DOI:10.20176/j.cnki.nxdz.20260707

金属β-内酰胺酶及其抑制剂的研究进展

童 谣[1], 薛津晶[2,3], 王 恒[1], 田丽芝[2,3], 周永林[2,3], 王建锋[1*]

(1.吉林大学 动物医学学院,吉林 长春 130062;
2.宁夏大学 西部特色生物资源保护与利用教育部重点实验室,宁夏 银川 750021;
3.宁夏大学 生命科学学院,宁夏 银川 750021)

摘 要:金属β-内酰胺酶(MBLs)可介导革兰阴性菌对碳青霉烯类抗生素耐药,其全球广泛传播严重威胁临床抗感染治疗,目前尚无获批临床应用的MBLs抑制剂,新型抑制剂研发具有迫切的现实需求。论文系统归纳MBLs的分型、各亚型的结构特征及催化机制,基于MBLs活性位点层级结构,结合抑制剂不同作用模式,全面梳理现有MBLs抑制剂的研究进展,厘清了抑制剂从单一靶向催化核心位点,到双功能、广谱型抑制剂的迭代发展脉络。研究表明,基于MBLs结构特征的靶向设计是研发高效、高特异性抑制剂的核心思路,靶向酶活性中心、关键氨基酸残基共价修饰和特定区域别构与结构调控的多元化抑制策略,为破解细菌耐药难题提供了全新研究方向。同时指出,未来需深入解析MBLs结构与功能的关联机制,结合新型研发技术突破现有研发瓶颈,加速高效MBLs抑制剂的临床转化。旨在为新型MBLs靶向抑制剂的研发提供系统的理论参考,也为临床多重耐药菌感染的治疗提供科学依据。

关键词:金属β-内酰胺酶;抑制剂;结构修饰;耐药性
分类号:(中图)R914;Q55 **文献标志码:**A

自1928年弗莱明发现青霉素至今,抗生素为临床细菌感染治疗作出了巨大贡献,有力保障了人类的生命和健康。然而,抗生素的不合理使用,已造成严重的细菌耐药性问题,临床病原菌感染面临无药可医的困境。畜牧、水产养殖业将抗生素大量用作饲料添加剂,持续加剧该类药物对人体与生态环境的负面影响[1]。β-内酰胺类抗生素自问世以来应用最为广泛,其中碳青霉烯类药物具有广谱抗菌活性和较低的毒副作用,是临床救治多重耐药菌感染的“最后一道防线”。但细菌耐药性持续加剧、耐药机制不断演变,借助β-内酰胺酶水解或修饰抗菌药物,已成为细菌最主要的耐药方式[2]。依据β-内酰胺酶的结构和功能特征,采用Ambler分类体系可将其分为A、B、C和D四类。其中,A、C、D类为丝氨酸β-内酰胺酶(serine-β-lactamases,SBLs),其活性位点含丝氨酸残基,可通过亲核攻击水解β-内酰胺环[3-4]。B类则为金属β-内酰胺酶(metallo-β-lactamases,MBLs),依赖活性中心的锌离子催化水解反应,可水解除单环内酰胺类外几乎所有β-内酰胺类抗生素[5-6]。MBLs介导的β-内酰胺类药物耐药是最受关注的耐药机制之一,产MBLs的革兰阴性菌引发的感染已演变为全球性公共卫生难题。该类产MBLs细菌通常呈多重耐药表型,现阶段临床用于治疗产MBLs革兰阴性菌感染的抗菌药物选择非常有限,相关感染患者的发病率和死亡率持续攀升。针对MBLs抑制剂的研发虽已有多种候选分子见诸报道,但均停留在实验室研究阶段,现阶段尚无获批上市、可应用于临床的MBLs抑制剂[7-8]。

基于以上背景,论文以金属β-内酰胺酶、碳青霉烯类、NDM-1、酶抑制剂和空间构象为检索关键词,在中国知网、万方、维普、PubMed和Web of Science数据库中检索近十年相关文献,限定发表

收稿日期:2026-03-02
基金项目:宁夏自然科学基金资助项目(2025AAC050040);国家自然科学基金资助项目(32560874);宁夏青年科技托举人才培养项目
作者简介:童谣(2004—),女,硕士研究生,主要从事细菌耐药性防控研究,(电子信箱)17863573233@163.com。
*通信联系人:王建锋(1987—),男,教授,博士,主要从事兽医药理学与毒理学研究,(电子信箱)wjf927@126.com。
引用格式:童谣,薛津晶,王恒,等.金属β-内酰胺酶及其抑制剂的研究进展[J].宁夏大学学报(自然科学版中英文),2026,47(4):338-355.

语言为中文或英文，文献检索不限制发表区域。手工追溯参考文献以补充资料，剔除重复文献与低质量个案报道后，整合近年基础与药理研究成果进行综述分析。首先，概述MBLs的分类、各亚型的结构特征与催化机制；其次，基于MBLs结构特征，按照药物靶向活性中心、活性口袋氨基酸残基、别构调控方式的层级结构，对目前所研发的新型金属β-内酰胺酶抑制剂进行阐述，为后续高效MBLs抑制剂的研发提供理论基础。

1　金属β-内酰胺酶概述

MBLs可由染色体或质粒基因编码，是一个包含30 000余种蛋白成员的超家族，兼具酶活性与非酶活性，目前已报道的生物学功能至少达13种。该家族蛋白广泛存在于各类生物，人类体内亦有分布。MBLs的底物谱相对来说较为广泛，几乎可水解全部β-内酰胺类抗生素[9]。X射线晶体衍射数据证实，所有MBLs均具有保守折叠结构，核心为αβ/βα夹层骨架：该骨架包含两条中心β折叠片，外侧环绕5个暴露于溶剂环境的α螺旋（图1）[10-11]。该蛋白拓扑结构最早在蜡样芽孢杆菌来源的金属β-内酰胺酶BcⅡ晶体结构中完成解析[12-13]。酶活性中心位于两个αβ结构域之间的浅沟槽，外周由多条Loop环状序列包裹[14]。

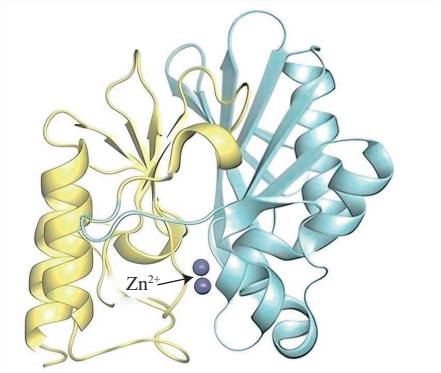


图1　金属β-内酰胺酶的结构（NDM-1，αβ和βα夹层支架分别以黄色和青色表示，两个锌离子以球体表示）[15]

Fig. 1　Structure of a metallo-β-lactamase (NDM-1). The αβ and βα interlayer scaffolds are shown in yellow and cyan, respectively, and the two zinc ions are shown as spheres))[15]

1.1　金属β-内酰胺酶的分类

依据活性位点氨基酸序列、锌离子配体、环结构及底物谱的差异，MBLs可分为B1、B2、B3三个亚类[16]。

B1亚类MBLs是目前已知规模最大、研究最为深入的MBLs家族，包含大量可经质粒介导、具备水平转移能力的临床主流MBLs亚型。其中，致病性强、流行范围广的典型亚型主要包括新德里金属β-内酰胺酶家族（NDMs）、维罗纳整合子编码金属β-内酰胺酶家族（VIMs）及亚胺培南酶家族（IMPs）[17]。IMP-1于20世纪90年代由日本学者首次报道，分离自临床铜绿假单胞菌与粘质沙雷氏菌菌株[18]，目前该家族已鉴定出85种以上突变体[19]。VIM-1于1997年在铜绿假单胞菌中被发现，截至目前已发现69种突变体[19-20]。NDMs家族是肠杆菌科细菌与鲍曼不动杆菌中最常见、危害最严重的MBLs亚型。该家族首个亚型NDM-1于2008年从一名印度新德里赴瑞典就诊患者的病原菌中检出[21]。由于NDMs家族基因传播速度快、菌株耐药能力强，自发现以来便受到全球科研领域及公共卫生领域的高度重视[22]。携带NDM-1的病原菌通常具有广谱耐药特征，可水解青霉素类、头孢菌素类及碳青霉烯类抗生素，同时对利福平、喹诺酮类、磺胺类及氨基糖苷类药物存在交叉耐药性[23]。除质粒介导的流行亚型外，B1亚类还包含多种天然染色体编码酶，如炭疽芽孢杆菌Bla2[24]、产吲哚金黄杆菌IND型[25]、约氏黄杆菌JOHN-1型[26]等。

B2亚类MBLs是由Rossolini团队首次报道的小众MBLs亚类，与其他B类β-内酰胺酶存在显著结构与功能差异。该亚类属于严格型碳青霉烯酶，仅在活性位点结合单个锌离子时方可发挥催化活性，且与底物的结合亲和力更高[27]。B2亚类各成员氨基酸序列同源性较高，全部由细菌染色体编码。由于其宿主多为环境菌株，并非人体主要致病菌，目前该亚类暂无显著的临床致病意义。但近年来，临床分离的携带CphA、且对碳青霉烯类耐药的气单胞菌菌株数量呈逐年上升趋势，潜在临床风险不容忽视[28]。

B3亚类MBLs的序列分化程度显著高于B1、B2亚类，家族成员间的序列一致性更低。该亚类绝大多数为染色体编码型金属β-内酰胺酶，典型亚型包括嗜麦芽窄食单胞菌来源的L1酶[29]、脑膜脓毒伊丽莎白菌来源的GOB酶[30]、慢生根瘤菌属来源的BJP酶[31]、黑胫果胶杆菌来源的CAR-1酶[32]等。与B1亚类相似，多数B3亚类MBLs具有广谱底物谱，可水解青霉素类、头孢菌素类及碳青霉烯类抗生素，但该亚类存在功能特例。已有研究证实，CAR-1酶仅可水解青霉素类与头孢菌素类抗生素，对碳青霉烯类药物几乎无水解活性[32]。

1.2 不同金属β-内酰胺酶结构特征

从结构特征来看,MBLs的3种亚类B1、B2、B3均存在典型的αβ/βα"三明治"折叠结构(图2)。各亚型在两个β折叠区间均存在高度保守的结合口袋,但口袋的形态与尺寸在不同亚型间存在明显差异,可显著影响抑制剂与蛋白的结合效率[33]。MBLs活性中心含有1~2个锌离子,锌离子通过特异性锌结合配体残基固定于活性中心,在底物识别、结合及催化过程中发挥关键作用,且每个二价锌离子均以特异性方式调控MBLs的催化活性[34-35]。B1与B3亚类MBLs拥有浅型活性位点槽,槽体两侧分布柔性环结构;而B2亚类MBLs的活性中心空间位阻更大、可及性更低,其两侧以螺旋结构为主。尽管各MBLs亚型分属不同亚类、序列同源性较低,但整体空间结构具有高度保守性。

