

抗生素类药物的研究进展

王旭阳, 毛 雯, 龚国利*

(陕西科技大学食品与生物工程学院, 西安 710021)

摘 要: 抗生素是由微生物或高等动植物在生活史中所产生的能干扰细胞发育功能, 具有抑菌或杀菌作用的化合物。近年来, 抗生素在人类和动物疾病以及农业中的大量使用, 使得抗生素耐药危机爆发, 导致曾经容易治疗的疾病变得再次致命。因此, 开发新型有效的抗生素迫在眉睫。当前, 越来越多的科研工作者开始从细胞生物学方面入手, 研究抗生素在微生物中的作用机理, 以求发现细菌耐药的根本原因。本文综述了抗生素的研发历史及作用机制, 基因组学在抗生素研发中的重要作用, 抗生素复配组合使用及构建化学品库实现老药新用, 并展望了抗生素类药物未来的发展方向。

关键词: 耐药性; 抗生素; 抗菌药物; 研发

Research progress on antibiotics

WANG Xu-Yang, MAO Wen, GONG Guo-Li*

(School of Food and Bioengineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

ABSTRACT: Antibiotics are compounds produced by microorganisms or higher plants and animals in the progress of life that can interfere with cell function and have antibacterial or bactericidal effects. In recent years, the antibiotic resistance crisis caused by the heavy use of antibiotics in human, animal diseases and in agriculture, has made once easily treatable diseases deadly again. Therefore, it is urgent to develop new effective antibiotics. Now, more researchers are beginning to pay attention to microbial cell biology, deepening the understanding of the mechanism of antibiotics in microorganisms, and studying the reasons of the survival of bacteria. This paper reviewed the history and mechanism of antibiotic research and development, the important role of genomics in antibiotic research and development, the combined use of antibiotics and construction of chemical library to realize the new use of old areas, and prospected the future development direction of antibiotic drugs.

KEY WORDS: antibiotic-resistance; antibiotics; antimicrobial drugs; research

1 引 言

抗生素的研发可以追溯到 1929 年, 青霉素的发现使人们能够有效控制革兰氏阳性病原体感染; 1943 年, 链霉

素成功的控制了引起结核病的结核分枝杆菌的生长^[1], 这些发现使抗生素的研发进入到黄金时期。在此期间, 通过挖掘细菌和真菌的代谢产物或者对已有的化合物进行修饰, 从而开发了一系列的新型抗生素(表 1)。因此, 外科手术成

基金项目: 陕西省教育厅服务地方科学研究计划项目(18JC004)、陕西省教育厅科研计划项目资助(19JK0143)、陕西科技大学科研启动基金(2018BJ-17)

Fund: Supported by Scientific Research Projects for Serve Local of Shaanxi Educational Committee (18JC004), Research Project Funding of Shaanxi Educational Committee (19JK0143), and the Scientific Research Foundation of Shaanxi University of Science & Technology (2018BJ-17)

*通讯作者: 龚国利, 博士, 教授, 主要研究方向为微生物代谢产物分离及鉴定的研究。E-mail: guoligong@sust.edu.cn

*Corresponding author: GONG Guo-Li, Ph.D, Professor, School of Food and Bioengineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China. E-mail: guoligong@sust.edu.cn

为常规治疗手段, 器官移植得到迅速发展, 易引起免疫系统下降的化学疗法也应用于癌症治疗中。但是, 由于大量抗生素的使用, 使得抗生素耐药危机爆发。通过对自然环境以及永久冻土样品的中微生物的研究表明: 抗生素耐药性基因组具有遗传多样性^[10,11], 它们广泛存在于所有生态系统环境中^[12,13], 而且早于现代抗生素时代数千年^[14]。通过大量研究表明耐药菌形成有 3 种途径: (1)通过激活耐药因子以及外部环境影响从获得大量耐药基因^[15]; (2)由于次级突变和耐药突变的影响, 进而减少抗生素的靶基因多态性^[16,17]; (3)细菌耐药机制基因的表达上调, 比如主动外排^[18]和酶的修饰钝化^[19]。在耐药时代, 由于病原体多重耐药性和超级细菌的诞生^[20], 使得通过抗生素控制细菌感染的能力被削弱。

这使得人们把目光放在对抗生素更深入的研究上, 以期在耐药危机大爆发的今天占据先机。本文简要的介绍了抗生素的研究历史及作用机制, 并阐述了基因组技术在抗生素研发中的重要作用。此外, 对抗生素复配使用及构建化学品库进行了综述, 这些方法已在治疗领域被证明是有效的。这对未来实现精准的“基因—药物”治疗提供了理论基础, 具有重要意义。

