

· 综 述 ·

细菌分选酶 A 抑制剂抗革兰阳性超级细菌感染的作用及其应用前景

王 琦^{1,3}, 艾常虹², 商庆辉^{1,3}

(1. 呼伦贝尔市人民医院, 内蒙古 呼伦贝尔 021000; 2. 呼伦贝尔市中蒙医院, 内蒙古 呼伦贝尔 021000; 3. 内蒙古民族大学呼伦贝尔医学院, 内蒙古 呼伦贝尔 021000)

摘要: 过去几十年中, 全球抗菌药物耐药形势愈发严峻, 多重耐药菌所致感染性疾病的发病率及死亡率逐年上升。对抗菌药物耐药机制的研究发现, 抗毒力疗法可能成为对抗超级细菌感染的新选择。细菌分选酶 A (SrtA) 是一种细菌细胞膜酶, 可将关键毒力因子固定在革兰阳性菌细胞壁表面, 在革兰阳性超级细菌的致病机制中起重要作用。SrtA 通过识别、硫酸酯化和转肽化将微生物表面成分识别黏附基质分子锚定在细菌肽聚糖上, 因此抑制 SrtA 可使细菌无法附着在特定的组织和(或)器官上, 从而无法攻击宿主细胞, 且无法逃避宿主的免疫反应。此外, SrtA 并非细菌生长和生存所必需, 在细胞膜上很容易获得, 是开发抗毒力疗法药物的理想靶点。本文对合成小分子、多肽和天然产物等 SrtA 抑制剂的研究进展进行归纳, 同时对 SrtA 抑制剂治疗革兰阳性超级细菌感染的应用潜力进行了分析。

关键词: 抗菌药物耐药性; 抗毒力疗法; 革兰阳性菌; 细菌分选酶 A; 抑制剂; 毒力因子

中图分类号: R978

文献标志码: A

文章编号: 1000-3002-(2022)05-0385-08

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2022.05.009

多重耐药菌是指同时对 ≥ 3 种抗菌药物耐药的细菌, 常被称为超级细菌, 其中引起广泛关注的有耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、耐多药肺炎链球菌、耐万古霉素肠球菌、多重耐药性结核杆菌、多重耐药鲍曼不动杆菌以及最新发现的携带有新德里金属- β -内酰胺酶 1 (New Delhi metallo-beta-lactamase-1, NDM-1) 基因的大肠杆菌和肺炎克雷伯菌等, 它们导致的感染性疾病的发病率和死亡率逐年升高, 给人类健康带来了严重威胁^[1]。据估计, 当前抗菌药物耐药性 (antimicrobial resistance, AMR) 每年在全球造成约 70 万人死亡, 到 2050 年死亡人数可能增加到每年 1000 万人; 另外, 到 2050 年 AMR 感染所消耗的全球医疗成本累计将达到 100 万亿美元^[2]。因此, AMR 将成为人类在 21 世纪面临的巨大挑战之一。

目前, 抗菌药物仍是治疗细菌感染的主要方法。传统抗菌药物一般为小分子, 通过与细菌 DNA、RNA、蛋白质或细胞壁的相互作用发挥杀菌或抑菌作用^[3]。随着 AMR 的加剧, 传统抗菌药物的疗效明显降低^[4], 为此人们采取各种方法来应对 AMR, 包括持续改进抗菌药物管理、使用百里酚和

没食子酸等细菌细胞膜通透剂提高抗菌效果、开发新的抗菌药物或疫苗及采取抗毒力疗法等^[5-6]。其中, 抗毒力疗法是以毒力因子为作用靶点的治疗方式。毒力因子是促进宿主内感染和细菌繁殖的细菌衍生分子^[7], 借助这些毒力因子, 细菌可以克服宿主防御系统和抗菌药物的攻击, 使细菌适应和定植于目标靶点^[8]。针对毒力因子进行靶向治疗虽无法消灭病原体, 但可削弱或完全阻断病原体入侵宿主的能力, 并且不会对细菌施加选择压力, 从而可降低细菌产生耐药性的风险。此外, 由于大多数毒力因子被限制在少数相关菌种, 所以耐药的决策因素通过水平基因转移的传播风险是降低的。因此, 抗毒力疗法可能成为一种更安全的抗感染策略, 并可有效克服抗菌药物治疗时存在的耐药风险^[5]。

细菌分选酶 A (sortase A, SrtA) 是一种细菌细胞膜酶, 可将表面蛋白附着在细菌的细胞壁上, 是革兰阳性致病菌 (如金黄色葡萄球菌) 的关键毒力因子, 其在细胞膜上的定位也是靶向治疗的重要靶点。因此, SrtA 对于抗毒力疗法的研究具有重要价值, 在应对 AMR 方面也具有重要意义^[9]。本文简要介绍 AMR 的流行病学及其耐药机制, 着重阐述 SrtA 的结构、作用机制及抑制剂的研究进展, 以期对革兰阳性超级细菌感染寻找新的治疗方案。

