从靶向DNA复制到破坏细胞分裂: 抗革兰阴性菌药物研究进展

王润瑛[1,2], 杨玉社[1,2], 张银勇[2*]

(1. 中国科学院大学, 北京 100049; 2. 中国科学院上海药物研究所, 上海 201203)

摘要: 因独特的外膜屏障及其复杂多样的多重耐药机制, 临床上革兰阴性菌耐药性极其严重, 而相关新药研发进展缓慢。本文系统梳理了近10年来上市和目前处于临床研究、临床前研究阶段的代表性抗革兰阴性菌药物, 重点介绍具有新靶点/新作用机制药物, 并按照对革兰阴性菌关键生命周期的干预策略进行分类总结, 包括: 拓扑异构酶抑制、蛋白合成干扰、蛋白转运阻碍、细胞壁合成阻断及损坏、细菌细胞分裂破坏等, 对各类药物的结构信息、作用机制、抗菌谱、临床应用和应用前景及挑战进行综述。

关键词: 抗菌药物; 革兰阴性菌; 耐药; 抗菌机制; 结构优化

中图分类号: R914 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2025)12-3682-10

From targeting DNA replication to disrupting cell division: advances in antibacterial drugs against Gram-negative bacteria

WANG Run-ying[1,2], YANG Yu-she[1,2], ZHANG Yin-yong[2*]

(*1. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 2. Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China*)

Abstract: Due to the unique outer membrane barrier and their complex and diverse multidrug resistance mechanisms, the clinical resistance of Gram-negative bacteria is extremely severe, while the development of related new drugs has progressed slowly. This article systematically reviews representative anti-Gram-negative bacterial drugs that have been marketed in the past decade and those currently in clinical or preclinical research stages. It focuses on introducing drugs with novel targets/mechanisms of action and categorizes them based on intervention strategies targeting key stages of the Gram-negative bacterial life cycle, including: topoisomerase inhibition, protein synthesis disruption, protein transport obstruction, cell wall synthesis inhibition and damage, and bacterial cell division disruption. The content provides a comprehensive review of the structural information, mechanisms of action, antibacterial spectrum, clinical applications, as well as the applicational prospects and challenges of various classes of drugs.

Key words: antimicrobial agent; Gram-negative bacterium; drug resistance; antimicrobial mechanism; structural optimization

细菌耐药性问题已经成为全球人类健康领域的重大威胁。《柳叶刀》最新研究显示, 从1990年到2021年, 全球每年因耐药菌感染直接造成的死亡人数超过100万, 而由此引发的间接死亡人数更是高达数百万[1]。根据2024年世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 发布的细菌优先病原体预警清单, 在关键优先级和高度优先级中, 共有11种细菌, 其中革兰阴性菌就占8种[2]。相比于革兰阳性菌, 革兰阴性菌耐药危机更为严峻, 其引起更高的临床检出率和死亡率。

革兰阴性菌对多种抗生素耐药性主要源于其复杂的双层膜结构, 尤其是由脂多糖 (lipopolysaccharide,

收稿日期: 2025-03-13; 修回日期: 2025-04-14.
基金项目: 中国博士后科学基金第76批面上资助 (2024M763418).
*通讯作者 Tel: 13120925625, E-mail: zhangyinyong@simm.ac.cn
DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0279

LPS) 与外膜蛋白等构成的外膜屏障, 能够有效阻止抗菌药物进入细菌内部发挥疗效[3-5]。即使抗菌药物突破外膜屏障后, 革兰阴性菌仍可通过多重耐药机制降低药物疗效, 甚至让抗菌药物完全失效, 例如高表达外排泵蛋白将药物泵出细菌[6]。这些机制协同作用, 使得研发高效广谱抗耐药性革兰阴性菌药物成为世界性难题, 导致全球近50年来尚未有基于全新靶点的抗革兰阴性菌药物被批准上市。因此, 耐药革兰阴性菌感染已成为临床治疗中尤为棘手的公共卫生危机。

本文系统梳理了近10年来抗革兰阴性菌创新性小分子药物的研究进展, 聚焦新型β-内酰胺酶抑制剂、铁载体偶联抗生素、外膜靶向抑制剂及非经典抗菌剂等前沿, 着重解析其关键抗菌机制与临床应用, 并根据作用于细菌关键生命周期中的不同阶段进行分类总结。重点综述在革兰阴性菌耐药危机中可能发挥重要作用的新靶点和新作用机制的抗菌药物, 探讨抗菌药物未来可能的研发方向, 以期为研发抗革兰阴性菌新药提供借鉴意义和参考价值。

1 作用于细菌生命周期不同阶段的抗革兰阴性菌药物研发进展

1.1 拓扑异构酶抑制

1.1.1 (氟) 喹诺酮类抗菌药物 (氟) 喹诺酮类抗菌药物是第一类全合成的广谱抗菌药物, 其抗菌作用靶标为II型拓扑异构酶 (包括DNA促旋酶和拓扑异构酶IV)。自上世纪60年代以来, 该类药物已有30余个优秀品种陆续上市, 是临床上仅次于β-内酰胺类的第二大类抗菌药物。然而, 随着该类药物长时间、广泛的临床应用, 其产生了严重的耐药性困扰。通过分子结构优化, 开发兼具克服耐药性和良好安全性的新一代喹诺酮类衍生物是当前该类药物研发的重点方向[7,8]。

德拉沙星 (delafloxacin, **1**, 图1) 于2017年被批准上市, 这是一种阴离子型氟喹诺酮类药物, 通过同时抑制革兰阴性菌的DNA促旋酶与拓扑异构酶IV, 展现出双重靶向作用机制[9]。该药物在体外和体内实验中均表现出广谱抗菌活性, 对铜绿假单胞菌、产超广谱β-内酰胺酶大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌等革兰阴性菌具有显著抗菌作用。临床研究表明, 其对氟喹诺酮类耐药的铜绿假单胞菌引起的囊性纤维化患者肺部感染展现出独特治疗优势, 这一特性使其在耐药菌感染治疗领域具有重要应用前景[10]。

1.1.2 螺嘧啶三酮类抗菌药物 佐氟达星 (zoliflodacin, **2**, 图1) 是一种新型螺嘧啶三酮类细菌II型拓扑异构酶抑制剂。与喹诺酮药物 (环丙沙星) 相比, 二者作用机制存在明显差异, 环丙沙星依赖非催化性Mg^{2+}稳定其与拓扑异构酶复合物的结构, 并作用于拓扑异构酶的GyrA/ParC区域催化位点, 而化合物**2**与拓扑异构酶的结合过程中并不依赖Mg^{2+}, 且作用于GyrB区域非ATP结合位点[11]。正是由于其新颖的II型拓扑异构酶抑制机制, 化合物**2**与现有抗菌药, 包括喹诺酮类没有交叉耐药性, 对甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌以及氟喹诺酮耐药的革兰阳性菌、多药耐药淋球菌有高度活性[12]。化合物**2**目前处于III期临床试验[13,14], 有可能成为治疗敏感和耐药淋球菌感染的新型口服抗菌药物。

