

铁载体-抗生素耦合物:一种新型的抗菌制剂

张利^{1,2,3} 刘马峰^{1,2,3*} 程安春^{1,2,3*}

(1. 四川农业大学动物医学院 预防兽医研究所 四川 成都 611130)

(2. 四川农业大学动物医学院 禽病防治中心 四川 成都 611130)

(3. 四川农业大学 动物疫病与人类健康四川省重点实验室 四川 成都 611130)

摘要: 随着细菌对抗生素耐药性的增强,寻找一种新型抗菌制剂越来越重要。细菌细胞外膜对药物分子的通透性降低是引起致病菌产生耐药性的一个重要因素,克服膜介导耐药性的方法之一是利用铁载体-抗生素耦合物。铁载体是细菌分泌的一种小分子铁离子螯合物,与铁离子螯合后被特定的外膜受体识别并转运至胞浆内供细菌利用。人工合成的铁载体-抗生素耦合物被特定外膜受体识别后主动转运跨过外膜进入胞质内。当铁载体-抗生素耦合物到达细胞质,它们通过释放药物杀死微生物,这可以阻止进一步获取铁离子,并且耦合物自身也可以作为一种抗菌剂。本文综述了铁载体-抗生素耦合物作为一种新型抗菌制剂的研究进展,有助于为进一步研发新型抗菌药物提供理论基础,对治疗耐药性细菌性疾病具有潜在的重要意义。

关键词: 致病菌, 耐药性, 铁载体, 耦合物

Siderophore-antibiotic conjugates: the new antimicrobial agents

ZHANG Li^{1,2,3} LIU Ma-Feng^{1,2,3*} CHENG An-Chun^{1,2,3*}

(1. Institute of Preventive Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130, China)

(2. Avian Disease Research Center, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130, China)

(3. Key Laboratory of Animal Disease and Human Health of Sichuan Province, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130, China)

Abstract: To find novel antimicrobial agents are becoming more and more important, since microbial pathogens have increased the resistance to antibiotic. One of reasonable factors is bacteria decreased the membrane permeability to drugs. Siderophore is a small molecular compound secreted by bacteria. After chelating iron, the Siderophore complex was bound by specific outer membrane receptor and transported into the cell. Similarly, the synthesized Siderophore-antibiotic conjugates can be recognized

Foundation item: The Youth Science Fund Project of National Natural Science Foundation (No. 31302131); Postdoctoral Special Support Fund of Sichuan Province; The Ministry of Education of Doctoral Fund (Teachers) (No. 20135103120006); China Postdoctoral Science Foundation (No. 2014M552378)

***Corresponding author:** E-mail: LIU Ma-Feng: liumafengra@163.com; CHENG An-Chun: chenganchun@vip.163.com
Received: January 22, 2016; **Accepted:** April 29, 2016; **Published online** (www.cnki.net): May 06, 2016

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(No. 31302131); 四川省博士后特别资助基金项目; 教育部博士点基金项目(新教师类)(No. 20135103120006); 中国博士后科学基金项目(No. 2014M552378)

***通讯作者:** E-mail: 刘马峰: liumafengra@163.com; 程安春: chenganchun@vip.163.com

收稿日期: 2016-01-22; **接受日期:** 2016-04-29; **优先数字出版日期**(www.cnki.net): 2016-05-06

by bacteria and transported into the cell. As soon as the conjugates was transported into the cell, the antibiotic was released and killed the bacteria. Moreover, the conjugates also can prevent the bacteria get more iron. In this paper, we described the research progress of Siderophore-antibiotic conjugates as a novel antimicrobial agents. It will provide a theoretical basis for development of new antimicrobial agents and can help treat disease caused by antibiotic resistant disease.

