

www.pibb.ac.cn



分子模拟在多黏菌素药理机制研究中的应用*

蒋绪恺1) 肖 敏1) 王禄山2)**

(1)山东大学国家糖工程技术研究中心,青岛 266237;2)山东大学微生物技术国家重点实验室,青岛 266237)

摘要 多黏菌素是一种膜靶向的脂肽类抗生素,是临床上治疗革兰氏阴性多重耐药菌感染的最后一道防线。通过与脂多糖 相互作用,多黏菌素破坏细菌外膜结构并导致细菌死亡。然而,受限于生物化学和结构生物学手段对细胞膜-药物相互作用 的表征能力,目前对多黏菌素药理机制的认识还不充分,从而限制了新一代多黏菌素药物的设计和开发。为此,本文总结 了近年来利用分子动力学方法对细胞膜系统与多黏菌素相互作用的研究进展,为深入理解多黏菌素药理机制与细胞膜系统 的内在联系,加快新型抗生素药物研发提供新思路。

关键词 细菌耐药,细胞膜,多黏菌素,分子动力学模拟,抗生素设计中图分类号 Q61, R96DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0087

抗生素药物是20世纪最伟大的发明之一,在 医疗、环境、农牧业等领域得到了广泛应用^[1]。 然而,抗生素滥用导致的细菌耐药问题却给人类健 康带来了新的挑战^[2]。世界卫生组织已将细菌抗 生素耐药列为全球最严峻的公共卫生问题^[3],如 果不采取积极有效的措施,到2050年预计全球每 年将超过1000万人死于耐药细菌感染。为此,世 界卫生大会在2015年审议通过了抗生素耐药性全 球行动计划,呼吁各国政府和组织采取积极行动, 缓解细菌耐药危机。2022年10月,国家卫健委、 国家药监局等部门联合发布了《遏制微生物耐药国 家行动计划(2022-2025年)》,文件指出中国的 细菌耐药形势仍然不容乐观^[4]。因此,深入探究 细菌耐药的发生和传播机制,加快研发新一代抗生 素药物势在必行。

与革兰氏阳性菌相比,革兰氏阴性菌的耐药问题更加严峻。2021年全国细菌耐药监测报告显示^[5],在1434所医院分离的约374.3万例临床菌株中,革兰氏阴性致病菌占比71.1%,其中大肠杆菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌均位于总分离率的前5位,而且这些细菌已经产生对常用抗生素的高度耐药性。由于极高的感染率和致死率,世界卫生组织将多重耐药的大肠杆菌、肺

炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌列入极 度危险细菌名单,亟需开发新型有效的抗生素 药物^[68]。

多黏菌素是一类发现于多黏芽孢杆菌的天然抗 生素分子^[9],也是目前临床上治疗革兰氏阴性多 重耐药菌感染的最后一道防线。作为一种脂肽类抗 生素,多黏菌素通过结合细菌外膜的脂多糖 (LPS)分子,破坏细菌外膜结构,从而导致细菌 死亡^[10]。然而目前对其抗菌机制的深入认识仍十 分欠缺。另一方面,不断出现的多黏菌素耐药菌 株^[11],以及多黏菌素导致的严重肾毒性都成为制 约其临床应用的主要因素^[12]。本文从多黏菌素的 发现历史和设计入手,梳理了分子动力学模拟技术 在多黏菌素活性、耐药和肾毒性机制方面的最新进 展应用,并分析了这一领域的未来发展方向,为理 解多黏菌素药理机制,研发新一代多黏菌素药物提 供新思路。

Tel: 0532-58631417, E-mail: lswang@sdu.edu.cn 收稿日期: 2023-03-20, 接受日期: 2023-04-06

^{*}国家重点研发计划(2018YFA0902000,2021YFC2103100),国家自然科学基金(32100022)和山东省自然科学基金(ZR2022QC 014)资助项目。

^{**} 通讯联系人。

1 多黏菌素概述

多黏菌素最早于20世纪50年代在多黏芽孢杆 菌中发现,属于脂肽类抗生素分子。分子结构由N 端脂肪酸链、连接三肽和环状七肽构成。与大多数 抗生素药物靶向胞内作用靶点不同,多黏菌素主要 通过与细菌外膜中的LPS相互作用^[13],破坏外膜 的结构完整性,并导致细菌死亡^[10,14]。正是由于 这种特殊的膜靶向型作用机制,多黏菌素对革兰氏 阴性多重耐药菌仍然保有强力的杀菌效果,是目前 临床上革兰氏阴性治疗多重耐药菌感染的最后一道 防线^[15]。