1.1.3 三氮唑类抗菌药物 吉珀达星 (gepotidacin, **3**, 图1) 是一种新型三氮唑苊类抗菌药物, 于2025年被批准上市, 不同于喹诺酮类药物和螺嘧啶三酮类药物, 该化合物作用于细菌II型拓扑异构酶的GyrA/ParC区域非催化位点, 对拓扑异构酶IV的作用程度大于环丙沙星和佐氟达星。化合物**3**对青霉素、环丙沙星和四环素耐药的淋病奈瑟菌菌株有强效杀菌作用, 可抑制50%细菌生长的浓度 (50% minimum inhibitory concentration, MIC_{50})、可抑制90%细菌生长的浓度 (90% minimum inhibitory concentration, MIC_{90}) 分别为0.12、0.25 $\mu g \cdot mL^{-1}$ [15]。该药物用于治疗单纯性尿路感染和泌尿生殖系统淋病[16]。2024年, Gedeon等[17]基于化合物**3**的结构设计出了三氮唑类化合物BDM71403 (**4**, 图1), 该化合物对大肠杆菌的活性相比于**3**有了明显提升, 但尚未进入临床研究。

1.2 蛋白合成干扰

1.2.1 四环素类抗菌药物 四环素类抗菌药物通过结合30S核糖体亚基上高度保守的16S rRNA解码区, 阻断氨酰-tRNA与细菌核糖体结合, 抑制细菌蛋白质合成, 从而发挥抗菌作用[18,19]。革兰阴性菌已经对四环素类药物广泛耐药, 因此, 规避现有的四环素耐药机制

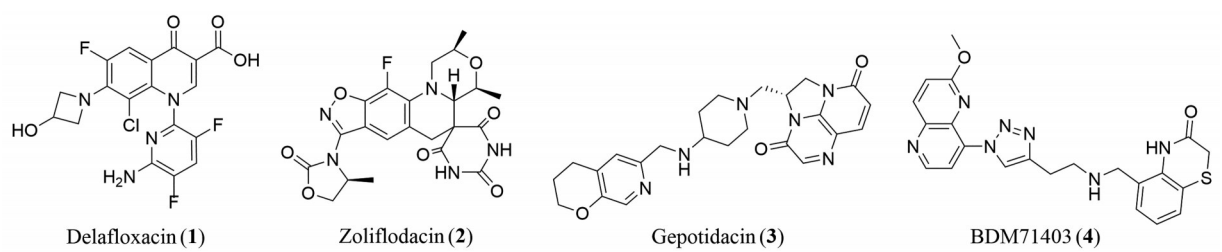


Figure 1 Antimicrobial drugs targeting the DNA replication phase

是该类药物研发正在努力的方向。

2018年被批准上市的依拉环素 (eravacycline, **5**, 图2) 是首个全合成广谱氟环素抗菌药物, 与替加环素的不同之处在于D环结构内的两种修饰, 即依拉环素结构中氟原子取代了C-7位点的二甲胺部分, 吡咯烷基乙酰氨基取代C-9位点的2-叔丁基甘氨酰胺, 修饰后, 化合物**5**具有更强的靶标结合效果。在保留经典四环素类药物核糖体靶向机制的基础上, 化合物**5**克服了外排泵及核糖体保护介导的耐药性问题, 具有独特抗菌优势[20]。化合物**5**对于革兰阴性菌具有良好的抗菌活性: 对于耐碳青霉烯类药物的肠杆菌, 化合物**5**的MIC_{50}值 ≤ 0.5 mg·L^{-1}, 对鲍曼不动杆菌的MIC_{90}为1～4 mg·L^{-1}, 在四环素外排泵表达广泛的大肠杆菌中比替加环素强4倍。不过化合物**5**对于铜绿假单胞菌的抗菌效果较差, MIC_{90}为16～32 mg·L^{-1} [21]。

奥马环素 (omadacycline, **6**, 图2) 也是2018年被批准上市, 这是一种半合成四环素衍生物, 相对于四环素, 化合物**6**的关键结构创新体现在D环C-7和C-9位点的化学修饰。修饰后, 化合物**6**在保留经典四环素类药物核糖体靶向机制的基础上, 通过特异性结合30S核糖体亚基的四环素初级结合位点, 干扰氨基酰-tRNA的定位从而阻断蛋白质翻译[22]。因此, 化合物**6**可以克服常见的四环素耐药机制, 包括外排泵特异性泵出机制和核糖体保护机制。化合物**6**对于革兰阴性菌有较强抗菌活性, 例如, 其对大肠杆菌和肺炎克雷伯菌的MIC_{90}分别为2和8 μg·mL^{-1} [23]。

1.2.2 氨基糖苷类抗菌药物 氨基糖苷类药物与细菌核糖体的30S亚基的16S rRNA解码区特异性结合, 通过干扰翻译过程的准确性导致异常蛋白聚集, 从而发挥抗菌活性。该类药物在抗革兰阴性菌治疗中具有重要的临床价值, 不仅具有强效抗菌活性, 且化学性质稳定, 可与*β*-内酰胺类等细胞壁合成抑制剂产生协同效应。然而, 该类化合物具有明显的肾毒性与耳毒性, 而且出现了严重的临床耐药问题[24]。因此, 寻找低毒性与抗耐药的高效氨基糖苷类抗菌药为该类化合物研发的重点。

普拉佐米星 (plazomicin, **7**, 图2) 2018年被批准上市, 是经结构改造而来的新型氨基糖苷类抗菌药物。常见氨基糖苷类抗菌药物因含有典型羟基, 导致其结构容易被氨基糖苷失活酶破坏, 例如: 阿米卡星、庆大霉素和妥布霉素等。化合物**7**在其3′和4′位置缺乏羟基, 且化学结构中羟乙基和4-氨基-2-羟基丁酸基团可