Keywords: Pathogenic bacteria, Resistance, Siderophore, Conjugates

致病菌日益增强的耐药性成为一个对公众健康构成巨大威胁的严重问题^[1-2],这不仅是由于缺乏新型抗生素的研发,滥用抗生素也是一个非常重要的原因。细菌为竞争有限的生存资源所进化出的抗生素耐药性主要通过以下几种机制表现:(1)产生破坏抗生素的酶,如 β -内酰胺类酶;(2)对细胞外排药物机制的适应;(3)改变抗生素作用靶点的化学性质;(4)通过降低细胞壁的通透性来阻止药物扩散进入细胞内。由于细胞壁对抗生素的通透性降低增强了其它耐药机制活性,并且能降低靶点的最终药物浓度,因此显得更为重要。细菌对抗生素产生耐药性的现象给医学界和制药业敲响了警钟,除了寻找新的抗生素以外,更重要的是对现有有效药物的正确使用。

对于包括细菌在内的绝大多数生物而言,铁离子是一种必需的营养元素^[3]。研究表明,铁离子构成了氧化还原酶等重要生物酶的催化中心,参与了电子传递、抗氧化反应、核酸的合成等多种生命活动^[4]。在生理 pH (7.35–7.40)及有氧条件下,铁离子通常以含铁化合物的形式存在,溶解度极低(10^{-38} mol/L);在宿主体内,铁离子的来源主要包括血红素结合蛋白和铁离子结合蛋白,在血液和组织中游离的铁离子浓度仅为 10^{-24} mol/L,细菌生长所需要的铁离子浓度至少为 10^{-6} mol/L^[5]。细菌必需获得足够铁离子才能生长和致病,这种情况下,细菌主要通过两种方式获取铁离子:一是利用三价铁离子转运系统,二是利用血红素转运系统^[6]。在第一种方式中,细菌合成和分泌对铁离子具有高亲和力的铁载体^[7],它能够螯合三价铁离子形成铁载体- Fe^{3+} 复合物,这些铁载体- Fe^{3+} 复合物被特定外膜受体识别并转运进入细胞中供自身使用。在第二种

方式中,革兰氏阴性菌分泌血红素结合蛋白 Hemophore, Hemophore 可以从宿主的血红素结合蛋白中夺取血红素,将其传递给特异性的外膜受体并转运至细胞内供细菌使用^[8]。

致病菌对抗生素耐药性的持续增强使研发新型抗菌药物成为迫切需要。细菌耐药的重要机制之一是降低外膜通透性从而阻碍药物分子进入到细胞内。为了规避因这一机制介导而产生的耐药性,一种方法是将抗生素分子与铁载体连接起来形成铁载体-抗生素耦合物,铁载体-抗生素耦合物能够选择性地与细菌细胞膜表面的铁载体外膜受体发生相互作用,然后利用铁离子转运系统通过主动转运跨过细胞外膜^[9]。在这种情况下,绑定了抗生素的铁载体可以进而绑定 Fe^{3+} ,由此产生的复合物(抗生素-铁载体- Fe^{3+})进入到细胞,然后通过释放药物杀死微生物,进而发挥抗菌作用^[10]。近年来发现高铁霉素可以作为治疗细菌感染的潜在药物^[11-12]。高铁霉素是天然产生的可以共价连接到抗生素分子部分的铁载体-药物耦合物,它采用“特洛伊木马”策略^[10]借助铁离子吸收系统进入到细菌细胞,进而将药物分子传递到细胞内。“特洛伊木马”策略在传递药物分子方面比较有前景,能够将药物分子传递到特定药物或类药物分子的靶定位点。由此看来,“特洛伊木马”策略作为一种传递抗生素分子的新型方法对解决细菌的耐药问题具有开发潜力。

1 铁载体

在缺铁条件下,如病原菌在入侵哺乳动物宿主期间,许多微生物会合成和分泌铁载体。铁载体是由多种不同的生物酶在胞浆中合成的一类有机小分子化合物^[13]。迄今为止,有超过 500 种铁载体在