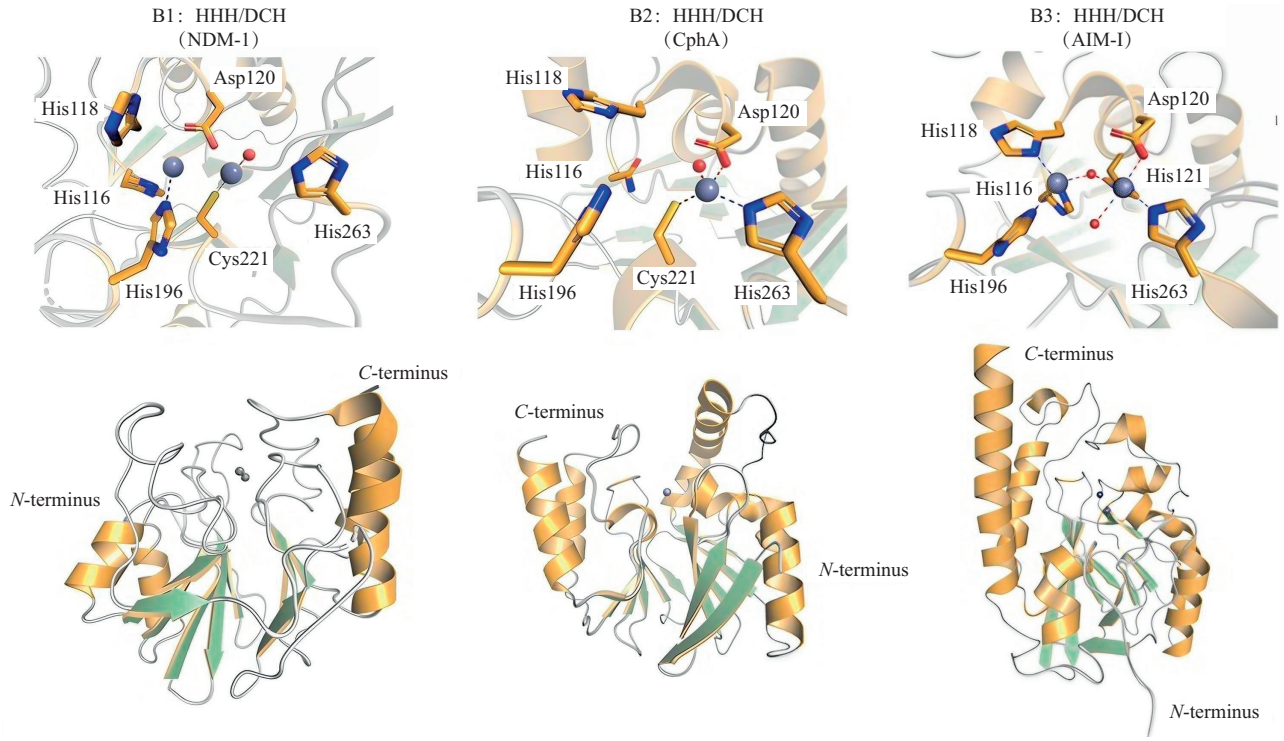


图2 金属β-内酰胺酶B1(NDM-1)、B2(CphA)和B3(AIM-1)三个亚型的活性位点及整体结构视图[36]

Fig. 2 Active sites and overall structures of three metallo-β-lactamase subtypes: B1 (NDM-1), B2 (CphA), and B3 (AIM-1)[36]

B1亚类MBLs的N端结构域存在一段特殊环区,可与带有疏水侧链的底物及抑制剂分子发生相互作用。该环区在酶天然构象状态下具有极强的结构柔性[37]。当底物或抑制剂扩散进入活性中心后,该环区会发生构象移位,将底物或抑制剂分子锁定在活性中心内部。双锌离子位点是B1型MBLs发挥催化功能的关键结构,其中第一个锌离子与His116、His118、His119及水分子结合,形成四面体配位结构;第二个锌离子则通过两端保守残基Asp、Cys、His及水分子固定,形成三角双锥形配位结构[38-40]。B2亚类MBLs为小众酶类,仅含单一锌离子结合位点。该亚类最具代表性的CphA金属β-内酰胺酶拥有一段紧邻活性中心沟槽的延长α3螺旋,该螺旋在第150位色氨酸处发生弯折,使α3螺旋贴合蛋白表面的弯曲轮廓并形成疏水界面,参与碳青霉烯类底物的结合。这一特殊结构使CphA形成高度规整的活性中心,也是其底物谱极窄的核心原因[41]。B3亚类MBLs与B1、B2亚类同源性较低,且锌离子结合位点缺失Cys221残基。现有研究表明,B3亚类多数成员的两个锌离子位点拥有完全不同的锌结合配体,且各类配体均为催化功能必需位点,任意氨基酸残基突变均会显著降低酶的催化效率与金属离子结合亲和力,提示了B3亚类的活性中心结构具有更高的多样性[42]。

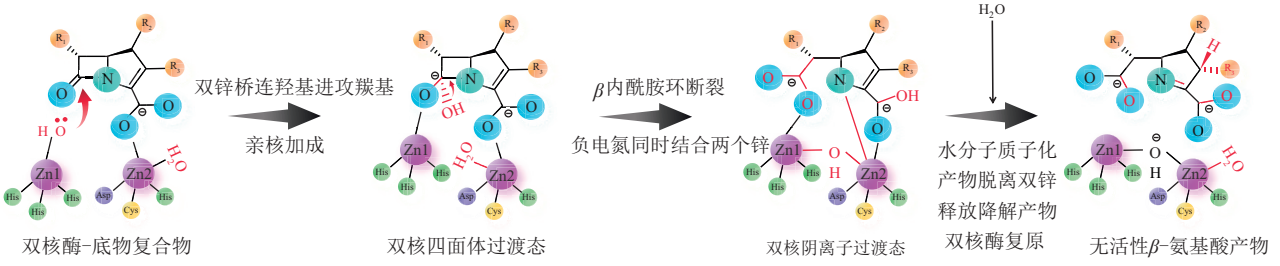
值得注意的是,拥有双锌离子结构的B1、B3亚类MBLs具备独特的活性中心特征,两个锌离子通过单个水分子完成桥接。该特殊结构赋予催化中心良好的构象灵活性,可适配并容纳多种结构迥异的底物。与其他双核金属酶相比,B1、B3亚类两个

锌离子的间距更长，进一步提升了酶的结构柔性，有效增强了其底物适配能力[43-44]。

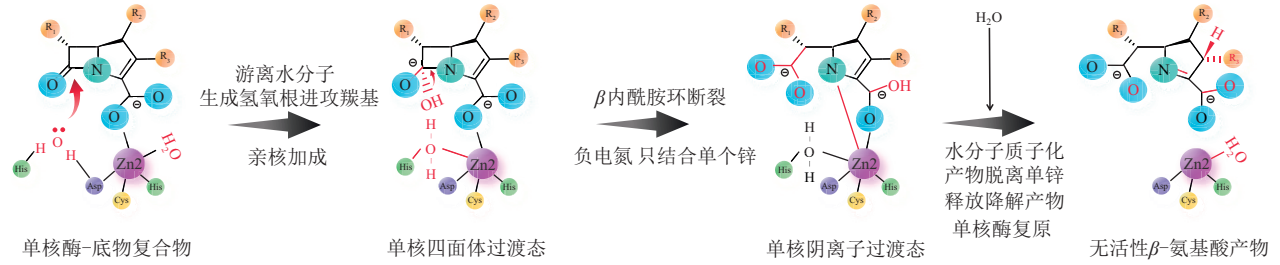
1.3　金属β-内酰胺酶催化机制

锌离子对MBLs的底物结合能力与催化活性至关重要[45]。B1与B3亚类金属β-内酰胺酶的Zn1核心配位残基高度保守，但二者Zn2位点配位模式存在关键差异；B1亚型Zn2配位依赖保守半胱氨酸Cys残基，该位点在B3亚型中被组氨酸His残基取代，致使两类酶Zn2金属中心的电子环境、金属结合稳定性及催化活性出现显著分化[46]。与之不同，B2亚型酶仅结合单个锌离子，其功能与B1亚型的Zn2位点相近[47]。同时，B1、B3亚型中高度保守的His116残基，在B2亚型中被Asp残基取代。功能层面，B2亚型酶可高效水解碳青霉烯类抗生素，但对青霉素类与头孢菌素类抗生素的水解活性极弱[46]。

MBLs各亚型不仅存在结构相似性，还拥有相近的催化途径，具备重叠的底物谱及保守的“四面体”催化中间态。研究表明，MBLs的酶解过程主要包含两个核心步骤：氢氧根离子对羰基碳原子的亲核进攻，以及酰胺氮的质子化[47-48]。以MBLs水解碳青霉烯类抗生素的过程为例（图3），底物首先进入酶的结合口袋，在锌离子及周边氨基酸残基的静电吸引作用下靠近催化活性中心；锌离子可降低水分子的解离常数，促进氢氧根离子生成并启动亲核攻击[49]。随后，锌离子通过氢键作用激活水分子，使其解离为带负电的氢氧根离子，进而攻击β-内酰胺环上的羰基sp2碳原子，形成sp3四面体过渡态；后续C—N键断裂并生成阴离子中间体，最终分解为无活性的β-氨基酸产物[50]。碳青霉烯水解过程中产生的中间体是MBLs催化反应的关键，可通过与锌离子的强静电相互作用维持结构稳定。B2亚型酶的催化机制与B1、B3亚型整体相似，可形成同源四面体中间体，但其中间体仅依靠锌离子的催化作用生成，且参与配位的配体残基存在差异[51]。



(a) B1亚类MBLs水解碳青霉烯类机制



(b) B2亚类MBLs水解碳青霉烯类机制

图 3　不同亚类MBLs水解碳青霉烯类机制[52]

Fig. 3　Mechanisms of carbapenem hydrolysis by different subtypes of MBLs[52]

2　金属β-内酰胺酶的耐药传播机制

目前，MBLs已呈现全球扩散、院内持续暴发的流行态势，其核心原因在于MBLs耐药基因定位于可移动遗传元件上。该特征使耐药基因可发生水平基因转移，进而实现跨菌株、跨菌种的广泛传播。此外，高风险克隆菌株的持续扩散及多重耐药基因的连锁传播，进一步加剧了耐药传播形势，给临床抗感染治疗带来极大挑战[53-54]。

2.1　金属β-内酰胺酶耐药基因水平传播

编码金属β-内酰胺酶（MBLs）的耐药基因具备高效水平传播能力，可在革兰阴性菌不同菌株、菌种乃至菌属间广泛扩散；质粒、转座子、整合子等可移动遗传元件（MGEs）是介导该过程的核心载体[53]，绝大多数MBL耐药基因，例如bla_{NDM}、bla_{VIM}、bla_{IMP}等均定位于此类元件上。目前，这类耐药基因

已在肠杆菌目细菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌等多种重要临床病原菌中广泛传播,且临床检出率逐年攀升。国内监测数据显示,部分地区碳青霉烯耐药大肠埃希菌中MBLs阳性占比已超过78%[55]。不同类型MBLs耐药基因的核心载体具有高度特异性,使得各类耐药基因的传播能力存在一定差异。其中,Tn125转座子是MBLs耐药基因的核心传播载体,IncX3、IncFII等广谱接合质粒可稳定插入该转座子结构中。这类质粒兼具接合转移效率高、遗传稳定性强、宿主范围广的特点,相关研究证实其可在不同肠杆菌菌种间完成耐药基因的转移传播[53,56]。多数MBLs耐药基因可通过嵌入Tn1403等复合型转座子,整合至Ⅰ类整合子结构中,例如可借助铜绿假单胞菌特异性IncP2巨型质粒实现院内传播。已有研究证实,这类质粒可长期定植于医院环境菌株与临床菌株中,造成医院环境内耐药基因负荷持续升高、耐药传播态势不断加剧[55]。

除接合转移、转座、整合等经典传播机制外,现有研究证实,细菌外膜囊泡(OMVs)可介导MBLs耐药基因以非接合方式完成跨物种转移[57]。临床抗生素的大量滥用,会促使细菌将完整的耐药质粒及耐药基因片段包裹于细菌外膜囊泡中,进而在不同革兰阴性菌之间完成基因交换。这一机制不仅解释了无接合质粒菌株出现MBLs耐药表型的成因,也进一步完善了MBLs耐药基因的传播调控体系。