2 抗生素的研发历史及作用机制

抗生素是指由微生物(包括细菌、真菌、放线菌属)或高等动植物在生活过程中所产生的具有抗病原体或其他活性的一类次级代谢产物。主要通过干扰细胞重要的

生化进程, 进而抑制细胞的生长和分裂, 最终起到杀死细胞的目的^[21]。

2.1 抗生素的研发历史

研究通过筛选土壤中的微生物, 分离得到可以抑制结核杆菌生长的化合物^[22]。此发现使研究者意识到环境中大量细菌和真菌的次级代谢产物是天然抗菌药物的宝库。并且阐明了抗菌化合物最小抑制浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)的测定方法, 为后续土壤微生物中药物的研发奠定了基础, 推动了抗生素研发进入到黄金时期。但到了二十世纪六十年代中期, 由于环境中天然的微生物代谢物具有相当大的药理学或毒理学缺陷, 因此利用 Waksman 方法去发现新型而且有效的抗生素变得越来越困难。并且早期研发的抗生素, 也由于耐药基因在细菌间的水平转移或者细菌染色体突变而导致细菌耐药性出现^[23]。这一系列问题的出现使得抗生素研发进入到创新时期—药物化学时期。这一时期, 抗生素的研发主要集中在对前期发现的天然化合物的合成和改造, 这些化合物的衍生物使得抗生素的应用取得了具大的进步。它们普遍具有低剂量、广谱抗菌和避免耐药性的特点。这些新药极大地改变了医学实践, 并带来了现代医学的“奇迹”。进入 20 世纪 60 年代, 新型抗生素的研发明显后劲不足, 究其原因是抗生素的长期大量使用使现有病原菌对抗生素敏感性下降, 抗药性问题日益突显, 进入到耐药时代, 而开发新型且不具耐药性的抗生素十分困难(图 1^[23])。

表 1 黄金时期发现的独特化学类抗生素
Table 1 unique chemical antibiotics discovered in the golden age

化学品类	靶向	作用模式	示例
磺酰胺类*	叶酸合成	抑菌	磺胺 ^[2]
β—内酰胺类+	细胞壁合成	杀菌	青霉素类, 头孢菌素类, 碳青霉烯类 ^[3]
氨基糖甙类+	蛋白质合成	杀菌	奇霉素, 卡那霉素, 新霉素 ^[4]
四环素类+	蛋白质合成	抑菌	四环素, 多西环素 ^[4]
氯霉素类+	蛋白质合成	抑菌	氯霉素 ^[5]
大环内酯类+	蛋白质合成	抑菌	红霉素, 克拉霉素 ^[6]
糖肽类+	细胞壁合成	杀菌	万古霉素, 替考拉宁 ^[6]
唑烷酮类*	蛋白质合成	抑菌	利奈唑胺 ^[7]
安沙霉素类+	RNA 合成	杀菌	利福霉素 ^[8]
喹诺酮类+	DNA 合成	杀菌	环丙沙星 ^[9]
链阳性菌素类+	蛋白质合成	杀菌	普那霉素 ^[6]