作者简介: 王 琦, 副主任药师, 主要从事临床药学研究, E-mail: wangqi20160418@126.com

通讯作者: 商庆辉, E-mail: 254393020@qq.com

1 抗菌药物的耐药性

1.1 流行病学

多重耐药的肠球菌、金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌和肠杆菌等“超级细菌”导致的感染相关发病率和死亡率逐渐升高^[10]。在美国,每年至少有 280 万株耐药菌感染发生,导致 3.5 万人死亡^[11];在欧洲,每年约有 2.5 万人死于耐药细菌感染^[12]。近年来,全球各地相继报道了多种耐药菌,如美国发现了耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*)^[13],印度和巴基斯坦发现了 *bla*_{NDM-1} 基因介导的耐碳青霉烯大肠埃希菌(carbapenem resistance *E. coli*)和耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌^[14],中国发现了含有黏菌素耐药基因 *mcr-1* 的大肠杆菌^[15]。在澳大利亚,常见革兰阴性菌(如大肠杆菌)的耐药性不断增加,养老院和医院中耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)以及耐万古霉素屎肠球菌的流行率不断升高^[16],可见全球范围内的抗菌药物耐药形势都十分严峻。

1.2 耐药机制

研究表明,AMR 的产生主要是源于抗菌药物对微生物施加的选择压力^[17]。AMR 大体分为 2 类,一类是固有耐药性,即引起 AMR 的基因在细菌中代代相传,使得细菌对抗菌药物产生天然耐药性^[18];另一类是获得性耐药性,即细菌由于基因突变或获得外来耐药性基因,或两者兼而有之,从而获得了抵抗抗菌药物活性的能力^[19]。

如图 1 所示,目前研究较充分的 AMR 机制主要有 4 种,即酶促药物降解、药物靶点突变、药物外排泵的激活和膜通透性的降低^[4]。此外,其他因素也

可导致 AMR。据统计,80% 细菌感染与细菌生物膜(简称生物膜)形成相关,生物膜中的细菌形态和生理作用均与游离菌不同,对抗菌药物的耐受性可提高 10~1000 倍,且对宿主免疫防御的抗性很强,是造成细菌耐药性的主要原因^[20-21]。当细菌暴露于较低浓度抗菌药物时,一旦形成生物膜就会产生适应性耐药,进而导致耐药性的发展。研究表明,生物膜的形成可受毒力因子、温度、糖浓度和 pH 值等因素的影响,而 AMR 与毒力因子之间可能也存在着很强的关联性^[22]。毒力因子是细菌产生的一种使细菌能附着在宿主细胞上的分子,常见的包括菌体表面的黏附结构,如菌毛、荚膜及类荚膜,还包括一些具有侵袭能力的水解酶,细菌代谢产生的部分脂多糖和蛋白质也属于毒力因子的范畴。一方面,毒力因子可使病原菌在机体内定殖、突破机体的防御屏障、内化、繁殖和扩散,这种能力被称为侵袭力;另一方面,毒力因子也具有一定毒素的性质,病原菌之所以能感染宿主并在宿主环境中繁殖,通常就是依靠一系列毒力因子相互协调作用实现的。人在感染有毒细菌并出现疾病症状后开始抗菌药物治疗,进而导致 AMR 的出现,可见毒力因子和 AMR 之间存在着直接关系^[22]。

2 细菌分选酶 A

近年来,使用抗毒力疗法治疗细菌感染受到越来越多的关注。与传统抗菌药物限制细菌生长或直接杀死细菌相比,抗毒力疗法降低了细菌的毒性,增加了病原体对宿主免疫系统的敏感性,因此,细菌毒力因子可能是研发新型抗菌药物的全新方向^[23]。在众多已知的毒力因子中,存在于大多数革

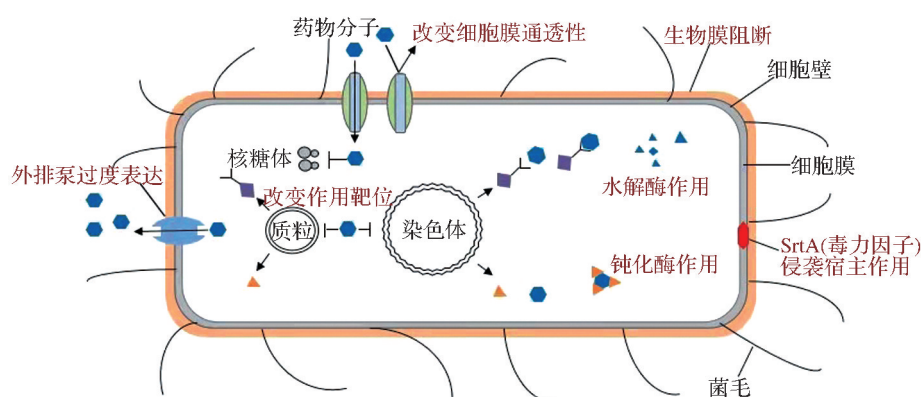


图 1 抗菌药物耐药机制^[4,20-22]。抗菌药物耐药机制主要包括药物外排泵的过度表达、细胞膜通透性降低、细菌生物膜的阻断作用、核糖体上蛋白质构象改变导致药物作用靶点突变、染色体突变及质粒介导的水解作用和钝化作用促使药物降解或失效及细菌分选酶 A(SrtA)等毒力因子对宿主的侵袭作用与毒力作用。

