 培养基粉末 10 g, 吗啡啉丙磺酸 34.5 g, 碳酸氢钠 2.0 g, 加入三蒸水 900 ml 溶解, 用氢氧化钠室温下调节 pH 至 7.0, 三蒸水定容至 1 000 ml, 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌后于 4 °C 保存。

2 实验方法

2.1 给药浓度测定

取单克隆白念珠菌, 接种至 1 ml YPD 培养液于 30 °C, 200 r/min, 培养 16 h 至对数生长期后, 用 RPMI 1640 培养基稀释菌液至浓度为 5×10^3 cells/ml。为确定白念珠菌对药物的敏感性, 采用肉汤微量稀释法并进行适当的调整, 两种药物分别在 96 孔板按两倍递减稀释, NAM 的浓度为 0.313 ~ 80 mmol/L, AmB 的浓度为 0.005 ~ 2 μg/ml。与无药物组相比,

将药物干预组的生长抑制率为 80% 时的药物浓度确定为 MIC₈₀。

在此基础上, 将培养至对数生长后期的菌液于多功能酶标仪中测定 600 nm 处的光密度值(OD₆₀₀)。使用 RPMI 1640 培养液调整菌液浓度至 OD₆₀₀ 值为 0.1, 继续培养至 OD₆₀₀ 值为 0.2 时, 分别加入 AmB 和 NAM 进行干预, 使 AmB 终浓度分别为 0.005、0.01、0.02、0.04、0.08 μg/mL, NAM 终浓度分别为 0.125、0.25、0.5、1、2 mmol/L, 继续培养 4 h。对照组中加入相同体积的 DMSO, 其浓度应小于 0.05%, 以确保不影响白念珠菌的生长。将 NAM-AmB 联用组 OD₆₀₀ 值降低至对照组 OD₆₀₀ 值一半时对应的浓度确定为后续代谢组学研究中的给药浓度。

2.2 白念珠菌的培养

挑取单克隆白念珠菌, 接种至 1 ml YPD 培养液于 30 °C, 200 r/min, 培养 16 h 至对数生长期, 用 YPD 培养液调整菌液浓度至 1×10^6 cells/ml, 取 20 ml 置于锥形瓶中培养, 至 OD₆₀₀ 值为 0.2 时进行药物干预。对于 NAM 组, 加入适当浓度的 NAM 对照品溶液, 使其浓度为 1 mmol/L; 对于 AmB 组, 加入适当浓度的 AmB 对照品溶液, 使其浓度为 0.04 μg/ml; 对于 NAM-AmB 联用组, 加入适当浓度的 NAM 和 AmB 对照品溶液, 使其浓度分别为 1 mmol/L 和 0.04 μg/ml; 对于对照组, 加入相同体积的 DMSO。继续培养 4 h, 收集样品, 每组重复 6 个独立样本。

2.3 样品前处理

2.3.1 代谢物提取

样品收集后, 用灭菌的 PBS 清洗两次, 3 000 r/min 离心 3 min, 弃上清。重悬于 1 ml 水, 静置 15 min。放入 -80 °C 冰箱 15 min 后取出, 60 °C 金属浴 15 min, 重复冻融操作 3 次, 13 200 r/min 离心, 取上清液, 冷冻干燥。

2.3.2 衍生化

向上述冷冻干燥的样品中加入 75 μl 甲氧基胺盐酸盐的吡啶溶液(20 mg/ml), 涡旋 5 min, 70 °C 温孵 1 h, 再加入 75 μl MSTFA 溶液(含 1% TMCS), 50 °C 温孵 30 min, 13 200 r/min 离心 5 min, 取上清液 1 μl, 注入气相色谱-质谱联用仪分析。

2.3.3 菌体干重的测定

将样品沉淀物在室温下风干至恒重, 称量样品干重, 用于各样本质量校正。

2.4 气相色谱-质谱条件

色谱条件: 采用 Agilent DB-5MS 石英毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)进行代谢物分离; 进样