自多黏菌素被发现以来,研究人员陆续发现了 多种天然多黏菌素,主要包括:多黏菌素A、B、 C、D、E、F、M、P、S和T分支。天然多黏菌素 的结构差异主要在于N端的脂肪酸基团以及第3、 6、7和10位的氨基酸残基。结构变化涵盖脂肪酸 长度差异、脂肪酸有无侧支、氨基酸种类和立体化 学异构差异等。2022年,洛克菲勒大学研究团队 通过基因组挖掘技术,发现一种全新的多黏菌素分 子并将其命名为Macolacin^[16]。该分子与多黏菌素 B具有相似的化学结构,保留相同的细菌外膜靶向 机制,但对多黏菌素B耐药菌株,例如肺炎克雷伯 菌、鲍曼不动杆菌和大肠杆菌,表现出更优异的抗 菌活性。这说明自然界中仍然存在着尚待挖掘的多 黏菌素分子,这为新型抗生素药物的挖掘和设计提 供了可能^[17]。

除了自然界天然存在的多黏菌素外,研究人员 设计超过2000种人工合成的多黏菌素,包括作者 团队利用化学全合成方法,开发的FADDI-039、 FADDI-287、FADDI-365等多种新型多黏菌素候选 药物^[18-20],其中FADDI-365正开展临床I期试验。 在最新研究中,中国医学科学院李卓荣研究员团 队^[21]借助于化学生物学方法,研究了多黏菌素类 分子的结构-活性和结构-毒性关系,并设计出具有 高抗菌活性、低肾毒性的新型多黏菌素类先导化合 物C-02。此外,山东大学下小莹教授团队^[22]发展 了一种基于合成生物学技术的多黏菌素分子改造策 略,为多黏菌素药物的设计提供了新方法。

值得注意的是,细菌形成多黏菌素耐药的比例 远低于其他抗生素。临床数据显示主要的革兰氏阴 性致病菌对常用治疗药物,例如氨苄西林、环丙沙 星、美罗培南等的耐药率超过50%,但对多黏菌素 耐药的比例仍低于1%^[5]。造成这种差异的原因在 于多黏菌素独特的膜靶向抗菌机制:LPS是多黏菌 素的主要作用靶点,其生物合成涉及多步酶催化反 应,属于典型的非模板式合成过程。因此,LPS具 有相对保守的化学结构,不容易受到基因突变的直 接影响,细菌也就难以快速通过改变LPS结构来形 成多黏菌素耐药。在细菌耐药形势愈发严峻的背景 下,多黏菌素高抗菌活性、易编辑的分子结构以及 低耐药发生率等特点表现出显著优势,使其成为一 类极具应用前景和开发潜力的抗生素分子^[23-24]。

2 多黏菌素药理机制与细胞膜系统的内在 关系

2.1 抗菌活性机制

除细胞膜以外,革兰氏阴性细菌还拥有一层特殊的外膜结构,主要由LPS、磷脂和外膜蛋白组成。细菌外膜是典型的非对称膜,外小页主要由LPS组成,内小页则主要是磷脂。通过相邻脂质形成的直接相互作用以及钙离子介导的间接相互作用,细菌外膜形成了对外源有害物质(例如抗生素)的渗透屏障,提高了逆境生存能力^[25]。多黏菌素通过与细菌外膜LPS相结合,破坏细菌外膜的结构完整性并导致细菌死亡。然而,通过传统的生物化学或生物物理手段,难以精确地分析多黏菌素与细菌外膜相互作用的细节,限制了多黏菌素抗菌机制以及结构-活性关系的深入研究。