兰阳性菌中的 Srt 受到了特别的关注。Srt 可分为 8 类,分别是 A, B, C, D1, D2, E, F 和“Marine”,每类均有自己的底物识别基序和功能。SrtA 是一类膜结合的巯基转肽酶,其功能是将包括毒性因子在内的表面蛋白连接到细菌细胞壁上,而这些表面蛋白作为多种毒力因子之一,在革兰阳性菌对宿主的入侵中起着重要作用^[24]。SrtA 在革兰阳性菌的发病机制中是不可或缺的,但对其生长或生存能力却并不是必需的。因此, SrtA 是研发新型抗感染药物的非常有价值的靶点,这些新型抗感染药物可抑制生物膜形成等关键的细菌毒力机制,且不会引起耐药性^[25]。此外, SrtA 做为一种细菌细胞膜酶,与细胞内靶点相比具有更好的靶向性^[26]。

2.1 细菌分选酶 A 的结构

SrtA 是一种管家蛋白,可将带有 LPXTG 基序的蛋白共价结合到细菌细胞壁上^[27]。金黄色葡萄球菌 SrtA N 端第 1~59 氨基酸残基中包含一个将其定位到细胞膜上的信号肽和一个螺旋膜锚。第 60~206 氨基酸残基代表核心催化域,该催化域具有 8 股 β 桶状褶皱结构,即 Srt 褶皱,其中由 $\beta 7$ 和 $\beta 8$ 链形成 SrtA 的活性中心,而 His120, Cys184 和 Arg197 是活性中心不可缺少的 3 个氨基酸,尤其是位于 SrtA 特征基序 LXTC 上的 Cys184 具有催化活性^[28]。此外, $\beta 3$ 和 $\beta 4$ 环形成钙结合位点,钙离子可与 $\beta 6/\beta 7$ 环中的残基相互协作,这种钙离子的结合效应减缓了 SrtA 的运动,使得底物与酶结合,导致酶活性增加 8 倍^[29]。

2.2 细菌分选酶 A 的作用机制

SrtA 通过微生物表面成分识别黏附基质分子 (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules, MSCRAMM) 中的 LPXTG 基序发起黏附过程。在完成识别过程之后, SrtA 接连催化硫酸酯化反应和转肽化反应。SrtA 的催化性

半胱氨酸残基 Cys184 首先在苏氨酸残基和甘氨酸残基之间裂解 LPXTG 基序,并产生酰基硫酯酶中间体。在此过程中,首先需要组氨酸残基 His120 的咪唑环形成硫酸盐从而激活 Cys184;同时,精氨酸残基 Arg197 通过提供稳定的四面体氧阴离子过渡态和激活反应所需的能量,可助 Cys184 进行裂解反应^[30-31]。随后,该硫酯被细菌肽聚糖中五甘氨酸 (penta-Gly, Gly5) 序列的 N 端氨解。这种转肽化反应导致 MSCRAMM 的 C 端苏氨酸和肽聚糖 Gly5 序列之间形成酰胺连接,该连接将蛋白质共价连接到细菌细胞壁上^[30-31](图 2)。SrtA 通过识别、硫酸酯化和转肽化将 MSCRAMM 锚定在细菌肽聚糖上,因此抑制上述步骤中的任何一个,均可导致细菌不能附着在特定的组织和(或)器官上,使细菌无法攻击宿主细胞,同时无法逃避宿主的免疫反应^[32]。

3 细菌分选酶 A 抑制剂

目前,研究人员已筛选出多种类型的 SrtA 抑制剂 (SrtA inhibitor, SrtAi),包括合成小分子、多肽和其他天然产物等,这些 SrtAi 对金黄色葡萄球菌以及 MRSA 都具有一定的抑制作用,而且不会产生传统抗菌药物常见的相关不良反应^[33]。

3.1 合成小分子

目前,研究人员通过分子对接与分子动力学模拟筛选出了小分子药物数据库,用以识别能结合 SrtA 活性位点的化合物,并对部分化合物的抑制作用进行了生物评价。如研究人员对绿原酸 (chlorogenic acid, CHA) 及其类似物进行了荧光共振能量转移分析,以确定 CHA 对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 及对 SrtA 活性的半数最大抑制浓度 (half-maximal

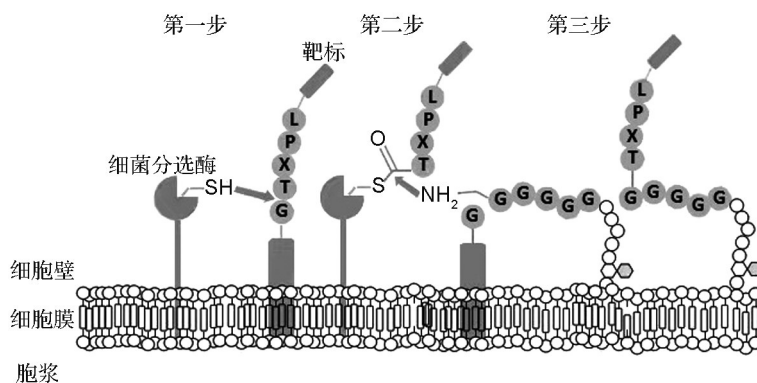


图 2 细菌分选酶 A 的作用机制。第一步: 识别; 第二步: 硫酸酯化反应; 第三步: 转肽反应。

inhibitory concentration, IC_{50})。结果显示,CHA 对金黄色葡萄球菌的 $MIC > 1024 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,对 SrtA 活性的 IC_{50} 为 $34 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,表明 CHA 与 SrtA 活性位点的结合阻止了 SrtA 与 MSCRAMM 中 LPXTG 基序的结合,从而使 SrtA 失去了生物活性^[34],但对金黄色葡萄球菌无明显抑菌作用。

研究人员利用基于结构的药物设计方法,对具有 SrtA 生物活性抑制作用的合成小分子进行了优化,并通过高通量筛选技术证实吡嗪酮类分子是有效的 SrtA 抑制剂。Chan 等^[35]合成了一系列高可溶性吡嗪酮基小分子,并推测它们可能与 Cys184 形成二硫键,因而可共价修饰 SrtA 的活性半胱氨酸硫醇基团。此外,这些小分子也部分模仿天然 SrtA 底物,可引起酶活性部位的构象变化。其中,化合物 2-(3-氟苯)-4-(3-羟丙氧)-5-硫吡啶啉-3(2H)-酮展现出理想的 SrtA 抑制作用, IC_{50} 为 $(21 \pm 14) \text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$,具有更低的细胞毒性,且可有效破坏金黄色葡萄球菌表面蛋白。

3.2 多肽

抗菌肽(antimicrobial peptides, AMP)为传统抗菌药物治疗耐药菌感染带来了一种替代或补充方案。它们是一种阳离子多肽,可与带负电荷的分子(如革兰阳性菌的重要表面抗原脂磷壁酸)发生静电作用,从而进入细胞质膜与脂质双分子层相互作用形成跨膜孔,进而导致细胞膜的生物作用呈剂量依赖性减弱^[36]。AMP 由 15 ~ 50 个氨基酸组成,可折叠成不同二级结构,包括 α -螺旋、 β -折叠、环和扩展螺旋,它们可通过非特异性作用机制抑制细菌,从而导致细菌细胞破坏。由于 AMP 的作用模式通常不是通过特定的生化途径实现,因此未观察到细菌对这类抗菌药物产生耐药性^[37]。

人类 β -防御素是存在于动植物体内的一种具有广谱抗微生物作用的阳离子多肽^[38],它们可与入侵的革兰阴性和阳性微生物的细胞膜相互作用,一些细菌虽已对它们产生了耐药性,但这些肽经过修改和重新设计可克服这一问题。如 D-IK8 ($MIC: 16 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 WR12 ($MIC: 4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 等新型合成短肽对 MRSA 表现出显著抑制活性。WR12(RWWRWRRWRR)是一种完全由色氨酸(Trp)和精氨酸(Arg)组成的 12 位氨基酸肽,D-IK8(D-IRIKIRIK-NH₂)是一种八残基 β -片状肽,两者均可通过破坏细菌细胞膜抑制细菌,导致细胞内容物泄漏,从而导致细菌死亡^[39]。研究表明,D-IK8 和 WR12 可破坏在体外定植的稳定生长阶段的 MRSA。体内研究结果显示,将 D-IK8 和 WR12 应

用于 MRSA 皮肤感染的小鼠模型时,两者均可显著降低开放伤口内 MRSA USA300 的计数,表明 D-IK8 和 WR12 在减少 MRSA 皮肤损伤的细菌负荷方面非常有效。此外,与传统抗菌药物相比,D-IK8 和 WR12 在阻断表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌生物膜方面更加有效^[39]。

AMP 克服 AMR 的能力使其展现出替代传统抗菌药物的潜力。然而,AMP 做为多肽类药物也存在明显局限性,其有限的生物利用度和较弱的蛋白水解稳定性限制了其在临床的广泛应用^[40]。为解决这些问题,研究人员以天然 AMP 为基础进行了优化修饰,以便开发出模拟 AMP 特性的合成类似物,修饰的重点是 AMP 的膜活性及其物理化学性质,如两亲性活性和正电荷。树状多肽是一类新的抗菌药物,是由附着在中心核上的一个功能肽单元的多个副本组成的支化分子,它们表现出抗菌作用^[40]。如树状分子 RW 4D 通过一种独特的膜溶解作用选择性地消除革兰阴性细菌而非革兰阳性细菌^[41];类似地,树状分子 SB056 ($MIC: 3.125 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 对革兰阴性微生物非常有效。研究表明,这些化合物的抗菌活性与多黏菌素 B 和黏菌素相当。总之,树状多肽与单体肽相比具有更高的活性,这可能是因为树状多肽具有多价性,所以对蛋白酶和肽酶的蛋白水解活性敏感度降低^[40]。