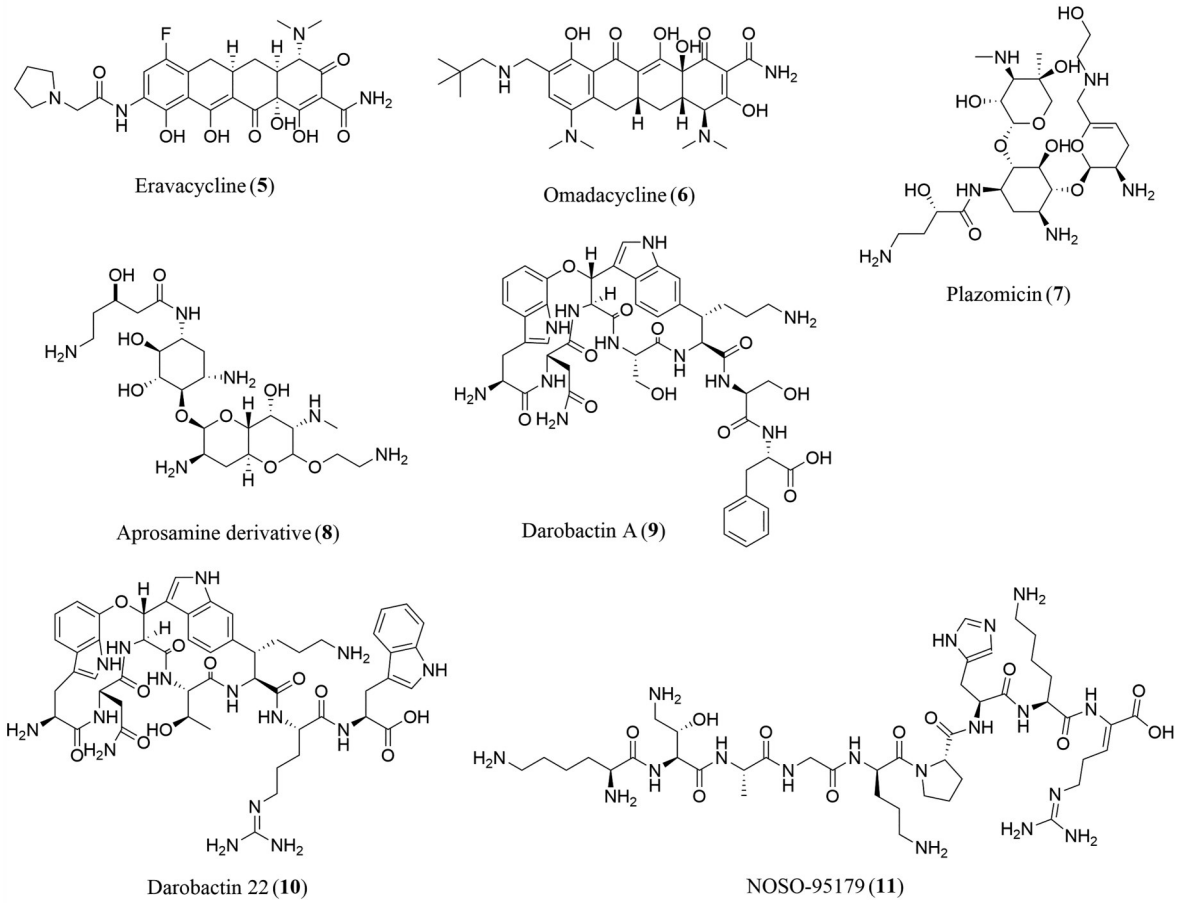


Figure 2 Antimicrobial drugs targeting the protein synthesis phase

保护其免受众多水解酶的攻击, 因此化合物**7**可以用于治疗对经典氨基糖苷类抗菌药物耐药的肠杆菌引起的感染[25]。对庆大霉素耐药的鲍曼不动杆菌及多种肠杆菌科细菌的MIC_{90}介于0.5～4 μg·mL^{-1}。但该药物仍受限于16S rRNA甲基转移酶介导的耐药机制, 未能突破此类耐药的治疗瓶颈[26]。

2023年Otsuka等[27]研发了具有新颖结构的aprosamine衍生物 (**8**, 图2), 作为新型氨基糖苷类抗菌药物, 对产生氨基糖苷类修饰酶耐药细菌显示出优异的活性, 最小抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 达0.25～0.5 μg·mL^{-1}。该化合物与目前用于临床的卡那霉素等氨基糖苷类抗菌药结构不同, 结构中氨基八二糖与氨基环醇糖苷相连[28]。因其结构新颖性, 化合物**8**既可有效规避氨基糖苷修饰酶的酶解失活, 又能抵抗核糖体甲基化修饰引发的靶点耐药。虽未进入临床研究 (原因不明), 但该化合物将为新一代氨基糖苷类抗菌药物的研发提供有益启示。

1.2.3　大环肽类抗菌药物　革兰阴性菌的外膜屏障发挥作用离不开*β*-桶状外膜蛋白 (outer membrane proteins, OMPs)。OMPs在信号传递、物质运输以及抵御抗菌药物等方面起着重要作用, 而OMPs的形成依赖于*β*-桶状组装机器 (*β*-barrel assembly machinery, BAM) 的调控, 因此抑制BAM将会导致OMP无法正常形成桶状结构, 破坏外膜结构, 最终介导细菌裂解死亡。BAM复合物在维持革兰阴性菌外膜稳态中的不可或缺性及高度保守的进化特征, 使其成为新型抗菌药物研发的重要靶点[29]。

2019年Lewis小组[30]从昆虫病原线虫嗜线虫菌Photorhabdus中发现了一种大环肽darobactin A (DA, **9**, 图2), 是一类新的天然产物抗生素, 正在进行临床前研究。化合物**9**可选择性地杀死革兰阴性细菌, 如铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、大肠杆菌和鲍曼不动杆菌。2023年Seyfert等[31]设计合成了新型类似物darobactin 22 (**10**, 图2), 其对于鲍曼不动杆菌的活性得到进一步改善, MIC值 ≤ 0.5 μg·mL^{-1}。作用机制研究表明, 这类化合物通过精确靶向BAM并抑制其关键的*β*-折叠酶与膜插入酶活性, 从而影响了OMP的成熟以及OMP插入外膜的过程, 继而发挥抗菌活性[30]。

1.2.4　多肽类抗菌药物　2018年Pantel等[32]发现了一类新的抗菌药物odilorhabdins, 它是来源于线虫共生细菌*Xenorhabdus nematophila*的天然产物, 可以有效杀死革兰阳性菌和革兰阴性菌, 尤其是对头孢他啶耐药的肠杆菌科细菌。Odilorhabdins与细菌核糖体小亚基的解码中心结合, 该位点未被任何其他已知的核糖体靶向抗菌药物利用。作用机制研究表明, odilorhabdins既通过干扰蛋白质翻译过程抑制细菌生长, 又能抑制细菌细胞壁的生物合成。其在干扰蛋白质翻译时作用机制取决于药物浓度: 在较低浓度下, 通过降低解码的保真度来诱导氨基酸错掺; 而在较高浓度下, 会干扰核糖体在mRNA模板上的进程。作为odilorhabdins的衍生物, NOSO-95179 (**11**, 图2) 展现出对多种革兰阴性菌的抗菌活性。同时, 化合物**11**具有良好的安全性: 在质量浓度高达256 μg·mL^{-1}时, 化合物**11**对人肝 (HepG2) 和肾 (HK-2) 细胞系没有表现出细胞毒性, 也没有表现出溶血活性[32]。尽管该类化合物尚未进入临床研究阶段, 但其独特的作用机制和较低的毒性特征显示出良好的开发前景。

1.3　蛋白质转运阻碍

1.3.1　脂蛋白定位系统抑制剂　革兰阴性菌的外膜的构成离不开脂蛋白, 脂蛋白在细菌细胞质中合成, 继而由脂蛋白定位 (localization of lipoprotein, Lol) 系统转运至细菌外膜。Lol系统包含5种蛋白: LolA是一种周质蛋白, LolB是一种外膜受体, 而剩下的3种蛋白则形成了LolCDE复合物, 能够将特异性的脂蛋白由内膜运输至外膜[33]。由于Lol系统为革兰阴性菌独有的系统, 开发选择性针对革兰阴性菌Lol系统的抑制剂很有成药潜力。

根据Lol系统的特点, 阻断转运的不同阶段均可导致脂蛋白转运异常, 进而引发细菌死亡。其中, 进展最快的为LolCDE抑制剂。2015年Nayar等[34]发现了一种含有咪唑结构的LolCDE抑制剂, 对野生型大肠杆菌与外排突变型的大肠杆菌的MIC分别为8和0.125 μg·mL^{-1}。为进一步提升抗菌活性, 2024年Muñoz等[35]进行结构改造, 发现了lolamicin (**12**, 图3), 对于多种革兰阴性菌具有抗菌效果, 对大肠杆菌的MIC最低为0.008 μg·mL^{-1}, 对肺炎克雷伯菌MIC ≤ 4 μg·mL^{-1}, 化合物**12**目前处于临床前研究阶段。