细菌、真菌、植物中被发现^[14]。这些化合物对铁离子具有较高的特异性和亲和性，能够螯合三价铁离子，从而提高细菌对 Fe^{3+} 的吸收效率。根据其螯合基团的化学性质，铁载体主要有 3 种类型，即羟肟酸盐型、儿茶酚盐型和羧酸盐型^[15]。羟肟酸盐型铁载体(图 1-I)是在自然界中最普遍存在的铁载体，这些铁载体由包括细菌和真菌在内的微生物产生。氧原子作为 Fe^{3+} 的配体，与 Fe^{3+} 的结合常数在 10^{22} – 10^{32} 之间^[16]，这种高亲和力的结合可以保护复合物，使其免受水解和酶促降解；儿茶酚盐型铁载体通常由一些细菌产生(图 1-II)，它们含有 2,3-二羟基苯甲酸结构，使苯环上相邻的两个羟基能够作为 Fe^{3+} 的配体；羧酸盐型铁载体(图 1-III)通常由细菌(如根瘤菌)和真菌(如毛霉菌目)产生，它通过羧基和羟基结合铁离子。其它不常见的铁载体结合铁的部分有羟基苯恶唑酮部分、 α -氨基羧酸部分、 α -羟基咪唑部分^[14]。大部分铁载体是六齿配体的氧供体，它们可与具有高热力学稳定性的 Fe^{3+} 形成一个共价连接的八面体复合物^[9]。同时，由于对其它重金属离子具有高亲和性的铁载体功能基团的存在，铁载体也可以与其它金属离子如 Al^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Ga^{3+} 、 Cr^{3+} 、

Pu^{3+} 和 Pu^{4+} 形成复合物^[17-18]。

2 Fe^{3+} -铁载体复合物在细菌细胞内的转运

革兰氏阴性菌对 Fe^{3+} -铁载体复合物的吸收依赖于外膜受体(Outer-membrane receptors, OMRs)、周质结合蛋白(Periplasmic binding proteins, PBPs)、TonB 复合物以及 ABC 转运体(ATP binding cassette transporters)等。 Fe^{3+} -铁载体复合物到达的第一个靶点是能识别并结合该复合物的特定外膜受体(OMRs)。 Fe^{3+} -铁载体复合物的跨膜主动运输是一个依赖能量的过程^[19]，这个能量由 TonB 复合物提供，它由 3 种周质膜蛋白构成：TonB、ExbB 和 ExbD^[20]。这 3 种蛋白分别嵌入到细胞质膜上^[11]。TonB 复合物借助细胞膜上的质子动力到达外膜，从而促进 Fe^{3+} -铁载体复合物从外膜主动转运到细胞周质，然后与周质结合蛋白相结合^[21]。形成的 Fe^{3+} -铁载体-PBPs 复合物通过 ABC 转运体跨过细胞内膜转运到细胞质。ABC 转运体位于细胞内膜，它能利用 ATP 水解产生的能量将复合物逆浓度梯度泵到细胞质外面^[22]。一旦铁载体到达细胞质， Fe^{3+} 就会被释放出来。 Fe^{3+} 释放是由结合于铁载体上的 Fe^{3+} 被铁还原酶还原成 Fe^{2+} ，而 Fe^{2+} 与铁载体的亲和力很低， Fe^{2+} 就会从铁载体上解离下来，随后转移到细胞膜或者细胞内的各种受体分子上供细菌自身使用。游离的铁载体通过主动外排系统被排出或降解^[23]。

与革兰氏阴性菌相反，革兰氏阳性菌不具备外膜或周质区， Fe^{3+} -铁载体复合物转运到细菌细胞质的途径不确定是否与革兰氏阴性菌不同。除此之外，它们都存在周质结合蛋白受体和 ABC 转运体。如金黄色葡萄球菌的周质结合蛋白(PBPs)受体对 Fe^{3+} -铁载体复合物表现出更高的亲和力，从而可以从环境中摄取 Fe^{3+} -铁载体复合物，并在 ABC 转运体的协助下转运到革兰氏阳性菌的细胞质^[24]。