近年来,国内外研究团队利用分子动力学模拟 技术,从不同角度探究了多黏菌素与细菌外膜的相 互作用机制(图1)。2015年, Berglund等^[26]研究 了多黏菌素B与大肠杆菌外膜的相互作用,发现多 个多黏菌素分子在细菌外膜表面发生聚集,并且多 黏菌素N端脂肪酸链部分地插入到外膜疏水区。这 种相互作用抑制了细菌外膜的流动,并导致外膜的 厚度减小。2017年, Santos 等^[27] 研究了多黏菌素 B与模型化细菌外膜的相互作用,发现多黏菌素B 的结合能够置换出原本结合在细菌外膜上的Ca²⁺, 导致细菌外膜曲率改变和结构稳定性降低。这些研 究为理解多黏菌素的抗菌机制提供了帮助,但依然 存在两个主要缺陷: a. 研究中细菌外膜的脂质组成 是理想化设置的, 难以反映细菌外膜的真实结构特 征; b. 研究中多黏菌素主要停留在细菌外膜的表 面,而不能实现跨膜运动,这也阻碍了对多黏菌素 抗菌活性机制的深入分析。

为了克服上述难题,作者团队利用细胞膜定量 脂质组学技术,分析了鲍曼不动杆菌外膜的脂质组

·921·

成,包括LPS的化学型和不同磷脂的精确比例,并 在此指导下搭建了具有生物真实度的细菌外膜结构 模型^[28]。此外,通过整合拉伸动力学和伞状取样 技术,实现对多黏菌素跨膜动态的全过程追踪,发 现多黏菌素在细菌外膜内部形成特异性折叠构象, 有助于充分结合细菌外膜LPS并破坏外膜结构^[10]。 在此基础上,结合化学生物学和药理学技术,进一 步分析了多黏菌素各结构位点在分子构象转变和跨 外膜运动中的作用,从而建立了多黏菌素全结构位 点的功能解析模型,全面地揭示了多黏菌素关键位 点的改造对抗菌活性的影响,为多黏菌素分子结构 的理性设计提供了一种新的方法。利用这一方法, 作者团队成功设计出了具有更高抗菌活性的新型多 黏菌素候选药物 FADDI-287^[19]。这些研究为从原 子水平上深入认识多黏菌素的抗菌活性机制,理性 设计新一代多黏菌素药物奠定了基础。

2.2 细菌耐药机制

随着多黏菌素的广泛使用, 鲍曼不动杆菌、铜 绿假单胞杆菌、肺炎克雷伯氏菌等开始出现对多黏 菌素的耐药^[15]。细菌采取了多种不同的策略来改 变外膜LPS的化学结构,抑制多黏菌素的活性。这 些策略包括: a. 双组分系统 PhoPQ、PmrAB等可 以感应环境中的抗生素分子、高浓度的铁离子或低 pH值,上调表达LPS结构修饰通路中的相关基因, 例如 arnT、eptA、pagL等,导致 LPS 中的脂质 A 组分发生磷酸乙醇胺、阿拉伯糖胺、脱脂酰化等修 佈^[29]; b. 2016年开始陆续发现的mcr-1到mcr-9基 因家族通过表达磷酸乙醇胺转移酶,促进LPS的乙 酰化修饰^[30-31],这些位于质粒中的mcr基因以水平 基因转移的方式,促进多黏菌素耐药在物种间的传 播,进一步加剧了细菌耐药危机; c. 最近在鲍曼不 动杆菌中的研究还发现 lpxA、lpxC和 lpxD 基因突 变会阻碍脂质A合成,导致细菌外膜LPS的完全丢 失,促使细菌产生高水平的多黏菌素耐药性^[28,32]。 这些研究都证明了外膜结构重塑是导致细菌产生多 黏菌素耐药的关键机制。尽管如此, LPS修饰或丢 失如何影响细菌外膜的结构特征,以及如何干扰与 多黏菌素相互作用的具体机制仍不明确。

作者团队通过多尺度分子模拟技术,揭示了细 菌外膜结构重塑导致多黏菌素耐药的多样化机制 (图1)。通过全原子分子动力学模拟手段,全面分 析了LPS磷酸乙醇胺修饰、阿拉伯糖胺修饰、脱脂 酰化修饰在多黏菌素耐药中的作用^[18, 33-34]。结果 发现,这些修饰显著降低了多黏菌素对细菌外膜的