1.3.2　I型信号肽酶抑制剂　I型信号肽酶 (type I signal peptidase, SPase I) 是细菌蛋白质分泌过程中的关键酶。多数分泌蛋白最初以前体蛋白的形式被合成, 并在N端信号肽的引导下进行跨膜转运, 然后大部分信号肽被位于细菌质膜上的SPase I切除, 最终才能释放出成熟蛋白[36]。SPase I对细菌发挥毒力、生存和耐药性形成均至关重要。而且, SPase I和人源信号肽酶在分布、结构、底物特异性、催化机制上均有显著差异[37], 这意味着脱靶效应风险很低, 使得SPase I成为近年来具有吸引力的新型抗菌靶点之一。

Arylomycin类天然产物是研究最广泛的SPase I抑制剂, 但早期发现的这类化合物仅对少量革兰阳性菌有活性[38]。Smith等[39]基于arylomycin骨架进行结

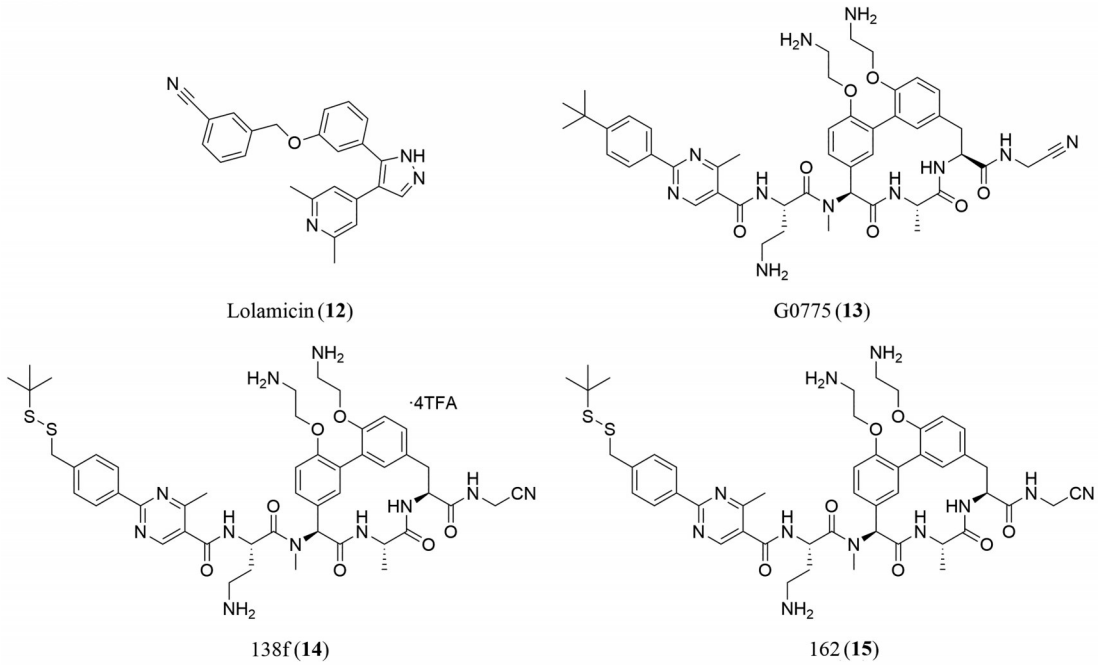


Figure 3 Antimicrobial drugs targeting the protein synthesis phase

构改造, 发现了对多药耐药大肠杆菌和肺炎克雷伯杆菌具有优异抗菌活性 ($MIC_{90} \leqslant 0.25\ \mu g \cdot mL^{-1}$) 的化合物 G0775 (**13**)。该化合物表现出独特的“自促摄取”透膜方式和新颖的“氰基成脒”共价结合模式, 克服了目前临床耐药菌的所有耐药机制。为扩大抗菌谱和改善药代动力学性质, Zhang 等[40]在化合物 **13** 亲脂区尾部引入二硫键, 获得了广谱、高活性化合物 138f (**14**, 图 3), 对美罗培南耐药的鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌的抗菌活性比化合物 **13** 提升约 8 倍, 临床意义重大。而且, 化合物 **14** 的游离碱形式 162 (**15**, 图 3) 在大鼠中表现出了优秀的药代动力学性质, 其暴露量 (area under the plasma concentration-time curve, AUC) 和半衰期 ($t_{1/2}$) 分别为化合物 **13** 的 2.3 和 2.8 倍。目前, 化合物 **15** 的成药性评价正在进行中。化合物 **13** 和 **15** 全新的药物靶点和独特的作用机制为其后续研究提供了重要价值。

1.4 细胞壁合成阻断及损坏

1.4.1 抑制细胞壁合成 *β*-内酰胺类抗菌药物是临床最重要最大的一类杀菌剂, 其通过与青霉素结合蛋白共价结合抑制细菌细胞壁的形成, 从而实现杀菌作用[41]。头孢菌素类抗菌药物是一类半合成抗生素, 属于重要的 *β*-内酰胺类抗菌药物。头孢地尔 (cefiderocol, **16**, 图 4) 在该类化合物中非常具有代表性。这是一种新型含铁载体的抗革兰阴性菌药物, 可与细菌胞外的 Fe^{3+} 结合, 并通过“特洛伊木马”策略, 借助细菌的铁运输系统穿过外膜到达靶点[42]。头孢地尔对多种革兰阴性菌 (包括碳青霉烯类和多黏菌素耐药的细菌) 表现出强大的体外活性。2019 年头孢地尔被批准用于治疗复杂性尿路感染, 2020 年头孢地尔被批准用于获得性细菌性肺炎和呼吸相关性细菌性肺炎[43]。

然而, 头孢地尔的稳定性较差, 对肺炎克雷伯菌与鲍曼不动杆菌的抗菌效果一般。为解决这些问题, Liu 等[44]设计合成了一系列头孢地尔衍生物, 最终发现了化合物 YFJ-36 (**17**, 图 4)。化合物 **17** 在 pH 6～8 的液体培养基中比头孢地尔更加稳定, 对于肺炎克雷伯菌