3 铁载体作为潜在的递药工具

3.1 铁载体介导的药物传递

因通透介导而产生的耐药性有两种解决方法：一种是与药物联合来破坏细菌细胞外膜，还有一种

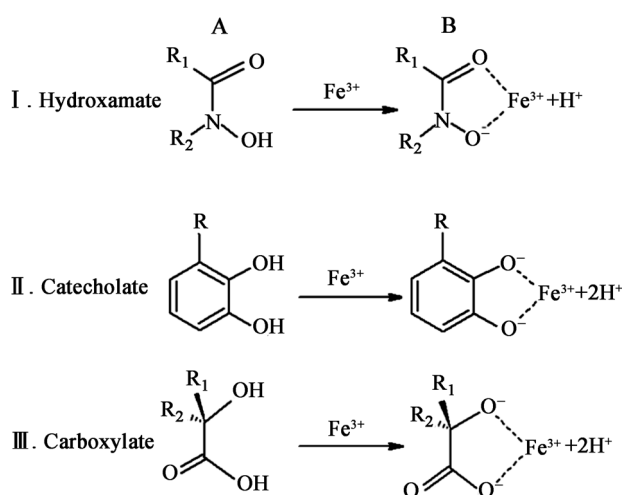


图 1 几种主要的铁载体的结构(A)及铁载体的主要功能团与铁离子形成的复合物(B)

Figure 1 The main structural component of siderophores (A) and complexes of the main functional groups of siderophores with iron (Fe^{3+}) (B)

是利用细菌自身的营养元素吸收系统。由于 Fe^{3+} 通常存在于含铁蛋白中使细菌不能直接利用, 因此由铁载体介导的三价铁离子吸收系统对病原菌的生存非常重要(图 2)。细菌主要通过两种方式摄取 Fe^{3+} : 一是利用它们自身产生的铁载体, 如铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)产生的 Pyoverdine 和 Pyocheline^[25], 二是利用其它细菌合成分泌的外源铁载体来摄取铁离子^[26]。在第二种情况下, 细菌形成了新的外膜受体来识别这些外源铁载体, 例如由大肠杆菌(*Escherichia coli*)、沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)、肺炎克雷伯杆菌(*Klebsiella pneumoniae*)及其它一些肠杆菌产生的肠杆菌素^[27]。在 Fe^{3+} -肠杆菌素复合物存在情况下, 细菌能够形成新的铁载体吸收系统来摄取这些复合物。基于这个原因, 铁载体- Fe^{3+} 吸收系统被证明可以作为抗微生物治疗的合适靶点。

目前在这个领域有 3 种方法可以应用: (1) 利用其它金属离子螯合铁载体从而竞争铁离子^[28]; (2) 抑制细菌细胞内铁载体的生物合成^[29]; (3) 利用铁载体介导来传递药物分子。我们主要讨论的是有关

铁载体介导的药物传递(图 2), 这涉及到对“特洛伊木马”策略的应用。“特洛伊木马”治疗药物能够提高单元细胞吸收率并允许通过非渗透性生物膜, 这对于小分子和大分子药物的传递提供了一个新的方法。“特洛伊木马”策略也可能会应用于其它重金属离子如 Ga^{3+} ^[30], 能够进入细菌细胞从而阻断体内铁的代谢并干扰被膜的形成。不过, 这个策略由于缺乏选择性及无法控制的渗透性, 在体内应用可能会引起许多副作用和毒性。

3.2 天然和合成的铁载体-药物耦合物

3.2.1 铁载体-药物耦合物的结构: 从结构上看, 铁载体-药物耦合物由三部分构成(图 3): 铁载体、一个连接器及药物分子。这三部分均发挥着重要功能: (1) 铁载体的作用是结合铁离子, 但对于药物的活性和连接器的稳定性影响不大。目前应用最多的是儿茶酚盐型铁载体和氧肟酸盐型铁载体^[31]。Miller 等最近报道了由 3 个儿茶酚盐铁载体与氨苄青霉素形成的耦合物^[32]。(2) 连接器是耦合物的关键组分, 在某些情况下, 药物分子必需从铁载体中释放出来才能发挥药效。连接器的功能是将药物分

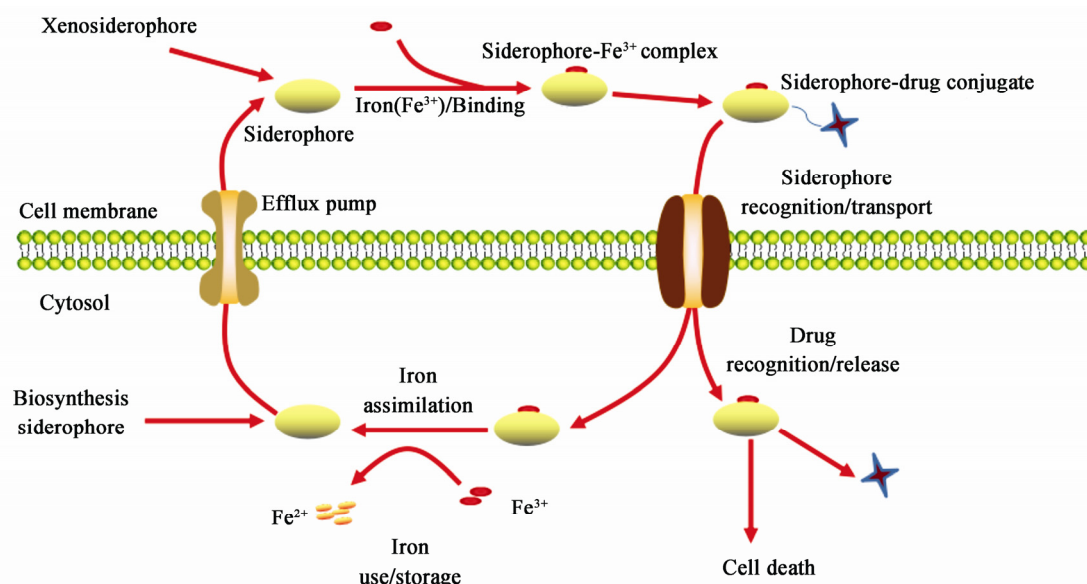


图 2 细菌内铁载体介导药物传递的一般模型

Figure 2 General model of siderophore-mediated drug delivery in bacteria

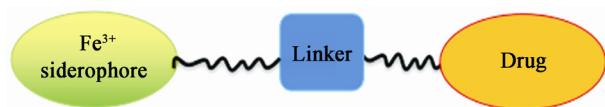


图3 铁载体-药物耦合物示意图

Figure 3 Schematic representation of a siderophore-drug conjugate

子与铁载体连接在一起, 决定药物分子是否在细胞中释放以及释放的方式(化学还是酶促)。理想的连接器需要能够抵抗外界环境, 它不仅在给药后药物的运输过程中能保持铁载体-药物耦合物的稳定性, 而且在细胞内能将药物分子有效解离。目前有两种连接器应用最多: 一种是非水解性的丁二酰连接器, 另一种是亚甲二氧基连接器, 它在细菌体内是不稳定的^[33]。有研究者将连接器的应用与细菌体内铁离子代谢的还原途径联系起来, 例如, Miller 等在设计合成新的铁载体-药物耦合物时采用了“三甲基锁”连接器^[34], 它能在酯酶和磷酸酶的作用下诱导发生内酯化反应, 促进了耦合物转运进入细胞后药物的释放^[35]。近来抗菌活性试验表明, 铁载体与抗生素分子通过一个具有还原性的连接器形成的耦合物, 与通过相对稳定的连接器形成的耦合物相比更有抗菌活性, 这进一步说明了药物分子是在细胞内发生释放的^[36]。(3) 药物分子的功能是决定发挥何种药效。

3.2.2 天然形成的铁载体-药物耦合物: 为了确保有一个竞争生长优势, 细菌进化出了能利用其它微生物产生的外源铁载体来识别和转运铁载体- Fe^{3+} 复合物的机制。沿着这个进化途径, 一些细菌通过向铁载体添加有毒药物成分来传递药物分子。这些天然产生的铁载体-药物复合物由铁载体和抗生素构成, 也被称为高铁霉素类, 包括达诺霉素、盐霉素、白霉素、铁霉素和微霉素等^[9], 由链霉菌和放线菌产生。对白霉素的研究比较多, 与真菌的铁载体结构相似, 白霉素的三异丙基乙磺酰结构部分被 FhuA^[37]受体和 FhuD^[38]结合蛋白识别。在 FhuD 绑定下, 白霉素通过一个位于细胞质内侧的 ABC 转

运体主动转运到细胞质, 一旦进入细胞, 这个有毒性的硫代核糖嘧啶被丝氨酸蛋白酶激活发生酶促反应, 并通过抑制氨酰 tRNA 合成酶的活性来阻碍蛋白质的合成。盐霉素是 Vértessy 等在 1995 年从紫色链霉菌 DSM8286 中分离出来的^[39], 通过铁离子还原剂引发分子内环化过程来释放氨基糖苷类抗生素成分^[40]。与白霉素相比, 盐霉素在抑制多重耐药金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)方面有更高的疗效, 尤其是外排介导的葡萄球菌, 而白霉素对其没有作用^[41]。相反, 与盐霉素只对革兰氏阳性菌有效(肺炎克雷伯菌除外)不同的是, 白霉素既能有效抑制革兰氏阳性菌的生长, 又能有效抑制革兰氏阴性菌的生长^[41]。

3.2.3 合成的铁载体-药物耦合物: 利用天然的 Fe^{3+} -铁载体吸收系统合成铁载体-药物耦合物模型在抗菌治疗方面很有前景^[30,36]。研究表明, 合成的铁载体-药物耦合物在规避常见抗生素耐药机制, 如外膜通透性障碍、相关酶的失活、外排机制等方面是有效的^[30,42]。到目前为止, 已有多篇文献报道了关于带有能结合 Fe^{3+} 的侧链的 β -内酰胺类抗生素以及铁载体- β -内酰胺类抗生素耦合物^[28,43]。研究表明, 合成的带有 β -内酰胺类抗生素的耦合物具有抗菌活性。当它们通过细菌细胞被摄取后, 铁载体- β -内酰胺类抗生素耦合物结合到位于外周胞质的青霉素结合蛋白上, 进而抑制了革兰氏阴性菌的生长^[5]。以肠杆菌素- β -内酰胺类抗生素耦合物为例, 氨苄西林/阿莫西林通过一个稳定的聚乙二醇连接器与肠杆菌素耦合, 在缺铁条件下, 与抗生素自身相比, 这些耦合物能显著抑制大肠杆菌的生长^[44]。

许多研究也强调了在抗生素治疗中混合铁载体耦合物的使用。例如, Wencewicz 等最新报道了将氧肟酸盐和儿茶酚盐共价连接碳头孢菌素形成混合铁载体耦合物^[40], 它能有效抑制革兰氏阴性菌鲍氏不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)的生长。混合铁载体与碳头孢菌素通过一个丁二酰连接器连接, 能够通过铁载体介导的铁离子吸收系统跨过细

胞外膜进而发挥抗菌作用。

4 铁载体-药物耦合物的应用

一些合成的铁载体-药物耦合物能够有效治疗多耐药性细菌感染和其他人类疾病, 如以葡萄球菌胆铁质为基础合成的新型铁载体-药物耦合物, 它具有潜在靶向葡萄球菌的潜能, 这是因为葡萄球菌自身也能分泌该种类型的铁载体^[45]。金黄色葡萄球菌能在人体皮肤、鼻腔、内脏等处生长繁殖并引发这些部位的感染, 如由耐甲氧西林葡萄球菌引起的手术部位感染、菌血症、下呼吸道感染等。葡萄球菌胆铁质的优势在于它具有亲水性, 能提高耦合物在体内的水溶性。此外, 葡萄球菌胆铁质作为一种羧酸盐型铁载体在弱酸条件下比较稳定, 如此形成的耦合物可有效用于皮肤感染如皮肤炎等。

一种由链球菌产生的去铁胺被发现具有抗菌作用, 它能利用“特洛伊木马”策略结合游离的 Fe^{3+} 形成水溶性铁霉素, 最终由肾脏排出体外^[46]。此外, 一些合成的铁载体-药物耦合物能够有效治疗多耐药性细菌感染和其他人类疾病。如分枝菌素-青蒿素耦合物能选择性治疗肺结核和疟疾^[47]。尽管抗疟疾药物青蒿素自身对结核病没有药效, 但当它与结核菌素耦合起来具有抗结核作用, 能有效作用于多种耐药性结核分枝杆菌, 并且耦合物也同时具有抗疟作用。

但是, 铁载体-药物耦合物可能也会遇到耐药机制, 因为铁载体-抗生素耦合物的运输依赖于特定外膜转运体(TonB 依赖性受体), 如果这个受体缺失可能会影响这些耦合物的转运^[38]。但由于铁载体-药物耦合物能够靶向多个 TonB 依赖性受体, 这可能会降低对这些耦合物的耐药性。

5 展望

铁载体-药物耦合物具有较高的治疗潜力, 这使得它在相关医疗方面逐渐受到关注。合成铁载体-药物耦合物的关键之处在于对铁载体的选择, 需要考虑细菌是不是通过自身分泌铁载体来螯合铁离子, 如果自身不能分泌, 是不是通过利用外源铁载

体来获取铁离子? 此外, 在设计合成铁载体-药物耦合物时还要注重选择合适的药物分子和连接器, 使得合成的铁载体-药物耦合物能够发挥最佳的药物运输作用。抗生素与铁载体耦合来促进抗生素转运到细菌细胞的想法引起了广泛关注, 但并不是所有的抗生素分子与铁载体耦合后均能增强抗菌活性, 比如部分铁载体与环丙沙星形成的耦合物的抗菌活性相比抗生素分子自身来说较弱^[36], 这是否因为铁载体与抗生素作用后结构发生变化而影响外膜受体对它的识别呢? 或者是否因为连接器进入细胞后活性发生了变化? 这都需要进一步探究。对铁载体及铁载体-药物耦合物结构特点的研究对以后这类耦合物的合成具有重要意义, 为解决多重耐药性细菌性疾病问题具有重要的参考意义。

参考文献

- [1] Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, et al. Bad bugs, no drugs: no ESCAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2009, 48(1): 1-12
- [2] Spellberg B, Guidos R, Gilbert D, et al. The epidemic of antibiotic-resistant infections: a call to action for the medical community from the Infectious Diseases Society of America[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2008, 46(2): 155-164
- [3] Liao HB, Liu MF, Cheng XJ, et al. The detection of heme-binding proteins in *Riemerella anatipestifer* CH-1[J]. *Current Microbiology*, 2016, 72(2): 152-158
- [4] Nairz M, Schroll A, Sonnweber T, et al. The struggle for iron-a metal at the host-pathogen interface[J]. *Cellular Microbiology*, 2010, 12(12): 1691-1702
- [5] Möllmann U, Heinisch L, Bauernfeind A, et al. *Siderophores* as drug delivery agents: application of the “Trojan Horse” strategy[J]. *Biomaterials*, 2009, 22(4): 615-624
- [6] Liu MF, Boulouis HJ, Biville F. Heme degrading protein HemS is involved in oxidative stress response of *Bartonella henselae*[J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e37630
- [7] Wandersman C, Delepelaire P. Bacterial iron sources: from siderophores to hemophores[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2004, 58: 611-647
- [8] Shui Y, Liu MF, Cheng AC. Structural properties and molecular mechanisms of heme-degrading proteins in bacteria[J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2015, 31(8): 806-814 (in Chinese)
税芸, 刘马峰, 程安春. 细菌血红素降解蛋白结构特点及作用机制[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2015, 31(8): 806-814
- [9] Görska A, Sloderbach A, Marszał MP. Siderophore-drug complexes: potential medicinal applications of the ‘Trojan horse’ strategy[J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2014, 35(9): 442-449
- [10] Huang YZ, Jiang YF, Wang HY, et al. Curb challenges of the “Trojan Horse” approach: smart strategies in achieving effective yet safe cell-penetrating peptide-based drug delivery[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2013, 65(10): 1299-1315
- [11] Braun V, Pramanik A, Gwinner T, et al. Sideromycins: tools and antibiotics[J]. *Biomaterials*, 2009, 22(1): 3-13

- [12] Thomas X, Destoumieux-Garzón D, Peduzzi J, et al. Siderophore peptide, a new type of post-translationally modified antibacterial peptide with potent activity[J]. Journal of Biological Chemistry, 2004, 279(27): 28233-28242
- [13] Saha M, Sarkar S, Sarkar B, et al. Microbial siderophores and their potential applications: a review[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2016, 23(5): 3984-3999
- [14] Hider RC, Kong XL. Chemistry and biology of siderophores[J]. Natural Product Reports, 2010, 27(5): 637-657
- [15] Crosa JH, Walsh CT. Genetics and assembly line enzymology of siderophore biosynthesis in bacteria[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2002, 66(2): 223-249
- [16] Winkelmann G. Ecology of siderophores with special reference to the fungi[J]. Biometals, 2007, 20(3/4): 379-392
- [17] Miethke M, Marahiel MA. Siderophore-based iron acquisition and pathogen control[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2007, 71(3): 413-451
- [18] Boukhalfa H, Reilly SD, Neu MP. Complexation of Pu (IV) with the natural siderophore desferrioxamine B and the redox properties of Pu (IV) (siderophore) complexes[J]. Inorganic Chemistry, 2007, 46(3): 1018-1026
- [19] Krewulak KD, Vogel HJ. Structural biology of bacterial iron uptake[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2008, 1778(9): 1781-1804
- [20] Liao HB, Liu MF, Cheng AC. Structural features and functional mechanism of TonB in some Gram-negative bacteria[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2015, 55(5): 529-536 (in Chinese)
廖何斌, 刘马峰, 程安春. 部分革兰氏阴性菌 TonB 蛋白的结构特点及作用机制[J]. 微生物学报, 2015, 55(5): 529-536
- [21] Liao HB, Cheng XJ, Zhu DK, et al. TonB energy transduction systems of *Riemerella anatipestifer* are required for iron and heme utilization[J]. PLoS One, 2015, 10(5): e0127506
- [22] Lubelski J, Konings WN, Driessen AJM. Distribution and physiology of ABC-type transporters contributing to multidrug resistance in bacteria[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2007, 71(3): 463-476
- [23] Ballouche M, Cornelis P, Baysse C. Iron metabolism: a promising target for antibacterial strategies[J]. Recent Patents on Anti-infective Drug Discovery, 2009, 4(3): 190-205
- [24] Wenciewicz TA, Long TE, Möllmann U, et al. Trihydroxamate siderophore-fluoroquinolone conjugates are selective sideromycin antibiotics that target *Staphylococcus aureus*[J]. Bioconjugate Chemistry, 2013, 24(3): 473-486
- [25] Budzikiewicz H. Siderophore-antibiotic conjugates used as Trojan horses against *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Current Topics in Medicinal Chemistry, 2001, 1(1): 73-82
- [26] Strange HR, Zola TA, Cornelissen CN. The *fbpABC* operon is required for Ton-independent utilization of xenosiderophores by *Neisseria gonorrhoeae* strain FA19[J]. Infection and Immunity, 2011, 79(1): 267-278
- [27] