金属β-内酰胺酶抑制剂研究进展

王万存[1], 周应勋[1], 吴占攀[1], 杨国春[1], 陈凌云[1,2], 侯安国[1,2*], 金文彬[1,2*]

(1. 云南中医药大学中药学院, 云南 昆明 650500; 2. 云南省高校外用给药系统与制剂技术研究重点实验室, 云南 昆明 650500)

摘要: 金属β-内酰胺酶 (metal β-lactamases, MBLs) 通过水解β-内酰胺环介导碳青霉烯类抗生素耐药性, 然而现有抑制剂多处于实验室研究阶段, 普遍存在选择性差或活性不足的问题, 目前尚无通过临床审批的有效MBLs抑制剂。MBLs可分为B1、B2、B3共3个亚类: B1和B3亚类具有两个锌离子, B2亚类仅有一个活性锌离子。尽管这些酶的活性位点在结构上高度保守, 均呈现特征性的αβ/βα折叠构象, 催化中心位于αβ单元间的一个或两个锌离子位点, 且两侧伴有柔性环结构, 但基于酶学结构与热力学研究开发的候选药物如2-喹唑啉酮类QDP-1、环硼酸酯类VNRX-5133/QPX7728、噻唑羧酸衍生物ANT2681及硒代化合物SPI-1005等, 仍面临广谱性不足和安全性挑战。本文系统梳理了抑制剂与MBLs的相互作用机制, 重点从共价结合策略、锌离子配位调控和变构抑制3个维度进行综述, 旨在为开发高效、安全的广谱型MBLs抑制剂提供理论依据和设计思路。

关键词: 金属β-内酰胺酶; 抑制剂; 机制; 化学结构; 设计策略

中图分类号: R914 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2026)03-0727-11

Research progress on metal β-lactamase inhibitors

WANG Wan-cun[1], ZHOU Ying-xun[1], WU Zhan-pan[1], YANG Guo-chun[1], CHEN Ling-yun[1,2], HOU An-guo[1,2*], JIN Wen-bin[1,2*]

(*1. School of Traditional Chinese Medicine, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China; 2. Key Laboratory of External Drug Delivery System and Preparation Technology in Universities of Yunnan and Faculty of Chinese Materia Medica, Kunming 650500, China*)

Abstract: Metallo-β-lactamases (MBLs) mediate carbapenem antibiotic resistance by hydrolyzing the β-lactam ring. However, existing inhibitors remain largely confined to laboratory research due to poor selectivity or insufficient potency, and no clinically approved MBL inhibitors are currently available. MBLs are categorized into three subclasses B1, B2, and B3. B1 and B3 subclasses possess a binuclear zinc catalytic center, whereas B2 harbors a single active zinc ion. Despite their structurally conserved active sites featuring a characteristic αβ/βα-fold architecture with catalytic zinc ions positioned between αβ units flanked by flexible loops. Meanwhile, candidates developed through enzymatic and thermodynamic studies, such as 2-quinazolinone QDP-1, boronic acid derivatives VNRX-5133/QPX7728, thiazolecarboxylic acid ANT2681, and selenium-containing compound SPI-1005, still face challenges in achieving broad-spectrum efficacy and clinical safety. This review systematically examines the interaction mechanisms between inhibitors and MBLs, focusing on three strategic approaches: Covalent binding strategies, zinc ion chelation, and allosteric inhibition. The synthesis aims to provide theoretical foundations and rational design strategies for developing potent, safe, and broad-spectrum metallo-β-lactamase

收稿日期: 2025-05-29; 修回日期: 2025-08-09.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82104067); 云南省重大科技专项 (202303AC100025); 云南省基础研究专项 (202401AT070182); 云南省中医联合专项 (202301AZ070001-038).

*通讯作者 Tel: 86-871-65918232, E-mail: 421810873@qq.com;
Tel: 13033369205, E-mail: 1324491101@qq.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0615

inhibitors.

Key words: metal *β*-lactamase; inhibitor; mechanism; chemical structure; design strategy

自20世纪90年代以来, *β*-内酰胺类抗生素如青霉素类、碳青霉烯类、头孢菌素类和单环内酰胺类等, 因其广谱抗菌活性、高效性和低毒性, 在抗感染治疗中占据核心地位。然而, 人类病原菌通过基因突变和水平基因转移 (horizontal gene transfer, HGT) 两大机制获得抗菌药物耐药性 (antimicrobial resistance, AMR), 其中HGT是当前AMR全球传播的最主要驱动力[1]。在HGT的3种主要机制接合、自然转化和转导中, 接合转移是抗生素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 扩散的最主要途径[2]。编码*β*-内酰胺酶的接合型耐药基因成为革兰阴性菌中传播最广泛的ARGs, 直接推动*β*-内酰胺类抗生素耐药的全球流行[3]。目前, 碳青霉烯类耐药肠杆菌科、多重耐药铜绿假单胞菌和耐药鲍曼不动杆菌等“超级细菌”的出现, 因其对多种抗生素产生交叉耐药性, 显著增加临床治疗难度, 并严重威胁公共卫生安全[4]。

β-内酰胺酶是病原菌介导*β*-内酰胺类抗生素耐药的关键机制, 其通过水解抗生素的*β*-内酰胺环使之失活。根据其结构和功能特性, 按照Ambler分类法, *β*-内酰胺酶可分为A、B、C、D类。其中, A、C、D类属于丝氨酸*β*-内酰胺酶 (serine-*β*-lactamases, SBLs), 其活性位点含丝氨酸残基, 通过亲核攻击水解*β*-内酰胺环[5,6]。B类则为金属*β*-内酰胺酶 (metal *β*-lactamases, MBLs), 依赖活性中心的锌离子催化水解反应, 可分解除单环内酰胺类如氨曲南外的几乎所有*β*-内酰胺抗生素[7,8]。根据氨基酸序列和锌离子结合位点的差异, MBLs可进一步分为B1、B2和B3亚类[7-11], 尽管序列差异很大, 但所有MBLs都有一个共同的*αβ*/*βα*夹心支架和一个位于两个*αβ*结构域界面的金属结合基序列[12]。如图1所示, 通过PyMOL软件对3种金属*β*-内酰胺酶的活性中心进行结构可视化分析, 新德里金属*β*-内酰胺酶-1 (New Delhi metallo-*β*-lactamase 1, NDM-1) (图1A): 两个锌离子的配位环境被Asp、Cys、His、Lys等残基紧密包围, 形成典型的B1类金属酶配位模式。B2类CphA (图1B): 在单Zn^{2+}结合位点周围分布Asp、Cys、His、Arg、Lys等残基。L1 (图1C): 双Zn^{2+}配位仅有His、Asp残基, 呈现独特的配位模式。其中, NDM-1作为B1亚类的代表, 其活性位点的高度可塑性使其能够水解多种底物, 已成为临床治疗中的重大挑战[11,13-15]。

目前, 临床上已开发出多种针对SBLs的抑制剂, 包括经典的克拉维酸、舒巴坦和他唑巴坦, 这些药物已广泛用于治疗耐药菌株引起的感染[9-11,16]。新型环硼酸酯类抑制剂法硼巴坦, 与美罗培南 (meropenem, MEM) 联用, 于2017年获美国FDA批准。二氮杂双环辛烷 (diazabicyclooctane, DBO) 类抑制剂阿维巴坦, 与氨曲南联用, 亦于2025年获美国FDA批准, 用于治疗复杂性腹腔内感染, 尤其对耐药菌感染具有显著疗效[17-19]。然而, 由于MBLs与SBLs在结构和催化机制不同, 现有的SBLs抑制剂对MBLs无效, 且目前尚无临床可用的MBLs抑制剂。

恢复*β*-内酰胺抗生素活性的核心策略是开发高效*β*-内酰胺酶抑制剂[20]。根据作用机制, MBLs抑制剂可分为: ① 变构抑制剂: 通过结合酶的非活性位点, 改变酶的构象, 从而抑制其活性; ② 共价抑制剂: 与酶的活性位点形成共价键, 直接抑制酶的活性; ③ 金属配体类抑制剂: 通过与酶活性中心的锌离子 (Zn^{2+}) 结合, 干扰酶的催化活性; ④ 螯合剂类抑制剂: 通过螯合作用剥离或隔绝MBLs活性中心的锌离子, 使酶失活或降解[21-23]。

本文聚焦MBLs抑制剂的开发瓶颈, 从共价结合、锌离子配位调控和变构抑制三大策略出发, 系统综述

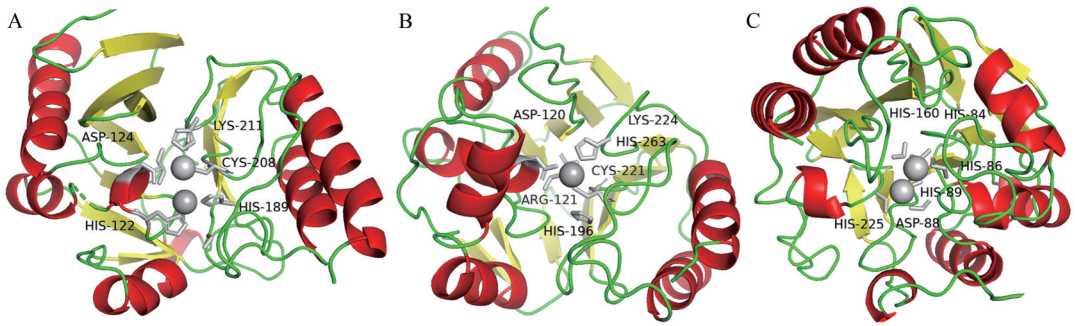


Figure 1 Tertiary structure of metallo-*β*-lactamases (MBLs). A: B1 (NDM-1, PDB: 3SPU); B: B2 (CphA, PDB: 3F9O); C: B3 (L1, PDB: 1SML)

近年研究进展, 旨在为设计高效、广谱的MBLs抑制剂提供理论框架和创新思路。该研究不仅可提升抑制剂的效力和选择性, 还将加速新型抗菌疗法的临床转化进程。

1 与酶的共价键结合

MBLs的共价结合抑制剂通过其活性基团与酶活性中心附近的保守氨基酸残基形成不可逆共价键, 这种作用机制具有靶点识别能力强和耐药性可预测等潜在优势[24,25]。研究表明, 通过氨基酸序列比对发现, 半胱氨酸 (Cys221) 和赖氨酸 (Lys224) 残基在B1和B2型MBLs中高度保守, 且易与抑制剂形成共价键, 这使其成为理想的共价结合靶点[26]。基于此, 当前研究主要从与Cys221和Lys224的共价结合两个方面来开发共价抑制剂。

1.1 与半胱氨酸共价结合

作为与锌离子 (Zn^{2+}) 配位的一个关键残基, Cys221的巯基 (-SH) 可与抑制剂中的特异性反应基团 (如氯汞基、硒唑基等) 发生共价交联, 通过以下双重作用实现高效抑制: ① 直接阻断锌离子配位环境; ② 诱导酶活性中心构象改变, 导致催化功能丧失[26,27]。

1.1.1 依布硒衍生物 近期研究聚焦于硒唑类共价抑制剂的分子机制, 以依布硒 (化合物**1**, 图2) 为代表化合物。其抑制过程可分为3个关键步骤: 首先, 1,2-苯并异硒唑-3(2*H*)-酮结构域在接近活性中心时, 与锌离子配位的水分子发生羟基亲核攻击, 引发Se-N键断裂, 随后暴露的活性硒原子与Cys221巯基形成稳定的Se-S共价键, 最终导致锌离子从活性中心解离, 彻底破坏金属配位结构。这种独特的共价修饰机制为开发新型MBLs抑制剂提供重要思路[28,29]。由于依布硒抑菌效果不是很理想, 水溶性较低, 代谢稳定性差, Jin等[30]通过系统的结构修饰策略, 在依布硒分子中引入不同的亲水基团, 成功设计并合成48个新型衍生物, 将衍生物进行活性筛查。活性评价结果显示, 约半数衍生物与MEM联用时的抑菌效果显著优于依布硒, 其中化合物**2**与MEM联用, 使MEM对大肠杆菌Tg1 (NDM-1) 的最小抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 降至2 μg·mL^{-1}。机制研究表明, 化合物**2**通过与NDM-1蛋白形成可逆共价结合而发挥抑制作用。构效关系分析表明, 存在两个关键的结构修饰策略: 一是在苯环C的4位引入氯原子, 二是将苯环侧链替换为烷基侧链。以化合物**2**为例, 其cLog*P*值优化至3.04。这一数值表明化合物**2**具有适宜的脂溶性, 有助于提升其膜渗透性。同时, 该数值还表明其可能具有中等或可接受的水溶性, 从而在整体上提高生物利用度。基于化合物**2**优异的活性, Meng等[31]合成了一系列依布硒衍生物, 当苯并异硒唑-3(2*H*)-酮骨架中的氮原子连接柔性烷基链或芳香杂环链时, 可显著提升化合物对NDM-1的抑制活性。其中化合物**3**和化合物**4**体外对NDM-1酶的半数抑制最大浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC_{50}) 分别为1.26 ± 0.37和3.63 ± 0.79 μmol·L^{-1}, 酶抑制活性均优于化合物**2**。Chen等[32]将依布硒和头孢菌素的化学骨架相连接从而设计出双功能分子。实验结果显示, 化合物**5**对NDM-1、亚胺培南酶-1 (imipenemase-1, IMP-1)、L1金属-β-内酰胺酶 (metallo-β-lactamase, L1) 和嗜麦芽窄食单胞菌产水解亚胺培南β-内酰胺酶 (imipenem-hydrolyzing β-lactamase, *S. maltophilia*, ImiS) 等酶展现出良好的抑制活性, 其IC_{50}值分别为2.93、0.28、4.86和6.68 μmol·L^{-1}。此外, 化合物**5**能显著增强头孢唑林和亚胺培南对携带NDM-1、IMP-1、ImiS和L1等MBLs的大肠杆菌的抗菌效果, 在64 μg·mL^{-1}的剂量下, 可使这两种抗生素的MIC降至单独使用抗生素的1/16～1/4。

1.1.2 含金属离子有机物 Thomas等[33]通过高通量筛选出对氯汞基苯甲酸盐 (**6**) 和硝普钠 (**7**) 能对NDM-1有较好的抑制活性其IC_{50}值分别为2.3和9.0 μmol·L^{-1}。经LC-MS/MS数据证实化合物与NDM-1的Cys221残基形成共价键的化合物。Chen等[34]通过细胞的紫外–可见分光光度法 (UV-vis) 方法筛选并鉴定出顺铂 (**8**) 及其钯配合物 (**9**、**10**), 是一类广谱抑制剂, 其对B1、B2类抑制活性 (IC_{50}) 0.14～7.60 μmol·L^{-1}, 在体外实验中显著增强MEM对多种产MBLs耐药菌的抗菌效力, 在感染临床分离NDM-1携带大肠杆菌 (EC10) 的小鼠模型中, 与MEM联用, 可显著减少肝脏和脾脏的细菌负荷数。该类化合物通过独特的分子作用机制实现对NDM-1的不可逆抑制, 其含两个氨配体的Pt (II) 或者Pd (II) 与酶活性位点的Cys221残基特异性结合, 同时置换出一个锌离子, 从而形成共价复合物。

1.1.3 其他化合物 Chen等[35]研究表明, 双硫仑 (**11**) 及其体内代谢产物Cu (DTC)$_2$ (dithiocarbamate, DTC) 是一类对B1和B2双重功能的抑制剂, 其中对NDM-1有较强抑制活性 (IC_{50} = 0.13 ± 0.05 μmol·L^{-1})。为研究其对NDM-1结合模式, 构建缺失Cys221的突变体, 证明双硫仑特异性依赖Cys221发挥作用。Cu (DTC)$_2$与NDM-1反应机制研究表明, 其体内含铜代谢物Cu (DTC)$_2$也是通过氧化酶的Zn^{2+}硫代酸位点使NDM-1失活。3-溴丙酮酸是一种治疗癌症的药物, Kang等[36]研究表明, 3-溴丙酮酸 (**12**) 对NDM-1很好的抑制作用 (IC_{50} = 2.57 μmol·L^{-1}), 其对大肠杆菌BL21 (EC06)