注: *为化学合成, +为自然产物。

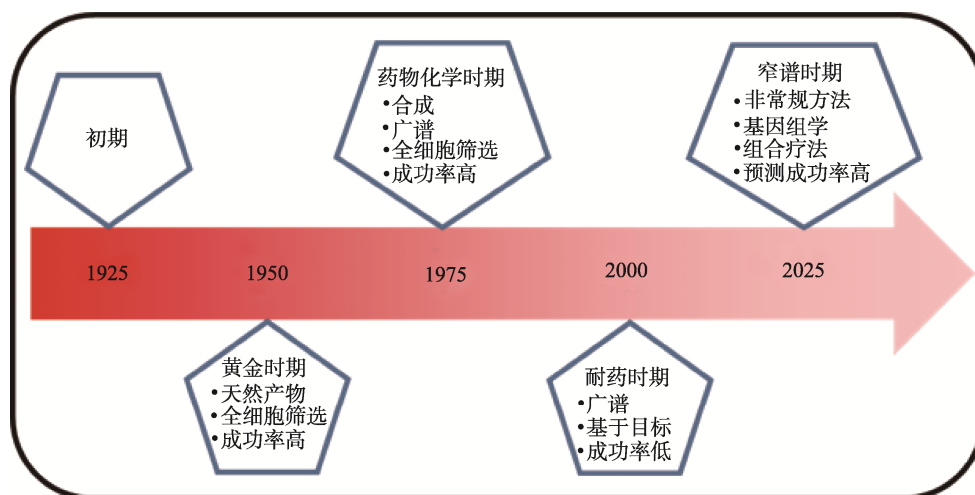


图 1 抗生素类药物研发时间轴

Fig.1 Timeline of antibiotic drug development

2.2 抗生素的作用机制

大多数现有的抗生素都是从天然产物中提炼出来,对细胞具有多向性、复杂性的作用,并且往往有多个分子靶点^[24]。如 β -内酰胺类抗生素倾向于靶向细菌细胞壁、DNA 或核糖体。除了少数例外情况,这些化合物通过与靶酶(青霉素合成蛋白-PBP)结合阻碍其活性而显示抗菌性^[25]。这些靶酶共同负责细菌细胞壁的合成和重塑,以促进细胞的生长和分裂。抑制蛋白质合成的抗生素的靶点是核糖体,核糖体由多个核糖体 DNA 编码,因此,抗生素通过阻止 DNA 合成来作用于几种拓扑异构酶。重要的是,这种对多个细胞靶点的影响限制了目标基因突变引起的自发抵抗的频率。抗生素分子靶点的抑制通常会导致复杂的下游效应,超过单纯的酶抑制作用^[26]。越来越多的证据表明: β -内酰胺类抗生素以更加复杂的抑制方式扰乱了细菌细胞壁合成机制。人们越来越认识到细菌细胞死亡是非常复杂的,它可能需要多个细胞通路的参与。许多天然抗生素是经过数百万年的进化,为这些复杂性状所选择的产物。因此,现代药物研究方法尚未发现能和与第一代天然抗生素及其半合成衍生物效果相当的化合物也许是正常的。

3 基因组技术在抗生素研发中的重要作用

基因组学的发展对抗菌药物的研发起到至关重要的作用。例如,重组 DNA 产生目的蛋白实现了药物的高产率,通过高通量合成技术构建了大型的化合物库。蛋白质结构测定的发展使药物设计更加合理,液体处理的自动化促进了生化检测的高通量筛选。抗菌药物研发与新兴的基因组技术结合后,“基因—药物”成为一种常规治疗方法,在许多治疗领域取得成功^[27]。随着基因组学的高速发展,抗生素的研发有可能从广谱的耐药时代转向更具有精确疗效的窄谱时代。

3.1 高通量测序的应用

第一个被测序的自由生活物种是流感嗜血杆菌^[28],自此以后,基因组测序工作迅速展开,成千上万的细菌基因组都被测序研究。高通量测序技术能够在全基因组水平上扫描并检测突变位点,该技术被用于革兰氏阳性杆菌(枯草芽孢杆菌)^[29]和革兰氏阴性细菌(大肠杆菌)^[30]的基因组测定中。通过系统性诱变可以获得新的突变位点,同时寻找新一代的不具有耐药性的抗生素新靶点,这种方法被用于金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和结核分枝杆菌中^[31-33]。大规模的基因分布性研究发现了大量靶标(大约 160 个),科研人员对许多靶标都进行了体外活性的检测^[34]。然而通过高通量生化筛选,在这些大量化合物中往往无法找到具有“前途”的化合物,尽管能够发现先导合成物,但是却不能有效针对广谱病原体或革兰氏阴性菌,使得开发抗菌药物面临巨大困难。特别是革兰氏阴性菌的感染令人恐惧,因为关于它的药物渗透和主动外排机制知之甚少,这使得人们把抗菌药物研发的目光同时也聚焦到细胞生物学。科研人员利用完整的细菌细胞来筛选抗菌类化合物,并且从细菌耐药能存活的原因方面入手进行研究。这些研究表明基于细胞的研究方法使得抗生素耐药性的研究有了新希望。最终,基于细胞的研究将会侧重于特定基因靶标来研究开发新的抗菌药物。

3.2 必要基因理论

大约 7% 的大肠杆菌基因组(约 303 个基因),已被证明是大肠杆菌生长在代表典型 Waksman 条件的丰富培养基上的必要基因^[30]。然而,对诸如营养缺乏和化学扰动等应激条件的系统研究表明,还有 258 个基因是有条件必要的^[35]。这些体内必要基因已经通过随机转座子诱变方法在各种病原体中进行了评估,该项技术的一个有趣的应用是研究铜绿假单胞菌在囊性纤维化患者痰中生长的基因组需

求^[36]。值得注意的是, 因为寻找抗菌化学药品非常强调丰富培养基条件, 所以维生素的生物合成已经成为了细菌生存能力的一项重要要求。

体内必要基因代表了一组新的靶点, 尽管这些靶点在现代抗菌药物的研发中未经过测试, 但它们仍为扩大新药的靶标库带来了希望。这类靶标的抑制剂通常不能显示用于计算 MIC 的标准的细胞生长抑制表型。MIC 不但是临床前抗生素研发中化合物优化的重要驱动力, 而且也是监管机构, 研发者和医务工作者都理解的疗效黄金标准。在缺乏 MIC 的情况下, 则需要建立一个适合于高通量筛选和下游药物研发的检验方法。一种创新的解决方案是在非常规的增长介质中筛选。由于与肺部感染有关, 该方法被用于治疗铜绿假单胞菌的乙氧基化物流^[37]。在筛选工作流程中, 筛选出的化合物在含有乙酸的有限营养介质中是唯一的碳源, 但在葡萄糖为唯一来源时不起作用, 因此, 发现了 8 种先导化合物。另一项研究建立在一个平台上, 以发现在营养有限的条件下阻碍生长的小分子, 并将其用于氨基酸、核酸酶和维生素的生物合成^[38]。在优先考虑仅在缺乏营养补充物时才具有活性的抗菌化合物之后, 该方法通过系统地补充个体和代谢产物库来阐明作用机制。结果发现了针对大肠杆菌中甘氨酸、叶酸和维生素合成的先导化合物。针对病原体铜绿假单胞菌中的群体感应毒力方式的研究已经产生了有希望的化合物, 它们在小鼠感染模型中是有效的, 而且不干扰体外的生长^[39]。通过一种新的筛查平台, 将群体感应系统和毒性基因产物 SacB 的表达联系起来, 将会给细胞带来生命力。发现体内靶点的另一条途径是在宿主疾病模型中进行筛选。例如, 对感染结核分枝杆菌的巨噬细胞的高含量显微筛选发现了一系列靶向细菌中的细胞色素 BC1 复合物的先导化合物^[40]。

3.3 遗传互作网络

随着药物研发技术的成熟, 除了使得人们对细胞的认识逐渐转变, 也改变了人们对可成药性基因组的看法。科研人员通过研究酵母^[41]和细菌^[42]中基因和蛋白质的互作揭示了多种功能的互作网络。在模式微生物酿酒酵母中, 通过基因敲除实验发现有 5000 个基因是必不可缺的, 大约 20 万对基因在体外表达出对本身的致死性。早期对大肠杆菌中致死基因的研究发现了相似基因的相互组合, 而且预测到能够抑制这些基因互作的靶点和药物^[43], 为新抗生素的联合使用提供了依据, 有助于开发新药或设计新的治疗方案。另外, 通过等位基因替代法, 发现在革兰氏阳性菌细胞壁磷壁酸(WTA)的合成过程中, 晚期基因(*TarB*, *TarD*, *TarF*, *TarIJ* 和 *TarH*)在聚合物的形成和输出过程起到至关重要的作用, 而早期基因则对于生长可有可无。WTA 基因独特的功能为研究金黄色葡萄球菌的 WTA 途径早期和晚期靶标的新的先导化合物^[44]和十一戊烯醇-磷酸合成相关通路提供了基础^[45]。这些发现为更好地理解潜在地

利用这些复杂的遗传和生化相互作用的研究奠定了基础。

3.4 化学基因组学

抗生素具有密集而复杂的化学和遗传相互作用网络, 利用基因组信息绘制增强或抑制抗生素效果的图谱表明了细菌的存活能力是相当复杂的^[46]。同时, 互作网络也能够增强抗生素活性或有助于克服耐药性的抗生素佐剂提供了丰富的新靶标。另外抗生素在抑制细菌生长时的代谢状态和活性氧的作用也受到重视^[47]。事实上, 由于细胞系统固有的复杂性, 所以在筛选新的抗菌化合物时, 重点不在生化和靶标的研究上, 而是应该使用全细胞、且基于生长表型进行筛选。一旦发现新的潜在化合物, 可以通过化学基因组揭示化合物的机制以及抗菌特性。化学基因组学通过小分子探针与靶蛋白间的特异性作用研究靶蛋白及相关基因的结构功能, 同时发现新的药物作用靶点及药物先导化合物。因此, 采用具有生物活性的化学小分子配体作为探针, 研究与人类疾病密切相关的基因、蛋白质的生物功能, 同时为药物开发提供具有高亲和性的药物先导化合物, 是后基因组学时代药物发现的新模式, 将加快制药工业的发展。

4 抗生素组合疗法

抗生素组合疗法的有效性已经被临床所证明并逐渐受到大家的青睐。一种有效的组合是甲氧苄啶和磺胺甲恶唑, 它对叶酸代谢具有显著的协同作用。另一种组合是阿莫西林(一种 β -内酰胺抗生素)和克拉维酸(一种 β -内酰胺酶耐药酶抑制剂)。在感染未知因子时, 临床医师长期将来自不同类别的抗生素(如 β -内酰胺与氨基糖苷类)联合使用, 以实现协同作用, 达到覆盖广谱病原体或抑制耐药性的目的。事实上, 药物组合是治疗顽固性感染如结核病的主要手段。除了 β -内酰胺和 β -内酰胺酶抑制剂组合之外, 现有的抗菌药物组合在很大程度上是已建立的抗生素临床试验的产物。然而, 一种新的发现模式正在出现, 它识别细胞的网络视图并以一种系统的方式搜索小分子的有效组合。

旨在发现活性组合的方法几乎只搜索佐剂。这是因为即使在相对较小的化学品集中, 对组合的系统检查也会导致大量的筛查。通常, 对现有的抗生素生长抑制性的测试主要在亚抑菌浓度与化学品集结合下进行。对能够增加窄谱革兰氏阳性抗生素新生霉素在革兰氏阴性细菌大肠杆菌中活性的合成化合物的筛查中鉴定了 4 种新化合物^[48]。它们影响细胞形状和膜的通透性, 这就为观察到的协同作用提供了解释。另一种使用天然抗生素进行的组合筛查旨在逆转碳青霉烯类抗生素在金属 β -内酰胺酶阳性革兰氏阴性病原体中耐药性^[49]。结果表明, 曲霉毒素 A 可以阻断臭名昭著的碳青霉烯酶 NDM-1, 并且对含有 NDM-1 肺炎克雷伯氏菌感染的小鼠治疗是有效的。

使用已经批准的药物作为组合研究中生物活性化学物质的来源引起了人们很大的兴趣^[50]。这是因为越来越多的人认识到,具有经证实的治疗活性的小分子大多是有生物聚合特性的特殊化学物质,它们通常具有替代作用。一些使用这种化学品库的药物研究人员发现了令人兴奋的药物组合。例如,抗腹泻药物洛哌丁胺可破坏细菌细胞膜电位,这促进了革兰氏阴性菌对抗生素米诺环素的摄取^[51]。还有,通过抑制 WTA 的合成,抗高血压药物噻氯匹啶增强了 β -内酰胺抗生素对甲氧西林金黄色葡萄球菌的杀伤力^[44]。

药物组合具有很多优点,例如,它在降低抗生素浓度以达到治疗效果的同时也减少了耐药性和脱靶毒性问题。组合方法不但可以延长传统药物的有效寿命,而且因为临床医生熟悉这些药物的递送和效用,所以进入临床实践的障碍可能最小。然而,组合方法也存在很多挑战。我们需要匹配每种药物成分的药理和药效,但这会增加药物研发的负担。就像任何抗菌药物治疗一样,耐药性也是一个问题。此外,还必须彻底检查药物之间意外的相互作用。尽管如此,在治疗癌症、艾滋病毒、结核病和细菌感染方面,多成分疗法(尤其是 β -内酰胺类抗生素和 β -内酰胺酶抑制剂的结合)为传统抗生素耐药性时代的提供了一种替代方法。

5 需要重点关注的化学品库

抗生素发现的历史表明,由微生物产生的天然产物代表了抗生素发现中的一类特殊化学物质。这些化合物大多已被证明是非常有效的,而且是我们大多数抗生素药物的来源。然而,尽管使用 Waksman 平台的筛选可以很容易地从环境微生物文库中检测出抗菌代谢产物,但大多数此类代谢物已经被鉴定和编目。另一个复杂的问题是,收集微生物产生的天然产物库,产生用于筛选的化合物提取物,以及活性化合物的纯化和表征,都是非常费时和昂贵的,这导致了大多数大型制药公司放弃了微生物天然产品。

合成化学品库可能超过数百万种化合物,原则上可以为我们提供广阔的化学空间。从定义上讲,它们具有化学易处理性,这使得它们可以通过药物化学扩大和相对容易地扩展,从而探索构效关系,提高药效并优化药理学。但是合成化合物的致命弱点似乎是它们普遍无法穿透细菌的细胞外壳,内膜和外膜,孔蛋白和复合碳水化合物聚合物,以及他们对膜相关系的活性外排的敏感性。总体结果是研发已经陷入僵局:天然产物库筛选出的化合物大多数是已知的,而合成库筛选出生化靶标有效配体大多生物活性较差。

解决这一僵局的方法是开发合成库,捕捉天然产物的化学多样性和物理化学性质。目前正在对包括抗生素在内的一些治疗方法采取这些措施^[52]。另一种解决方案是利用合成化合物的能力,通过开发可解决细胞包膜渗透和外排挑战的传递系统来抑制基本的细菌靶点。与铁磷体结

合是这种“特洛伊木马”方法的一个例子,这种方法已经被探索研究过,但尚未被证明在临床上是有效的^[53]。进一步的解决方案是这些化合物与增强其运输或以其他方式帮助破坏细菌细胞的渗透屏障的分子结合。深入研究细菌细胞包膜和制定规则以指导潜在抗生素的合成,应能增强这类化合物穿透细胞和避免外排的能力。

