

唑类药物的耐药机制及结构修饰研究进展

韩云英*, 阮奔放#

浙江工业大学, 浙江 杭州

收稿日期: 2022年11月4日; 录用日期: 2022年12月2日; 发布日期: 2022年12月14日

摘要

侵袭性真菌疾病对公共卫生构成了威胁。唑类药物可以通过抑制麦角固醇的合成来治疗真菌疾病, 但唑类药物的广泛使用导致真菌产生了耐药性, 使得临床治疗失败。所以, 研发新的抗真菌化合物十分重要。本文介绍了现有抗真菌药物的分类及唑类药物的作用机制、结构修饰及耐药机制。这有利于更好的认识目前唑类药物的情况, 以期促进新型抗真菌药物的研发。

关键词

真菌, 耐药机制, 唑类药物

Recent Advances on Resistance Mechanism and Structural Modification of Azole Drugs

Yunying Han*, Benfang Ruan#

Zhejiang University of Technology, Hangzhou Zhejiang

Received: Nov. 4th, 2022; accepted: Dec. 2nd, 2022; published: Dec. 14th, 2022

Abstract

Invasive fungal diseases pose a threat to public health. Azole drugs can be used to treat fungal diseases by inhibiting the synthesis of ergosterol, but the widespread use of azole drugs leads to the development of drug resistance in fungi, which makes clinical treatment failure. Therefore, it is very important to develop new antifungal compounds. In this paper, the classification of anti-fungal drugs and the mechanism of action, structural modification and resistance of azole drugs were introduced. This is conducive to a better understanding of the current situation of azole drugs, in order to promote the development of new antifungal drugs.

*第一作者。

#通讯作者。

Keywords

Fungi, Resistance Mechanism, Azole Drugs

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 真菌的分类

真菌, 是一种广泛分布于自然界的真核生物, 少数能引起危及生命的侵袭性疾病(如真菌血症、脑膜炎、肺炎) [1], 这类引起人类疾病的真菌被称为病原性真菌。病原性真菌一般分为三大类: 酵母菌、丝状真菌、双相真菌。酵母菌是单细胞真菌、兼性厌氧菌, 呈圆形或者卵圆形, 繁殖方式主要是芽殖。丝状真菌指多细胞真菌, 有菌丝和孢子、菌丝较为发达。双相真菌是指部分真菌可因环境改变而发生形态转变, 这些真菌在体内或者含动物蛋白的培养基上, 37°C 培养时呈现酵母相; 在普通培养基, 25°C 培养时呈现霉菌相[2]。2021 年国家真菌病监测网统计、分析了 31 个省级行政区域、721 所医院提交的数据, 发现真菌的临床样本所含的病原性真菌占比为酵母菌(93.2%)、丝状真菌(6.3%)、双相真菌(0.2%)。其中酵母菌中排在第一位的是念珠菌属(97.1%), 其次为隐球菌属(0.7%)、毛孢子菌属(0.3%)。丝状真菌中排序依次是曲霉属(80.3%), 青霉属(3.9%)、镰刀菌属(2.9%)、根霉/毛霉属(1.3%)。念珠菌属中又以白色念珠菌(60.8%)、光滑念珠菌(13.9%)、热带念珠菌(12.1%)、近平滑念珠菌(5.8%)、克柔念珠菌(2.7%)为主。曲霉属中以烟曲霉(42.8%)、黄曲霉(21.8%)、黑曲霉(13.9%)、土曲霉(6.1%)。双相真菌中只有两类, 马尔尼菲蓝状菌(88.6%)及申克孢子丝菌(10.3%), 具体见图 1。真菌所带来的侵袭性疾病, 是当今最严重的医学问题之一[3]。