2.2 高致病克隆株传播与MBLs院内感染暴发特征

高风险克隆菌株的基因水平转移引发的院内定植与交叉传播,是导致MBLs感染聚集性暴发的核心诱因[58]。多项临床流行病学研究针对MBLs展开探究,证实临床上存在多种携带MBLs耐药基因的高致病优势克隆株,其中以肺炎克雷伯菌ST11型、铜绿假单胞菌ST235/ST111型最为典型。这类克隆株兼具良好的菌株稳定性与稳定的毒力特征,使得MBLs耐药基因可长期定植于人体呼吸道、肠道及医院各类环境表面,在复杂的院内环境中持续留存[59]。耐药基因可通过医患接触、人境接触、侵入性诊疗操作等多种院内传播途径发生交叉扩散,最终造成院内耐药菌感染的持续性暴发乃至流行[60]。大量临床研究证实,产MBLs病原菌感染会直接延长患者住院时长、提升重症监护室入住率,并显著增高患者全因病死率。世界卫生组织已将碳青霉烯耐药革兰阴性菌列为最高优先级的关键耐药病原体,其临床防控与新型治疗手段的研发需求极为迫切[60]。

2.3 多重耐药协同机制

目前全球广泛传播的MBLs耐药质粒已普遍呈现多重耐药特征,携带MBLs耐药基因的质粒往往可同时携带超广谱β-内酰胺酶(ESBLs)、氨基糖苷修饰酶、喹诺酮耐药基因等多种耐药元件。这种多重耐药元件共携带的特性,使细菌仅通过单次基因水平转移即可获得对多类抗生素的耐药能力,进而形成广泛耐药(XDR)甚至泛耐药(PDR)表型,大幅提升临床抗感染治疗难度[60]。与此同时,临床抗生素的不规范使用、滥用及不合理应用问题突出,在持续的抗生素选择压力下,MBLs耐药基因传播过程中不断筛选出稳定性更强的优势菌株,进一步加剧了MBLs介导的细菌多重耐药困境[61]。

MBLs的快速传播与持续进化,不断削弱碳青霉烯类抗生素作为临床多重耐药菌感染治疗“最后一道防线”的应用价值。MBLs以活性中心锌离子为催化核心,可高效水解青霉素类、头孢菌素类、碳青霉烯类等几乎所有临床常用β-内酰胺类抗菌药物;更为棘手的是,目前临床获批上市的所有丝氨酸β-内酰胺酶(SBLs)抑制剂均无法抑制MBLs的酶活性,导致产MBLs病原菌感染缺乏有效的临床治疗方案,成为当前细菌性感染治疗领域最严峻的挑战之一[55,62]。日益严峻的耐药传播态势与尚未被满足的临床治疗需求,是推动高效、安全型MBLs抑制剂研发的核心动力。而基于结构修饰开展酶抑制剂相关研究,能够为新型MBLs抑制剂的研发方向与设计策略提供重要参考。

3 代表性金属β-内酰胺酶抑制剂

当前金属β-内酰胺酶仍处于广泛传播态势,学界持续研发多种新型β-内酰胺酶抑制剂。论文依据金属β-内酰胺酶的分子空间结构层级,结合抑制剂与酶结合位点的差异,将金属β-内酰胺酶抑制剂划分为3类,并依照抑制剂分别作用于催化核心层、活性口袋层、非活性外围层的顺序展开综述;同时归纳各类代表性抑制剂的作用机制、作用范围与靶点、抗菌活性、优缺点(表1)。

表 1　代表性金属 β-内酰胺酶抑制剂

Tab. 1　Representative metallo-β-lactamase inhibitors

化合物名称/类别	作用机制	作用范围/靶点	抗菌活性	优势	劣势	参考文献
N-芳巯基乙酰胺衍生物	靶向活性中心锌离子配位结合，形成抑制剂-锌-酶三元复合物，阻断底物结合	广谱覆盖B1、B2、B3三类亚类	微摩尔级酶抑制活性；联合美罗培南可显著恢复耐碳青霉烯革兰阴性菌对抗生素的敏感性	广谱覆盖3类MBLs亚型，作用机制明确	部分化合物革兰阴性菌外膜穿透性有限，体内药代数据不足	[63]
氟化 *D*-卡托普利类似物	靶向活性中心锌离子配位结合，氟修饰优化结合构象与膜通透性	NDM-1 VIM-2 IMP-26	对NDM-1的 IC_{50} 为6.1 μmol/L；在500 μmol/L给药浓度下联合美罗培南，可使产VIM-2、IMP-26的大肠杆菌的MIC降低为原值的1/8	氟修饰提升化合物稳定性与膜穿透性，可辅助解析蛋白结合构象	抑制活性仍有提升空间，体内药效未验证	[64]
ANT2681	羧酸基团与活性中心锌离子配位，形成稳定三元复合物抑制酶活性	NDM（主要针对产NDM肠杆菌科）	体外强效抑制NDM酶活性；联合美罗培南可显著降低产NDM肠杆菌MIC值；体内感染模型中展现良好协同抗菌效果	体内外活性均衡，成药性评价完整	对VIM、IMP等其他B1亚型覆盖能力有限	[65]
他尼硼巴坦	双重抑制机制，对SBLs通过与催化丝氨酸共价结合；对MBLs通过与活性中心锌离子配位形成三元复合物	NDM VIM IMP A、C、D类SBLs	可显著恢复头孢吡肟对MBLs阳性菌的体内外抗菌活性；小鼠肺部感染、尿路感染模型中均展现明确药效	超广谱覆盖丝氨酸酶与金属酶，体内药效明确，临床转化进度快	对部分罕见MBLs突变体活性有待验证	[66]
QPX7728	双重抑制机制，硼酸基团与MBLs锌离子配位、与SBLs催化丝氨酸共价结合，同时抑制两类酶	A、C、D类SBLs B1、B2、B3三类亚类	8 μg/mL浓度联合美罗培南，可使耐药肺炎克雷伯菌MIC降低不小于256倍；小鼠大腿感染模型中联用可使细菌载量降低大于1 $\log_{10}$ CFU	抑制谱极广，对多类MBL亚型均有效，体内活性优异	临床安全性数据仍在积累	[67]
α-氨基膦酸酯类衍生物系列	靶向活性中心锌离子配位结合，竞争性抑制底物水解	NDM-1 VIM-2	对NDM-1和VIM-2均具有微摩尔级抑制活性，构效关系明确	膦酸骨架化学稳定性好，可作为新型螯合母核拓展	体内活性与系统毒性数据缺失	[68]
2-氨基噻唑-4-羧酸类MBL抑制剂系列化合物	羧酸基团与活性位点锌离子配位，侧链与锚定残基形成静电相互作用，广谱覆盖B1、B2、B3三类亚型	B1、B2、B3三类亚类（主要NDM-1）	优衍生物联合美罗培南可显著降低产NDM-1菌株MIC值；解析了抑制剂-酶复合物晶体结构，明确原子水平结合模式	广谱覆盖3类MBL亚型，结构机制研究深入，为国内原创母核	体内药代与成药性评价仍待完善	[69]
依布硒啉硒杂环衍生物	可逆共价螯合MBLs活性中心锌离子，同时共价修饰NDM-1关键半胱氨酸残基，属于“金属螯合＋蛋白共价修饰”双重抑制机制	NDM-1	对产NDM-1菌株具备显著抗菌增敏活性；酶抑制 IC_{50} 达低微摩尔级；与碳青霉烯类抗生素联用可大幅降低菌株MIC值	母核依布硒啉具备良好生物安全性基础，双重抑制机制协同增效，天然骨架易合成，与碳青霉烯联用效果显著	母核存在一定细胞氧化毒性，部分衍生物水溶性较差，仅完成体外细菌实验，缺乏动物体内药效数据	[70]

续表

化合物名称/类别	作用机制	作用范围/靶点	抗菌活性	优势	劣势	参考文献
双硫仑	双功能机制:①硫醇基团螯合活性中心锌离子;②代谢产生活性二硫化物与NDM/VIM酶的半胱氨酸残基发生共价结合	NDM VIM	联合美罗培南可逆转产NDM/VIM肠杆菌的碳青霉烯耐药性,显著降低细菌MIC	安全性、药代动力学数据完善,双重抑制机制,成本低易获取	体内代谢速度快,单独使用无抗菌活性,必须联用β-内酰胺类药物;脱靶螯合人体金属酶存在潜在副作用。	[71]
3-溴丙酮酸	可逆共价修饰NDM-1活性口袋的赖氨酸/半胱氨酸残基,同时弱竞争结合锌离子结合位点,属于可逆共价抑制	NDM-1	IC_{50}低至亚微摩尔级;与碳青霉烯联用显著下调产NDM-1菌株的MIC值	可逆共价结合,相比不可逆共价抑制剂脱靶毒性风险更低,小分子易穿透细菌外膜	自身会干扰哺乳动物细胞糖酵解通路,存在细胞代谢毒性,体内选择性差	[72]
顺铂	铂/钯金属中心与MBL锌结合位点竞争置换锌离子,同时金属配体与酶氨基酸残基形成配位共价键,属于“金属置换+配位共价”双重抑制	NDM VIM IMP	低微摩尔级抑制全部主流B1 MBLs;联用美罗培南可显著恢复对CRE菌株的杀菌活性	广谱覆盖多种临床高风险MBL亚型,金属配位结合作用力强	存在严重人体细胞毒性、肾毒性,钯配合物体内稳定性差,抗癌药物用于抗感染的治疗窗口极窄	[73]
APC24-7	分子整合硼酸弹头(共价靶向丝氨酸酶)与金属螯合基团,双模式同时抑制SBLs+ MBLs,属于“共价抑制+锌螯合”双重机制	NDM A、C类SBLs	有效恢复多种β-内酰胺类抗生素对产MBL耐药菌的抑菌效力,具备广谱耐药酶抑制能力	同时覆盖丝氨酸酶与金属β-内酰胺酶,可应对临床双重产酶耐药菌株,双功能杂合骨架创新性强	相对分子质量大,细菌膜穿透能力有待优化,仅完成体外微生物学验证,体内药代性质未知	[74]
色酮-3-甲醛天然产物修饰衍生物	醛基作为亲电弹头与NDM-1赖氨酸残基形成可逆共价亚胺键,同时杂环氧原子螯合活性中心锌离子,属于“共价修饰+金属螯合”协同抑制	NDM-1	较低微摩尔级酶抑制IC_{50},与碳青霉烯联用具有协同抑菌效果,显著降低产NDM-1耐药菌的MIC	天然产物母核,生物相容性好、来源广泛、合成简便,可逆共价带来的毒性风险更低,双重协同机制增效	天然色酮衍生物普遍水溶性不足,仅验证了NDM-1单一靶点,缺少VIM/IMP亚型活性数据	[75]
骆驼来源纳米抗体	靶向结合NDM-1酶的表面结构区域,通过空间位阻与构象调控抑制酶催化活性,兼具空间阻断与别构调控双重特征	NDM-1	对重组NDM-1酶具有低微摩尔级抑制活性,可剂量依赖性降低酶的底物水解效率	理化稳定性好、靶点特异性高,可进一步通过基因工程改造优化	大分子透膜能力有限,难以直接作用于细菌胞周质的NDM-1,仅完成酶水平验证,成药性转化难度高	[76]
PHT427	靶向结合NDM-1并抑制其水解活性,联合美罗培南恢复抗生素的抗菌效力;以活性中心结合为主要作用模式,非典型别构机制	NDM-1	对NDM-1酶具有明确抑制活性;与美罗培南联用后,可显著降低产NDM-1肠杆菌科细菌的MIC值,恢复菌株对美罗培南的敏感性	为小分子化合物,细菌膜穿透性较好,可有效恢复碳青霉烯类药物的抗菌活性	单药无抗菌活性,必须联用β-内酰胺类药物	[77]

3.1 靶向活性中心类抑制剂

MBLs活性中心包含单个或双锌离子,金属中心为其序列与空间结构中进化保守程度最高的区域,因此靶向金属活性中心筛选、研发候选抑制剂是极具价值的研发思路[78],同时也是MBLs抑制剂领域起步最早、研究体系最完善的经典策略。靶向该活性中心的抑制剂主要存在两类作用机制:其一,分子与锌离子发生配位结合,形成抑制剂-锌离

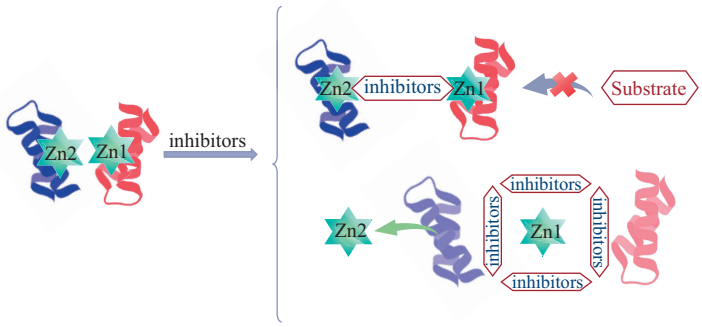


图 4　靶向活性中心抑制剂作用机制示意图

Fig. 4　Schematic diagram of the mechanism of action of inhibitors targeting the active center

子-酶三元复合物，阻断酶与底物的相互识别与结合（图 4）；其二，依靠螯合作用剥离或隔离 MBLs 活性中心的锌离子，造成酶蛋白失活乃至降解[79]。

分子结构含巯基（-SH）的硫醇类化合物是最早被证实具备 MBLs 抑制活性的螯合骨架，目前也被视作最具开发前景的金属配体型 MBLs 抑制剂；该类分子可与 MBLs 活性中心锌离子发生配位结合，进而阻断 MBLs 的水解催化活性[80]。临床用于高血压、充血性心力衰竭治疗的血管紧张素转换酶（ACE）抑制剂卡托普利[81]，是首个被证实可恢复耐碳青霉烯革兰阴性菌对美罗培南敏感性的巯基类药物，对 B1、B2、B3 全部 3 类 MBLs 亚型均具有抑制效果[63]。后续研究以致病性最强、研究最充分的 NDM-1 晶体结构为模板，对卡托普利开展结构改造，通过调整立体构型、修饰侧链等方式，提升分子与活性中心锌离子的配位亲和力，同时优化对不同酶亚型的选择性[82]。例如衍生合成的 *D*-卡托普利类似物，整体抑制活性虽弱于卡托普利，但对 NDM-1 抑制作用突出；在特定给药浓度下，该化合物联合美罗培南可使携带 VIM-2、IMP-26 的大肠杆菌最小抑菌浓度（MIC）下降到原值的 1/8[64]。吡啶类衍生物同样可靶向结合 B1、B2、B3 型 MBLs 活性中心锌离子以抑制酶活，此类分子骨架含吡啶-2，6-二羧酸（DPA），依靠羧酸基团与酶活性位点锌离子形成配位键[81]；新型噻唑-羧酸酯抑制剂 ANT2681 由先导化合物 ANT431 优化而来，体内外药效均表现优异，现已进入临床前研究阶段[65,83]。

双环硼酸类β-内酰胺酶抑制剂可同时抑制丝氨酸β-内酰胺酶（SBLs）与 MBLs，具备广谱双重抑制活性，代表性药物包括尼硼巴坦、QPX7728。其中尼硼巴坦可在体内外显著恢复头孢吡肟对产 MBLs 菌株的抗菌活性[66]；QPX7728 在 8 μg/mL 浓度下与美罗培南体外联用，可使耐药肺炎克雷伯菌 MIC 值至少降低到原值的 1/256，体内实验亦展现出良好协同抗菌作用，能够明显降低脏器组织载菌量[67]。吡咯烷衍生物同样拥有双重广谱抑制能力，既可下调美罗培南对携带 NDM-1 肺炎克雷伯菌的 MIC，也可降低美罗培南对 KPC-2 阳性大肠杆菌的 MIC 水平[84]。

除此之外，科研人员陆续开发多种新型螯合骨架：以细菌天然产物 UK-1 为母核构建的苯并咪唑、苯并噁唑类衍生物[85]、天然代谢产物曲霉素 A[86]、α-氨基膦酸酯衍生物[68]等。该类分子依靠多个杂原子与锌离子配位结合，分子稳定性强，且母核结构丰富多样；研究人员可通过调控侧链长度、解析构效关系持续提升抑制剂的抑制活性与成药潜力。国内学者在靶向催化中心的 MBLs 抑制剂领域开展了大量系统性研究，研究覆盖面广，形成了完整特色研究体系。朱开容等[69]系统分析 B1、B2、B3 型 MBLs 的底物偏好，以及碳青霉烯、其开环水解产物与 3 类 MBLs 的结合模式，设计得到以 2-氨基噻唑-4-羧酸为骨架、对 3 类酶亚型均有广谱抑制效果的化合物；该研究阐明羧酸基团与活性中心锌离子的结合模式、分子与锚定氨基酸残基的静电相互作用，以及侧链取代基对抑制活性的调控规律，筛选获得的高活性衍生物联合美罗培南可有效降低产 NDM-1 菌株的 MIC。苏荟琳[87]通过延长咪唑-2-羧酸母核侧链、改造取代基团，增强化合物与酶活性位点的结合能力，丰富了杂环羧酸类抑制剂的分子类型；体外试验证实，该系列化合物可使美罗培南对表达 VIM-2 菌株的 MIC 值至少降低到原值的 1/64。NOTA 及其衍生物、吡啶羧酸、吡啶甲基胺等均为重要的螯合型 MBLs 抑制剂[88]。肖建敏[89]开展含噻二唑、噻吩环巯基化合物相关研究；丁浩胜[90]借助铃木偶联反应、点击化学对磷酸类分子进行结构修饰，提升其抑制活性；李根等[91]建立金属酶活性位点比对筛选体系；胡建平[92]早期系统梳理 MBLs 空间结构与催化机制。上述研究共同推动

MBLs抑制剂研发从单纯活性筛选,转向基于晶体结构的理性分子设计。

靶向活性中心锌离子的MBLs抑制剂研发起步最早,研究体系也最为完备。该类抑制剂核心设计思路为改造螯合官能团、优化金属配位方式,直接作用于酶催化核心结构,以实现强效抑制。NDM、VIM、IMP等主流MBLs亚型的锌离子结合区域高度保守,因此该类抑制剂天然具备广谱抑菌潜力。尽管部分小分子联合碳青霉烯类抗生素在体外与动物体内均展现理想协同效果,但多数分子缺乏充分的体内药效学数据支撑,这是当前螯合类抑制剂开发面临的核心瓶颈。现阶段该领域设计策略已由早期单配位位点改造升级为双位点协同设计,可精准匹配双锌离子空间排布构型,大幅提升药物与靶点的结合亲和力;同时通过疏水侧链修饰改善分子穿透细菌细胞膜的能力。但该类抑制剂存在难以规避的应用缺陷:机体生理环境内游离锌离子会竞争性结合药物分子,削弱其原位抑酶效果,还易引发脱靶作用、扰乱体内金属离子稳态;此外多数小分子螯合剂易被细菌外排泵识别并排出胞外,导致体外优异抑酶活性难以转化为体内治疗效果,成药性转化难度较大。后续研究需重点提升螯合基团对锌离子的结合选择性、保证分子可覆盖全部3类MBLs亚型,同时系统考察药物毒性、体内滞留时长并深入解析构效关系,从而推动该方向研究持续深化。

3.2 活性口袋保守残基共价修饰型抑制剂

基于活性口袋保守残基开展共价修饰,是近年MBLs抑制剂领域的核心突破方向。该类化合物先依靠非共价相互作用锚定活性口袋,再与口袋周边氨基酸残基发生特异性化学反应并生成共价键,最终与酶活性位点稳定结合,实现不可逆抑酶效果[93](图5)。早在2016年,已有文献系统阐述活性口袋保守残基共价修饰型抑制剂的通用设计准则,为此类抑制剂的后续研发搭建了完整方法学框架[94]。

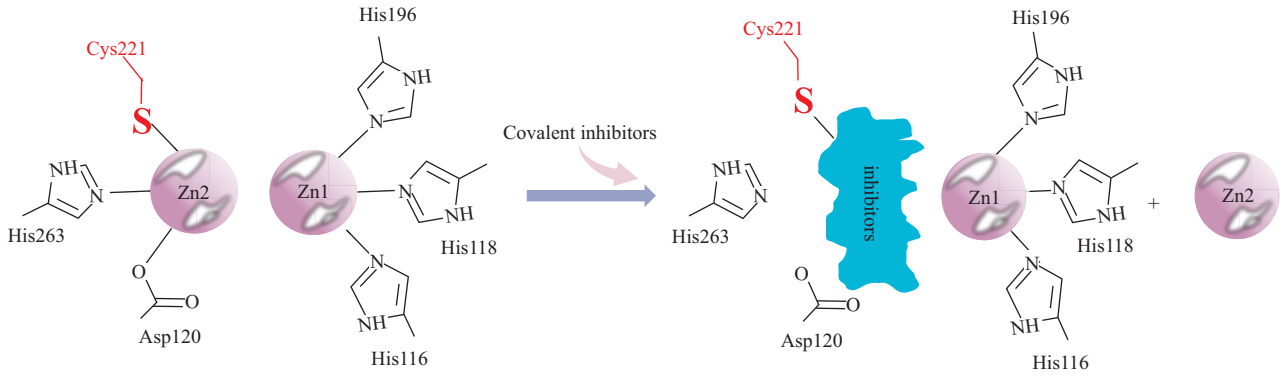


图5 活性口袋保守残基共价修饰型抑制剂作用机制示意图

Fig. 5 Schematic diagram of the mechanism of action of inhibitors that covalently modify conserved residues in the active-site pocket

目前研究最为深入、应用最为广泛的共价修饰靶点为活性中心半胱氨酸残基(Cys221)。该残基位于底物进入活性中心的唯一通道中,既可通过空间位阻直接阻碍底物与活性中心结合,也能通过改变活性中心构象稳定性间接发挥抑制作用。依布硒(ebselen)是首个被证实具备MBLs抑制潜力的硒唑类先导药物,其分子经羟基亲核进攻后可形成稳定Se—S共价键,促使锌离子从活性中心解离,彻底瓦解酶的金属配位骨架[95]。后续研究围绕依布硒及其衍生物展开构效分析,发现1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮衍生物可作为NDM-1特异性共价抑制剂,恢复美罗培南(MEM)对NDM-1产酶菌株的抗菌活性;具有亲电活性N-Se键的异硒唑酮母核可通过双重机制发挥耐药酶抑制作用:一方面阻断β-内酰胺类抗生素底物与NDM-1蛋白的结合,另一方面诱导NDM-1整体构象改变、破坏催化中心稳定性,从而高效抑制NDM-1水解活性[70]。采用药物重定位结合酶活筛选、对已上市临床药物开展系统性活性验证,是当下普遍采用的高效研发手段。临床应用近70年的戒酒药物双硫仑(disulfiram,DSF)同样被证实为强效潜在的MBLs抑制剂。DSF可显著提升美罗培南等碳青霉烯类药物对携带NDM-1、IMP-1等MBLs菌株的抗菌效力,使细菌恢复对美罗培南的药物敏感性,有效逆转耐药表型。此外,双硫仑可与铜离子螯合生成稳定Cu(DDTC)$_2$复合物,该复合物对MBLs的抑制活性显著优于游离DSF,可进一步增强碳青霉烯类药物对耐药菌的杀伤效果[71]。另有抗肿瘤药物3-溴丙酮