3.3 天然产物

由于传统抗菌药物的耐药形势愈发严峻,研究人员转而对天然抗菌剂产生了浓厚的兴趣。野生植物中感染性疾病的发生率极低,表明这些物种成功地形成了防御机制。研究发现,植物能产生多种小分子(相对分子质量 < 500)抗菌剂^[42]。此外,自 20 世纪初以来,天然化合物在治疗微生物引起的感染方面发挥了重要作用,其抗菌特性被多方研究报道^[43-44]。

Zhang 等^[45]发现来源于唇形科植物 *Hyptis atrorubens* Poit 的粗蕨素是一种强效 SrtA 抑制剂, IC_{50} 为 $24.17 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。利用定点诱变技术得到金黄色葡萄球菌 SrtA 的 2 种突变形式,即 Val166Ala 和 Val168Ala,并评价了粗蕨素对这 2 种突变体的抑制活性。结果表明,经粗蕨素抑制后两者活性较天然 SrtA 明显降低,较天然 SrtA 分别降低了 67% 和 99%。可见粗蕨素是一种可通过靶向 SrtA 抑制金黄色葡萄球菌感染的潜在的新型抗菌药物。在 Cho 等^[46]的相关研究中,对 20 种黄酮类化合物的 SrtA 抑制性能进行了测试,其中芒柄花素和 7-羟-6-甲氧黄酮对金黄色葡萄球菌有较强的抑制作用, IC_{50} 分别为 74.9 和 $96.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。Kim 等^[47]的另

一项研究发现,葡萄糖甾醇的一种分离物, β -谷甾醇-3-氧-吡喃葡萄糖苷,具有 SrtA 抑制作用,IC₅₀ 为 18.3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。此外,其对金黄色葡萄球菌也具有一定抗菌活性(MIC:200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),表明该化合物是一种潜在的 SrtAi 候选物。该研究还发现,谷甾醇对 SrtA 活性和金黄色葡萄球菌均无抑制作用,推断 β -谷甾醇-3-氧-吡喃葡萄糖苷的抑制作用取决于吡喃葡萄糖苷侧链部分。

植物产生的小分子抗菌剂大多为弱效抗菌剂,然而不同植物产生的抗菌剂之间可能发生协同作用,合用时抗菌效力有所增强^[42]。小檗碱和 5-甲氧大风子素的联合作用就是一个典型例子。小檗碱是一种 DNA 嵌入剂,由于其易被病原菌多药耐药泵排出,因此作为抗菌药物是无效的。而蓝莓的次级代谢产物 5-甲氧大风子素是一种多药耐药泵的阻断剂,二者联合作用展现出较强的抗菌作用^[42]。

很多种情况下天然化合物和抗菌药物之间同样存在协同作用^[48]。*mecA* 基因是编码产生青霉素结合蛋白 2a (penicillin binding proteins 2a, PBP2a) 的结构基因,由转座子携带并整合至葡萄球菌染色体的 *mec* 片段。*mec* 片段是葡萄球菌染色体上获得的外来片段,该片段只存在于耐甲氧西林葡萄球菌中^[49-50]。Mun 等^[48]通过分析 PBP2a 的表达来评估桑色素与 β 内酰胺抗菌药物对 MRSA 的联合作用。结果显示,单用桑色素的 MIC 值为 125~500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,而桑色素与苯唑西林联用的 MIC 为 0.97~259 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,说明二者之间存在协同作用。桑色素与苯唑西林联用治疗 MRSA 时,PBP2a 蛋白水平明显下降,提示该联用方案对 MRSA 有出色的临床疗效。根据该研究推测,桑色素联合 β -内酰胺抗菌药物展现的杀伤特性可能是通过对抗 PBP2a 介导的耐药性实现的。Ekambaram 等^[51]采用琼脂孔扩散法评价迷迭香酸(rosmarinic acid, RA)对金黄色葡萄球菌和 MRSA 的抗菌作用。结果表明,RA 对金黄色葡萄球菌(MIC:0.8 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)和 MRSA(MIC:10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)均有抑制作用;此外,RA 还与阿莫西林、万古霉素和氧氟沙星对金黄色葡萄球菌有协同抗菌作用,但对于 MRSA 的临床分离物,RA 仅与万古霉素联用时展现出协同抗菌作用。RA 与这些抗菌药物虽有协同作用,但 MIC 值仍然较高^[51],临床应用前需进行优化以克服该问题。

4 结语

鉴于超级细菌感染在全球引起的公共卫生危

机,人们需要进一步明确细菌生存所需的关键因素和感染进展所需的毒力决定因素,从而有针对性地研发出新型抗菌药物以应对细菌耐药的严峻形势。现有研究表明,针对毒力因子的药物设计是研发新型抗菌治疗的新路线,SrtA 是一种将表面蛋白共价连接到细菌细胞壁的毒力因子,是治疗革兰阳性菌感染的候选靶点。研究人员迄今已筛选出多种具有抗金黄色葡萄球菌活性的 SrtAi,如合成小分子、多肽和天然产物,这为攻克革兰阳性超级细菌感染带来了新希望。然而,SrtAi 成功应用于临床还面临一些急需解决的难题:① SrtAi 的疗效仍然需要在脓毒症或形成脓肿的体内感染模型中进一步仔细评估;② 需要进一步研究 SrtAi 与其他抗菌剂(如抗菌药物和抗真菌药物)或其他成分的合用,以提高其水溶性或生物利用度,从而降低最终配方中所需化合物的浓度;③ SrtAi 应具有良好的成本效益,从而有利于其最终在临床广泛应用;④ SrtAi 应在不影响人体内正常微生物菌群恢复下削弱细菌致病性,从而防止超级病菌的发展。综上所述,SrtAi 对金黄色葡萄球菌甚至 MRSA 感染展现出一定的临床疗效,尽管仍需优化解决一些问题才能应用于临床,但其为克服 AMR 的发展提供了新的研究方向。随着研究的深入推进,SrtAi 在未来十分有可能应用于治疗革兰阳性超级细菌感染。