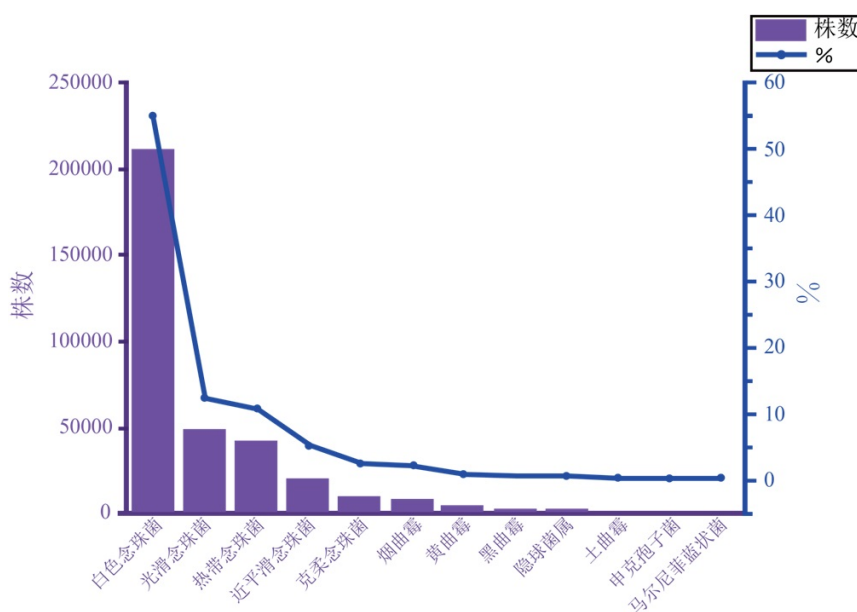


Figure 1. Classification of clinical fungi

图 1. 临床真菌分类

2. 抗真菌药物分类及特点

现有抗真菌药物主要分为三类: 1) 作用于细胞膜的化合物, 即破坏真菌细胞膜脂质结构和功能, 导致细胞膜的通透性变化、细胞内容物流失而造成菌体死亡。该类药物又可分为麦角固醇结合剂(多烯类, 以两性霉素 B 为代表)、角鲨烯环氧化酶抑制剂(丙烯胺类, 以特比萘芬、布替萘芬为代表)、麦角固醇合成抑制剂(唑类, 以氟康唑、伏立康唑、伊曲康唑为代表) [4]。2) 作用于真菌细胞壁的药物, 通过非竞争性地抑制 β -(1,3)-D-葡聚糖合成酶而阻止真菌细胞壁合成。而葡聚糖合成酶是真菌细胞壁合成的关键酶, 其被抑制会增加细胞壁的通透性, 由此导致细胞溶解。代表药物主要是棘白素类(卡泊芬净、米卡芬净等)。3) 作用于细胞核的药物, 可以抑制 RNA、DNA 的合成, 代表药物是氟胞嘧啶类(5-氟胞嘧啶)。

多烯类药物发展从制霉菌素开始, 但是制霉菌素口服几乎全部排出、注射肾毒性大。两性霉素 B 与其结构类似, 同样毒、副作用显著。烯丙胺类药物主要用于临床浅部真菌的治疗, 不用于深部真菌感染的治疗。唑类药物发展始于克霉唑及咪康唑。作为口服药物的克霉唑, 口服吸收不规则、剂量与浓度无线性关系。后被氟康唑、伊曲康唑、伏立康唑、泊沙康唑等三唑类药物替代。三唑类药物不良反应轻、患者适应性强, 抗菌谱广且可以用于口服及静脉滴注。棘白素类药物首次发现于 1981 年, 之后陆续出现了西洛芬净、阿尼芬净、米卡芬净及卡泊芬净。其作用靶点为细胞壁, 人类细胞无细胞壁, 故安全性高并且抗菌谱广, 抑菌活性好[5]。但是棘白素类药物价格昂贵, 大大的限制了其临床使用。核苷酸类药物自灰黄霉素就已经开始, 后来发现了氟胞嘧啶。氟胞嘧啶抗菌谱窄, 单独使用易诱导耐药、不良反应多, 患者适应性差。综上, 唑类药物抗菌谱广、疗效好毒性低, 是目前使用最广泛的抗真菌药物[6]。