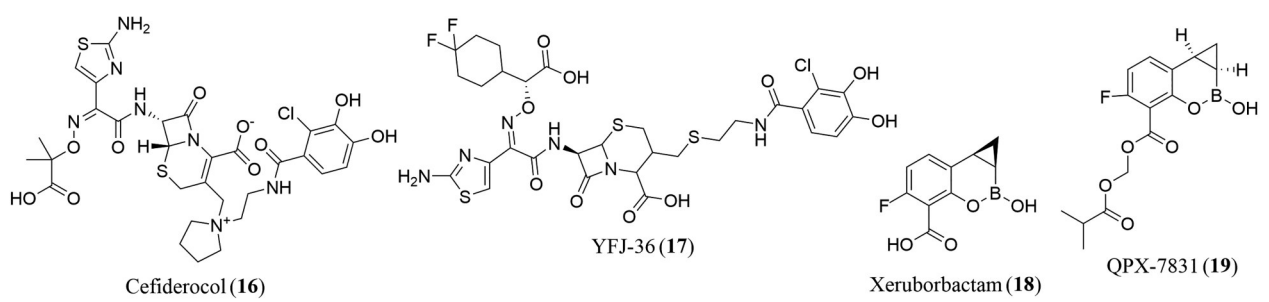


Figure 4 Drugs that inhibit cell wall synthesis

与鲍曼不动杆菌的抗菌效果明显优于头孢地尔, 目前正在进行进一步的成药性评价。

β-内酰胺类药物最重要的耐药机制是细菌高表达各种*β*-内酰胺酶, 破坏*β*-内酰胺类药物分子结构从而使该类药物完全失效[45]。因此, *β*-内酰胺类药物常常和*β*-内酰胺酶抑制剂联合使用, 以克服耐药性, 提高药物效价。然而, 现有*β*-内酰胺酶抑制剂均无法抑制金属-*β*-内酰胺酶 (metallo-*β*-lactamase, MBL)。MBL 可水解几乎所有*β*-内酰胺类药物, 其介导的革兰阴性菌耐药性引发全球关注, 且呈现扩散趋势。因此, 新型超广谱*β*-内酰胺酶抑制剂的需求日益增加[46,47]。

2020年Hecker等[48]发现了一种环状硼酸盐类化合物xeruborbactam (QPX7728, **18**, 图4), 该化合物具有超广谱*β*-内酰胺酶抑制效果, 能够同时抑制丝氨酸*β*-内酰胺酶和金属*β*-内酰胺酶。美罗培南与化合物**18**联合用药能够对于碳青霉烯类耐药和产超广谱*β*-内酰胺酶的肠杆菌发挥高效抗菌效果, MIC_{90}值为0.125 μg·mL^{-1} [47]。目前, 化合物**18**的I期临床试验正在进行, 以评估静脉注射治疗的安全性及药代动力学。同时, 化合物**18**口服前药QPX-7731 (**19**, 图4) 也正在开发中[49,50]。

1.4.2 破坏细菌外膜 多黏菌素类化合物一般含有一个环状七肽核心结构和一个三肽侧链, 呈现阳离子多肽特性。LPS是细菌外膜的结构成分, 由O抗原、核心多糖和脂质A组成, 带有负电荷, 维持细菌外膜的完整与稳定。带正电荷的多黏菌素取代Mg^{2+}或Ca^{2+}结合脂质A成分, 导致外膜不稳定被破坏[51]。然而, 该类化合物已上市50多年, 产生了较为严重的耐药性, 且肾毒性大, 临床应用受限。

2022年Roberts等[52]通过化学生物学方法系统优化了多黏菌素的结构, 获得活性、安全性更优的化合物QPX9003 (**20**, 图5)。除了结合脂质A, QPX9003还能够上调细菌脂肪酸生物合成的基因 (例如*fabG*、*fabZ*、*fabD*), 从而导致更大的膜不稳定, 使得其比多黏菌素B表现出更强的抗菌效力。而且腹腔注射150 mg·kg^{-1}时, 化合物**20**对小鼠肾脏没有造成明显损伤。目前,

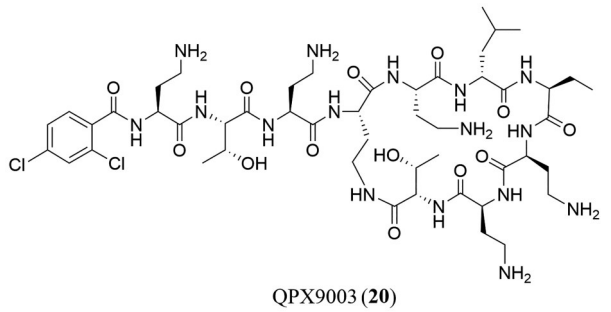


Figure 5 Drugs that disrupt the bacterial outer membrane

该化合物正处于临床I期试验研究阶段。

1.4.3 抑制脂质A合成 脂质A是构成革兰阴性菌外膜的主要成分, 可将LPS锚定于细胞外膜, 从而帮助细菌抵御外部因素伤害。革兰阴性菌通过9种特定的酶合成脂质A, 其中合成过程第二步中的去乙酰化酶LpxC [UDP-3-*O*-(*R*-3-hydroxymyristoyl)-*N*-acetyl-glucosamine deacetylase] 是催化脂质A生物合成过程中去乙酰化的关键酶, 对细菌生存至关重要[53]。

LpxC抑制剂大多含异羟肟酸结构, 通过螯合二价锌离子增加对LpxC的亲和力和抑制效果。这类抑制剂表现出对铜绿假单胞菌、大肠杆菌和肺炎克雷伯菌的优异抗菌活性, 然而对鲍曼不动杆菌的抗菌活性较差[54,55]。此外, LpxC抑制剂具有毒性问题, 例如曾进入临床I期研究的ACHN-975 (**21**, 图6) 和RC-01 (**22**, 图6) 均因安全性问题被终止。因此, 开发出一种安全又高效的LpxC抑制剂一直是巨大挑战[56]。

LPC-058 (**23**, 图6) 的发现是LpxC抑制剂在抗菌活性方面的一个重大突破[57]。相比于以往的LpxC抑制剂, 化合物**23**二氟甲基结构的引入, 使得其对大肠杆菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌, 尤其是对鲍曼不动杆菌的抗菌活性有很大提高 (MIC = 0.39 μg·mL^{-1})。然而, 化合物**23**安全性较差, 小鼠给药后出现腹泻现象, 且在较高剂量下出现肝毒性。

含环丙基的化合物LPC-233 (**24**, 图6) 的发现则是该类化合物在安全性上的重大突破。该化合物不仅对多

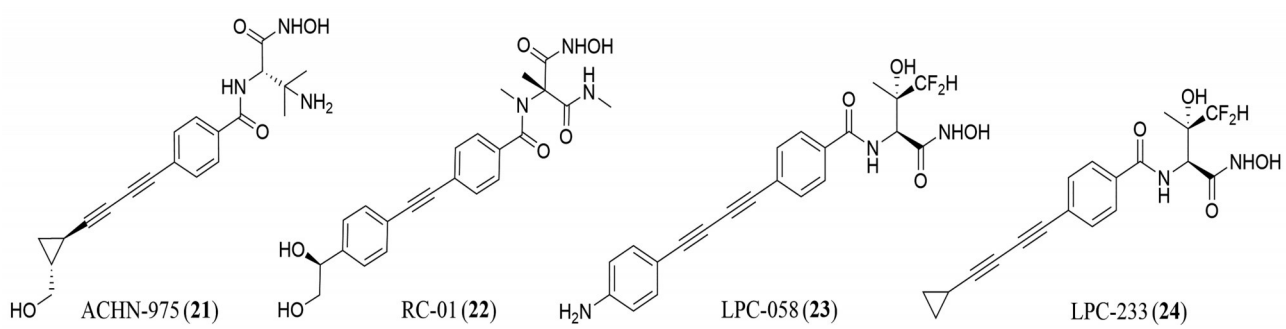


Figure 6 Targeting lipid A synthesis

种革兰阴性菌具有出色的抗菌活性 (MIC_{90} < 1 μg·mL^{-1}), 且在100 mg·kg^{-1}的给药剂量下未在犬身上发现心血管毒性。目前, 化合物**24**正处于临床前研究[58]。