参考文献:

- [1] Singh P, Verma N, Kumar P, et al. Review on a potential of antibiotics[J]. *J Drug Deliv Ther*, 2018, 8(5-s):35-40.
- [2] Christaki E, Marcou M, Tofarides A. Antimicrobial resistance in bacteria: mechanisms, evolution, and persistence[J]. *J Mol Evol*, 2020, 88(1): 26-40.
- [3] Gao W, Zhang L. Nanomaterials arising amid antibiotic resistance[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2021, 19(1): 5-6.
- [4] Wencewicz TA, Miller MJ. Sideromycins as pathogen-targeted antibiotics[J]. *Topics Med Chem*, 2017, 26: 151-183.
- [5] Buroni S, Chiarelli LR. Antivirulence compounds: a future direction to overcome antibiotic resistance[J]. *Fut Microbiol*, 2020, 15(5): 299-301.
- [6] Farrag HA, Abdallah N, Shehata MMK, et al. Natural outer membrane permeabilizers boost antibiotic action against irradiated resistant bacteria[J/OL]. *J Biomed Sci*, 2019, 26 (1): 69 (2019-09-09) [2022-07-20]. <https://link.springer.com/article/10.1186/s12929-019-0561-6>. DOI:10.1186/s12929-019-0561-6.

- [7] Nisar S, Kirkpatrick LD, Shupp JW. Bacterial virulence factors and their contribution to pathophysiology after thermal injury[J]. *Surg Infect*, 2021, 22(1): 69-76.
- [8] Pan Y, Zeng JX, Li LJ, *et al.* Coexistence of antibiotic resistance genes and virulence factors deciphered by large-scale complete genome analysis[J / OL]. *mSystems*, 2020, 5(3): e00821-19 (2020-06-02) [2021-07-20]. <https://www.researchgate.net/publication/341830951>. DOI: 10.1128/mSystems.00821-19.
- [9] Hou X, Wang M, Wen Y, *et al.* Quinone skeleton as a new class of irreversible inhibitors against *Staphylococcus aureus* sortase A[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2018, 28(10): 1864-1869.
- [10] De Oliveira DMP, Forde BM, Kidd TJ, *et al.* Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens[J/OL]. *Clin Microbiol Rev*, 2020, 33(3): e00181-19 (2020-05-13) [2021-07-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7227449>. DOI: 10.1128/CMR.00181-19.
- [11] Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic / antimicrobial resistance (AR / AMR) [EB / OL]. (2020-06-20) [2021-07-22]. <https://www.cdc.gov/drugresistance/index.html>.
- [12] Triggiano F, Calia C, Diella G, *et al.* The role of urban wastewater in the environmental transmission of antimicrobial resistance: the current situation in Italy (2010–2019)[J/OL]. *Microorganisms*, 2020, 8(10): 1567 (2020-12-12) [2021-07-20]. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101567>.
- [13] Zhu WM, Yuan Z, Zhou HY. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection relative to two types of control patients: a systematic review and meta-analysis[J / OL]. *Antimicrob Resist Infect Control*, 2020, 9(1): 23 (2020-01-31) [2021-07-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6995231>. DOI:10.1186/s13756-020-0686-0.
- [14] Gondal AJ, Saleem S, Jahan S, *et al.* Novel carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST147 coharboring blaNDM-1, blaOXA-48 and extended-spectrum β -lactamases from Pakistan[J]. *Infect Drug Resist*, 2020, 13: 2105-2115.
- [15] Wang Y, Xu XY, Zhang R, *et al.* Changes in colistin resistance and *mcr-1* abundance in *Escherichia coli* of animal and human origins following the ban of colistin-positive additives in China: an epidemiological comparative study[J]. *Lancet Infect Dis*, 2020, 20(10): 1161-1171.
- [16] Australian Commission on Safety and Quality in Health Care. Antimicrobial Use and Resistance in Australia Surveillance System (AURA)[EB/OL]. (2019-06-12) [2021-07-22]. <https://www.safetyandquality.gov.au/sites/default/files/2019-06/AURA-2019-Report.pdf>.
- [17] Larson E. Community factors in the development of antibiotic resistance[J]. *Annu Rev Public Health*, 2007, 28: 435-447.
- [18] Schroeder M, Brooks BD, Brooks AE, *et al.* The complex relationship between virulence and antibiotic resistance[J/OL]. *Genes*, 2017, 8(1): 39 (2017-01-18) [2021-07-20]. <https://www.mdpi.com/2073-4425/8/1/39/htm>. DOI: 0.3390/genes8010039.
- [19] Mukherjee PK. *Quality Control and Evaluation of Herbal Drugs* [M]. Amsterdam: Elsevier, 2019: 573-598.
- [20] Algburi A, Comito N, Kashtanov D, *et al.* Control of biofilm formation: antibiotics and beyond[J / OL]. *Appl Environ Microbiol*, 2017, 83(3): e02508-16 (2017-01-17) [2021-07-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5244297>. DOI: 0.1128/AEM.02508-16.
- [21] Moldoveanu AL, Rycroft JA, Helaine S. Impact of bacterial persisters on their host[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2021, 59: 65-71.
- [22] Beceiro A, Tomás M, Bou G. Antimicrobial resistance and virulence: a successful or deleterious association in the bacterial world[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2013, 26(2): 185-230.
- [23] Guo YC, Cai SH, Gu GF, *et al.* Recent progress in the development of sortase A inhibitors as novel anti-bacterial virulence agents[J]. *RSC Advances*, 2015, 5(62): 49880-49889.
- [24] Zrelavs N, Kurbatska V, Rudevica Z, *et al.* Sorting out the superbugs: potential of sortase A inhibitors among other antimicrobial strategies to tackle the problem of antibiotic resistance[J / OL]. *Antibiotics*, 2021, 10(2): 164 (2021-02-05) [2021-07-20]. <https://www.mdpi.com/2079-6382/10/2/164/htm>. DOI: 0.3390/antibiotics10020164.
- [25] Thappeta KRV, Zhao LN, Nge CE, *et al.* *In-silico* identified new natural sortase A inhibitors disrupt *S. aureus* biofilm formation[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(22): 8601 (2020-11-14) [2021-07-20]. <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/22/8601/htm>. DOI:10.3390/ijms21228601.
- [26] Mu D, Luan YX, Wang L, *et al.* The combination of salvianolic acid A with latamoxef completely protects mice against lethal pneumonia caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1): 169-179.