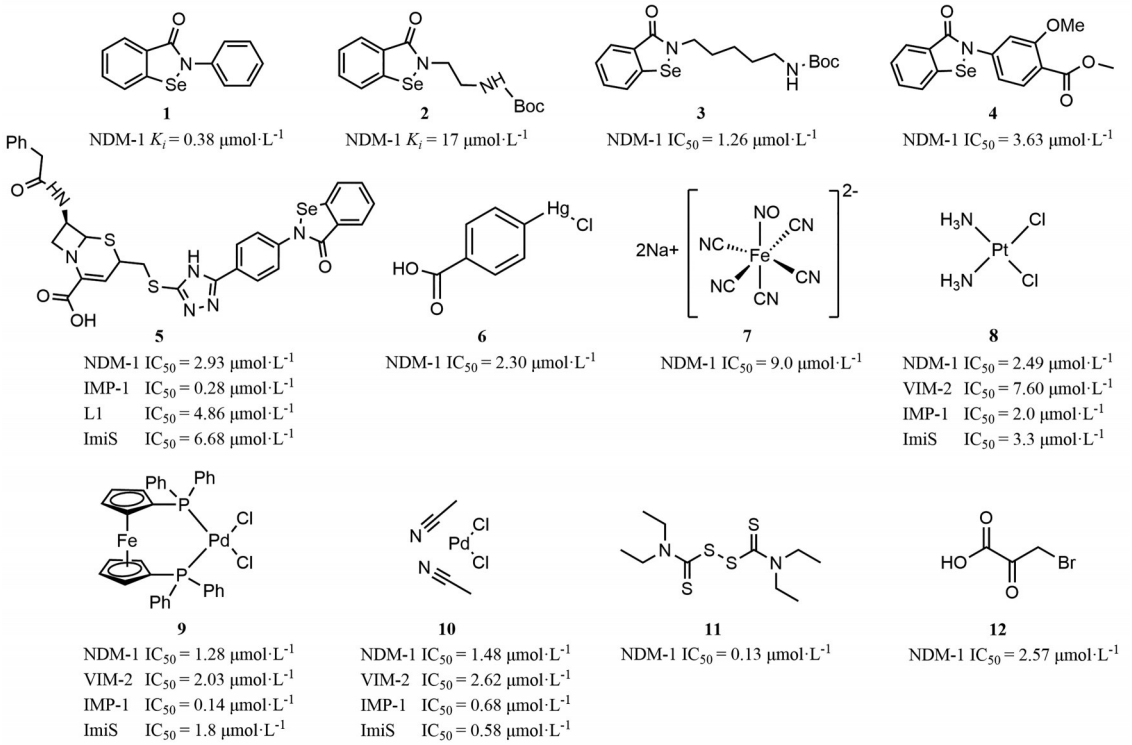


Figure 2 Metal *β*-lactam inhibitors binding to cysteine

菌株的抑制作用, 当抑制剂剂量为64 μg·mL^{-1}时, 使头孢唑林的MIC降至单独使用头孢唑林时的1/16, 并通过硫醇竞争实验和质谱鉴定指出化合物与NDM-1的Cys221发生共价结合。

1.2 与赖氨酸共价结合

赖氨酸残基被认为是设计紧密结合配体的潜在共价靶标, 且具有亲核性。这些抑制剂含有能够与赖氨酸的氨基 (-NH_2) 反应的官能团, 如醛基、环氧基等, 形成稳定的共价键, 从而干扰酶的正常功能[24,25,37,38]。

1.2.1 *β*-内酰胺衍生物 Thomas等[39]发现药物头孢克洛 (化合物**13**, 图3) 在远超治疗剂量下可通过多重作用机制诱导NDM-1发生时间−浓度依赖性失活, 测得该化合物的抑制常数 K_i = 2.3 ± 0.1 mmol·L^{-1}, 失活速率 k_{inact} = 0.024 ± 0.001 min^{-1}。并通过修饰临床相关MBLs保守活性位点的Lys224残基发挥作用。Ma等[40]将头孢菌素和五氟苯基活性酯两片段结合设计合成化合物**14**, 测得对NDM-1的抑制活性 IC_{50} = 0.39 μmol·L^{-1}; 当剂量为32 μg·mL^{-1}时, 该化合物与MEM联合使用, 可使MEM对大肠杆菌BL21和临床分离的大肠杆菌BAA-2452的MIC值分别降至未联用时的1/128和1/8。研究者采用荧光标记物和香豆素探针修饰化合物, 通过十二烷基硫酸钠−聚丙烯酰胺凝胶电泳技术 (SDS-PAGE) 证明单独的NDM-1不产生荧光, 而被荧光标记的化合物和NDM-1共孵育, 有荧光信号。香豆素探针标记的化合物与酶共孵育后, 荧光信号增强。这些结果共同证明五氟苯基酯类化合物能够与Lys224形成稳定的共价键。

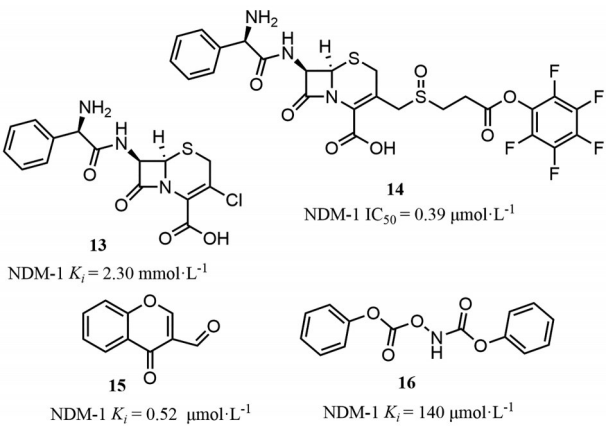


Figure 3 Metal *β*-lactam inhibitors binding to lysine

1.2.2 其他化合物 Christopeit等[41]研究表明, 3-甲酰色酮 (化合物**15**) 作为NDM-1抑制剂的独特作用机制。通过动力学分析测定不同反应步骤的速率常数, 计算出化合物**15**对NDM-1的最终有效抑制常数 K_i为0.52 μmol·L^{-1}。基于其醛基结构特征, 研究者提出该化合物可能与赖氨酸侧链胺基形成席夫碱的假设。后续通过电喷雾电离质谱 (ESI-MS) 分析和Lys224单点定向突变实验, 最终证实抑制剂确实与NDM-1活性中心

的Lys224形成可逆共价结合。此为首例可逆共价NDM-1抑制剂, 为克服碳青霉烯耐药提供新策略。Thomas等[42]研究表明, 与SBLs共价结合的抑制剂*O*-芳氧羰基异羟肟酸酯 (**16**) 也可作为NDM-1的特异性共价抑制剂, 并测定其抑制常数K_i = 140 μmol·L^{-1}和灭活速率k_{inact} = 0.045 min^{-1}。该化合物的活性基团与NDM-1底物结合口袋中高度保守的Lys224残基形成稳定的共价化合物, 从而不可逆地阻断酶的催化功能。

2 与锌离子配位

MBLs的活性中心由1或2个Zn^{2+}离子构成 (B1和B3亚类为双核Zn1-Zn2结构, B2亚类为单核Zn2结构)[43], 鉴于这一结构特征, 开发靶向金属中心的抑制剂以克服MBLs介导的耐药性成为重要策略。值得注意的是, MBLs活性位点的金属中心是其进化保守性最高的区域[44]。金属结合抑制剂主要通过以下两种机制发挥作用, 一是三元配合物形成, 抑制剂同时与金属离子及周边蛋白残基结合, 形成空间位阻阻止抗生素与活性位点结合; 二是金属离子剥离, 即抑制剂通过直接螯合移除活性位点的金属离子, 或隔离已解离的金属离子, 导致酶失活[45]。