酸被证实对NDM-1具备优良抑制能力，其分子内溴乙酰基为核心药效基团，可特异性识别NDM-1活性中心保守半胱氨酸残基（Cys208），经系列化学反应与NDM-1酶蛋白特异性共价偶联[72]。

活性中心赖氨酸残基是拓展共价抑制剂修饰靶点、提升药物对各MBLs亚型广谱抑制能力的重要研发方向。赖氨酸侧链携带亲核氨基（$-NH_2$），可与醛基等官能团形成稳定共价键，进而抑制酶催化功能。二代口服头孢菌素头孢克洛拥有经典β-内酰胺母核，水溶性佳、口服生物利用度高，长期临床应用已充分验证其安全性。研究发现，超出常规治疗剂量时，头孢克洛可通过多重途径使NDM-1永久失活：其7-氨基头孢烷酸（7-ACA）核心骨架侧链可特异性识别NDM-1活性中心保守半胱氨酸Cys208及邻近赖氨酸残基；赖氨酸残基持续稳固抑制剂与酶中心的结合构象，诱导酶蛋白发生不可逆空间构象改变。该抑制作用持续时间长，抑制剂浓度下降后酶活性难以恢复，可长效阻断NDM-1功能，有效恢复碳青霉烯类抗生素对NDM-1阳性菌的敏感性[96]。科研人员进一步以头孢菌素为母核，与五氟苯酯结构拼接，构建新型NDM-1共价抑制剂；经质谱、SDS-PAGE等实验验证，该类分子与Lys211共价结合后，酶蛋白电荷与空间构象发生不可逆改变，电泳迁移速率显著降低，该研究为靶向赖氨酸的MBLs共价抑制剂设计提供了首个完整结构与作用机制范例[97]。

除上述传统有机小分子共价抑制剂外，金属配合物、双功能偶联分子、天然产物修饰衍生物等多种新型共价修饰抑制剂陆续见诸报道。这类化合物依托金属螯合与共价修饰的协同增效机制，进一步提升抑酶活性与体内治疗潜力。科研人员借助紫外-可见光谱筛选多款过渡金属药物与配合物，证实顺铂、钯（Ⅱ）配合物均为广谱强效MBLs抑制剂，对B1、B2亚型MBLs均可发挥抑制作用。其中顺铂作为成熟临床抗肿瘤药物，经药物重定位，开发为MBLs抑制剂，具备可观的临床转化前景[73]。化合物APC24-7同样依靠螯合联合共价作用靶向MBLs活性中心[74]，分子由硼酸官能团与双吡啶乙烯二胺（DPED）螯合基团共价拼接而成，可有效恢复β-内酰胺类药物对产MBLs致病菌的抗菌活性。APC24-7采用双功能共价偶联设计，具备双重作用路径：首先硼酸基团与MBLs活性中心天冬氨酸生成稳定硼酸酯共价键；再通过赖氨酸Lys224静电作用、组氨酸氢键协同稳定分子结合构象，提升靶点亲和力并占据催化空腔；同时DPED螯合基团竞争性捕获活性中心锌离子，破坏酶催化结构，反向巩固硼酸基团与氨基酸残基的结合，实现双重阻断MBLs对β-内酰胺药物的水解、逆转细菌耐药性。APC24-7抑酶效果优于单硼酸类抑制剂，为产MBLs耐药菌感染提供全新候选药物与治疗思路。天然产物衍生共价抑制剂同样具备优异开发价值，色酮-3-甲醛是首个非β-内酰胺骨架可逆共价MBLs抑制剂，经电喷雾电离质谱（ESI-MS）、表面等离子体共振（SPR）等检测证实，其可与NDM-1蛋白Lys224位点形成共价结合[98]。后续研究人员对天然色酮-3-甲醛进行结构改造，得到高活性、低毒、高生物利用度的NDM-1共价抑制剂NDM-1-IN-10，与美罗培南联用可强效清除NDM-1阳性耐药菌。NDM-1-IN-10主要与NDM-1蛋白Lys211形成不可逆共价键，同时借助与Asn233、Cys208、Leu218、His189等氨基酸残基的多重非共价相互作用，协同破坏NDM-1活性中心结构与锌离子配位环境，最终实现强效、长效不可逆抑酶[75]。

靶向活性口袋保守残基的共价修饰型MBLs抑制剂凭借不可逆结合、抑酶活性强、耐药突变屏障更高等优势得到快速发展；环硼酸酯、二氮杂双环辛烷衍生物同时兼具共价修饰与锌离子螯合双重功能，部分候选分子已推进至临床前研究阶段。但该类抑制剂仍存在明显短板：部分化合物潜在毒性偏高，体内抑菌效果远弱于体外，同时伴随药代动力学参数不佳、体内代谢稳定性差等缺陷。当前研究主要聚焦两大优化方向：一是调控亲电官能团反应活性，通过引入丙烯酰胺、氰基丙烯酸酯等弱亲电基团，降低非特异性结合引发的毒副作用；二是改造分子骨架疏水区域，修饰疏水侧链匹配活性口袋空腔形态，提升药物靶点选择性。但该改造策略易诱发脱靶毒性与机体免疫原性，且一旦靶向保守氨基酸残基发生耐药突变，抑制剂抑酶活性会大幅衰减。因此，如何提升药物靶点特异性、平衡亲电基团反应活性与分子成药性、用药安全性，是该研究方向亟待攻克的核心难题。

3.3　非催化区域别构与构象调控型抑制剂

非催化区域别构与构象调控型抑制剂的早期研发主要依托生物大分子探针实现靶点识别，大量前期研究成功鉴定出不同MBLs亚型的功能性别构象位点，为后续小分子别构抑制剂的开发奠定了重要理论基础。2019年，Khan等[99]利用SELEX技术筛选获得靶向蜡样芽孢杆菌5/B/6型金属β-内酰胺酶（5/B/6 MBL）的高效别构抑制剂——10-mer单链DNA适体。该适体通过静电相互作用结合于

5/B/6 MBL的L4/L6环碱性别构位点,限制活性中心附近含关键催化残基Tyr208的L13环构象柔性,阻碍催化过程所需的活性中心构象重排,阻滞酶催化循环,最终实现对MBLs活性的特异性抑制。该类核酸抑制剂具有毒性低、不易因催化位点突变产生耐药性的优势,但作为核酸类药物,易被体内核酸酶降解,存在整体体内稳定性不佳的缺陷。早在2013年,研究人员便借助噬菌体展示技术筛选靶向VIM型MBLs的拮抗分子,用于防控产VIM耐药菌感染,从50余种候选纳米抗体中筛选得到唯一具备抑酶活性的NbVIM_38。该纳米抗体可结合于VIM-4的L6环与α2螺旋末端区域,通过疏水相互作用锁定酶的特定构象,干扰活性中心的动态构象变化,进而降低底物结合效率与整体催化活性[100]。2024年,相关研究进一步以骆驼源单域重链抗体(VHH)为研究载体,开发出靶向NDM-1的强效别构抑制剂。该类抑制剂兼具低毒性、高生物活性与良好的体内稳定性,虽半衰期较短、制备难度低,但耐药屏障较高。该研究证实别构抑制策略同样适用于临床主流的NDM-1亚型,有效拓宽了别构调控抑制剂的亚型覆盖范围。

依托生物大分子抑制剂的前期研究基础,研究人员后续通过高通量筛选与结构优化,陆续发掘出一系列天然来源与人工合成的小分子别构抑制剂。天然产物鼠尾草酸[101]可靶向NDM-1发挥抑酶作用,其对NDM-1的IC50值为27.07 μmol/L;该化合物无直接杀菌活性,但与美罗培南联用时可有效恢复后者对产NDM-1大肠杆菌菌株ZC-YN3的杀菌效能。机制研究证实,鼠尾草酸可诱导NDM-1活性中心发生构象偏移,增大锌离子与底物结合位点的空间距离,致使酶催化功能丧失。研究人员通过化合物库高通量筛选,进一步鉴定得到2-喹唑啉酮(QDP-1)[102]与4-十二烷基-*N*-1,3,4-噻二唑-2-基-苯磺酰胺(PHT427)[77]两类新型MBLs别构抑制剂。其中QDP-1为非竞争性抑制剂,底物与抑制剂的结合可相互促进、提升彼此结合亲和力,从而显著降低碳青霉烯类抗生素对产NDM-1大肠杆菌及肺炎克雷伯菌临床分离株的最小抑菌浓度(MIC),但对产丝氨酸β-内酰胺酶的菌株无抑制效果。PHT427则通过诱导MBLs整体构象重塑,干扰活性中心锌离子配位环境、柔性环区构象及催化残基的空间排布,阻断酶催化循环。体内外协同抗菌实验均证实,PHT427可显著增强碳青霉烯类抗生素的抗菌活性,且细胞毒性低、体内安全性良好,为NDM型金属酶介导的耐药感染提供了新型先导化合物与可行的联合治疗策略。值得关注的是,已有研究证实,单位点突变诱发的构象重塑可导致MBLs对抑制剂产生耐受,其中绝大多数构象变异集中于M154L功能区域,单点突变可引发原本结构稳定的α3-L8区域发生显著动态构象改变。该发现不仅确定了构象导向的抑制剂设计策略用于抗NDM耐药感染的可行性,也为破解临床新型抗菌药物耐药难题提供了全新研发思路[103]。

非催化区域别构与构象调控型抑制剂通过结构优化靶向MBLs非催化功能区,诱导酶整体构象改变,间接抑制酶催化活性(图6),是近年MBLs抑制剂领域的前沿研发方向。该类抑制剂无需结合催化活性中心,既可规避高浓度底物造成的药物拮抗效应,又可避免扰乱机体金属离子稳态,具备脱靶率低、安全性高的独特优势。总体而言,该类抑制剂不参与锌离子螯合,具有耐药突变风险低、亚型选择性强、细胞毒性小的突出特点。但目前该类抑制剂仍存在诸多短板:现有别构抑制剂抑酶活性有待提升,普遍存在体内稳定性不足、药物递送效率低、抗菌谱狭窄等问题,且整体研发转化门槛较高,现阶段仍处于临床前优化阶段,尚未被应用于临床,同时也是未来MBLs抑制剂研究中最具突破潜力的重要方向。

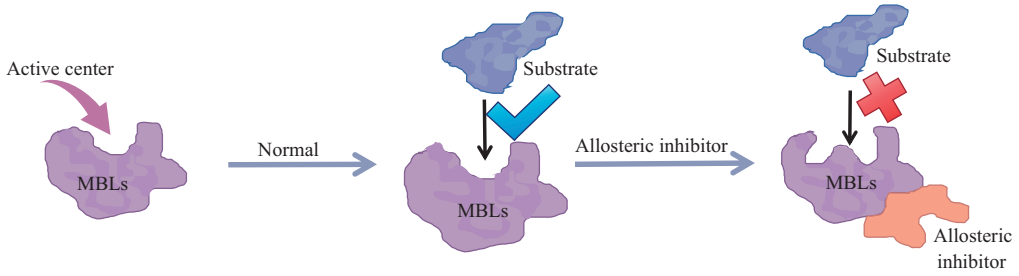


图6 非催化区域别构与构象调控型抑制剂作用机制示意图

Fig. 6 Schematic diagram of the mechanism of action of inhibitors targeting allosteric sites and regulating conformation in noncatalytic regions

4　讨论与展望

MBLs介导的碳青霉烯耐药革兰阴性菌感染已成为全球公共卫生领域的严峻难题。该类酶可水解以碳青霉烯类为代表的几乎所有β-内酰胺类抗生素，直接导致临床抗感染治疗的“最后一道防线”失守，给临床诊疗及患者预后造成沉重负担[104]。基于此，本文立足于MBLs的空间结构特征，依据抑制剂作用层级，从催化活性中心、活性口袋保守氨基酸残基、非催化区域别构调控三个维度，对现有MBLs抑制剂研究进展进行系统梳理与归纳。通过对比分析各类抑制剂的研发逻辑与作用特征，发现其核心研发思路均以蛋白质三维结构为基础开展定向结构修饰，通过改造先导化合物骨架与官能团结构，优化药物靶向结合能力与抑酶效果。其中，靶向活性中心锌离子的抑制剂以优化核心螯合基团、改良金属配位结构为主要改造方向；活性口袋保守残基共价修饰型抑制剂重点优化亲电官能团，通过加固分子骨架、增强药物与氨基酸残基的共价结合能力提升抑酶活性；非催化区域别构与构象调控型抑制剂则通过整体分子结构改造，适配非活性口袋空间特征，通过诱导细菌蛋白酶构象重塑实现间接抑酶效果。总体而言，结构修饰优化已成为当前MBLs抑制剂研发的核心策略，结构生物学与药物化学的深度交叉融合，持续推动该研究领域的技术迭代与创新发展。

与此同时，随着科研技术的持续革新，MBLs抑制剂的新型作用机制不断被发掘。既往研究普遍认为，MBLs抑制剂主要通过螯合剥夺活性中心锌离子，阻断酶催化功能以发挥抑菌作用。但多项基于等温滴定量热法、酶动力学检测及菌株药敏试验的研究证实，部分强效MBLs抑制剂与美罗培南的协同抗菌效果，并不依赖于强锌离子螯合能力，颠覆了单一金属剥夺的传统作用机制认知[105]。由于临床感染场景复杂，单一抑酶策略难以应对菌株多重耐药机制共存的现状，因此，多靶点广谱抑制剂成为当前临床亟需的研发方向。如前文所述，他尼硼巴坦、QPX7728等硼酸类抑制剂被证实具备双靶点广谱抑制活性，可同时拮抗SBLs与MBLs两类耐药酶[66-67,84]。*N*-芳巯基乙酰胺类化合物更是开辟了全新研发方向，可同时靶向抑制细菌耐药性与毒力因子，在新型抗菌药物研发领域具备创新性价值[106]。此外，优化传统联合用药方案也是应对临床复杂耐药感染的有效手段，美罗培南、阿维巴坦与MBLs抑制剂的三联用药模式，可进一步拓宽抗菌谱、提升抗感染疗效，为临床多重耐药菌感染的综合治疗提供全新策略参考[107]。

尽管MBLs抑制剂的基础研发成果持续更新，但目前临床针对MBLs介导耐药感染的治疗仍以传统药物方案为主，临床常用氨曲南联合头孢他啶－阿维巴坦的联合治疗模式。然而该方案缺乏充足的临床疗效数据支撑，且存在明显应用短板与不良反应：氨曲南存在明显肾毒性、神经毒性，且抑菌活性存在局限性；头孢他啶-阿维巴坦临床适用范围有限，无法从根本上逆转MBLs介导的细菌耐药表型[108-109]。值得关注的是，他尼硼巴坦联合头孢吡肟的用药方案可广谱覆盖丝氨酸β-内酰胺酶与金属β-内酰胺酶，目前已进入Ⅲ期临床试验阶段，具备良好的临床转化前景[110]。近年来，随着计算机辅助药物设计、结构导向精准合成等技术的快速发展，新型MBLs候选抑制剂不断涌现，多数化合物在体外实验中展现出优异的抑酶活性，但仍存在显著短板：多数研究仅停留在体外细胞验证阶段，缺乏系统的体内药代动力学、药物毒性及临床疗效数据，严重制约了候选化合物的成药性转化与临床应用。

综上，传统临床治疗方案虽具备成熟的用药经验与安全性评价体系，但无法直接靶向MBLs发挥抑制作用，疗效有限且伴随一定毒副作用；新型MBLs抑制剂可实现从非特异性抑菌到精准靶向抑酶的升级，但绝大多数候选化合物仍止步于基础研究，临床转化面临诸多瓶颈。其一，不同MBLs亚型同源性较低、活性中心结构差异显著，单一抑制剂难以实现广谱抑酶效果；其二，细菌外膜天然屏障阻碍药物精准递送，导致优异的体外活性难以有效转化为体内药效，且药物毒性难以精准调控；其三，MBLs基因突变进化速率远快于新型抑制剂的研发迭代速度，易诱发耐药逃逸。此外，目前尚无统一规范的MBLs抑制剂药效评价体系与成药性判定标准，缺乏标准化的体内毒性、药效学评估依据，这也是现阶段临床获批MBLs抑制剂稀缺的核心原因。

为突破上述研发瓶颈，开发高选择性、高活性、药理特性优良的新型β-内酰胺酶抑制剂，未来需依托多学科交叉融合开展系统性研究，整合结构生物学、计算化学、材料科学等前沿技术，从分子设计、作用机制、递送策略等多维度实现技术突破。可依托AI蛋白结构预测、高分辨晶体学解析与计算化学模拟技术，深度剖析不同MBLs亚型及突变体的三维结构特征，明确药物靶向筛选的结构基础，既缩

短药物筛选周期,又突破传统化学结构研发的局限性。在药物设计层面,可构建锌离子螯合与保守残基共价修饰的双位点抑制体系,兼顾抑酶活性与抗突变能力;同时侧重研发可同时覆盖SBLs与MBLs的广谱抑制剂,适配细菌复杂多重耐药机制。在化合物筛选层面,深度挖掘微生物代谢产物及各类天然化合物的抑酶活性,同时持续优化改造现有药物骨架,丰富抑制剂结构类型。在临床应用层面,依托纳米载体包被、pH响应、酶响应等智能递送系统,提升药物胞内富集浓度,规避体内金属离子干扰,优化体内药效与安全性。

综上所述,论文基于MBLs活性层级结构对各类抑制剂进行系统综述,明确了结构修饰是当前MBLs抑制剂研发的核心技术手段。随着新型作用机制的不断发掘与多学科交叉技术的持续革新,未来必将研发出广谱、高效、安全的新型MBLs抑制剂,为临床多重耐药革兰阴性菌感染的治疗提供全新解决方案,同时有效缓解细菌耐药引发的全球公共卫生危机。

参考文献:

[1] Cui Xiangyi, Lü Yuhong, Yue Changwu. Development and research progress of anti-drug resistant bacteria drugs[J]. Infection and Drug Resistance, 2021, 14: 5575-5593.

[2] Baquero F, Cantón R, Pérez-Cobas A E, et al. Antechodynamics and antechokinetics: Dynamics and kinetics of antibiotic resistance biomolecules[J/OL]. Biomolecules, 2025, 15(6): 823. https://doi/org/10.3390/biom15060823.

[3] 王佳庆, 李曦, 徐冬艳. 产气克雷伯菌分子流行病学及耐药机制研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2026, 51(2): 155-163.

[4] Fatima N, Khalid S, Rasool N, et al. Approachable synthetic methodologies for second-generation β-lactamase inhibitors: A review[J/OL]. Pharmaceuticals, 2024, 17(9): 1108. https://doi/org/10.3390/ph17091108.

[5] 王万存, 周应勋, 吴占攀, 等. 金属β-内酰胺酶抑制剂研究进展[J]. 药学学报, 2026, 61(3): 727-737.

[6] Khan S, Ali A, Khan A U. Structural and functional insight of new Delhi metallo β-lactamase-1 variants[J]. Future Medicinal Chemistry, 2018, 10(2): 221-229.

[7] Lence E, González-Bello C. Molecular basis of bicyclic boronate β-lactamase inhibitors of ultrabroad efficacy-insights from molecular dynamics simulation studies[J/OL]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 721826. https://doi/org/ 10.3389/fmicb.2021. 721826.

[8] Si Zhangyong, Pethe K, Chan-Park M B. Chemical basis of combination therapy to combat antibiotic resistance[J]. JACS Au, 2023, 3(2): 276-292.

[9] Aurilio C, Sansone P, Barbarisi M, et al. Mechanisms of action of carbapenem resistance[J/OL]. Antibiotics, 2022, 11(3): 421. https://doi/org/10.3390/antibiotics11030421.

[10] Bebrone C. Metallo-β-lactamases (classification, activity, genetic organization, structure, zinc coordination) and their superfamily[J]. Biochemical Pharmacology, 2007, 74(12): 1686-1701.

[11] Garau G, García-Sáez I, Bebrone C, et al. Update of the standard numbering scheme for class B beta-lactamases[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2004, 48(7): 2347-2349.

[12] Ullah J H, Walsh T R, Taylor I A, et al. The crystal structure of the L1 metallo-β-lactamase from *Stenotrophomonas maltophilia* at 1.7 Å resolution[J]. Journal of Molecular Biology, 1998, 284(1): 125-136.

[13] Carfi A, Pares S, Duée E, et al. The 3-D structure of a zinc metallo-beta-lactamase from *Bacillus cereus* reveals a new type of protein fold[J]. The EMBO Journal, 1995, 14(20): 4914-4921.

[14] Crowder M W, Spencer J, Vila A J. Metallo-β-lactamases: Novel weaponry for antibiotic resistance in bacteria[J]. Accounts of Chemical Research, 2006, 39(10): 721-728.

[15] Kang Sujin, Kim D H, Lee B J. Metallo-β-lactamase inhibitors: A continuing challenge for combating antibiotic resistance[J/OL]. Biophysical Chemistry, 2024, 309: 107228. https://doi/org/10.1016/j.bpc.2024.107228.

[16] Hidalgo-Tenorio C, Bou G, Oliver A, et al. The challenge of treating infections caused by metallo-β-lactamase- producing gram-negative bacteria: A narrative review[J]. Drugs, 2024, 84(12): 1519-1539.

[17] Nahar L, Hagiya H, Gotoh K, et al. New Delhi metallo-beta-lactamase inhibitors: A systematic scoping review [J/OL]. Journal of Clinical Medicine, 2024, 13 (14): 4199. https://doi/org/10.3390/jcm13144199.

[18] Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, et al. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1991, 35(1): 147-151.

[19] Naas T, Oueslati S, Bonnin R A, et al. Beta-lactamase database (BLDB): Structure and function [J]. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 2017, 32(1): 917-919.

[20] Lauretti L, Riccio M L, Mazzariol A, et al. Cloning and characterization of bla_{VIM}, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1999, 43(7): 1584-1590.

[21] Thomas C A, Cheng Zishuo, Bethel C R, et al. The directed evolution of NDM-1[J/OL]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2023, 67(11): e0071423. https://doi/org/10.1128/aac.00714-23.

[22] Qin Yingcheng, Peng Yuan, Duan Xiaonü, et al. Characterization of bla_{AFM-1}-positive carbapenem-resistant strains isolated in Guangzhou, China[J/OL]. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 2023, 22(1): 40. https://doi/org/10.1186/s12941-023-00592-0.

[23] Dhiman P, Patwa A, Narayanan A B, et al. Disarming superbugs: New frontiers in inhibiting NDM-1 and other clinically relevant metallo-β-lactamases[J/OL]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2026, 301: 118220. https://doi/org/10.1016/j. ejmech. 2025. 118220.

[24] Chen Yahua, Succi J, Tenover F C, et al. β-lactamase genes of the penicillin-susceptible *Bacillus anthracis* Sterne strain[J]. Journal of Bacteriology, 2003, 185(3): 823-830.