3. 唑类的作用机制及结构改造

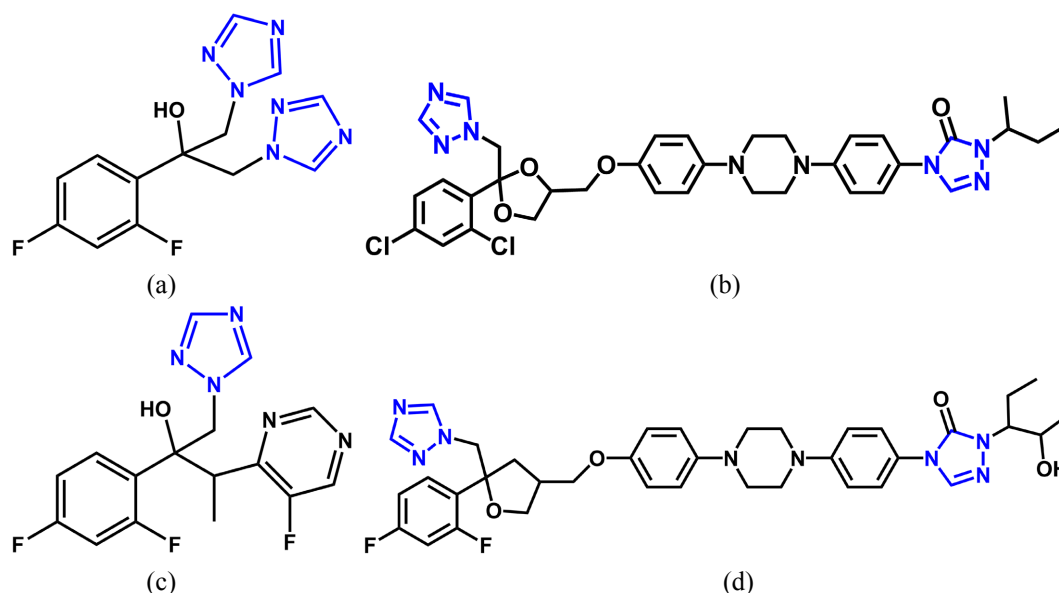


Figure 2. Chemical structure of approved antifungal agents: Fluconazole (a); Itraconazole (b); Voriconazole (c); Posaconazole (d). The substructures necessary for biological activity are shown in blue.

图 2. 已获批抗真菌药物化学结构: 氟康唑(a); 伊曲康唑(b); 伏立康唑(c); 泊沙康唑(d)。生物活性所必需的亚结构用蓝色表示

唑类药物分为咪唑类与三唑类, 其区别主要是分子中五元杂环含氮原子的数量, 含有两个氮原子称为咪唑类、三个氮原子则称为三唑类。用三唑环取代咪唑环后, 发现体外活性降低, 但体内效价是咪唑环的两倍, 可以用于真菌感染的治疗。第一代三唑类药物主要是氟康唑和伊曲康唑, 第二代三唑类药物

伏立康唑、泊沙康唑药理活性有所改善, 也被批准用于治疗 and 预防侵袭性真菌感染[7], 其结构见图 2。近年来, 人们对唑类药物进行了多种结构改造, 以期获得新的抗真菌药物。本文列出近年的唑类改造实例, 具体见表 1。

Table 1. Molecular modification of azole

表 1. 唑类分子改造

| 原有基础 | 改造途径 | 抑菌活性($\mu\text{g/ml}$) |
|----------------------|---|-------------------------------|
| 氟康唑分子 | 将三唑环通过生物电子等排形成噻二唑的结构[8] | $\text{MIC}_{80} = 0.125$ |
| 伊曲康唑 | 通过引入取代苯甲酰胺侧链, 调节化合物脂水分分配系数[9] | $\text{MIC}_{80} = 0.125$ |
| 氮唑骨架 | 设计合成二硒化和硒化衍生物, 引入苯基氮唑侧链或噻吩基氮唑侧链[10] | $\text{MIC}_{80} = 0.125$ |
| 氮唑骨架 | 以 2,4-二氟代联苯基为分子骨架的新型三氮唑化合物[11] | 与氟康唑抑菌活性相当 |
| 三唑基、噻唑片段 | 合成噻唑啉[4,5-d]嘧啶与(1H-1,2,4)-三唑的新衍生物, 并进行进一步的修饰, 在苯环上引入甲基-(2a)、氟-(2b)、氯-(2c)甲基-(3a)和氟-(3b)等取代基[12] | 0.06~8 |
| 1,2,4-三唑基团, 2,4-二氟苯基 | 将一个疏水侧链连接到三唑衍生物上。同时, 将硒及二硒化物作为连接剂, 合成了一系列化合物[13] | $\text{MIC}_{50} = 0.5\sim 2$ |