抗生素研发的危机促使人们重新开始对天然产物进行研究。过去被遗弃的已知化学支架正在被重新审视,并取得了一些成功。例如,20 世纪 70 年代在霍赫斯特·马里恩·鲁塞尔发现的一种吸收不良的抗生素非达霉素,直到十年前肠道细菌艰难梭菌相关的感染开始上升时,才开始在临床上得到应用^[54]。根据基因组数据自动预测化合物结构和对化合物进行调控的能力正在迅速提高。利用合成生物学技术对产品进行操纵变得越来越普遍,这为开发生物活性化学空间提供了前所未有的机会。被称为微生物暗物质的病原菌在实验室中难以培养^[55],但诸如宏基因组学和使用专门的生长室等技术正在探索它们,以为抗生素药物确定新的化学物质^[56]和新的线索^[57]。

在过去几十年鉴定出的数千种天然产品抗生素中,只有少数被认真地作为药物进行了研究。我们在这篇综述中描述的例子表明,以耐药时代的临床需求为根本,重新审视一些旧的支架,并利用 21 世纪的新技术寻找新的支架,这将是富有成效的。

6 展 望

多重耐药的革兰氏阴性病原体感染的疾病,使临床治疗中对新抗生素药物的需求不断增加。这类问题必须得到解决人们才能继续享受抗菌药物的好处以及它们带来的生活质量的提高。过去 20 年的研究表明很难找到高效、安全又广谱的抗生素,并且在鉴定和开发新的抗生素药物方面仍存在很大挑战。虽然在黄金时代和药物化学时代抗生素治疗了很多疾病,但是在现阶段的耐药性时代,广谱抗生素的大量应用,出现了大量的耐药菌株和变异菌株,致使抗生素的选用越来越高级,用量越来越大,增加了患者的负担。

细菌感染的疾病应该结合基础研究,正如肿瘤学已逐渐被基础研究所改变。这就需要引起对引起疾病的微生物、它们的生物学以及它们与宿主的相互作用进行更多的研究。肿瘤学的治疗已经采用精准治疗模式,因此对细菌感染的治疗也应该采用精准的医学模式,这将使该领域的焦点从广谱药物转移到窄谱、针对特定疾病的抗生素。这类抗生素不仅对微生物产生较少的脱靶效应,而且可以降低进化所带来的耐药性压力。但是在临床上由于时间压力且缺乏灵敏又可靠的诊断剂,临床医生通常更倾向于使用广谱药物治疗感染疾病,这就造成了窄谱抗菌药的销量低下。想要改变这一现状,必须先提高感染诊断的准确性。

当然能够识别病原体及其耐药性的基因组测序和信息学工具的迅速发展,为诊断技术的改进以及窄谱抗生素的研发创造了必要条件。因此,未来的细菌感染会逐渐从有效的广谱经验性疗法转向新兴的窄谱抗菌药物的精准治疗。