2.1 三元配合物形成

2.1.1 卡托普利衍生物 这类抑制剂通过与锌离子配位, 形成稳定的三元复合物 (抑制剂–锌离子–酶), 从而阻止底物与酶结合。卡托普利作为经典的降压药物, 其核心作用机制在于特异性靶向血管紧张素转换酶 (angiotensin-converting enzyme, ACE) 的关键催化中心——通过分子中的巯基 (-SH) 与酶活性位点的锌离子 (Zn^{2+}) 形成配位结合, 从而阻断该酶的生理功能。*L*-卡托普利 (化合物**17**, 图4) 及*D*-卡托普利 (**18**) 已被证实可有效抑制多种MBLs, 包括NDM-1、维罗纳整合子编码金属-β-内酰胺酶-1 (verona integron-encoded metallo-β-lactamase -1, VIM-1)、IMP-7, 并且*L*-卡托普利抑制活性低于*D*-卡托普利, *D*-卡托普利抑制VIM-2的活性突出, IC_{50} = 0.072 μmol·L^{-1} [46-48]。Kondratieva等[49]合成卡托普利类似物共20种, 其中*D*-卡托普利类似物 (**19**) 对NDM-1具有较强活性 (IC_{50} = 6.1 μmol·L^{-1})。虽然酶抑制活性低于*D*-卡托普利, 但是其固定浓度为500 μmol·L^{-1}, 使MEM对含VIM-2和IMP-26的大肠杆菌的MIC均降至未加抑制剂时的1/8。通过氟标记抑制剂和核磁解析出其和*L*-卡托普利与NDM-1的结合模式高度相似。Zhou等[50]全合成了17个卡托普利衍生物, 其中化合物**20**能使MEM对临床分离的携带NDM-1基因的肺炎克雷伯菌 (Clinical KP_{NDM-1}) 的MIC降低至阳性对照药卡托普利1/4以下。构效关系研究表明, 吡咯烷3位的羧酸甲酯水解后, 若在羧酸基团上引入间位含有卤素原子的苯环, 可使MBLs抑制剂的活性得到提高。

2.1.2 硼酸衍生物 他尼硼巴坦 (**21**) 是一种硼酸类化合物, 又被称为VNRX-5133, 是一种双环硼酸类β-内酰胺酶抑制剂。对A、C、D类丝氨酸β-内酰胺酶, 它通过与催化丝氨酸共价结合形成可逆四面体加合物; 对B类金属β-内酰胺酶, 则通过与活性中心锌离子配位形成三元复合物, 从而实现对A、B、C、D类β-内酰胺酶广谱的抑制。体内抗菌结果显示, 在小鼠中性粒细胞减少性肺部感染模型和上行性尿路感染模型中, 化合物**21**能显著恢复头孢吡肟的体内抗菌活性[51]。Hecker等[52]合成环硼酸类化合物QPX7728 (化合物**22**), 研究发现其是一类丝氨酸和金属β-内酰胺酶超广谱抑制剂, 其质量浓度为8 μg·mL^{-1}时, 与美罗培南联用, 可使美罗培南对耐药肺炎克雷伯菌KP1244的MIC从 > 64 mg·mL^{-1}降至0.25 mg·mL^{-1}。在体内中性粒细胞减少小鼠大腿感染模型中, 单独使用美罗培南 (300 mg·kg^{-1}, 每2 h给药1次) 未能控制肺炎克雷伯菌KP1244感染, 而与化合物**22**联用 (10 mg·kg^{-1}), 给药2 h后, 可使大腿的细菌载量较治疗初期降低 > 1 $\log_{10}$ CFU。

2.1.3 二羟肟酸衍生物 Kim等[53]合成含二羟肟酸的化合物**23**, 对炭疽杆菌Bla2具有显著抑制活性 (IC_{50} = 0.48 ± 0.2 μmol·L^{-1}), 在0.5 mg·mL^{-1}氨苄青霉素存在的情况下, 化合物**23**对野生型枯草芽孢杆菌的最低保护浓度 (minimum protective concentration, MPC) 为2.0 mg·mL^{-1}, 对携带Bla2的枯草芽孢杆菌的MPC为1.0 mg·mL^{-1}。随后, Huckleby等[54]研究二羟肟酸衍生物 (**24**和**25**) 对炭疽芽孢杆菌Bla2的抑制能力, 分子对接与分子动力学模拟显示, 两种化合物均能与活性位点的锌离子配位结合, 体外动力学分析其K_i值分别为6.4 ± 1.7和4.7 ± 1.4 kcal·mol^{-1}。与化合物**23**相比, 其活性较弱, 表明芳香环上的羟基可能是活性必须的基团。

2.1.4 吡啶二甲酸衍生物 Shi等[55]以乙二胺四乙酸 (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) 为阳性对照, 吡啶酸衍生物 (**26**, **27**) 对NDM-1的抑制活性均优于EDTA, 且与MEM联用, 其抑菌圈均大于EDTA。灭菌动力学实验显示, 其与MEM联合使用, 可在24 h内杀灭99.9%的大肠杆菌 bla_{NDM-4}。且对红细胞和HeLa细胞均表现出低毒性。Chen等[56]设计出二氢吡啶酸衍生物, 抑制剂**28** (IC_{50} = 0.08 μmol·L^{-1}) 对MBLs具有较高的选择性。通过紫外可见光谱仪和核磁共振光谱仪检测钴结合NDM-1复合物 (CoCo-NDM-1), 研究表明, 其能形成稳定的NDM-1–锌离子–抑制剂三元配合物, 与MEM合用后, 显示很好的抑菌活性。综