然而, 随着唑类药物长期低浓度的使用, 一些真菌对其产生了耐药性或多重耐药性。2021 年的报告分析发现, 热带念珠菌在血样本中所占的比例增加, 但其对氟康唑及伏立康唑的体外药物敏感性却下降到 52%~57%。毫无疑问, 这增加了治疗的难度。更好地理解唑类作用机制及真菌对唑类的耐药机制对于开发新的治疗方法和改进克服耐药性的策略至关重要[14]。

4. 唑类药物的作用机制及耐药机制

唑类药物的氮原子可以与真菌 CYP450 酶的辅基亚铁血红素上的亚铁离子形成络合键, 其余部分与辅基蛋白结合并相互作用, 抑制了 CYP450 酶的脱 14 α -甲基过程。其结果是使聚集到真菌细胞膜的固醇依然带有甲基基团, 它们没有正常的麦角固醇所具有的准确的形状和物理特性, 导致膜的渗透性改变并使膜中蛋白的功能失常, 从而引起真菌细胞死亡。

4.1. 14- α 去甲基化酶突变

麦角固醇多存在于真菌细胞膜的磷脂双分子层中, 是构成真菌细胞膜的重要成分, 同时对细胞膜上酶和离子转运蛋白的功能执行起着重要的作用。麦角固醇的生物合成发生在内质网中, 其从乙酰辅酶 A 逐步合成法尼基焦磷酸(FPP), 再由 FPP 开始逐步合成麦角固醇。同源 Hmg1 和 Hmg2 催化了甲戊二酸通路的第三步, 是 FPP 合成的限速步骤, 而 14- α 去甲基化酶(ERG11)则是合成麦角固醇的限速步骤[15]。ERG11 属于单加氧酶的细胞色素 P450 超家族, 其作用是催化羊毛甾醇中 14-甲基的氧化去除、产生 14,15-去饱和中间体[16]。唑类药物通过唑环上的氮原子与 EGR11 蛋白活性位点血红素的铁原子结合, 导致血红蛋白无法与氧原子结合, 破坏细胞膜的完整性, 从而抑制真菌生长。14- α 去甲基化酶有关的耐药机制主要有以下两类: ① ERG11 基因发生点突变。如 K143R 突变导致 ERG11 三级结构改变, 从而使唑类与该酶的亲和力降低、药物结合率降低, 引起耐药性增加[17]。② EGR11 基因表达增加。如 UPC2 调控固醇的摄取和代谢, 过表达 UPC2 会导致 ERG11 表达上调, 引起目标蛋白的增加[18]。这就需要更多的药物结合蛋白, 从而导致药物敏感性下降, 菌株的耐药性增强。

4.2. 外排泵过表达

细胞膜上的部分转运蛋白具有药物外排功能, 其过量表达会使药物转出细胞增多、降低细胞中的药物浓度, 导致药物不能有效地抑制真菌的生长。目前已知的真菌跨膜转运蛋白主要有 2 类: ABC 转运蛋白和主要易化载体超家族(MFS)。大多数 ABC 转运蛋白包含两个胞质核苷酸结合结构域和两个跨膜结构域(TMDs), 每个跨膜结构域由六个跨膜螺旋(TMHS)组成。这些蛋白质利用 ATP 结合和核苷酸结合区域水解的能量, 促进一系列构象变化, 使转运蛋白结合并释放药物底物。而 MFS 转运蛋白通常由 12 或 14 个 TMD 组成, 每个 TMD 由 6 或 7 个螺旋束组成, 这些螺旋束相互挤压, 形成一个由氨基酸组成的空腔来结合运输底物, 它们利用质子的能量进行外排[19]。其中与唑类耐药有关的 ABC 转运蛋白由 CDR1/CDR2 基因编码, 该基因上调引起药物外排增强和唑类积累减少介导唑类耐药; 相关的 MFS 由 MDR1 基因编码, 若基因缺失使得 MFS 表达减少, 导致菌株的敏感性增强、耐药性下降[20]。

4.3. 线粒体功能障碍

真菌耐药性与自身代谢密切相关, 而线粒体在这些代谢中起着核心作用。首先, 线粒体功能障碍可激活多耐药途径(Pleiotropic Drug Resistance, PDR), 该途径主要由 PDR1 和 PDR3 调控[21]。线粒体内膜蛋白 Psd1 的改变激活同源转录因子 PDR3 (*S. cerevisiae*)和 PDR1 (*C. glabrata*), 引起外排泵的编码基因以及鞘脂代谢所需基因的上调, 导致耐药性产生[22]。其次, 线粒体突变也会影响真菌的敏感性。通过构建 CgMIP1 (编码线粒体 DNA 聚合酶)缺失的突变体, 发现缺失 CgMIP1 不仅会触发线粒体功能的丧失和细菌较小的表型, 还会表现出外排泵相关基因 PDR1、CDR1 的高表达及唑类化合物的耐药性[23]。线粒体突变除了通过影响外排泵的表达, 也有通过非外排泵调节的耐药性。在针对分子伴侣 Hsp90 与线粒体功能关系的研究中发现, 两个具有代表性的线粒体基因 MSU1 (在线粒体 RNA 分解代谢过程中起作用)和 SHY1(编码细胞色素 c 氧化酶生物合成蛋白的基因)的缺失增强了细胞外排, 降低了细胞对氟康唑等化合物的敏感性, 使其耐药性增强[24]。另外, 线粒体的动力学可能会影响真菌对唑类的耐药性。真核细胞内的线粒体不断融合和分裂称为线粒体动力学, 对线粒体功能和完整性至关重要。线粒体裂变突变体(Δ dnm1/ Δ fis1/ Δ mdv1)表现出显著的唑类耐药性增加、生长及产孢率下降。裂变突变体的再融合可以部分修复生长和产孢缺陷, 并进一步增加抗唑表型[25]。

4.4. 转录因子引起耐药

念珠菌形成的生物膜使其在极高的药物浓度下仍能存活。CgMar1 (Multiple Azole Resistance 1)为 ORF CAGLOB03421g 编码的光滑念珠菌的转录因子, 它是调控质膜脂类生物合成和结合的途径的相关基因, 但不能激活 MDR 蛋白。研究发现, 编码一个预测的鞘磷脂长链碱基外排转运蛋白的 CgMar1 及其靶基因 CgRSB1 有助于鞘磷脂的质膜掺入和膜通透性, 从而减少氟康唑的积累, 引起耐药性增加[26]。

4.5. 细胞色素 c 氧化酶

细胞色素 c 氧化酶(COX)是电子传递链的末端酶, 由 11 个亚基组成的多聚蛋白复合体。在一项新研究中发现 Cox7c 无义突变导致菌落生长减少, 并对多种抗真菌药物产生耐药性。其机理为 Cox7c 的缺失导致细胞内血红素 B 的积累, 使得与血红素中铁原子结合的唑类化合物的需求增加, 导致耐药性的增加[27]。另外, 临床和环境条件下可能存在 Cox10 突变增强了烟曲霉的多药耐药性。Cox10 突变体与野生型菌株相比多药耐药转运体、几丁质合成酶和钙信号相关基因显著上调, 清除线粒体活性氧相关基因显著下调[28]。

4.6. 钙稳态的改变

在烟曲霉中, 各种外部刺激会增加的细胞质 Ca^{2+} 浓度, 使钙调蛋白与 Ca^{2+} 结合而被激活, 随后激活

下游蛋白使转录因子 CrzA (Crz1 的同源基因)去磷酸化,导致其核转位后通过转录调控下游信号通路来缓解细胞应激并促进细胞存活[29]。Cox10 突变体上调的表达基因(多重耐药转运蛋白、几丁质合成酶)具有一致的钙信号转录因子 CrzA 的结合位点,同时突变体胞质内 Ca^{2+} 瞬变增强,这使得 CrzA 始终定位在细胞核内,钙稳态(细胞质钙缓冲能力)发生了改变,引起真菌耐药性的产生[28]。

4.7. Hmg1 的突变

3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶(HMG-CoA 还原酶)由 Hmg1 及 Hmg2 编码,是一种催化 HMG-CoA 还原为甲戊酸的酶,这是麦角固醇生物合成途径中的限速步骤。烟曲霉 HMG-CoA 还原酶基因 Hmg1 的突变是三唑类耐药性的决定因素。如 Hmg1 的 S269F 突变与细胞壁麦角固醇水平升高及唑类耐药有关。有人在 15 株烟曲霉临床分离株中发现了 3 株 Hmg1 突变,且未发现其他任何已知的耐药机制,从而进一步证实了烟曲霉三唑耐药的新机制[30]。

5. 总结

综上所述,病原性真菌引起的真菌性疾病不容忽视,现有药物的毒副作用、不良反应、价格昂贵等特点限制了临床的治疗,并且真菌逐渐演变的耐药情况也给临床治疗带来了不小的困难。我们对这些耐药机制的研究及现有唑类分子的结构修饰有利于我们更加了解唑类药物与真菌的关系,以此帮助我们加强对患者的管理及药物的监测、优化治疗效果,同时期望找到新的治疗靶点来推动新型抗真菌药物的研发。

参考文献

- [1] Perlin, D.S., Rautemaa-Richardson, R. and Alastruey-Izquierdo, A. (2017) The Global Problem of Antifungal Resistance: Prevalence, Mechanisms, and Management. *The Lancet Infectious Diseases*, **17**, e383-e392. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30316-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30316-X)
- [2] 杨启文, 倪语星, 林丽开, 等. 临床微生物实验室真菌检测能力建设基本要求专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(7): 514-528.
- [3] Zeng, G.S., Xu, X.L., Gao, J.X., et al. (2021) Inactivating the Mannose-Ethanolamine Phosphotransferase Gpi7 Confers Caspofungin Resistance in the Human Fungal Pathogen *Candida albicans*. *The Cell Surface*, **7**, 2468-2330. <https://doi.org/10.1016/j.tcs.2021.100057>
- [4] 范月蕾, 王恒哲, 杨露, 毛开云. 抗真菌药物的发展态势分析[J]. 生物产业技术, 2015(2): 88-92.
- [5] 张莉, 张永信. 抗真菌药物的开发历程与研究进展[J]. 上海医药, 2011, 32(7): 326-329.
- [6] Healey, K.R. and Perlin, D.S. (2018) Fungal Resistance to Echinocandins and the MDR Phenomenon in *Candida glabrata*. *Journal of Fungi*, **4**, Article No. 105. <https://doi.org/10.3390/jof4030105>
- [7] Ping, B., Zhu, Y., Gao, Y., Yue, C. and Wu, B. (2013) Second-Versus First-Generation Azoles for Antifungal Prophylaxis in Hematology Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Annals of Hematology*, **92**, 831-839. <https://doi.org/10.1007/s00277-013-1693-5>
- [8] 刘丽, 李新利, 柴晓云, 赵风兰, 孟庆国. 1,3,4-噻二唑取代的氮唑类化合物的合成及体外抗真菌活性[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 2021, 34(1): 29-34.
- [9] 梁伦海, 刘丽, 张胜男, 等. 新型氮唑衍生物的合成及体外抗真菌活性[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 2022, 35(1): 35-41.
- [10] 武钺洋, 王轲, 王朝明, 柴晓云. 新型氮唑类化合物的合成及抗真菌活性研究[J]. 药学服务与研究, 2020, 20(1): 12-15.
- [11] 陈勇, 魏文博, 段坤坤, 等. 基于 2', 4'-二氟联苯基的新型 1,2,4-三氮唑类化合物的合成及其抗真菌活性[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 2020, 54(6): 982-989.
- [12] Blokhina, S.V., Sharapova, A.V., Ol'khovich, M.V., et al. (2021) Synthesis and Antifungal Activity of New Hybrids Thiazolo [4,5-d] Pyrimidines with (1H-1,2,4) Triazole. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **40**, Article No. 127944. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.127944>
- [13] Xu, H., Mou, Y., Guo, M., et al. (2022) Discovery of Novel Selenium-Containing Azole Derivatives as Antifungal