- [27] Marraffini LA, DeDent AC, Schneewind O. Sortases and the art of anchoring proteins to the envelopes of Gram-positive bacteria[J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2006, 70 (1): 192-221.
- [28] Deng F. Studies of sortase A by total chemical synthesis[D]. Chicago: The University of Chicago, 2013.
- [29] Popp MWL, Ploegh H. Making and breaking peptide bonds: protein engineering using sortase[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2011, 50 (22): 5024-5032.
- [30] Cascioferro S, Raffa D, Maggio B, et al. Sortase A inhibitors: recent advances and future perspectives [J]. *J Med Chem*, 2015, 58 (23): 9108-9123.
- [31] Ouyang P, He XW, Yuan ZW, et al. Erianin against *Staphylococcus aureus* infection via inhibiting sortase A[J/OL]. *Toxins*, 2018, 10 (10): 385 (2018-09-23) [2021-07-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6215257>. DOI: 10.3390/toxins10100385.
- [32] Ha MW, Yi SW, Paek SM. Design and synthesis of small molecules as potent *Staphylococcus aureus* sortase A inhibitors[J/OL]. *Antibiotics*, 2020, 9 (10): 706 (2020-10-16) [2021-07-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7602840>. DOI:10.3390/antibiotics9100706.
- [33] Richards MDJ, Wright MJ, Clarke DJ, et al. Molecular basis of *Streptococcus mutans* sortase A inhibition by the flavonoid natural product trans-chalcone[J]. *Chem Commun*, 2015, 51 (52): 10483-10485.
- [34] Bi CW, Wang L, Niu XD, et al. The use of chlorogenic acid and its analogues as inhibitors: an investigation of the inhibition of sortase A of *Staphylococcus aureus* using molecular docking and dynamic simulation [J]. *Biotechnol Lett*, 2016, 38 (8): 1341-1347.
- [35] Chan AH, Yi SW, Weiner EM, et al. NMR structure-based optimization of *Staphylococcus aureus* sortase A pyridazinone inhibitors[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2017, 90 (3): 327-344.
- [36] Sierra JM, Fusté E, Rabanal F, et al. An overview of antimicrobial peptides and the latest advances in their development[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2017, 17(6): 663-676.
- [37] Ageitos J, Pérez AS, Mata PC, et al. Antimicrobial peptides (AMPs): ancient compounds that represent novel weapons in the fight against bacteria[J]. *Biochem Pharmacol*, 2017, 133: 117-138.
- [38] Kandaswamy K, Liew TH, Wang CY, et al. Focal targeting by human β -defensin 2 disrupts localized virulence factor assembly sites in *Enterococcus faecalis* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(50): 20230-20235.
- [39] Mohamed MF, Abdelkhalek A, Seleemet MN, et al. Evaluation of short synthetic antimicrobial peptides for treatment of drug-resistant and intracellular *Staphylococcus aureus*[J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6 (1): 1-14 (2016-07-11) [2021-07-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4942614>. DOI:10.1038/srep29707.
- [40] Scorciapino MA, Serra I, Manzo G, et al. Antimicrobial dendrimeric peptides: structure, activity and new therapeutic applications[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(3): 542 (2017-03-03) [2021-07-20]. <http://europepmc.org/article/MED/28273806>. DOI:10.3390/ijms18030542.
- [41] Liu Z, Young AW, Hu P, et al. Tuning the membrane selectivity of antimicrobial peptides by using multivalent design[J]. *Chem Bio Chem*, 2007, 8(17): 2063-2065.
- [42] Hemaiswarya S, Kruthiventi AK, Doble M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases[J]. *Phytomedicine*, 2008, 15(8): 639-652.
- [43] Shahzad M, Millhouse E, Culshaw S, et al. Selected dietary (poly) phenols inhibit periodontal pathogen growth and biofilm formation[J]. *Food Funct*, 2015, 6 (3): 719-729.
- [44] Aldulaimi OA. General overview of phenolics from plant to laboratory, good antibacterials or not[J]. *Pharmacogn Rev*, 2017, 11(22): 123-127.
- [45] Zhang B, Wang XY, Wang L, et al. Molecular mechanism of the flavonoid natural product dryocrassin ABBA against *Staphylococcus aureus* sortase A[J/OL]. *Molecules*, 2016, 21 (11): 1428 (2016-10-26) [2021-07-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6273746>. DOI: 10.3390/molecules21111428.
- [46] Cho H, Chung B, Kim CK, et al. *Spatholobus suberectus* Dunn. constituents inhibit sortase A and *Staphylococcus aureus* cell clumping to fibrinogen [J]. *Arch Pharm Res*, 2017, 40 (4): 518-523.
- [47] Kim SH, Shin DS, Oh MN, et al. Inhibition of sortase, a bacterial surface protein anchoring transpeptidase, by β -sitosterol-3-O-glucopyranoside from *Fritillaria verticillata*[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2003, 67(11): 2477-2479.
- [48] Mun SH, Lee YS, Han SH, et al. *In vitro* potential effect of morin in the combination with β -lactam antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2015, 12(6): 545-550.