[25] Bellais S, Léotard S, Poirel L, et al. Molecular characterization of a carbapenem-hydrolyzing β-lactamase from *Chryseobacterium* (*Flavobacterium*) indologenes[J]. FEMS Microbiology Letters, 1999, 171(2): 127-132.

[26] Naas T, Bellais S, Nordmann P. Molecular and biochemical characterization of a carbapenem-hydrolysing beta-lactamase from *Flavobacterium johnsoniae*[J]. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2003, 51(2): 267-273.

[27] Hernandez Valladares M, Kiefer M, Heinz U, et al. Kinetic and spectroscopic characterization of native and metal-substituted β -lactamase from *Aeromonas hydrophila* AE036[J]. FEBS Letters, 2000, 467(2/3): 221-225.

[28] Bush K, Bradford P A. Epidemiology of β-lactamase-producing pathogens[J/OL]. Clinical Microbiology Reviews, 2020, 33(2): e00047-19. https://doi/org/10.1128/CMR.00047-19.

[29] Walsh T R, Hall L, Assinder S J, et al. Sequence analysis of the L1 metallo-β-lactamase from *Xanthomonas maltophilia*[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression, 1994, 1218(2): 199-201.

[30] Bellais S, Aubert D, Naas T, et al. Molecular and biochemical heterogeneity of class B carbapenem-hydrolyzing β-lactamases in *Chryseobacterium* meningosepticum[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2000, 44(7): 1878-1886.

[31] Stoczko M, Frère J M, Rossolini G M, et al. Postgenomic scan of metallo-β-lactamase homologues in rhizobacteria: Identification and characterization of BJP-1, a subclass B3 ortholog from *Bradyrhizobium japonicum*[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2006, 50(6): 1973-1981.

[32] Stoczko M, Frère J M, Rossolini G M, et al. Functional diversity among metallo-β-lactamases: Characterization of the CAR-1 enzyme of *Erwinia* carotovora[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2008, 52(7): 2473-2479.

[33] Grigorenko V G, Khrenova M G, Andreeva I P, et al. Drug repurposing of the unithiol: Inhibition of metallo-β-lactamases for the treatment of carbapenem-resistant gram-negative bacterial infections[J/OL]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(3):1834. https://doi/org/10.3390/ijms23031834.

[34] Bahr G, González L J, Vila A J. Metallo-β-lactamases in the age of multidrug resistance: From structure and mechanism to evolution, dissemination, and inhibitor design[J]. Chemical Reviews, 2021, 121(13): 7957-8094.

[35] Ramesh P, Saravanan G, Malarkodi V, et al. In Silico discovery of natural inhibitors against New Delhi Metallo-β-Lactamase-1: A step towards combating superbug resistance[J]. Chemical Methodologies, 2025, 9(10): 981-993.

[36] Krco S, Davis S J, Joshi P, et al. Structure, function, and evolution of metallo-β-lactamases from the B3 subgroup-emerging targets to combat antibiotic resistance[J/OL]. Frontiers in Chemistry, 2023, 11: 1196073. https://doi/org/10.3389/fchem.2023.1196073.

[37] Moali C, Anne C, Lamotte-Brasseur J, et al. Analysis of the importance of the metallo-β-lactamase active site loop in substrate binding and catalysis[J]. Chemistry & Biology, 2003, 10(4): 319-329.

[38] Fabiane S M, Sohi M K, Wan T, et al. Crystal structure of the zinc-dependent β-lactamase from *Bacillus cereus* at 1.9 Å resolution: Binuclear active site with features of a mononuclear enzyme[J]. Biochemistry, 1998, 37(36): 12404-12411.

[39] 刘韧. 产NDM-1鲍曼不动杆菌的分子流行病学特征及其对锌螯合的耐受机制研究[D]. 南昌: 南昌大

学, 2025:48-91.

[40] King D T, Worrall L J, Gruninger R, et al. New Delhi metallo-β-lactamase: Structural insights into β-lactam recognition and inhibition[J]. Journal of the American Chemical Society, 2012, 134(28):11362-11365.

[41] Garau G, Bebrone C, Anne C, et al. A metallo-β-lactamase enzyme in action: Crystal structures of the monozinc carbapenemase CphA and its complex with biapenem[J]. Journal of Molecular Biology, 2005, 345(4): 785-795.

[42] Mojica M F, Rossi M A, Vila A J, et al. The urgent need for metallo-β-lactamase inhibitors: An unattended global threat[J]. The Lancet Infectious Diseases, 2022, 22(1): e28-e34.

[43] Yun Y, Han Sangjun, Park Y S, et al. Structural insights for core scaffold and substrate specificity of B1, B2, and B3 metallo-β-lactamases[J/OL]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 752535. https://doi/org/10.3389/fmicb.2021.752535.

[44] Breece R M, Hu Zhenxin, Bennett B, et al. Motion of the zinc ions in catalysis by a dizinc metallo-β-lactamase[J]. Journal of the American Chemical Society, 2009, 131(33): 11642-11643.

[45] Meini M R, Llarrull L I, Vila A J. Overcoming differences: The catalytic mechanism of metallo-β-lactamases[J]. FEBS Letters, 2015, 589(22): 3419-3432.

[46] Sharma N P, Hajdin C, Chandrasekar S, et al. Mechanistic studies on the mononuclear Zn Ⅱ-containing metallo-β-lactamase ImiS from *Aeromonas sobria*[J]. Biochemistry, 2006, 45(35):10729-10738.

[47] Gulyás K V, Zhou Liping, Salamonsen D, et al. Dynamically chiral phosphonic acid-type metallo-β-lactamase inhibitors[J/OL]. Communications Chemistry, 2025, 8: 119. https://doi/org/10.1038/s42004-025-01510-5.

[48] Leroux P, Bornet C, Bolla J M, et al. Challenges of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in the development of new β-lactamase inhibitors and antibiotics[J/OL]. Antibiotics, 2025, 14(6): 587. https://doi/org/10.3390/antibiotics14060587.

[49] Bounaga S, Laws A P, Galleni M, et al. The mechanism of catalysis and the inhibition of the *Bacillus cereus* zinc-dependent beta-lactamase[J]. The Biochemical Journal, 1998, 331(Pt 3): 703-711.

[50] Tripathi R, Nair N N. Mechanism of meropenem hydrolysis by new Delhi metallo β-lactamase[J]. ACS Catalysis, 2015, 5(4): 2577-2586.

[51] Bebrone C, Delbrück H, Kupper M B, et al. The structure of the dizinc subclass B2 metallo-β-lactamase CphA reveals that the second inhibitory zinc ion binds in the histidine site[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2009,53(10):4464-4471.

[52] Zhang Yanhong, Liang Zhenyang, Wang Shuai, et al. Cross-subclass metallo-β-lactamase inhibitors: From structural and catalytic commonalities guiding design[J/OL]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2025, 289: 117479. https://doi/org/10.1016/j.ejmech.2025.117479.

[53] Hassan L, Syed M A, Lu Binghuai, et al. Role of mobilome in carbapenem resistance[J/OL]. Antibiotics, 2026, 15(6): 542. https://doi/org/10.3390/antibiotics15060542.

[54] 杜军,李敏,崔景荣,等. 产超广谱β-内酰胺酶的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的检测及耐药性分析[J]. 宁夏大学学报(自然科学版),2008,29(2):169-171.

[55] Macesic N, Harris P N A, Mo Yin, et al. Carbapenemases: Epidemiology, detection and management in a changing global landscape[J/OL]. JAC-Antimicrobial Resistance, 2026, 8(3): dlag099. https://doi/org/10.1093/jacamr/dlag099.

[56] Acman M, Wang Ruobing, van Dorp L, et al. Role of mobile genetic elements in the global dissemination of the carbapenem resistance gene bla_{NDM}[J/OL]. Nature Communications, 2022, 13: 1131. https://doi/org/10.1038/s41467-022-28819-2.

[57] Lu Tingyin, Wu Shaojie, Chu Yuefei, et al. Outer membrane vesicles transmit bla_{NDM-5} and package metallo-β-lactamases to promote antibiotic resistance in *Escherichia coli*[J/OL]. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2026, 81(4): dkag123. https://doi/org/10.1093/jac/dkag123.

[58] 毕菁, 陈雯杰, 田靓,等. 上海市医疗机构ST11型耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌分子流行病学特征与高毒力进化研究[J]. 中国感染控制杂志, 2025, 24(8): 1075-1082.

[59] Cabal A, Hörtenhuber A, Salaheddin Y, et al. Three prolonged outbreaks of metallo-β-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in an Upper Austrian hospital, 2017—2023[J/OL]. Microbiology Spectrum, 2024, 12(10): e00740-24. https://doi/org/10.1128/spectrum.00740-24.

[60] Grabein B, Arhin F F, Daikos G L, et al. Navigating the current treatment landscape of metallo-β-lactamase-producing gram-negative infections: What are the limitations[J]. Infectious Diseases and Therapy, 2024, 13(11): 2423-2447.

[61] Al-Agamy M H, El-Mahdy T S, Radwan H H, et al. Cooccurrence of NDM-1, ESBL, RmtC, AAC

(6′)-ib, and QnrB in clonally related *Klebsiella pneumoniae* isolates together with coexistence of CMY-4 and AAC(6′)-ib in *Enterobacter cloacae* isolates from Saudi Arabia [J/OL]. BioMed Research International, 2019, 2019: 6736897. https://doi/org/10.1155/2019/6736897.

[62] Le Terrier C, Drusin S I, Nordmann P, et al. The emerging concern of IMP variants being resistant to the only IMP-type metallo-β-lactamase inhibitor, xeruborbactam [J/OL]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2025, 69(7): e0029725. https://doi/org/10.1128/aac.00297-25.

[63] Tehrani K H M E, Martin N I. Thiol-containing metallo-β-lactamase inhibitors resensitize resistant gram-negative bacteria to meropenem[J]. ACS Infectious Diseases, 2017, 3(10):711-717.

[64] 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/OL]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2024, 266: 116140. https://doi/org/10.1016/j.ejmech.2024.116140.

[65] Davies D T, 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 Infectious Diseases, 2020, 6(9): 2419-2430.

[66] Liu Bin, Trout R E L, Chu Guohua, et al. Discovery of taniborbactam (VNRX-5133): A broad-spectrum serine- and metallo-β-lactamase inhibitor for carbapenem-resistant bacterial infections[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2020, 63(6):2789-2801.

[67] Hecker S J, Reddy K R, Lomovskaya O, et al. Discovery of cyclic boronic acid QPX7728, an ultrabroad-spectrum inhibitor of serine and metallo-β-lactamases [J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2020, 63(14): 7491-7507.

[68] Palica K, Deufel F, Skagseth S, et al. α-aminophosphonate inhibitors of metallo-β-lactamases NDM-1 and VIM-2[J]. RSC Medicinal Chemistry, 2023, 14(11): 2277-2300.

[69] 朱开容. 2-氨基噻唑-4-羧酸类金属β-内酰胺酶抑制剂的设计、构效关系、复合物结构及逆转碳青霉烯耐药活性研究[D]. 成都: 四川大学, 2023:21-84.

[70] Meng Wanli, Liu Chenyu, Wu Guangxin, et al. Design, synthesis and antibacterial activity evaluation of ebselen derivatives in NDM-1 producing bacteria [J]. RSC Medicinal Chemistry, 2024, 15(6): 1959-1972.

[71] Chen Cheng, Yang Kewu, Wu Linyu, et al. Disulfiram as a potent metallo-β-lactamase inhibitor with dual functional mechanisms [J]. Chemical Communications, 2020, 56(18): 2755-2758.