口温度: 260 °C; 升温程序: 起始温度为 70 °C, 保持 3 min, 4 °C/min 升至 220 °C, 再 8 °C/min 升至 310 °C, 保持 10 min; 载气: 高纯氦气; 流速: 1.0 ml/min。进样量为 1 μl。质谱条件: 电子轰击源(EI 源), 温度: 200 °C, 扫描范围 50 ~ 800 amu。

2.5 数据处理

将原始数据转化成 CDF 格式, 利用 R 软件 XCMS 包对数据进行峰校正、对齐和积分, 样品各峰面积分别以各自的细胞干重和内标进行校正。利用 SIMCA 14.1.0(Umetrics, Sweden) 软件进行偏最小二乘法判别分析(PLS-DA), 以 VIP>1.5 或 <0.5, P<0.05 为阈值筛选差异代谢物, 然后运用 NIST 库检索, 进行差异代谢物的鉴定。

3 结果分析

3.1 药物浓度确定

采用微量液基稀释法考察 NAM 与 AmB 对白念珠菌 SC5314 的作用, 结果如表 1 所示。单独使用 NAM 和 AmB 时 MIC₈₀ 分别为 20 mmol/L、0.64 μg/mL, 联用后的 MIC₈₀ 分别为 2 mmol/L、0.08 μg/mL。NAM 或 AmB 单独使用时均表现出抗菌作用, 而 NAM 和 AmB 的联用显著降低了 MIC₈₀ 值。以部分抑制浓度指数(FICI)评价 NAM 与 AmB 的作用方式, 结果显示 NAM 和 AmB 联用的 FICI 值为 0.38(通常 FICI<0.5 为协同作用), 表明两者联用具有协同抗真菌的作用。当联用组

NAM 和 AmB 浓度分别为 1 mmol/L 和 0.04 μg/mL 时, 其 OD₆₀₀ 值约为对照组的 1/2, 而单独给予该剂量下的 NAM 组与对照组相比 OD₆₀₀ 几乎没有变化, AmB 组 OD₆₀₀ 约为对照组的 75%, 表现出轻微的抑制作用。为真实反映联用后代代谢物的变化情况, 本研究选择 NAM 和 AmB 药物的干预浓度分别为 1 mmol/L 和 0.04 μg/mL。

表 1 NAM 和 AmB 抗白念珠菌作用

	单独使用		联合使用	
	NAM (mmol/L)	AmB (μg/mL)	NAM (mmol/L)	AmB (μg/ml)
MIC ₈₀	20	0.64	2	0.08
FICI 指数	-	-	0.38	

3.2 不同药物干预的代谢轮廓分析

按 2.4 气相色谱-质谱条件进代谢物的分离分析, 最终得到典型的总离子流图(图 1)。从代谢物的相对强度可以看出, 对照组与 NAM 组代谢轮廓比较相似, 而 AmB 组和联用组与对照组相比存在明显差异。将原始数据按 2.5 的方法进行处理并使用 PLS-DA 分析, 结果如图 2 所示。对照组和 NAM 组未有明显分离, 表明该剂量下的烟酰胺的干预未导致白念珠菌的代谢轮廓发生显著变化。AmB 组及联用组与对照组分离趋势明显, 表明该剂量下的药物干预引起了白念珠菌代谢轮廓的显著变化。AmB 组与联用组相比, 代谢轮廓也存在明显差异, 表明两组间的代谢物差异较大。