1.4.4 靶向脂多糖转运阶段 LPS是构成细胞外膜的关键部分, 在革兰阴性菌中能够作为屏障抵抗有害物质入侵[59], 且与脂多糖转运 (lipopolysaccharide transport, Lpt) 系统密切相关。LPS在细菌细胞质中合成, 在LptB的ATP水解供能下, 被LptB2FG四聚体提取至LptC, 然后被推进至LptA, 并向LptDE移动, 最终LPS脂质部分插入外膜的外小叶中, 糖部分穿过LptD桶状腔[60,61]。

LptD与LptE位于细菌外膜, 相对于LptA-C以及LptB2FG四聚体更容易与抑制剂结合[62]。莫瑞伐定 (murepavadin, **25**, 图7) 靶向LptD发挥抗菌作用, 具有显著抗铜绿假单胞菌活性, 2019年进入临床III期阶段, 在治疗肺炎方面表现出临床治愈率高、死亡率低、耐药倾向低等优良特性[63,64]。但在临床研究中发现莫瑞伐定引起急性肾损伤的频率高于预期, 因此临床研究停止。然而在2022年, Spexis公司重启了莫瑞伐定针对囊性纤维化的临床I期试验。

2024年, Zampaloni等[65]发现了对于鲍曼不动杆菌具有良好抗菌活性的RO7075573 (**26**, 图7), 其对鲍曼不动杆菌ATCC 19606的MIC为0.12 μg·mL^{-1}。尽管化合物**26**具有良好的体外安全性, 然而在实验过程中发现, 大鼠对于化合物**26**有严重的耐受性问题。Zampaloni等[65]通过进一步优化, 发现动物耐受性良好的两性离子栓系大环肽zosurabalpin (**27**, 图7)。机制研究表明, 化合物**27**作用于在鲍曼不动杆菌中高度保守的蛋白复合物LptB2FGC, 并使该复合物失去转运功能。该化合物体内外对耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌和泛耐药鲍曼不动杆菌有很强抑菌活性, 且具有良好的药代动力学性质和安全性, 目前正在临床I期试验。

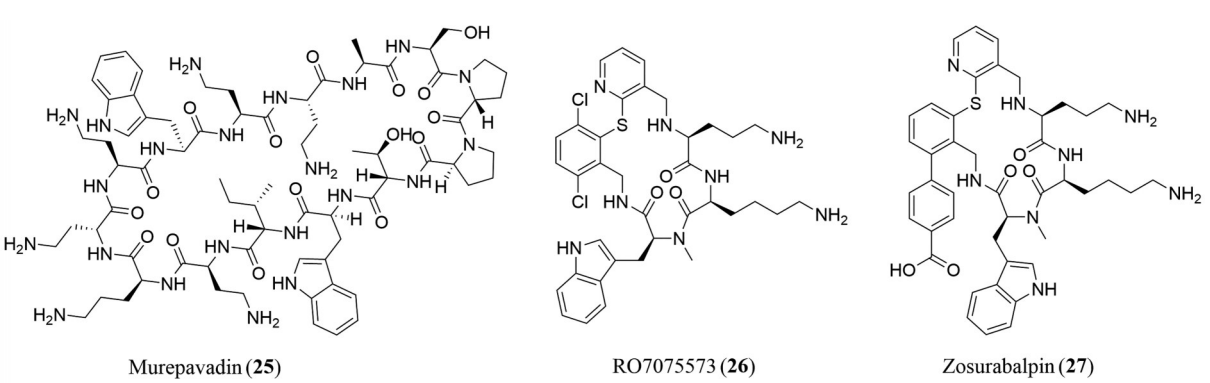
1.5 细菌细胞分裂破坏

细胞分裂温度敏感突变体Z (filamenting temperature-sensitive mutant Z, FtsZ) 作为细菌分裂的核心调控因子, 在三磷酸鸟苷 (guanosine triphosphate, GTP) 存在的情况下, 可在细胞内形成Z形环, 在细菌分裂中隔膜形成和分裂执行阶段均发挥关键作用。鉴于FtsZ蛋白的高度保守性和其在细菌分裂中的核心地位, 开发FtsZ抑制剂以破坏细菌细胞分裂, 已成为研发抗革兰阴性菌感染药物的新策略[66]。

2017年Sun等[67]通过筛选发现了含有喹啉结构的碘化物 (**28**, 图8), 该化合物通过刺激FtsZ蛋白的组装, 降低GTP酶活性, 从而阻断细菌胞质分裂, 最终损害细菌细胞分裂。多数FtsZ抑制剂仅对革兰阳性菌有效果, 而化合物**28**能够穿过革兰阴性菌的外膜, 对大多数测试的革兰阴性菌株表现出很强的抑制作用 (MIC值为1.5～6 μg·mL^{-1})[66]。针对FtsZ抑制剂在革兰阴性菌细胞内积累效率低的问题, 2024年Bryan团队[68]创新性地开发了基于铁载体转运机制的靶向递送FtsZ抑制剂的策略, 设计出新型化合物RUP4 (**29**, 图8)。该化合物含有氯代邻苯二酚铁载体, 可特异性螯合三价铁离子, 利用细菌铁摄取通路实现跨膜转运。抗菌实验结果表明, 化合物**29**对肺炎克雷伯菌和鲍曼不动杆菌具有较强的抗菌活性。该类抑制剂虽然尚未有化合物进入临床, 但其全新靶点仍展现出发展潜力。

2 展望与挑战

抗革兰阴性菌药物的研发具有重大而急迫的临床意义。近年来, 基于对革兰阴性菌特有生物学屏障和耐药机制的深度解析, 研究者已发展出多维度药物开发策略。例如, 在突破外膜渗透瓶颈方面, 研发铁载体头孢菌素轭合物、外膜穿透增强剂是有希望的策略; 针对β-内酰胺酶介导的细菌耐药性, 新型超广谱β-内酰胺酶抑制剂是重要的研究方向; 针对新型靶点的药物研发在克服现有耐药菌耐药机制方面展现出显著优势, 极具发展潜力。值得注意的是, 在抗革兰阴性菌药物开发策略中, 靶向外膜或破坏外膜结构的策略具有重要的理论和实践意义。与其他抗菌机制相比,



Murepavadin (**25**) RO7075573 (**26**) Zosurabalpin (**27**)

Figure 7 Targeting the lipopolysaccharide transport phase

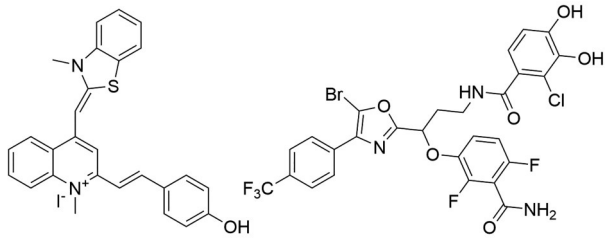


Figure 8 Drugs targeting the bacterial cell division phase

这种作用方式能够显著降低细菌产生耐药性的风险, 因而被视为新一代抗革兰阴性菌药物研发的优先方向。

尽管新型抗革兰阴性菌药物的研发已取得一定进展, 但几乎均处于药物研发的早期阶段, 未来的药物开发依然充满挑战。一方面, 需要继续深度挖掘全新靶点和全新作用机制药物; 另一方面, 应优化联合治疗策略, 协同增效以及合理使用抗菌药物, 尽可能延缓细菌耐药。与此同时, 多学科交叉应用, 整合结构生物学、计算化学、微生物组学和人工智能等多领域技术有望提升药物研发效率, 推动抗菌药物研发技术不断创新, 才能在这场人类与细菌耐药性的竞赛中抢占先机。

作者贡献: 王润瑛负责综述的文献调研与撰写; 杨玉社负责论文的指导; 张银勇负责论文的选题与修改。

利益冲突: 本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

References

[1] Naghavi M, Vollset SE, Ikuta KS, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050 [J]. Lancet, 2024, 404: 1199-1226.

[2] World Health Organization. WHO updates list of drug-resistant bacteria most threatening to human health [N]. Geneva: WHO, 2024.

[3] Lehman KM, Grabowicz M. Countering Gram-negative antibiotic resistance: recent progress in disrupting the outer membrane with novel therapeutics [J]. Antibiotics (Basel), 2019, 8: 163.

[4] Zgurskaya HI, Rybenkov VV. Permeability barriers of Gram-negative pathogens [J]. Ann N Y Acad Sci, 2019, 1459: 5-18.

[5] Breijyeh Z, Jubeh B, Karaman R. Resistance of Gram-negative bacteria to current antibacterial agents and approaches to resolve it [J]. Molecules, 2020, 25: 1340.

[6] Zhou G, Wang Q, Wang YS, et al. Outer membrane porins contribute to antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria [J]. Microorganisms, 2023, 11: 1690.

[7] Rusu A, Munteanu AC, Arbănași EM, et al. Overview of side-effects of antibacterial fluoroquinolones: new drugs *versus* old drugs, a step forward in the safety profile? [J]. Pharmaceutics, 2023, 15: 804.

[8] Sharma V, Saini M, Das R, et al. Recent updates on antibacterial quinolones: green synthesis, mode of interaction and structure-activity relationship [J]. Chem Biodivers, 2025, 22: e202401936.

[9] Kocsis B, Domokos J, Szabo D. Chemical structure and pharmacokinetics of novel quinolone agents represented by avarofloxacin, delafloxacin, finafloxacin, zabofloxacin and nemonoxacin [J]. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2016, 15: 34.

[10] Millar BC, McCaughan J, Rendall JC, et al. Delafloxacin − a novel fluoroquinolone for the treatment of ciprofloxacin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients with cystic fibrosis [J]. Clin Respir J, 2020, 15: 116-120.

[11] Basarab GS, Kern GH, McNulty J, et al. Responding to the challenge of untreatable gonorrhea: ETX0914, a first-in-class agent with a distinct mechanism-of-action against bacterial type II topoisomerases [J]. Sci Rep, 2015, 5: 11827.

[12] Bradford PA, Miller AA, O′Donnell J, et al. Zoliflodacin: an oral spiropyrimidinetrione antibiotic for the treatment of *Neisseria gonorrheae*, including multi-drug-resistant isolates [J]. ACS Infect Dis, 2020, 6: 1332-1345.

[13] Luckey A, Alirol E, Delhomme S, et al. Effect of food on the pharmacokinetics of zoliflodacin granules for oral suspension: phase I open-label randomized cross-over study in healthy subjects [J]. Clin Transl Sci, 2023, 16: 770-780.

[14] Oyardi O, Yilmaz FN, Dosler S. Efficacy of zoliflodacin, a spiropyrimidinetrione antibiotic, against Gram-negative pathogens [J]. Curr Microbiol, 2024, 81: 241.

[15] Farrell DJ, Sader HS, Rhomberg PR, et al. *In vitro* activity of gepotidacin (GSK2140944) against *Neisseria gonorrhoeae* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2017, 61: e02047-16.

[16] Watkins RR, Thapaliya D, Lemonovich TL, et al. Gepotidacin: a novel, oral, 'first-in-class' triazaacenaphthylene antibiotic for the treatment of uncomplicated urinary tract infections and urogenital gonorrhoea [J]. J Antimicrob Chemother, 2023, 78: 1137-1142.

[17] Gedeon A, Yab E, Dinut A, et al. Molecular mechanism of a triazole-containing inhibitor of *Mycobacterium tuberculosis* DNA gyrase [J]. iScience, 2024, 27: 110967.

[18] Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2001, 65: 232-260.

[19] Kounatidis D, Dalamaga M, Grivakou E, et al. Third-generation tetracyclines: current knowledge and therapeutic potential [J]. Biomolecules, 2024, 14: 783.

[20] Grossman TH, Starosta AL, Fyfe C, et al. Target- and resistance-based mechanistic studies with TP-434, a novel fluorocycline antibiotic [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2012, 56: 2559-2564.

[21] Huang PY, Hsu CK, Tang HJ, et al. Eravacycline: a comprehensive review of *in vitro* activity, clinical efficacy, and real-world applications [J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2024, 22: 387-398.

[22] Heidrich CG, Mitova S, Schedlbauer A, et al. The novel aminomethylcycline omadacycline has high specificity for the primary tetracycline-binding site on the bacterial ribosome [J]. Antibiotics (Basel), 2016, 5: 32.

[23] Karlowsky JA, Steenbergen J, Zhanel GG. Microbiology and preclinical review of omadacycline [J]. Clin Infect Dis, 2019, 69: S6-S15.

[24] Vakulenko SB, Mobashery S. Versatility of aminoglycosides and prospects for their future [J]. Clin Microbiol Rev, 2003, 16: 430-450.

[25] Alfieri A, Di Franco S, Donatiello V, et al. Plazomicin against multidrug-resistant bacteria: a scoping review [J]. Life (Basel), 2022, 12: 1949.

[26] Chen HT, Li GQ, You XF, et al. Plazomicin: advances in antibacterial pharmacology and chemotherapy [J]. Chin J Antibiot (中国抗生素杂志), 2020, 45: 122-130.

[27] Otsuka Y, Umemura E, Takamiya Y, et al. Aprosamine derivatives active against multidrug-resistant Gram-negative bacteria [J]. ACS Infect Dis, 2023, 9: 886-898.

[28] Perzynski S, Cannon M, Cundliffe E, et al. Effects of apramycin, a novel aminoglycoside antibiotic on bacterial protein synthesis [J]. Eur J Biochem, 1979, 99: 623-628.

[29] Shen CR, Chang SH, Luo QH, et al. Structural basis of BAM-mediated outer membrane β-barrel protein assembly [J]. Nature, 2023, 617: 185-193.

[30] Imai Y, Meyer KJ, Iinishi A, et al. A new antibiotic selectively kills Gram-negative pathogens [J]. Nature, 2019, 576: 459-464.

[31] Seyfert CE, Porten C, Yuan B, et al. Darobactins exhibiting superior antibiotic activity by cryo-EM structure guided biosynthetic engineering [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2023, 62: e202214094.

[32] Pantel L, Florin T, Dobosz-Bartoszek M, et al. Odilorhabdins, antibacterial agents that cause miscoding by binding at a new ribosomal site [J]. Mol Cell, 2018, 70: 83-94.

[33] Tokuda H, Matsuyama S. Sorting of lipoproteins to the outer membrane in *E. coli* [J]. Biochim Biophys Acta, 2004, 1693: 5-13.

[34] Nayar AS, Dougherty TJ, Ferguson KE, et al. Novel antibacterial targets and compounds revealed by a high-throughput cell wall reporter assay [J]. J Bacteriol, 2015, 197: 1726-1734.

[35] Muñoz KA, Ulrich RJ, Vasan AK, et al. A Gram-negative-selective antibiotic that spares the gut microbiome [J]. Nature, 2024, 630: 429-436.

[36] Paetzel M. Structure and mechanism of *Escherichia coli* type I signal peptidase [J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1843: 1497-1508.

[37] Paetzel M, Karla A, Strynadka NC, et al. Signal peptidases [J]. Chem Rev, 2002, 102: 4549-4580.

[38] Smith PA, Powers ME, Roberts TC, et al. *In vitro* activities of arylomycin natural-product antibiotics against *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase-negative *Staphylococci* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55: 1130-1134.

[39] Smith PA, Koehler MFT, Girgis HS, et al. Optimized arylomycins are a new class of Gram-negative antibiotics [J]. Nature, 2018, 561: 189-194.

[40] Zhang YY, Zhang D, Zhao WH, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of novel arylomycins against multidrug-resistant Gram-negative bacteria [J]. J Med Chem, 2024, 67: 6585-6609.

[41] Bush K, Bradford PA. β-Lactams and β-lactamase inhibitors: an overview [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2016, 6: a025247.

[42] Aoki T, Yoshizawa H, Yamawaki K, et al. Cefiderocol (S-649266), a new siderophore cephalosporin exhibiting potent activities against *Pseudomonas aeruginosa* and other Gram-negative pathogens including multi-drug resistant bacteria: structure activity relationship [J]. Eur J Med Chem, 2018, 155: 847-868.

[43] Parsels KA, Mastro KA, Steele JM, et al. Cefiderocol: a novel siderophore cephalosporin for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections [J]. J Antimicrob Chemother, 2021, 76: 1379-1391.

[44] Liu FJ, Kou QH, Li HY, et al. Discovery of YFJ-36: design, synthesis, and antibacterial activities of catechol-conjugated β-lactams against Gram-negative bacteria [J]. J Med Chem, 2024, 67: 6705-6725.

[45] Fisher JF, Meroueh SO, Mobashery S. Bacterial resistance to β-lactam antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity [J]. Chem Rev, 2005, 105: 395-424.

[46] Fatima N, Khalid S, Rasool N, et al. Approachable synthetic methodologies for second-generation β-lactamase inhibitors: a review [J]. Pharmaceuticals (Basel), 2024, 17: 1108.

[47] Lomovskaya O, Castanheira M, Lindley J, et al. *In vitro* potency of xeruborbactam in combination with multiple β-lactam antibiotics in comparison with other β-lactam/β-lactamase inhibitor (BLI) combinations against carbapenem-resistant and extended-spectrum β-lactamase-producing *Enterobacterales* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2023, 67: e00440-23.

[48] Hecker SJ, Reddy KR, Lomovskaya O, et al. Discovery of cyclic boronic acid QPX7728, an ultrabroad-spectrum inhibitor of serine and metallo-β-lactamases [J]. J Med Chem, 2020, 63: 7491-7507.

[49] Kang SJ, Kim DH, Lee BJ. Metallo-β-lactamase inhibitors: a continuing challenge for combating antibiotic resistance [J]. Biophys Chem, 2024, 309: 107228.

[50] Reddy KR, Parkinson J, Sabet M, et al. Selection of QPX7831, an orally bioavailable prodrug of boronic acid β-lactamase inhibitor QPX7728 [J]. J Med Chem, 2021, 64: 17523-17529.

[51] Falagas ME, Rafailidis PI, Matthaiou DK. Resistance to polymyxins: mechanisms, frequency and treatment options [J]. Drug Resist Updat, 2010, 13: 132-138.

[52] Roberts KD, Zhu Y, Azad MAK, et al. A synthetic lipopeptide

targeting top-priority multidrug-resistant Gram-negative pathogens [J]. Nat Commun, 2022, 13: 1625.

[53] Yan LN, Zhang ZY. Research progress on the lipid A biogenesis [J]. Chin Bull Life Sci (生命科学), 2022, 34: 1080-1089.

[54] Tomaras AP, McPherson CJ, Kuhn M, et al. LpxC inhibitors as new antibacterial agents and tools for studying regulation of lipid A biosynthesis in Gram-negative pathogens [J]. mBio, 2014, 5: e01551-14.

[55] Montgomery JI, Brown MF, Reilly U, et al. Pyridone methylsulfone hydroxamate LpxC inhibitors for the treatment of serious Gram-negative infections [J]. J Med Chem, 2012, 55: 1662-1670.

[56] Niu ZD, Lei P, Wang YX, et al. Small molecule LpxC inhibitors against Gram-negative bacteria: advances and future perspectives [J]. Eur J Med Chem, 2023, 253: 115326.

[57] Lee CJ, Liang XF, Wu QL, et al. Drug design from the cryptic inhibitor envelope [J]. Nat Commun, 2016, 7: 10638.

[58] Zhao JS, Cochrane CS, Najeeb J, et al. Preclinical safety and efficacy characterization of an LpxC inhibitor against Gram-negative pathogens [J]. Sci Transl Med, 2023, 15: eadf5668.

[59] Mo T, Liu MF, Chen AC, et al. Component and functions of lipopolysaccharide transport system in Gram-negative bacteria [J]. Acta Microbiol Sin (微生物学报), 2018, 58: 1521-1530.

[60] Yoon Y, Song S. Structural insights into the lipopolysaccharide transport (Lpt) system as a novel antibiotic target [J]. J Microbiol, 2024, 62: 261-275.

[61] Narita S, Tokuda H. Biochemical characterization of an ABC transporter LptBFGC complex required for the outer membrane sorting of lipopolysaccharides [J]. FEBS Lett, 2009, 583: 2160-2164.

[62] Hicks G, Jia ZC. Structural basis for the lipopolysaccharide export activity of the bacterial lipopolysaccharide transport system [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19: 2680.

[63] Li Y, Li GQ, Tian YY, et al. Novel antibacterial drug target against Gram-negative bacteria: lipopolysaccharide transport protein LptDE and its inhibitors [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2024, 59: 279-288.

[64] Gu XT, Chen WJ, Guo T, et al. A novel synthetic method for backbone-cyclized polypeptide POL7080 with the help of hydrophobic-support materials [J]. Org Biomol Chem, 2024, 22: 85-89.

[65] Zampaloni C, Mattei P, Bleicher K, et al. A novel antibiotic class targeting the lipopolysaccharide transporter [J]. Nature, 2024, 625: 566-571.

[66] Wang YT, Liu LT, Hou B, et al. Recent advances in studies on FtsZ inhibitors [J]. Biochem Pharmacol, 2024, 230: 116551.

[67] Sun N, Lu YJ, Chan FY, et al. A thiazole orange derivative targeting the bacterial protein FtsZ shows potent antibacterial activity [J]. Front Microbiol, 2017, 8: 855.

[68] Bryan EJ, Qiao Q, Wang YX, et al. A FtsZ inhibitor that can utilize siderophore-ferric iron uptake transporter systems for activity against Gram-negative bacterial pathogens [J]. Antibiotics (Basel), 2024, 13: 209.