结合,抑制了多黏菌素分子在外膜内部形成折叠构 象,并阻碍了多黏菌素的跨膜运动,从原子水平上 阐明了LPS修饰赋予的"防御型耐药"机制。作者 团队发现一种特化的鲍曼不动杆菌菌株只在有多黏 菌素的环境下才能生存。脂质组学分析表明这一菌 株完全丧失了LPS的合成能力,因此其细菌外膜是 一种LPS丢失的缺陷型结构。利用全原子分子动力 学模拟发现,多黏菌素以"补丁结合"的方式结合 到外膜表面,而不能插入细菌外膜内部^[28]。这种 特殊的结合方式反而增强了细菌外膜的结构稳定 性,揭示了一种由LPS丢失赋予的"多黏菌素依赖 型耐药"机制。另外,通过大尺度粗粒化分子模拟 手段,作者团队还分析了多黏菌素与LPS 糖链部分 的相互作用过程,发现LPS中的酸性多糖分子能够 招募大量的Ca²⁺,促进LPS分子间形成更复杂的交 叉作用网络,减少了多黏菌素分子与脂质A部分的 接触^[35]。基于此,作者提出了"能量陷阱"假说, 解释了革兰氏阴性菌对多价阳离子型抗生素广谱耐 药的理论机制。

通过分子动力学技术探究细菌形成多黏菌素耐 药的复杂机制,发现抑制多黏菌素折叠、降低多黏 菌素跨膜运动是最核心的两个因素。因此,提出了 基于"活性折叠构象筛选"和"跨膜热动力学分 析"的药物设计策略[18-19]。通过建立虚拟多黏菌 素分子库,探究其在细菌外膜内部的折叠情况和跨 膜自由能谱,实现药物抗菌活性的预测,从而大大 加快新一代抗超级细菌药物的设计和筛选。

2.3 肾毒性机制

多黏菌素曾一度因肾毒性而被禁止使用,直到 20世纪90年代革兰氏阴性多重耐药菌的大量出现, 多黏菌素才得以重新回归临床。然而,肾毒性问题 却依然是制约多黏菌素临床应用最主要的因素。为 了降低肾毒性发生,临床上往往采用次优剂量的多 黏菌素^[36],这不仅降低了治疗效果,还增加了细 菌产生多黏菌素耐药的风险。

多黏菌素诱发肾毒性的比例高达60%^[37],临 床表现包括蛋白尿、血尿和急性肾小管坏死,严重 者可出现急性肾功能衰竭^[38]。静脉注射给药后, 多黏菌素在肾脏中大量积累, 而几乎不在肝脏、肺 脏、心脏等器官中出现^[39],这种现象与肾小管上 皮细胞大量重吸收多黏菌素有关。经肾脏重吸收 后,肾小管上皮细胞内的多黏菌素浓度可达胞外浓 度的4760倍^[40]。这说明肾脏重吸收多黏菌素导致 胞内累积可能是造成肾毒性的源头。然而,目前对

Prog. Biochem. Biophys.

多黏菌素与肾脏细胞相互作用机制的认识还很不 充分。

作者团队根据肾小管上皮细胞膜脂质组成的实 验数据,建立了肾小管上皮细胞膜的三维结构模 型,结合分子动力学模拟和原子力显微成像技术, 分析了4种不同的多黏菌素对肾脏细胞膜的影 响^[41]。结果表明,虽然不同的多黏菌素均能快速 吸附到细胞膜表面,但对细胞膜造成结构损伤的程 度具有明显差异。不同的多黏菌素分子能够插入到 细胞膜的不同深度,增强细胞膜渗透性,从而干扰 细胞正常代谢活动。这一研究从细胞膜损伤的角度 揭示了多黏菌素肾毒性的机制,并初步探索了多黏 菌素的结构-肾毒性关系。此外,通过膜蛋白-多黏 菌素互作扫描体系,还发现多黏菌素能够识别并结 合离子通道蛋白Kir4.2和Kir5.1,导致两者维持在 开放构象状态,造成钾离子持续外流和细胞膜点位 紊乱,最终造成肾小管上皮细胞的代谢障碍^[42]。 这一研究说明多黏菌素对关键膜蛋白功能的干扰可 能也是诱发下游肾毒性反应的重要机制(图1)。



 Fig. 1 Applications of molecular dynamics simulations in the research of polymyxin pharmacology

 图1 分子动力学模拟在多黏菌素药理机制研究中的应用

3 总结与展望

多黏菌素是目前临床上治疗革兰氏阴性多重耐 药感染的最后一道防线。多黏菌素的结构易编辑 性、膜靶向的抗菌机制以及低耐药发生率,使其成 为一类极具开发潜力的抗生素分子。多黏菌素的药 理机制与细胞膜系统密切相关,但由于生物膜固有 的流动性和异质性特征,常规的生物化学实验技术 难以准确分析多黏菌素与细胞膜相互作用的分子机 制,这极大地限制了从根本上理解多黏菌素的药理 机制,也影响了新一代多黏菌素药物的研发。