参考文献

- [1] Comroe JRJH. Pay dirt: The story of streptomycin: Part II. Feldman and Hinshaw; Lehmann [J]. *Am Rev Respirat Dis*, 1978, 117(5): 957–968.
- [2] Ji Y, Shi Y, Wang L, *et al.* Sulfate radical-based oxidation of antibiotics sulfamethazine, sulfapyridine, sulfadiazine, sulfadimethoxine, and sulfachloropyridazine: Formation of SO₂ extrusion products and effects of natural organic matter [J]. *Sci Total Environ*, 2017, 593: 704–712.
- [3] Morin RB, Gorman M. (Eds.). *The biology of B-lactam antibiotics* [Z]. Elsevier, 2014.
- [4] Newman DJ. Antibiotics from natural sources [J]. *Antibiot Drug Resist*, 2019, 23: 311–341.
- [5] Bougas A, Vlachogiannis IA, Gatos D, *et al.* Dual effect of chloramphenicol peptides on ribosome inhibition [J]. *Amino Acids*, 2017, 49(5): 995–1004.
- [6] Olsufyeva EN, Yankovskaya VS. The main trends in the creation of semi-synthetic antibiotics of the new generation for 2004–2018 [J]. *Russ Chem Rev*, 2019, 89: 339–378.
- [7] El-Kady RAEH, El-Daker MAEM, Ali MA. The multi-drug resistance CFR gene: An evolving mechanism for linezolid resistance in *Staphylococcus aureus* [J]. *Egyptian J Med Microbiol*, 2017, 38(5792): 1–6.
- [8] Rosette C, Mazzetti A, Camerini R, *et al.* Rifamycin SV anti-inflammatory and immunomodulatory activities for treatment of mucosal and liver inflammation [J]. *J Infectiol*, 2019, 2(4): 18–24.
- [9] Yang W, Zhang M, Zhou J, *et al.* The molecular mechanisms of ciprofloxacin resistance in clinical *Campylobacter jejuni* and their genotyping characteristics in Beijing, China [J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2017, 14(7): 386–392.
- [10] Wright GD. The antibiotic resistome: The nexus of chemical and genetic diversity [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2007, 5(3): 175–186.
- [11] Perry JA, Westman EL, Wright GD. The antibiotic resistome: What's new? [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2014, 21: 45–50.
- [12] Nesme J, Simonet P. The soil resistome: A critical review on antibiotic resistance origins, ecology and dissemination potential in telluric bacteria [J]. *Environ Microbiol*, 2015, 17(4): 913–930.
- [13] Finley RL, Collignon P, Larsson DGJ, *et al.* The scourge of antibiotic resistance: The important role of the environment [J]. *Clin Infect Dis*, 2013, 57(5): 704–710.
- [14] D'Costa VM, King CE, Kalan L, *et al.* Antibiotic resistance is ancient [J]. *Nature*, 2011, 477(7365): 457–461.
- [15] Jiang X, Ellabaan MMH, Charusanti P, *et al.* Dissemination of antibiotic resistance genes from antibiotic producers to pathogens [J]. *Nat Communicat*, 2017, 8(1): 1–7.
- [16] Levin-Reisman I, Ronin I, Gefen O, *et al.* Antibiotic tolerance facilitates the evolution of resistance [J]. *Science*, 2017, 355(6327): 826–830.
- [17] Yelin I, Kishony R. Antibiotic resistance [J]. *Cell*, 2018, 172(5): 1136–1136.
- [18] Khameneh B, Diab R, Ghazvini K, *et al.* Breakthroughs in bacterial resistance mechanisms and the potential ways to combat them [J]. *Microbial Pathog*, 2016, 95: 32–42.
- [19] Abraham EP, Chain E. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin [J]. *Nature*, 1940, 146(3713): 837.
- [20] Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2010, 74(3): 417–433.
- [21] Fischbach MA, Walsh CT. Antibiotics for emerging pathogens [J]. *Science*, 2009, 325(5944): 1089–1093.
- [22] Lewis K. Antibiotics: Recover the lost art of drug discovery [J]. *Nature*, 2012, 485(7399): 439–440.
- [23] Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, *et al.* Discovery, research, and development of new antibiotics: The WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis [J]. *Lancet Infect Dis*, 2018, 18(3): 318–327.
- [24] Epand RM, Walker C, Epand RF, *et al.* Molecular mechanisms of membrane targeting antibiotics [J]. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Biomemb*, 2016, 1858(5): 980–987.
- [25] Bush K, Page MG. What we may expect from novel antibacterial agents in the pipeline with respect to resistance and pharmacodynamic principles [J]. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*, 2017, 44(2): 113–132.
- [26] Cho H, Uehara T, Bernhardt TG. Beta-lactam antibiotics induce a lethal malfunctioning of the bacterial cell wall synthesis machinery [J]. *Cell*, 2014, 159(6): 1300–1311.
- [27] Macarron R, Banks MN, Bojanic D, *et al.* Impact of high-throughput screening in biomedical research [J]. *Nat Rev Drug Discovery*, 2011, 10(3): 188.
- [28] Fleischmann RD, Adams MD, White O, *et al.* Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd [J]. *Science*, 1995, 269(5223): 496–512.
- [29] Kobayashi K, Ehrlich SD, Albertini A, *et al.* Essential *Bacillus subtilis* genes [J]. *Proceed Nat Academy Sci*, 2003, 100(8): 4678–4683.
- [30] Baba T, Ara T, Hasegawa M, *et al.* Construction of *Escherichia coli* K-12 in-frame, single-gene knockout mutants: The Keio collection [J]. *Mol Syst Biol*, 2006, 2(1): 8.
- [31] Matsuo M, Hiramatsu M, Singh M, *et al.* Genetic and transcriptomic analyses of ciprofloxacin-tolerant *Staphylococcus aureus* isolated by the Replica Plating Tolerance Isolation System (REPTIS) [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, 63(2): e02019–18.
- [32] Pang Z, Raudonis R, Glick BR, *et al.* Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Mechanisms and alternative therapeutic strategies [J]. *Biotechnol Adv*, 2019, 37(1): 177–192.
- [33] Waman VP, Vedithi SC, Thomas SE, *et al.* Mycobacterial genomics and structural bioinformatics: Opportunities and challenges in drug discovery [J]. *Emerg Microb Infect*, 2019, 8(1): 109–118.
- [34] Payne DJ, Gwynn MN, Holmes DJ, *et al.* Drugs for bad bugs: Confronting the challenges of antibacterial discovery [J]. *Nat Rev Drug Discovery*, 2007, 6(1): 29.
- [35] Nichols RJ, Sen S, Choo YJ, *et al.* Phenotypic landscape of a bacterial cell [J]. *Cell*, 2011, 144: 143–156.
- [36] Turner KH, Wessel AK, Palmer GC, *et al.* Essential genome of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis sputum [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 4110–4115.