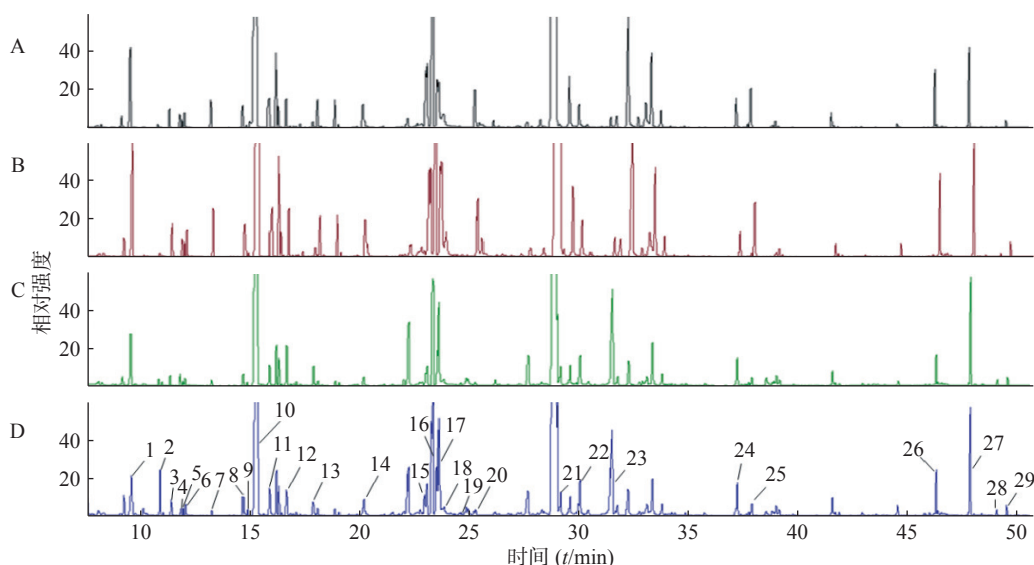


图 1 不同用药情况的 GC-MS 典型总离子流图 (A.对照组、B.NAM 组、C.AmB 组、D.联用组)

3.3 NAM 和 AmB 联合运用抑制白念珠菌作用机制探讨

将对照组、NAM 组、AmB 组和联用组的胞内

代谢物的变化情况进行统计分析和可视化呈现, 结果如表 2 和图 3 所示。

与对照组相比, 联用组有 28 个代谢物发生变

化;而 AmB 组与联用组比较,差异代谢物减少至 19 个。NAM 组和对照组之间的聚类分组不明显,

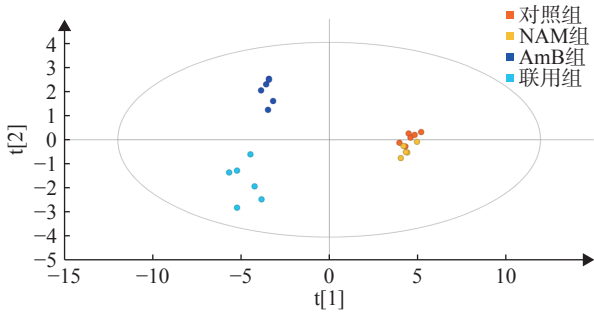


图2 对照组、NAM组、AmB组、联用组 PLS-DA 得分图

说明该剂量下的 NAM 未影响白念珠菌的生长和代谢。AmB 单独干预时对白念珠菌具有一定的抑制作用,与对照组相比有 23 个代谢物发生显著变化。

利用 MetaboAnalyst 5.0 对差异代谢物进行通路分析,发现主要涉及甘油酯代谢、氨基酸代谢、三羧酸循环等通路的变化。联用组与对照组相比有 28 个代谢物发生变化,其中 5 个代谢物在 AmB 单独给药时未发生变化。此外,联用组与 AmB 族相比有 19 个代谢物发生显著变化,其中 4 个代谢物(L-亮氨酸,L-异亮氨酸,L-天冬氨酸,纤维醇)含量变化趋势明显(FC 值>1.5 或<0.5),表明联合用