- Agents by Exploiting the Hydrophobic Cleft of CYP51. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **243**, Article No. 114707. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114707>
- [14] Cowen, L.E., Sanglard, D., Howard, S.J., Rogers, P.D. and Perlin, D.S. (2015) Mechanisms of Antifungal Drug Resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, **5**, Article No. a019752. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019752>
- [15] Bhattacharya, S., Esquivel, B.D. and White, T.C. (2018) Overexpression or Deletion of Ergosterol Biosynthesis Genes Alters Doubling Time, Response to Stress Agents, and Drug Susceptibility in *Saccharomyces cerevisiae*. *mBio*, **9**, e01291-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.01291-18>
- [16] Verma, A.K., Majid, A., Hossain, M., et al. (2022) Identification of 1, 2, 4-Triazine and Its Derivatives against Lanosterol 14-Demethylase (CYP51) Property of *Candida albicans*: Influence on the Development of New Antifungal Therapeutic Strategies. *Frontiers in Medical Technology*, **4**, Article 845322. <https://doi.org/10.3389/fmedt.2022.845322>
- [17] Derkacz, D., Bernat, P. and Krasowska, A. (2022) K143R Amino Acid Substitution in 14- α -Demethylase (Erg11p) Changes Plasma Membrane and Cell Wall Structure of *Candida albicans*. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article No. 1631. <https://doi.org/10.3390/ijms23031631>
- [18] Branco, J., Ola, M., Silva, R.M., et al. (2017) Impact of *ERG3* Mutations and Expression of Ergosterol Genes Controlled by *UPC2* and *NDT80* in *Candida parapsilosis* Azole Resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, **23**, 575.e1-575.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.02.002>
- [19] Banerjee, A., Rahman, H., Prasad, R. and Golin, J. (2022) How Fungal Multidrug Transporters Mediate Hyperresistance Through DNA Amplification and Mutation. *Molecular Microbiology*, **118**, 3-15. <https://doi.org/10.1111/mmi.14947>
- [20] 芦现杰, 郑玉果, 周斌. 真菌对唑类药物耐药机制研究进展[J]. 世界临床药物, 2012, 33(6): 363-368.
- [21] Song, J.X., Zhou, J.W., Zhang, L. and Li, R. (2020) Mitochondria-Mediated Azole Drug Resistance and Fungal Pathogenicity: Opportunities for Therapeutic Development. *Microorganisms*, **8**, Article No. 1574. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101574>
- [22] Shingu-Vazquez, M. and Traven, A. (2011) Mitochondria and Fungal Pathogenesis: Drug Tolerance, Virulence, and Potential for Antifungal Therapy. *Eukaryotic Cell*, **10**, 1376-1383. <https://doi.org/10.1128/EC.05184-11>
- [23] Siscar-Lewin, S., Gabaldón, T., Aldejohann, A.M., et al. (2021) Transient Mitochondria Dysfunction Confers Fungal Cross-Resistance against Phagocytic Killing and Fluconazole. *mBio*, **12**, e01128-21. <https://doi.org/10.1128/mBio.01128-21>
- [24] Hossain, S., Veri, A.O., Liu, Z., et al. (2021) Mitochondrial Perturbation Reduces Susceptibility to Xenobiotics through Altered Efflux in *Candida albicans*. *Genetics*, **219**, Article No. iyab095. <https://doi.org/10.1093/genetics/iyab095>
- [25] Neubauer, M., Zhu, Z.J., Penka, M., et al. (2015) Mitochondrial Dynamics in the Pathogenic Mold *Aspergillus fumigatus*: Therapeutic and Evolutionary Implications. *Molecular Microbiology*, **98**, 930-945. <https://doi.org/10.1111/mmi.13167>
- [26] Pais, P., Galocha, M., Califórnia, R., et al. (2022) Characterization of the *Candida glabrata* Transcription Factor CgMar1: Role in Azole Susceptibility. *Journal of Fungi*, **8**, Article No. 61. <https://doi.org/10.3390/jof8010061>
- [27] Chen, M.C., Zhong, G.W., Wang, S., Chen, P. and Li, L. (2022) Deletion of *cox7c* Results in Pan-Azole Resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **66**, e00151-22. <https://doi.org/10.1128/aac.00151-22>
- [28] Li, Y., Zhang, Y.W., Zhang, C., et al. (2020) Mitochondrial Dysfunctions Trigger the Calcium Signaling-Dependent Fungal Multidrug Resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **117**, 1711-1721. <https://doi.org/10.1073/pnas.1911560116>
- [29] Juvvadi, P.R., Lee, S.C., Heitman, J. and Steinbach, W.J. (2017) Calcineurin in Fungal Virulence and Drug Resistance: Prospects for Harnessing Targeted Inhibition of Calcineurin for an Antifungal Therapeutic Approach. *Virulence*, **8**, 186-197. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1201250>
- [30] Gonzalez-Jimenez, I., Lucio, J., Roldan, A., Alcazar-Fuoli, L. and Mellado, E. (2021) Are Point Mutations in HMG-CoA Reductases (Hmg1 and Hmg2) a Step towards Azole Resistance in *Aspergillus fumigatus*? *Molecules*, **26**, Article No. 5975. <https://doi.org/10.3390/molecules26195975>