- [37] Fahnoe KC, Flanagan ME, Glenn G, *et al.* Non-traditional antibacterial screening approaches for the identification of novel inhibitors of the glyoxylate shunt in Gram-negative pathogens [J]. PLoS One, 2012, 7(12): e51732.
- [38] Zlitni S, Ferruccio LF, Brown ED. Metabolic suppression identifies new antibacterial inhibitors under nutrient limitation [J]. Nat Chem Biol, 2013, 9: 796–804.
- [39] Starkey M, Lepine F, Maura D, *et al.* Identification of anti-virulence compounds that disrupt quorum-sensing regulated acute and persistent pathogenicity [J]. PLoS Pathogens, 2014, 10(8): e1004321.
- [40] Pethe K, Bifani P, Jang J, *et al.* Discovery of Q203, a potent clinical candidate for the treatment of tuberculosis [J]. Nat Med, 2013, 19: 1157–1160.
- [41] Ho Y, Gruhler A, Heilbut A, *et al.* Systematic identification of protein complexes in *Saccharomyces cerevisiae* by mass spectrometry [J]. Nature, 2002, 415(6868): 180.
- [42] Butland G, Peregrin-Alvarez JM, Li J, *et al.* Interaction network containing conserved and essential protein complexes in *Escherichia coli* [J]. Nature, 2005, 433(7025): 531.
- [43] Babu M, Díaz-Mejía JJ, Vlasblom J, *et al.* Genetic interaction maps in *Escherichia coli* reveal functional crosstalk among cell envelope biogenesis pathways [J]. PLoS Genet, 2011, 7(11): e1002377.
- [44] Farha MA, Leung A, Sewell EW, *et al.* Inhibition of WTA synthesis blocks the cooperative action of PBPs and sensitizes MRSA to β -lactams [J]. ACS Chem Biol, 2012, 8(1): 226–233.
- [45] Farha MA, Czarny TL, Myers CL, *et al.* Antagonism screen for inhibitors of bacterial cell wall biogenesis uncovers an inhibitor of undecaprenyl diphosphate synthase [J]. Proc Nat Acad Sci, 2015, 112(35): 11048–11053.
- [46] Liu A, Tran L, Becket E, *et al.* Antibiotic sensitivity profiles determined with an *Escherichia coli* gene knockout collection: Generating an antibiotic bar code [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(4): 1393–1403.
- [47] Dwyer DJ, Belenky PA, Yang JH, *et al.* Antibiotics induce redox-related physiological alterations as part of their lethality [J]. Proc Nat Acad Sci, 2014, 111(20): E2100–E2109.
- [48] Taylor PL, Rossi L, De Pascale G, *et al.* A forward chemical screen identifies antibiotic adjuvants in *Escherichia coli* [J]. ACS Chem Biol, 2012, 7: 1547–1555.
- [49] King AM, Reid-Yu SA, Wang W, *et al.* Aspergillomarasmine A overcomes metallo- β -lactamase antibiotic resistance [J]. Nature, 2014, 510(7506): 503–506.
- [50] Borisy AA, Elliott PJ, Hurst NW, *et al.* Systematic discovery of multicomponent therapeutics [J]. Proc Nat Acad Sci, 2003, 100(13): 7977–7982.
- [51] Ejim L, Farha MA, Falconer SB, *et al.* Combinations of antibiotics and nonantibiotic drugs enhance antimicrobial efficacy [J]. Nat Chem Biol, 2011, 7(6): 348–350.
- [52] Kim J, Kim H, Park SB. Privileged structures: efficient chemical ‘navigators’ toward unexplored biologically relevant chemical spaces [J]. J Am Chem Soc, 2014, 136: 14629–14638.
- [53] Han S, Zaniewski RP, Marr ES. Structural basis for effectiveness of siderophore-conjugated monocarbams against clinically relevant strains of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107: 22002–22007.
- [54] Gerber M, Ackermann G. OPT-80, a macrocyclic antimicrobial agent for the treatment of *Clostridium difficile* infections: A review [J]. Expert Opin Invest Drugs, 2008, 17: 547–553.
- [55] Lok C. Mining the microbial dark matter [J]. Nature, 2015, 522: 270–273.
- [56] Wilson MC, Mori T, Rückert C, *et al.* An environmental bacterial taxon with a large and distinct metabolic repertoire [J]. Nature, 2014, 506(7486): 58–62.
- [57] Ling LL, Schneider T, Peoples AJ *et al.* A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance [J]. Nature, 2015, 517(7535): 455–459.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介

王旭阳, 主要研究方向为微生物代谢产物分离及鉴定的研究。
E-mail: 3088203807@qq.com

龚国利, 博士, 教授, 主要研究方向为微生物代谢产物分离及鉴定的研究。
E-mail: guoligong@sust.edu.cn