随着分子模拟技术的不断发展,药物-细胞膜 互作计算体系为深入探究多黏菌素的药理学机制提 供了新思路。通过构建精确的细菌外膜、肾脏细胞 膜等模型,定量化表征多黏菌素与细胞膜系统的互 作模式,多黏菌素的药理学机制得到了更精细化的 剖析(图1)。然而,目前多黏菌素-细胞膜互作的 模拟研究仍是采用简化的细胞膜模型,例如膜蛋白 和脂质的糖基化修饰等因素未被考虑,同时细胞膜 的尺寸多是在几纳米到数十纳米的范围。这些因素 可能会影响对多黏菌素活性、耐药和毒性机制细节 的探究。因此,在未来工作中如何构建具有"生物 学真实度"的计算模拟体系,从更大的空间尺度、 更长的时间尺度上分析多黏菌素与细胞膜系统的相 互作用,将是进一步完善多黏菌素药理机制,建立 多黏菌素理性设计策略的重要方向。

参考文献

- Hutchings M I, Truman A W, Wilkinson B. Antibiotics: past, present and future. Curr Opin Microbiol, 2019, 51: 72-80
- [2] Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. Lancet, 2022, 399(10325): 629-655
- [3] World Health Organization. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report: 2021[EB/ OL]. Geneva: World Health Organization, 2021[2021-06-09]. https://www.who. int/publications-detail-redirect/9789240027336
- [4] 中华人民共和国国家卫生健康委员会.关于印发遏制细菌耐药国家行动计划(2022-2025年)的通知[EB/OL].北京:中华人民共和国国家卫生健康委员会,2022[2022-10-28].http://www.nhc.gov.cn/cms-search/xxgk/getManuscriptXxgk.htm?id=2875ad2877e2872b2872e2846a2872a672240ed672249ee672750f

National Health Commision of the People's Republic of China. Notice on the issuance of the national action plan to curb bacterial resistance (2022-2025) [EB/OL]. Beijing: National Health Commision of the People's Republic of China, 2022[2022-10-28]. http://www.nhc.gov.cn/cms-search/xxgk/getManuscriptXxgk. htm?id=2875ad2877e2872b2872e2846a2872a672240ed672249 ee672750f

[5] 全国细菌耐药监测网.2021年全国细菌耐药监测报告(简要版)[EB/OL].北京:全国细菌耐药监测网,2023[2023-1-10]. http://www.carss.cn/Report/Details?aId=862
China Antimicrobial Resistance Survelliance System. Report of national antimicrobial resistance 2021[EB/OL]. Beijing: China Antimicrobial Resistance Survelliance System, 2023[2023-1-10]. http://www.carss.cn/Report/Details?aId=862

- [6] 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. Lancet Infect Dis, 2018, 18(3): 318-327
- [7] Durand-Reville T F, Miller A A, O'donnell J P, et al. Rational design of a new antibiotic class for drug-resistant infections. Nature, 2021, 597(7878): 698-702
- [8] Mourtada R, Herce H D, Yin D J, et al. Design of stapled antimicrobial peptides that are stable, nontoxic and kill antibioticresistant bacteria in mice. Nat Biotechnol, 2019, 37(10): 1186-1197
- [9] Stansly P, Shepherd R, White H. Polymyxin: a new chemotherapeutic agent. Bull Johns Hopkins Hosp, 1947, 81(1): 43-54
- [10] Jiang X, Yang K, Yuan B, et al. Molecular dynamics simulations informed by membrane lipidomics reveal the structure-interaction relationship of polymyxins with the lipid A-based outer membrane of Acinetobacter baumannii. J Antimicrob Chemother, 2020, 75(12): 3534-3543
- [11] Olaitan A O, Morand S, Rolain J M. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. Front Microbiol, 2014, 5: 643
- [12] Aggarwal R, Dewan A. Comparison of nephrotoxicity of colistin with polymyxin B administered in currently recommended doses: a prospective study. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2018, 17(1): 15
- [13] Manioglu S, Modaresi S M, Ritzmann N, *et al.* Antibiotic polymyxin arranges lipopolysaccharide into crystalline structures to solidify the bacterial membrane. Nat Commun, 2022, **13**(1): 6195
- [14] Velkov T, Thompson P E, Nation R L, *et al.* Structure-activity relationships of polymyxin antibiotics. J Med Chem, 2010, 53(5): 1898-1916
- [15] Nang S C, Azad M a K, Velkov T, *et al.* Rescuing the last-line polymyxins: achievements and challenges. Pharmacol Rev, 2021, 73(2): 679-728
- [16] Wang Z, Koirala B, Hernandez Y, et al. A naturally inspired antibiotic to target multidrug-resistant pathogens. Nature, 2022, 601(7894): 606-611
- [17] Rabanal F, Cajal Y. Recent advances and perspectives in the design and development of polymyxins. Nat Prod Rep, 2017, 34(7): 886-908