表2 对照组、AmB组、联用组(NAM-AmB)差异代谢物鉴别结果

序号	保留时间 (min)	代谢物	AmB组 vs 对照组		联用组 vs 对照组		联用组 vs AmB组	
			变化趋势	FC值	变化趋势	FC值	变化趋势	FC值
1	9.66	L-丙氨酸	-	-	↓	0.64*	-	-
2	10.93	羟胺乙酰	↑	16.31***	↑	20.30***	↑	1.24
3	11.46	L-亮氨酸	-	-	↑	1.56	↑	1.69**
4	11.92	4-氨基丁酸	↑	1.69**	-	-	↓	0.62*
5	12.03	L-脯氨酸	-	-	↑	1.60	↑	1.37**
6	12.13	L-异亮氨酸	-	-	↑	2.05**	↑	1.78***
7	13.34	L-缬氨酸	↓	0.46***	↓	0.42***	-	-
8	14.77	L-丝氨酸	-	-	↑	1.29	↑	1.49*
9	14.97	乙醇胺	↑	3.01***	↑	4.12***	↑	1.37
10	15.42	甘油	↑	2.86***	↑	3.17***	↑	1.10
11	15.94	L-苏氨酸	↓	0.22***	↓	0.46**	-	-
12	16.76	琥珀酸	↑	2.48***	↑	1.89***	↓	0.76*
13	17.99	2-丁烯二酸	↑	10.00	↑	8.47***	↓	0.85*
14	20.3	L-天冬氨酸	-	-	↑	1.67**	↑	1.58***
15	22.35	苹果酸	↑	15.19***	↑	9.58***	↓	0.63***
16	23.19	L-焦谷氨酸	↓	0.42**	↓	0.67*	-	-
17	23.76	甘氨酸-L-谷氨酸	↑	1.99*	↑	2.61	-	-
18	23.97	L-苯丙氨酸	↓	0.49***	↓	0.58**	-	-
19	24.73	4-羟基苯乙醇	↑	6.93***	↑	4.06***	↓	0.59**
20	25.41	2-苯基-1-丙胺	↓	0.15***	↓	0.23***	-	-
21	29.3	1,4-丁二胺	↑	4.90***	↑	6.07***	↑	1.24
22	30.18	甘油磷酸	↑	2.36***	↑	1.98*	-	-
23	31.64	柠檬酸	↑	33.56***	↑	26.16***	-	-
24	37.36	十六烷酸	↑	2.98***	↑	3.64***	↑	1.22**
25	38.03	纤维醇	↓	0.39***	↓	0.70**	↑	1.81***
26	46.46	1-甲基腺苷	↑	1.61**	↑	1.95*	↑	1.21
27	48.03	海藻糖	↑	4.75***	↑	4.07***	-	-
28	49.25	甘露糖	↑	12.88***	↑	8.68**	↓	0.68
29	49.71	半乳糖醇	↑	2.32***	↑	3.12***	↑	1.34*

注: FC值=实验组平均值/对照组平均值; *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, 与对照组比较。