- [49] Mun Y, Yuan L, Seo YH, *et al.* Penicillin binding proteins 3 and 4 relations between resistance phenotypes and mecA, TEM genes expression in *Staphylococcus aureus*[J/OL]. *Arch Clin Microbiol*, 2019, 10 (4): 94 (2019-07-30) [2021-07-20]. <https://www.itmedicalteam.pl/articles/ppenicillin-binding-proteins3-and-4-relationsbetween-resistance-phenotypes-and-meca-tem-genes-expression-in-emstaphyloc-102561.html>. DOI:10.36648/1989-8436.10.4.94.
- [50] Chon, JW, Lee UJ, Bensen R, *et al.* Virulence characteristics of mecA-positive multidrug-resistant clinical coagulase-negative *staphylococci* [J/OL]. *Microorganisms*, 2020, 8(5): 659 (2020-05-01) [2021-07-20]. <https://www.mdpi.com/2076-2607/8/5/659/htm>. DOI: 10.3390/microorganisms8050659.
- [51] Ekambaram SP, Perumal SS, Balakrishnanet A, *et al.* Antibacterial synergy between rosmarinic acid and antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *J Intercult Ethnopharmacol*, 2016, 5 (4): 358-363.

Anti-superbacterial infection of bacterial sortase A inhibitors and their prospects of application

WANG Qi^{1,3}, AI Chang-hong², SHANG Qing-hui^{1,3}

(1. Hulunbuir People's Hospital, Hulunbuir 021000, China; 2. Hulunbuir Sino-Mongolia Hospital, Hulunbuir 021000, China; 3. Hulunbuir Medical School, Nationalities University of Inner Mongolia, Hulunbuir 021000, China)

Abstract: Over the past decades, global antimicrobial resistance has become increasingly prevalent, and the morbidity and mortality of infectious diseases caused by multidrug-resistant bacteria have increased year by year. The research on antimicrobial resistance mechanisms has found that the antivirulence therapy may be a new option for fighting superbug infections. Bacterial sortase A (SrtA), a bacterial cell membrane enzyme that immobilizes key virulence factors on the cell wall surface of Gram-positive bacteria, plays an important role in the pathogenesis of Gram-positive superbugs. Through recognition, thioesterification and transpeptidation of microbial surface components, SrtA anchors adhesion matrix molecules to bacterial peptidoglycan, thus preventing bacteria from clinging to specific tissues/organs by inhibiting SrtA and making it impossible for them to attack host cells or evade the host's immune response. Furthermore, SrtA is not required for bacterial growth or activity and is readily available on the cell membrane, making it an ideal target for the development of antivirulence therapy drugs. In this paper, the research progress in synthetic small molecules, peptides, natural products and other SrtA inhibitors is summarized, and the applicability of SrtA inhibitors in the treatment of super bacterial infections is analyzed

Key words: antimicrobial resistance; anti-virulence therapy; Gram-positive bacteria; sortase A; inhibitors; virulence factors

Corresponding author: SHANG Qing-hui, E-mail: 254393020@qq.com

(收稿日期: 2021-07-24 接受日期: 2022-01-21)

(本文编辑: 魏霞)