- [18] Jiang X, Han M, Tran K, et al. An intelligent strategy with all-atom molecular dynamics simulations for the design of lipopeptides against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. J Med Chem, 2022, 65(14): 10001-10013
- [19] Jiang X, Patil NA, Azad MAK, et al. A novel chemical biology and computational approach to expedite the discovery of newgeneration polymyxins against life-threatening Acinetobacter baumannii. Chem Sci, 2021, 12(36): 12211-12220
- [20] Roberts K D, Zhu Y, Azad M a K, et al. A synthetic lipopeptide targeting top-priority multidrug-resistant Gram-negative pathogens. Nat Commun, 2022, 13(1): 1625
- [21] Yang H X, Xie Z S, Yi H, et al. Design, synthesis, and bioactivity investigation of cyclic lipopeptide antibiotics containing eight to nine amino acids. J Med Chem, 2023, 66(4): 2524-2541
- [22] Zhong L, Diao X, Zhang N, et al. Engineering and elucidation of the lipoinitiation process in nonribosomal peptide biosynthesis. Nat Commun, 2021, 12(1): 296
- [23] Yuk S A, Kim H, Abutaleb N S, et al. Nanocapsules modify membrane interaction of polymyxin B to enable safe systemic therapy of Gram-negative sepsis. Sci Adv, 2021, 7(32): eabj1577
- [24] Tang H, Zhang Y, Ma J, et al. Design, synthesis and antimicrobial studies of some polymyxin analogues. J Antibiot, 2020, 73(3): 158-166
- [25] Rojas E R, Billings G, Odermatt P D, et al. The outer membrane is an essential load-bearing element in Gram-negative bacteria. Nature, 2018, 559(7715): 617-621
- [26] Berglund N A, Piggot T J, Jefferies D, et al. Interaction of the antimicrobial peptide polymyxin B1 with both membranes of E. coli: a molecular dynamics study. PLoS Comput Biol, 2015, 11(4): e1004180
- [27] Santos D E S, Pol-Fachin L, Lins R D, et al. Polymyxin binding to the bacterial outer membrane reveals cation displacement and increasing membrane curvature in susceptible but not in resistant lipopolysaccharide chemotypes. J Chem Inf Model, 2017, 57(9): 2181-2193
- [28] Zhu Y, Lu J, Han M L, et al. Polymyxins bind to the cell surface of unculturable Acinetobacter baumannii and cause unique dependent resistance. Adv Sci, 2020, 7(15): 2000704
- [29] Huang J, Li C, Song J, et al. Regulating polymyxin resistance in Gram-negative bacteria: roles of two-component systems PhoPQ and PmrAB. Future Microbiol, 2020, 15(6): 445-459
- [30] Liu Y Y, Wang Y, Walsh T R, *et al*. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human

beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis, 2016, **16**(2): 161-168