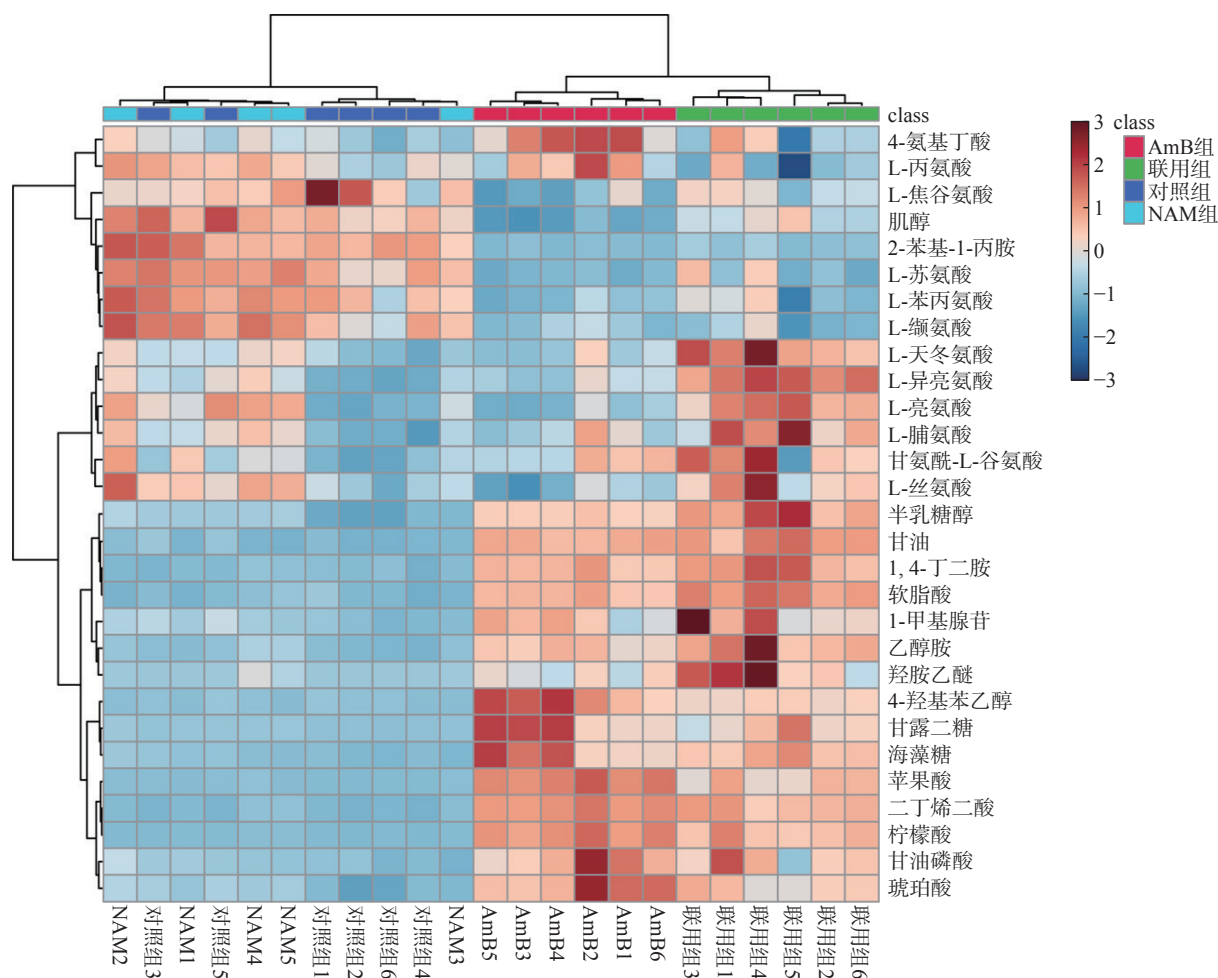


图3 不同药物干预后差异代谢物热图分析

药在一定程度上改变了 AmB 抑制白念珠菌的作用模式。

氨基酸是真核生物正常生命活动中不可或缺的物质,氨基酸的代谢失衡会导致白念珠菌的生长和繁殖缺乏能量供应,同时影响氮平衡、糖类代谢等相关通路^[10]。氨基酸代谢异常是联合给药干预后白念珠菌的主要特征之一。与对照组相比,联用组中的 L-亮氨酸、L-脯氨酸、L-异亮氨酸、L-丝氨酸、L-天冬氨酸的 FC 值>1.5,含量发生显著变化,而这些代谢物在 AmB 单独干预时的变化没有统计学差异(见图 4A 和 4B),表明在此剂量下 AmB 单独干预对于白念珠菌的轻微抑制作用并没有对其氨基酸的合成和代谢造成很大影响。然而,加入 NAM 后氨基酸含量的变化清晰地呈现了氨基酸代谢通路的变化。支链氨基酸含量的变化与机体的能量代谢密切相关,L-亮氨酸和 L-异亮氨酸含量升高,推测可能由于 NAM 和 AmB 联用后激活了作用于支链氨基酸合成和代谢通路中的相关酶,并对外界刺激做出了应激反应。