[72] Kang Pengwei, Su Jianpeng, Sun Leyun, et al. 3-Bromopyruvate as a potent covalently reversible inhibitor of New Delhi metallo-β-lactamase-1 (NDM-1)[J/OL]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2020, 142: 105161. https://doi/org/10.1016/j.ejps.2019.105161.

[73] Chen Cheng, Sun Leyun, Gao Han, et al. Identification of cisplatin and palladium (II) complexes as potent metallo-β-lactamase inhibitors for targeting carbapenem-resistant Enterobacteriaceae[J]. ACS Infectious Diseases, 2020, 6(5):975-985.

[74] Hovd R R, Kaupang Å, Rongved P, et al. APC24-7, a covalent combination of boronic acid and Chelator moieties, restores β-lactam efficiency against metallo-β-lactamase-producers[J/OL]. mSphere,2025,10(12): e0041825. https://doi/org/ 10.1128/ msphere.00418-25.

[75] Liang Yaowen, Huang Manna, Zhu Xinhai, et al. A synergistic-available and high-potent New Delhi metallo-β- lactamase-1 (NDM-1) covalent inhibitor by the modification of naturally occurring 3-formyl chromone[J/OL]. Bioorganic Chemistry,2025,164:108902. https://doi/org/10.1016/j.bioorg.2025.108902.

[76] Ben Abderrazek R, Hamdi E, Piccirilli A, et al. Camel-derived nanobodies as potent inhibitors of new Delhi metallo-β-lactamase-1 enzyme[J/OL]. Molecules, 2024, 29(7): 1431. https://doi/org/10.3390/molecules29071431.

[77] Li Xiaohui, Wang Qian, Zheng Ji, et al. PHT_{427} as an effective New Delhi metallo-β- lactamase-1 (NDM-1) inhibitor restored the susceptibility of meropenem against *Enterobacteriaceae* producing NDM-1 [J/OL]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1168052. https://doi/org/10.3389/fmicb.2023.1168052.

[78] Shungube M, Reddy N, Ghazi T, et al. Development and *in vitro* evaluation of 1, 4, 7-triazacyclononane-coupled β-lactams against metallo-β-lactamase producing bacteria [J]. RSC Advances, 2025, 15(29): 23427-23440.

[79] Peters B K, Reddy N, Shungube M, et al. *In vitro* and *in vivo* development of a β-lactam-metallo-β-lactamase inhibitor: Targeting carbapenem-resistant enterobacterales[J]. ACS Infectious Diseases, 2023, 9(3):486-496.

[80] Shafaei A, Khan M S S, Aisha A F A, et al. Flavonoids-rich *Orthosiphon stamineus* extract as new candidate for angiotensin Ⅰ-converting enzyme inhibition: A molecular docking study[J/OL]. Molecules, 2016, 21(11): 1500. https://doi/org/10.3390/molecules21111500.

[81] Nagulapalli Venkata K C, Ellebrecht M, Tripathi S K. Efforts towards the inhibitor design for New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM-1)[J/OL]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021, 225: 113747. https://doi/org/ 10.1016/j.ejmech. 2021.113747.

[82] Ma Guixing, Wang Shanshan, Wu Kebin, et al. Structure-guided optimization of *D*-captopril for discovery of potent NDM-1 inhibitors[J/OL]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2021, 29: 115902. https://doi/org/10.1016/j.bmc.2020.115902.

[83] Vázquez-Ucha J C, Arca-Suárez J, Bou G, et al. New carbapenemase inhibitors: Clearing the way for the β-lactams[J/OL]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(23): 9308. https://doi/org/10.3390/ijms21239308.

[84] 周应勋, 王万存, 欧慧萍, 等. 具有SBLs和MBLs双重抑制活性的吡咯烷衍生物设计合成及逆转耐药菌活性研究[J]. 药学学报,2025, 60(9): 2837-2848.

[85] Jackson A C, Pinter T B J, Talley D C, et al. Benzimidazole and benzoxazole zinc chelators as inhibitors of metallo-β-lactamase NDM-1[J]. ChemMedChem, 2021, 16(4): 654-661.

[86] King A M, Reid-Yu S A, Wang Wenliang, et al. Aspergillomarasmine A overcomes metallo-β-lactamase antibiotic resistance[J]. Nature, 2014, 510(7506): 503-506.

[87] 苏荟琳. 咪唑-2-羧酸类金属β-内酰胺酶抑制剂的进一步结构优化研究[D]. 成都:西华大学,2022:21-33.

[88] 朱致熹, 张洁琳, 陈依军. 螯合剂类金属β-内酰胺酶抑制剂的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2022, 53(4): 410-422.

[89] 肖建敏. 新型荧光头孢菌素及巯基唑类金属β-内酰胺酶抑制剂的合成、表征及抗菌活性研究[D]. 西安: 西北大学, 2013:69-95.

[90] 丁浩胜. 基于铃木反应与点击化学合成磷酸类金属β-内酰胺酶抑制剂及初步活性研究[D]. 成都: 四川大学, 2021:31-48.

[91] 李根, 朱开容, 郭丽. 金属酶活性位点对比法发现新的金属β-内酰胺酶抑制剂[J]. 华西药学杂志, 2021, 36(5): 501-504.

[92] 胡建平, 左柯, 万华. 新德里金属-β-内酰胺酶-1的结构、催化机理及其抑制剂研究进展[J]. 成都大学学报(自然科学版), 2017, 36(2): 115-124.

[93] Chen Cheng, Yang Kewu. Structure-based design of covalent inhibitors targeting metallo-β-lactamases[J/OL]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2020, 203: 112573. https://doi/org/10.1016/j.ejmech.2020.112573.

[94] Baillie T A. Targeted covalent inhibitors for drug design[J]. Angewandte Chemie (International Ed in English), 2016, 55(43): 13408-13421.

[95] Chen Cheng, Xiang Yang, Yang Kewu, et al. A protein structure-guided covalent scaffold selectively targets the B1 and B2 subclass metallo-β-lactamases[J]. Chemical Communications, 2018, 54(38):4802-4805.

[96] Thomas P W, Cammarata M, Brodbelt J S, et al. Inside cover: Covalent inhibition of new Delhi metallo-β-lactamase-1 (NDM-1) by cefaclor (ChemBioChem 17/2014)[J/OL]. ChemBioChem, 2014, 15(17): 2474. https://doi/org/10.1002/cbic.201490059.

[97] Ma Youzhen, Liang Yongxi, Guo Menglu, et al. Strategic design of lysine-targeted irreversible covalent NDM-1 inhibitors[J/OL]. Chinese Chemical Letters, 2023, 34(7): 108072. https://doi/org/10.1016/j.cclet.2022.108072.

[98] Christopeit T, Albert A, Leiros H S. Discovery of a novel covalent non-β-lactam inhibitor of the metallo-β-lactamase NDM-1[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2016, 24(13): 2947-2953.

[99] Khan N H, Bui A A, Xiao Yang, et al. A DNA aptamer reveals an allosteric site for inhibition in metallo-β- lactamases[J/OL]. PLoS One, 2019, 14(4): e0214440. https://doi/org/10.1371/journal.pone.0214440.

[100] Sohier J S, Laurent C, Chevigné A, et al. Allosteric inhibition of VIM metallo-β-lactamases by a camelid nanobody[J]. The Biochemical Journal, 2013, 450(3): 477-486.

[101] Yang Yanan, Guo Yan, Zhou Yonglin, et al. Discovery of a novel natural allosteric inhibitor that targets NDM-1 against *Escherichia coli*[J/OL]. Frontiers in Pharmacology, 2020, 11: 581001. https://doi/org/10.3389/fphar.2020.581001.

[102] Thomas P W, Cho E J, Bethel C R, et al. Discovery of an effective small-molecule allosteric inhibitor of new Delhi metallo-β-lactamase (NDM)[J]. ACS Infectious Diseases, 2022, 8(4):811-824.

[103] Huang Liwen, Wong T F, Cheng Qipeng, et al. Inhibitor-dependent tolerance of new Delhi metallo-β-lactamase driven by single mutation-induced conformational changes[J]. Journal of the American Chemical Society, 2025, 147(30): 26389-26401.

[104] Walsh T R, Weeks J, Livermore D M, et al. Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: An environmental point prevalence study[J]. The Lancet Infectious Diseases, 2011, 11(5): 355-362.

[105] Wade N, Tehrani K H M E, Brüchle N C, et al. Mechanistic investigations of metallo-β-lactamase inhibitors: Strong zinc binding is not required for potent enzyme inhibition[J]. ChemMedChem, 2021, 16(10): 1651-1659.

[106] Yahiaoui S, Voos K, Haupenthal J, et al. *N*-aryl mercaptoacetamides as potential multi-target inhibitors of metallo-β-lactamases (MBLs) and the virulence factor LasB from *Pseudomonas aeruginosa*[J]. RSC Medicinal Chemistry, 2021, 12(10): 1698-1708.

[107] Ling Zhuoren, Farley A J M, Lankapalli A, et al. The triple combination of meropenem, avibactam, and a metallo-β-lactamase inhibitor optimizes antibacterial coverage against different β-lactamase producers [J]. Engineering, 2024, 38(7): 124-132.

[108] Lodise T P, O'Donnell J N, Balevic S, et al. Pharmacokinetics of ceftazidime-avibactam in combination with aztreonam (COMBINE) in a phase 1, open-label study of healthy adults[J/OL]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2022, 66(12): e0093622. https://doi/org/10.1128/aac.00936-22.

[109] Shi Yanrong, Wu Jichao, Mi Wei, et al. Ceftazidime-avibactam induced renal disorders: Past and present [J/OL]. Frontiers in Pharmacology, 2024, 15: 1329307. https://doi/org/10.3389/fphar.2024.1329307.

[110] van Helden S R, Al Musawa M, Bleick C R, et al. Cefepime-taniborbactam: Ushering in the era of metallo-β-lactamase inhibition[J]. Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy, 2025, 45(7): 448-461.

Research Progress on Metallo-β-Lactamases and Their Inhibitors

TONG Yao[1], *XUE Jinjing*[2,3], *WANG Heng*[1], *TIAN Lizhi*[2,3], *ZHOU Yonglin*[2,3], *WANG Jianfeng*[1*]

(1. College of Veterinary Medicine, Jilin University, Changchun 130062, China;
2. Key Laboratory of the Ministry of Education for Conservation and Utilization of Special Biological Resources in Western China, Ningxia University, Yinchuan 750021, China;
3. School of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract: Metallo-β-lactamases (MBLs) mediate resistance to carbapenem antibiotics in Gram-negative bacteria, and their widespread dissemination poses a serious threat to clinical anti-infective therapy. Currently, no MBL inhibitor has been approved for clinical use, highlighting the urgent need to develop novel inhibitors. This review systematically summarizes the classification, structural characteristics, and catalytic mechanisms of MBL subtypes. Based on the hierarchical structure of MBL active sites and the distinct modes of inhibitor action, we comprehensively examine recent advances in MBL inhibitors development and clarify the evolutionary trajectory from inhibitors targeting a single catalytic core sites to bifunctional and broad-spectrum inhibitors. Structure-based rational design is identified as a central strategy to develop high-efficiency and high-specificity MBL inhibitors. Moreover, diversified inhibitory strategies targeting the enzymatic active center, key amino acid residues, and allosteric sites provide new avenues for overcoming bacterial antimicrobial resistance. Future studies should further elucidate the relationship between MBL structure and function, integrate emerging drug-development technologies, overcome current research bottlenecks, and accelerate the clinical translation of potent MBL inhibitors. This review aims to provide a systematic theoretical reference for the development of novel MBL inhibitors and a scientific basis for the treatment of infections caused by multidrug-resistant bacteria.

Key words: metallo-β-lactamase; inhibitor; structural modification; drug resistance

（责任编辑　张　娣）