- [31] Ling Z, Yin W, Shen Z, et al. Epidemiology of mobile colistin resistance genes mcr-1 to mcr-9. J Antimicrob Chemother, 2020, 75(11): 3087-3095
- [32] Moffatt J H, Harper M, Harrison P, et al. Colistin resistance in Acinetobacter baumannii is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(12): 4971-4977
- [33] Jiang X, Yang K, Han M L, et al. Outer membranes of polymyxinresistant Acinetobacter baumannii with phosphoethanolaminemodified lipid A and lipopolysaccharide loss display different atomic-scale interactions with polymyxins. ACS Infect Dis, 2020, 6(10): 2698-2708
- [34] Jiang X K, Yang K, Yuan B, *et al.* Simulations of octapeptin-outer membrane interactions reveal conformational flexibility is linked to antimicrobial potency. J Biol Chem, 2020, **295**(47): 15902-15912
- [35] Jiang X, Sun Y, Yang K, et al. Coarse-grained simulations uncover Gram-negative bacterial defense against polymyxins by the outer membrane. Comput Struct Biotechnol J, 2021, 19: 3885-3891
- [36] 李立,叶璟,胡蕾,等.多粘菌素用法及药代动力学研究进展. 药学与临床研究,2021,29(6):454-457 LiL,YeJ,HuL,*et al.* Pharm Clin Res, 2021,29(6):454-457
- [37] Kubin C J, Ellman T M, Phadke V, et al. Incidence and predictors of acute kidney injury associated with intravenous polymyxin B therapy. J Infect, 2012, 65(1): 80-87
- [38] 黄晨,肖永红.多粘菌素临床应用与困局.医药导报,2020, 39(1):10-16

Huang C, Xiao Y. Herald Med, 2020, 39(1): 10-16

- [39] Manchandani P, Zhou J, Babic J T, *et al.* Role of renal drug exposure in polymyxin B-induced nephrotoxicity. Antimicrob Agents Chemother, 2017, 61(4): e02391-16
- [40] Azad MA, Roberts K D, Yu H H, *et al.* Significant accumulation of polymyxin in single renal tubular cells: a medicinal chemistry and triple correlative microscopy approach. Anal Chem, 2015, 87(3): 1590-1595
- [41] Jiang X, Zhang S, Azad M A, et al. Structure-interaction relationship of polymyxins with the membrane of human kidney proximal tubular cells. ACS Infect Dis, 2020, 6(8): 2110-2119
- [42] Lu J, Azad M a K, Moreau J L M, *et al.* Inwardly rectifying potassium channels mediate polymyxin-induced nephrotoxicity. Cell Mol Life Sci, 2022, **79**(6): 296

JIANG Xu-Kai¹, XIAO Min¹, WANG Lu-Shan^{2)**}

(¹)National Glycoengineering Research Center, Shandong University, Qingdao 266237, China; ²)State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University, Qingdao 266237, China)

Graphical abstract



Abstract As a kind of membrane-active lipopeptide antibiotics, polymyxins are the last-line therapy against multidrug-resistant Gram-negative pathogens. Through interacting with the lipopolysaccharide molecules, polymyxins disorganize the structure of bacterial outer membrane, and finally lead to the cell death. Nevertheless, the precise mechanisms of polymyxin pharmacology remain largely unknown, which is mainly due to the limited ability of current biochemical and structural approaches to characterize the interaction between cell membranes and drugs. This in turn significantly hinders the design and development of new-generation polymyxins. In recent years, molecular dynamics simulations have been successfully applied in the field of polymyxin pharmacology. In particular, a series of simulation models, including bacterial membranes-polymyxins, and human cell membranepolymyxins, has been developed and tested. Previous studies have shown that polymyxin adopted a unique folded conformation in bacterial outer membrane, which played a key role in the antimicrobial activity of polymyxins. Further, various lipopolysaccharide modifications could change the structural and physical properties of bacterial outer membrane and thereby confer polymyxin resistance to bacteria. Moreover, recent studies revealed that polymyxins may disrupt the membrane of renal tubular cells, and also attenuate the function of different ion channels, which provide a clue to understand the detailed mechanism of polymyxin-induced nephrotoxicity. In this review, we summarized the applications of molecular dynamics simulations in the interaction of polymyxins with different biological membranes, with the aim to refresh our understanding of the link between polymyxin pharmacology and cell membranes and to provide mechanistic guides for the future design of novel antimicrobial drugs.

Key words bacterial resistance, cell membrane, polymyxin, molecular dynamics simulations, antibiotic discovery

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0087

Tel: 86-532-58631417, E-mail: lswang@sdu.edu.cn

^{*} This work was supported by grants from National Key Research and Development Program of China (2018YFA0902000, 2021YFC2103100), The National Natural Science Foundation of China (32100022), and Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2022QC014).
** Corresponding author.

Received: March 20, 2023 Accepted: April 6, 2023