此外,三羧酸循环是生物体内营养物质氧化的

主要过程,与白念珠菌的 CO₂ 感应及菌丝发育的调控密切相关,该过程活性下降会导致白念珠菌利用碳源的能力降低,导致细胞的生长速度明显放缓^[11]。与对照组相比,AmB 组和联用组中柠檬酸、琥珀酸、苹果酸等三羧酸循环相关代谢物 FC 值均>1.5,表明给药后三羧酸循环相关代谢物均出现蓄积,但联用组蓄积情况反而低于 AmB 组。与对照组相比,AmB 组和联用组中的羟胺乙醚、乙醇胺、甘油、1,4-丁二胺、软脂酸、甲基腺苷、半乳糖醇的 FC 值>1.5,含量明显升高,并且联用组中的含量显著高于 AmB 组(见图 4C 和 4D)。

在白念珠菌中,鸟氨酸经过鸟氨酸脱羧酶能代谢为腐胺,而腐胺又能进一步转化为精胺、亚精胺等其他多胺。已有研究表明,干扰多胺合成通路能增强 AmB 抑制白念珠菌生物被膜合成的作用^[12],推测 NAM 可能干扰了白念珠菌的多胺合成通路,从而增强 AmB 对白念珠菌的抑制作用。总之,以上结果表明,NAM 与 AmB 联用并不仅仅增强了 AmB 原有的作用途径,还在一定程度上改变了其单独干预时的作用模式。

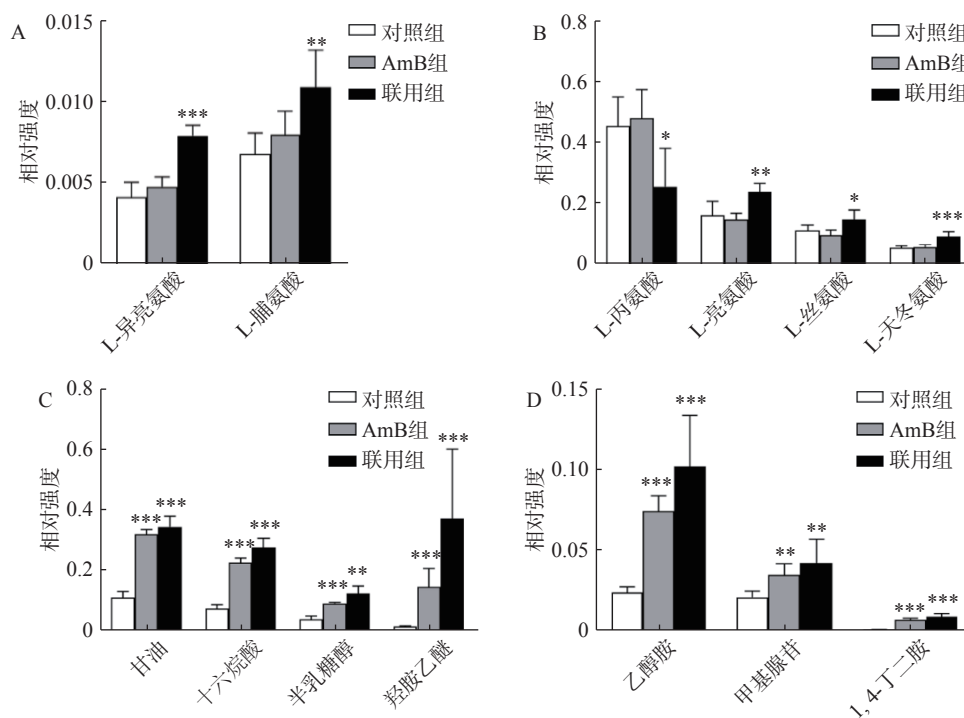


图4 差异代谢物相对含量柱状图 (Mean±SD, n=6)

A,B. 联用组特有的变化; C,D. AmB组和联用组共有的变化

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

4 结论

本研究利用气相色谱-质谱联用技术分析 NAM 与 AmB 作用下白念珠菌的代谢轮廓, 筛选出的差异代谢物包括氨基酸、有机酸、多胺、糖类等成分, 且涉及白念珠菌的氨基酸合成、三羧酸循环、甘油酯代谢等通路。NAM 与 AmB 联用后, 与对照组相比, 部分代谢物变化趋势与单独使用 AmB 时一致, 且变化幅度更大; 同时也有部分代谢物在 AmB 单独作用时未发生变化, 而联用后则发生显著变化, 说明 NAM 增强了 AmB 在原代谢通路中的作用, 同时一定程度上改变了其作用途径。因此, 推测 NAM 与 AmB 联用后可能通过影响白念珠菌的三羧酸循环, 干扰其氨基酸代谢, 影响其多胺合成等途径, 发挥对 AmB 的增效作用。

【参考文献】

- [1] 张欠欠, 罗传玉, 陈嘉琪, 等. 白念珠菌感染现状及抗真菌药物研究进展 [J]. *中国真菌学杂志*, 2021, 16(5): 356-360.
- [2] WANG Y. Looking into *Candida albicans* infection, host response, and antifungal strategies[J]. *Virulence*, 2015, 6(4): 307-308.
- [3] JACOBS S E, ZAGALIOTIS P, WALSH T J. Novel antifungal agents in clinical trials[J]. *F1000Research*, 2021, 10: 507.
- [4] BAGHIROVA A A, KASUMOV K M. Antifungal macrocycle antibiotic amphotericin B-its present and future. multidisciplinary perspective for the use in the medical practice[J]. *Biochem Mosc Suppl B Biomed Chem*, 2022, 16(1): 1-12.
- [5] 赵柳娅, 曹颖瑛, 姜远英. 两性霉素 B 联合用药的研究进展 [J]. *药与实践杂志*, 2014, 32(1): 1-4,8.
- [6] MORAES D C. Recent developments on the anti-*Candida* effect of amphotericin B combined with a second drug - a mini-review[J]. *An Acad Bras Cienc*, 2023, 95(1): e20220033.
- [7] KHAN S N, KHAN S, MISBA L, et al. Synergistic fungicidal activity with low doses of eugenol and amphotericin B against *Candida albicans*[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 518(3): 459-464.
- [8] XING X R, LIAO Z B, TAN F, et al. Effect of nicotinamide against *Candida albicans*[J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 595.
- [9] YAN Y, LIAO Z B, SHEN J, et al. Nicotinamide potentiates amphotericin B activity against *Candida albicans*[J]. *Virulence*, 2022, 13(1): 1533-1542.
- [10] BÖTTCHER B, DRIESCH D, KRÜGER T, et al. Impaired amino acid uptake leads to global metabolic imbalance of *Candida albicans* biofilms[J]. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 2022, 8(1): 78.
- [11] TAO L, ZHANG Y L, FAN S R, et al. Integration of the tricarboxylic acid (TCA) cycle with cAMP signaling and Sfl2 pathways in the regulation of CO₂ sensing and hyphal development in *Candida albicans*[J]. *PLoS Genet*, 2017, 13(8): e1006949.
- [12] LIAO Z B, ZHANGGUAN X Z, ZHU Z Y, et al. Enhancement of the antibiofilm activity of amphotericin B by polyamine biosynthesis inhibitors[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2015, 46(1): 45-52.

[收稿日期] 2023-07-17 [修回日期] 2023-12-31

[本文编辑] 蔺淼