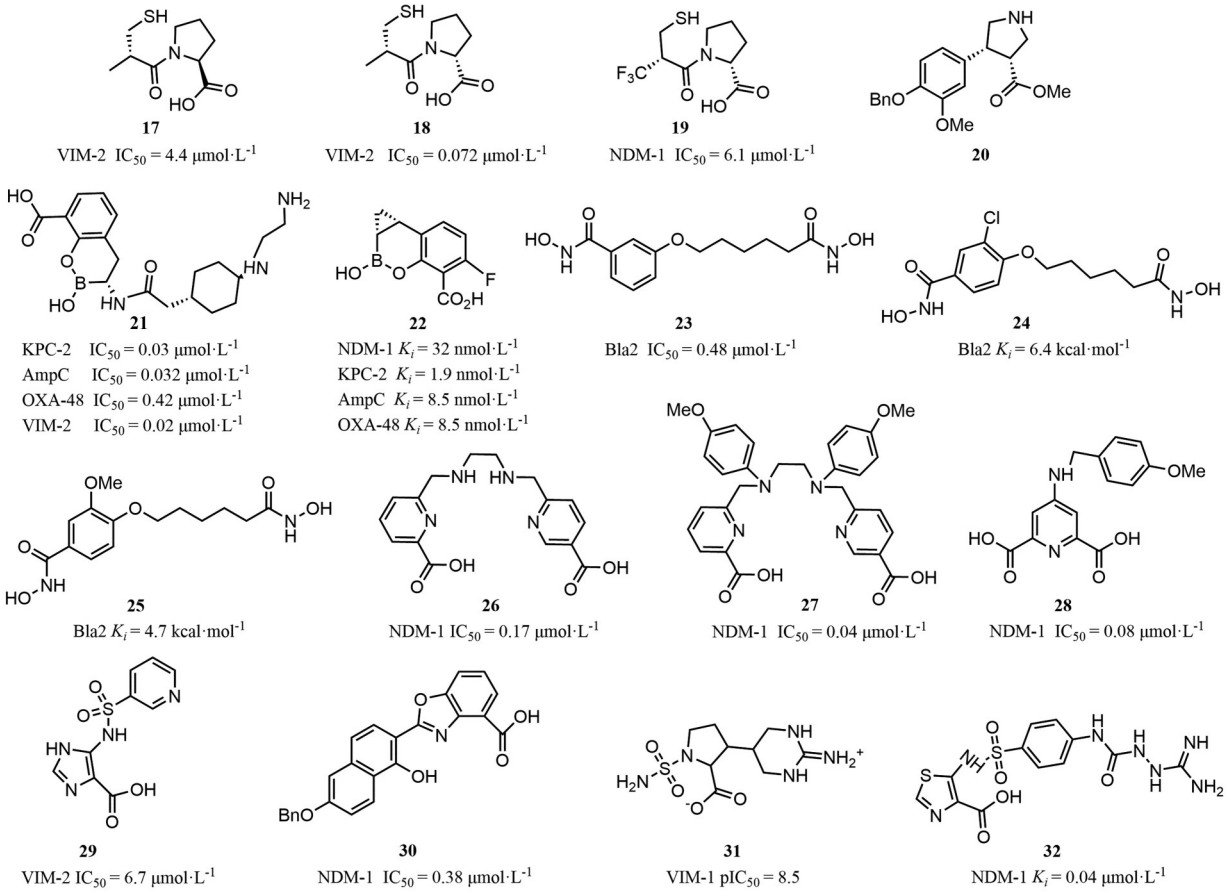


Figure 4　Metal *β*-lactam inhibitors forming ternary complexes

上, 二吡啶酸及其类似物是具有良好临床应用前景的MBLs抑制剂候选化合物。Leiris等[57]基于吡啶骨架具有较好抑菌活性的启示, 合成出吡啶类似物**29**, 在100 μmol·L^{-1}时可将MEM对产携带NDM-1临床菌株(*E. coli* NTBC121) 的MIC从0.125降至0.06 μg·mL^{-1}。Thomas等[58]通过ESI-MS和紫外可见光谱证实化合物**29**同样与VIM-2形成三元复合物的抑制机制。

2.1.5　其他化合物　Jackson等[59]受到细菌天然产物UK-1结构的启发, 合成了一系列苯并咪唑和苯并恶唑支架的化合物, 其中化合物**30**, IC_{50}值低至0.38 μmol·L^{-1}, 恢复表达NDM-1的大肠杆菌对MEM的敏感性。通过紫外可见光谱法观察到NDM-1与化合物形成三元配合物。磺胺酰基吡咯-2羧酸盐 (*N*-sulfonamidopyrrole-2-carboxylates, NSPCs) 是临床相关B1亚类MBLs的有效抑制剂。NSPCs可恢复MEM对临床来源的大肠杆菌和肺炎克雷伯菌 *bla*NDM-1的疗效; 部分NSPCs对IMP-1的活性高于双环硼酸酯类抑制剂。其中环状胍类化合物**31**对VIM-1的抑制活性最强 (pIC_{50} = 8.5), 与临床III期药物VNRX-5133 (临床批号: NCT03840148) 相当[60]。化合物**32**通过与MBLs活性位点的关键锌离子簇相互作用, 其作用机制可能与酶形成三元配合物。其对NDM-1的抑制活性K_i = 0.04 μmol·L^{-1}, 并且当质量浓度为8 mg·mL^{-1}时, 恢复MEM对肠杆菌的活性[61]。

2.2　金属离子剥离

2.2.1　EDTA和TPEN衍生物　如图5所示, 化合物**33** (EDTA) 和化合物**34** [*N*,*N*,*N*',*N*'-tetrakis(2-pyridylmethyl) ethylenediamine, TPEN] 是强效的金属螯合剂, 能够剥离金属离子, 都是NDM-1抑制剂[62-64]。由于这类抑制剂对MBLs没有特异性, 能螯合人体内含金属的酶, 导致较强的细胞毒性, 限制了它们在临床上的应用[65]。为解决这一毒性问题, 研究人员对EDTA进行结构优化, 开发EDTA与钙盐的复合物 (Ca-EDTA)。该化合物在低浓度下即可恢复亚胺培南对铜绿假单胞菌的活性, 且在小鼠模型中未表现出毒性, 目前已获临床批准[66]。Jin等[67]用硼酸催化的1,3-偶极环加成反应, 合成一系列卡托普利类似物。其中, 通过卡托普利类似物骨架侧链引入与锌离子螯合剂TPEN结构相似的吡啶基团得到化合物**35**, 其对NDM-1具有显著抑制活性 (IC_{50} = 51 μmol·L^{-1})。质谱分析显示该化合物通过去除NDM-1的锌离子发挥作用。另外, 化合物**35**对HEK293细胞毒性较低, 具有良好的选择性。

2.2.2　NOTA衍生物　Zhang等[68]设计合成一种新型

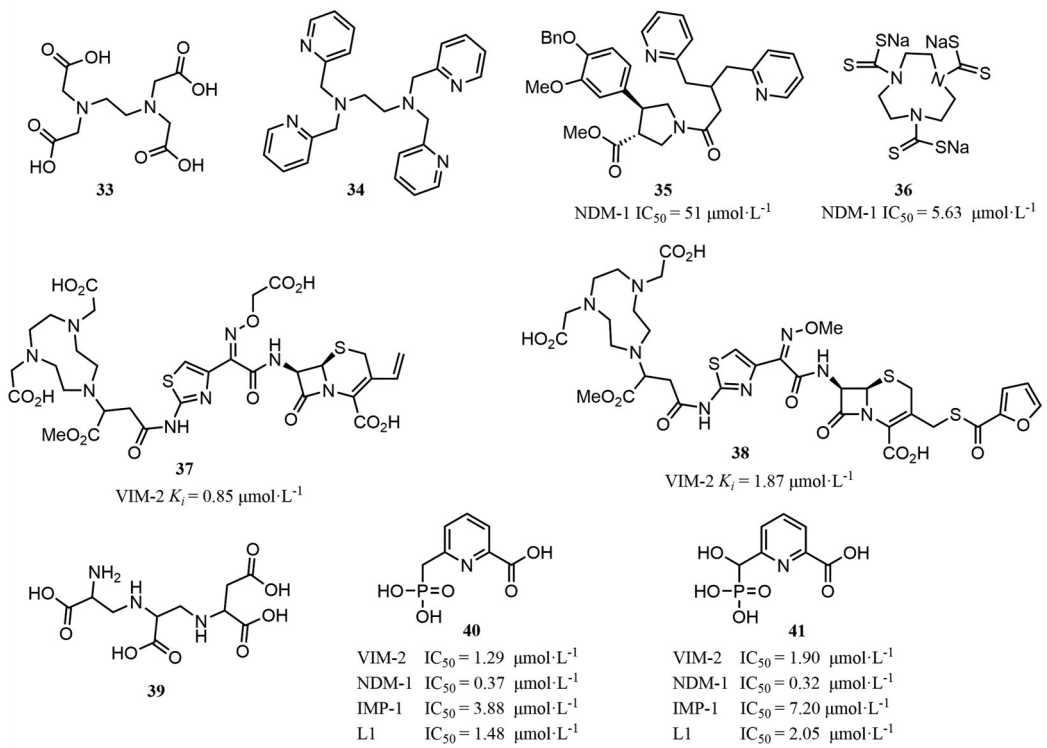


Figure 5 Metallo-β-lactam inhibitors with metal stripping

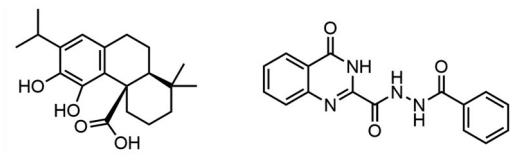
1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸 (1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid, NOTA) 结构衍生物 (化合物 **36**), 该化合物对 NDM-1 的抑制常数达到 5.63 ± 1.27 μmol·L^{-1}, 并能显著恢复 MEM 对携带 bla_{NDM-1} 耐药基因的大肠杆菌、弗氏柠檬酸杆菌、奇异变形杆菌和肺炎克雷伯菌的抗菌活性, 且表现出较低的细胞毒性。随后, Shungube 等[69]通过将螯合基团与β-内酰胺抗生素骨架偶联, 合成了两种 NOTA 类似物 (化合物 **37** 和 **38**)。这两种化合物不仅恢复亚胺培南对产 NDM-1 肺炎克雷伯菌的敏感性, 还对 VIM-2 表现出良好的抑制活性 (K_i 值分别为 0.85 和 1.87 μmol·L^{-1})。通过 MTT 法检测人肝癌细胞系 (HepG2) 证实, 这些化合物具有较低的细胞毒性。这些 NOTA 衍生物不仅表现出优异的抑制活性和低毒性特点, 还展现出良好的临床应用前景, 有望成为新一代 MBLs 抑制剂。

2.2.3 其他化合物 化合物 **39** (aspergillomarasmine A, AMA) 是一种真菌天然产物, 通过活性位点金属剥夺锌离子显示出对 NDM-1 和 VIM-2 的强效抑制作用, AMA 能完全恢复 MEM 对含有 VIM 或 NDM 型等位基因的肠杆菌科、不动杆菌属和假单胞菌属的活性, 并在动物模型中有效[70]。6-膦甲基吡啶-2-羧酸盐 (phosphonomethylpyridine-2-carboxylate, PMPCs) 作为一种广谱有效抑制剂, 对不同亚型 MBLs 的抑制效用仍有待深入探索。Hinchliffe 等[71]合成了 PMPCs 类似物 (**40**), 该化合物对 IMP-1、VIM-2、NDM-1 和 L1 有较好抑制活性 (K_i = 0.07～1.1 μmol·L^{-1}, IC_{50} = 0.37～3.88 μmol·L^{-1})。通过在磷甲基乙基碳上添加羟基得到化合物 **41**, 对 IMP-1、VIM-2、NDM-1 和 L1 同样显示出优异的抑制效果 (K_i = 0.07～1.1 μmol·L^{-1}, IC_{50} = 0.32～7.20 μmol·L^{-1}), 关于此类抑制剂与 L1 型 MBLs 的结合机制研究表明, 其磷酸盐基团通过取代双核金属中心的 Zn^{2+}, 使酶活性中心转变为单锌形式, 从而实现对酶活性的抑制。

3 变构抑制剂

变构抑制剂变构通过与酶的非活性位点结合, 改变酶的构象, 从而抑制其活性。这种作用机制不依赖于酶的活性位点, 因此可以有效避免因活性位点突变而导致的耐药性问题。10 核苷酸单链 DNA 适配体 (10-mer) 能高效抑制蜡样芽孢杆菌 5/B/6 金属β-内酰胺酶。Khan 等[72]通过 X 射线晶体学和核磁共振技术揭示 10-mer 适体对目标酶的变构抑制机制。HSQC 谱图分析显示, 随着 10-mer 浓度增加, 酶分子中多个残基的化学位移出现显著扰动。X 射线晶体结构解析进一步证实, 这些发生化学位移变化的残基均位于酶活性位点的远端区域。值得注意的是, 结构分析明确显示 10-mer 适体的结合位点与酶的活性中心存在空间分离。这些实验证据共同表明, 10-mer 适体是通过变构调节机制来抑制酶活性的。Sohier 等[73]通过噬菌体展示技术筛选出一种可抑制临床相关 VIM 型 MBLs 的

纳米抗体 (NbVIM_38)。机制研究发现, 该纳米抗体能通过变构效应显著改变其底物结合特性和催化性能, 从而实现对 VIM-4 的有效抑制。Yang 等[74]通过虚拟配体筛选方法发现天然化合物鼠尾草酸 (化合物 **42**, 图 6) 对 NDM-1 酶的 IC_{50} 值为 27.07 μmol·L^{-1}, 虽无直接杀菌作用, 但与 MEM 联用可恢复其对产 NDM-1 大肠杆菌 (ZC-YN3) 的杀菌效果, 机制研究表明, 鼠尾草酸通过诱导 NDM-1 活性中心构象变化, 增大 Zn^{2+} 与底物结合位点的距离, 从而导致酶活性丧失。Thomas 等[75]通过高通量筛选鉴定出化合物 **43** 作为新型 NDM 抑制剂 (IC_{50} = 7.9 μmol·L^{-1})。通过差示扫描荧光分析、锌离子定量测定及选择性实验等多项研究证实, 该化合物通过变构机制发挥抑制作用, 属于慢结合可逆抑制剂。



42 NDM-1 IC_{50} = 27.07 μmol·L^{-1} **43** NDM IC_{50} = 7.9 μmol·L^{-1}

Figure 6 Allosteric metal *β*-lactam inhibitors

4 展望与挑战

MBLs 介导的耐药性蔓延正威胁到全球人类的生命健康, 寻找有效的抑制剂仍是一个急迫的问题。目前环硼酸酯类化合物 (QPX7728, 临床批号: NCT04380207)、依布硒类 (SPI-1005, 临床批号: NCT03013400) 等抑制剂已经成功进入临床研究阶段, 卡托普利和真菌天然产物 (AMA) 及其类似物也显示出良好的开发前景, 有望进入临床研究。但是在临床上开发更多有效的 MBLs 抑制剂依旧具有十足的挑战: 共价结合时可能会出现脱靶效应, 同时共价结合时需要对抑制剂要求具有高选择性, 避免出现与人体内相似酶发生交叉反应; 锌离子配位剂形成三元配合物的过程中, 可能会与多种金属酶进行相互作用, 导致其选择性变差, 也可能会出现螯合人体内其他金属酶所需金属离子现象, 进一步导致出现细胞毒性, 如上述与非目标蛋白质发生反应的天然产物 AMA 对 NDM-1 表现出显著的抑制效果, 并且能够抑制多种 MBLs, 但是 AMA 对人血管紧张素转换酶 (ACE) 有一定的抑制作用, 直接限制其作为候选药物的直接应用; 与上述两种活性位点抑制剂相比较而言, 变构抑制剂的抑制活性可能相对较弱, 增加此类抑制剂的设计困难。目前恢复 *β*-内酰胺环的活性来增强抗生素的抗菌效果是治疗耐药菌感染不错的策略。如氨曲南是一种单环 *β*-内酰胺类抗生素, 对 MBLs 具有稳定性, 与阿维巴坦 (SBLs 抑制剂) 联合使用, 增加了抗菌的效果。尽管开发具有广谱活性的 MBLs 抑制剂面临重大挑战, 但是基于其特殊的结构以及抑制作用机制, 不断被更多研究者看好, 进行深入研究, 并在该领域已经取得一定的技术突破。以 VNRX-5133 (taniborbactam) 为例, 该抑制剂通过独特的结合模式可有效抑制包括 NDM、VIM 和 IMP 在内的多种 MBLs 亚型, 其广谱抑制活性已在临床前研究中得到充分验证, 成功进入 III 期临床试验阶段 (临床批号: NCT03840148), 展现出良好的临床应用前景。这些研究进展为开发、覆盖更多 MBLs 亚型的下一代抑制剂奠定了重要基础。研发 MBLs 抑制剂是一个复杂且充满挑战的过程, 在 MBLs 抑制剂设计开发中, 需要从多个方面全面考虑设计策略, 可以从天然产物中筛选有效成分, 对化合物进行结构改造, 不同活性骨架之间的偶联, 借助计算机模拟技术优化设计和结合临床联合用药等策略来进行设计。随着计算机技术的突飞猛进, 在设计新型 MBLs 抑制剂中也是十分重要, 例如, 通过计算机虚拟筛选出鼠尾草酸化合物, 并进行分子动力学模拟, 极大地推动了研究进程。同时, 合理运用现代分析技术, 如 X 射线晶体学、核磁共振及 ESI-MS 等, 以深入了解其作用机制。相信不久的将来, MBLs 抑制剂将能广泛应用于临床。

作者贡献: 王万存完成文章初稿撰写; 周应勋、吴占攀和杨国春完成文献资料的查阅和画化学结构; 陈凌云和侯安国对本文提出一些修改意见; 金文彬完成文章的书写思路设计及文章初稿修改。

利益冲突: 本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

References

[1] Von Wintersdorff CJH, Penders J, Van Niekerk JM, et al. Dissemination of antimicrobial resistance in microbial ecosystems through horizontal gene transfer [J]. Front Microbiol, 2016, 7: 173.

[2] Graf FE, Palm M, Warringer J, et al. Inhibiting conjugation as a tool in the fight against antibiotic resistance [J]. Drug Dev Res, 2019, 80: 19-23.

[3] Hussain HI, Aqib AI, Seleem MN, et al. Genetic basis of molecular mechanisms in *β*-lactam resistant Gram-negative bacteria [J]. Microb Pathog, 2021, 158: 105040.

[4] Ramadan RA, Gebriel MG, Kadry HM, et al. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*: Characterization of carbapenemase genes and E-test evaluation of colistin-based combinations [J]. Infect Drug Resist, 2018, 11: 1261-1269.

[5] Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of *β*-lac-

tamases [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54: 969-976.

[6] 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.

[7] Mojica MF, Bonomo RA, Fast W. B1-metallo-β-lactamases: Where do we stand? [J]. Curr Drug Targets, 2016, 17: 1029-1050.

[8] Khan S, Ali A, Khan AU. Structural and functional insight of New Delhi metallo β-lactamase-1 variants [J]. Future Med Chem, 2018, 10: 221-229.

[9] Groundwater PW, Xu S, Lai F, et al. New Delhi metallo-β-bactamase-1: Structure, inhibitors and detection of producers [J]. Future Med Chem, 2016, 8: 993-1012.

[10] Meng Z, Tang ML, Yu L, et al. Novel mercapto propionamide derivatives with potent New Delhi metallo-β-lactamase-1 inhibitory activity and low toxicity [J]. ACS Infect Dis, 2019, 5: 903-916.

[11] Guo Y, Wang J, Niu G, et al. A structural view of the antibiotic degradation enzyme NDM-1 from a superbug [J]. Protein Cell, 2011, 2: 384-394.

[12] Garau G, García-Sáez I, Bebrone C, et al. Update of the standard numbering scheme for class B β-lactamases [J]. Antimicrobial Agents Chemother, 2004, 48: 2347-2349.

[13] Yong D, Toleman MA, Giske CG, et al. Characterization of a new metallo-β-lactamase gene, *bla*NDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53: 5046-5054.

[14] Fomda BA, Khan A, Zahoor D. NDM-1 (New Delhi metallo beta lactamase-1) producing Gram-negative bacilli: Emergence & clinical implications [J]. Indian J Med Res, 2014, 140: 672-678.

[15] Chiou J, Leung TYC, Chen S. Molecular mechanisms of substrate recognition and specificity of New Delhi metallo-β-lactamase [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58: 5372-5378.

[16] Tehrani KHME, Martin NI. β-Lactam/β-lactamase inhibitor combinations: An update [J]. MedChemComm, 2018, 9: 1439-1456.

[17] King DT, Worrall LJ, Gruninger R, et al. New Delhi metallo-β-lactamase: Structural insights into β-lactam recognition and inhibition [J]. J Am Chem Soc, 2012, 134: 11362-11365.

[18] Hecker SJ, Reddy KR, Totrov M, et al. Discovery of a cyclic boronic acid β-lactamase inhibitor (RPX7009) with utility *vs* class a serine carbapenemases [J]. J Med Chem, 2015, 58: 3682-3692.

[19] Ehmann DE, Jahić H, Ross PL, et al. Avibactam is a covalent, reversible, non-β-lactam β-lactamase inhibitor [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109: 11663-11668.

[20] Vázquez-Ucha JC, Arca-Suárez J, Bou G, et al. New carbapenemase inhibitors: Clearing the way for the β-lactams [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21: 9308.

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

[22] Grubb MP, Coulter PM, Marroux HJB, et al. Translational, rotational and vibrational relaxation dynamics of a solute molecule in a non-interacting solvent [J]. Nat Chem, 2016, 8: 1042-1046.

[23] Christopeit T, Carlsen TJO, Helland R, et al. Discovery of novel inhibitor scaffolds against the metallo-β-lactamase VIM-2 by surface plasmon resonance (SPR) based fragment screening [J]. J Med Chem, 2015, 58: 8671-8682.

[24] De Cesco S, Kurian J, Dufresne C, et al. Covalent inhibitors design and discovery [J]. Eur J Med Chem, 2017, 138: 96-114.

[25] Baillie TA. Targeted covalent inhibitors for drug design [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2016, 55: 13408-13421.

[26] Chen C, Yang KW. Structure-based design of covalent inhibitors targeting metallo-β-lactamases [J]. Eur J Med Chem, 2020, 203: 112573.

[27] Yan YH, Li G, Li GB. Principles and current strategies targeting metallo-β-lactamase mediated antibacterial resistance [J]. Med Res Rev, 2020, 40: 1558-1592.

[28] Chen C, Xiang Y, Yang KW, et al. A protein structure-guided covalent scaffold selectively targets the B1 and B2 subclass metallo-β-lactamases [J]. Chem Commun (Camb), 2018, 54: 4802-4805.

[29] Chiou J, Wan S, Chan KF, et al. Ebselen as a potent covalent inhibitor of New Delhi metallo-β-lactamase (NDM-1) [J]. Chem Commun (Camb), 2015, 51: 9543-9546.

[30] Jin WB, Xu C, Cheng Q, et al. Investigation of synergistic antimicrobial effects of the drug combinations of meropenem and 1,2-benzisoselenazol-3(2*H*)-one derivatives on carbapenem-resistant Enterobacteriaceae producing NDM-1 [J]. Eur J Med Chem, 2018, 155: 285-302.

[31] Meng WL, Liu CY, Wu GX, et al. Design, synthesis and antibacterial activity evaluation of ebselen derivatives in NDM-1 producing bacteria [J]. RSC Med Chem, 2024, 15: 1959-1972.

[32] Chen C, Liu Y, Zhang YJ, et al. The assemblage of covalent and metal binding dual functional scaffold for cross-class metallo-β-lactamases inhibition [J]. Future Med Chem, 2019, 11: 2381-2394.

[33] Thomas PW, Spicer T, Cammarata M, et al. An altered zinc-binding site confers resistance to a covalent inactivator of New Delhi metallo-beta-lactamase-1 (NDM-1) discovered by high-throughput screening [J]. Bioorg Med Chem, 2013, 21: 3138-3146.

[34] Chen C, Sun LY, Gao H, et al. Identification of cisplatin and palladium(II) complexes as potent metallo-β-lactamase inhibitors for targeting carbapenem-resistant Enterobacteriaceae [J]. ACS Infect Dis, 2020, 6: 975-985.

[35] Chen C, Yang KW, Wu LY, et al. Disulfiram as a potent metallo-β-lactamase inhibitor with dual functional mechanisms [J]. Chem Commun (Camb), 2020, 56: 2755-2758.

[36] Kang PW, Su JP, Sun LY, et al. 3-Bromopyruvate as a potent covalently reversible inhibitor of New Delhi metallo-β-lactamase-1 (NDM-1) [J]. Eur J Pharm Sci, 2020, 142: 105161.

[37] Wan XB, Yang TP, Cuesta A, et al. Discovery of lysine-targeted eIF4E inhibitors through covalent docking [J]. J Am Chem Soc, 2020, 142: 4960-4964.

[38] D'Ascenzio M, Pugh KM, Konietzny R, et al. An activity-based probe targeting non-catalytic, highly conserved amino acid residues within bromodomains [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2019, 58: 1007-1012.

[39] Thomas PW, Cammarata M, Brodbelt JS, et al. Covalent inhibition of New Delhi metallo-β-lactamase-1 (NDM-1) by cefaclor [J]. Chembiochem, 2014, 15: 2541-2548.

[40] Ma Y, Liang Y, Guo M, et al. Strategic design of lysine-targeted irreversible covalent NDM-1 inhibitors [J]. Chin Chem Lett, 2023, 34: 108072.

[41] Christopeit T, Albert A, Leiros HKS. Discovery of a novel covalent non-β-lactam inhibitor of the metallo-β-lactamase NDM-1 [J]. Bioorg Med Chem, 2016, 24: 2947-2953.

[42] Thomas PW, Cammarata M, Brodbelt JS, et al. A lysine-targeted affinity label for serine-β-lactamase also covalently modifies New Delhi metallo-β-lactamase-1 (NDM-1) [J]. Biochemistry, 2019, 58: 2834-2843.

[43] Salahuddin P, Kumar A, Khan AU. Structure, function of serine and metallo-β-lactamases and their inhibitors [J]. Curr Protein Pept Sci, 2018, 19: 130-144.

[44] Schönauer E, Brandstetter H, Supuran CT, et al. Zinc enzyme inhibitors: Enzymes from microorganisms [M] // Inhibition and Activity Regulation of Bacterial Collagenases. Cham: Springer International Publishing, 2017: 69-94.

[45] Ju LC, Cheng Z, Fast W, et al. The continuing challenge of metallo-β-lactamase inhibition: Mechanism matters [J]. Trends Pharmacol Sci, 2018, 39: 635-647.

[46] García-Sáez I, Hopkins J, Papamicael C, et al. The 1.5-Å structure of *Chryseobacterium meningosepticum* zinc β-lactamase in complex with the inhibitor, *D*-captopril [J]. J Biol Chem, 2003, 278: 23868-23873.

[47] Klingler FM, Wichelhaus TA, Frank D, et al. Approved drugs containing thiols as inhibitors of metallo-β-lactamases: Strategy to combat multidrug-resistant bacteria [J]. J Med Chem, 2015, 58: 3626-3630.

[48] Brem J, Van Berkel SS, Zollman D, et al. Structural basis of metallo-β-lactamase inhibition by captopril stereoisomers [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60: 142-150.

[49] Kondratieva A, Palica K, Frøhlich C, et al. Fluorinated captopril analogues inhibit metallo-β-lactamases and facilitate structure determination of NDM-1 binding pose [J]. Eur J Med Chem, 2024, 266: 116140.

[50] Zhou YX, Wang WC, Ou HP, et al. Design and synthesis of pyrrolidine derivatives with dual inhibitory activity of SBLs and MBLs and study on the activity of reversing drug-resistant bacteria [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2025, 60: 2837-2848.

[51] Liu B, Trout REL, Chu GH, et al. Discovery of taniborbactam (VNRX-5133): A broad-spectrum serine- and metallo-β-lactamase inhibitor for carbapenem-resistant bacterial infections [J]. J Med Chem, 2020, 63: 2789-2801.

[52] 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.

[53] Kim SK, Demuth M, Schlesinger SR, et al. Inhibition of *Bacillus anthracis* metallo-β-lactamase by compounds with hydroxamic acid functionality [J]. J Enzyme Inhib Med Chem, 2016, 31: 132-137.

[54] Huckleby AE, Saul JG, Shin H, et al. Development of hydroxamic acid compounds for inhibition of metallo-β-lactamase from *Bacillus anthracis* [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23: 9163.

[55] Shi XF, Wang MM, Huang SC, et al. H2depda: An acyclic adjuvant potentiates meropenem activity *in vitro* against metallo-β-lactamase-producing enterobacterales [J]. Eur J Med Chem, 2019, 167: 367-376.

[56] Chen AY, Thomas PW, Stewart AC, et al. Dipicolinic acid derivatives as inhibitors of New Delhi metallo-β-lactamase-1 [J]. J Med Chem, 2017, 60: 7267-7283.

[57] Leiris S, Coelho A, Castandet J, et al. SAR studies leading to the identification of a novel series of metallo-β-lactamase inhibitors for the treatment of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections that display efficacy in an animal infection model [J]. ACS Infect Dis, 2019, 5: 131-140.

[58] Thomas CA, Cheng Z, Yang K, et al. Probing the mechanisms of inhibition for various inhibitors of metallo-β-lactamases VIM-2 and NDM-1 [J]. J Inorg Biochem, 2020, 210: 111123.

[59] Jackson AC, Pinter TBJ, Talley DC, et al. Benzimidazole and benzoxazole zinc chelators as inhibitors of metallo-β-lactamase NDM-1 [J]. ChemMedChem, 2021, 16: 654-661.

[60] Farley AJM, Ermolovich Y, Calvopiña K, et al. Structural basis of metallo-β-lactamase inhibition by *N*-sulfamoylpyrrole-2-carboxylates [J]. ACS Infect Dis, 2021, 7: 1809-1817.

[61] Davies DT, Leiris S, Sprynski N, et al. ANT2681: SAR studies leading to the identification of a metallo-β-lactamase inhibitor with potential for clinical use in combination with meropenem for the treatment of infections caused by NDM-producing Enterobacteriaceae [J]. ACS Infect Dis, 2020, 6: 2419-2430.

[62] Nordmann P, Poirel L. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes [J]. Clin Microbiol Infect, 2002, 8: 321-331.

[63] Azumah R, Dutta J, Somboro AM, et al. *In vitro* evaluation of metal chelators as potential metallo-β-lactamase inhibitors [J]. J

Appl Microbiol, 2016, 120: 860-867.

[64] Bedenić B, Vraneš J, Sviben M, et al. Postantibiotic and post-beta-lactamase inhibitor effect of carbapenems combined with EDTA against *Pseudomonas aeruginosa* strains producing VIM-metallo beta-lactamases [J]. Chemotherapy, 2008, 54: 188-193.

[65] Aaseth J, Skaug MA, Cao Y, et al. Chelation in metal intoxication—principles and paradigms [J]. J Trace Elem Med Biol, 2015, 31: 260-266.

[66] Aoki N, Ishii Y, Tateda K, et al. Efficacy of calcium-EDTA as an inhibitor for metallo-β-lactamase in a mouse model of *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54: 4582-4588.

[67] Jin WB, Xu C, Qi XL, et al. Synthesis of 1, 3, 4-trisubstituted pyrrolidines as meropenem adjuvants targeting New Delhi metallo-β-lactamase [J]. New J Chem, 2021, 45: 3515-3534.

[68] Zhang E, Wang MM, Huang SC, et al. NOTA analogue: A first dithiocarbamate inhibitor of metallo-β-lactamases [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2018, 28: 214-221.

[69] Shungube M, Hlophe AK, Girdhari L, et al. Synthesis and biological evaluation of novel β-lactam-metallo β-lactamase inhibitors [J]. RSC Adv, 2023, 13: 18991-19001.

[70] King AM, Reid-Yu SA, Wang WL, et al. AMA overcomes antibiotic resistance by NDM and VIM metallo-β-lactamases [J]. Nature, 2014, 510: 503-506.

[71] Hinchliffe P, Tanner CA, Krismanich AP, et al. Structural and kinetic studies of the potent inhibition of metallo-β-lactamases by 6-phosphonomethylpyridine-2-carboxylates [J]. Biochemistry, 2018, 57: 1880-1892.

[72] Khan NH, Bui AA, Xiao Y, et al. A DNA aptamer reveals an allosteric site for inhibition in metallo-β-lactamases [J]. PLoS One, 2019, 14: e0214440.

[73] Sohier JS, Laurent C, Chevigné A, et al. Allosteric inhibition of VIM metallo-β-lactamases by a camelid nanobody [J]. Biochem J, 2013, 450: 477-486.

[74] Yang YN, Guo Y, Zhou YL, et al. Discovery of a novel natural allosteric inhibitor that targets NDM-1 against *Escherichia coli* [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 581001.

[75] Thomas PW, Cho EJ, Bethel CR, et al. Discovery of an effective small-molecule allosteric inhibitor of New Delhi metallo-β-lactamase (NDM) [J]. ACS Infect Dis, 2022, 8: 811-824.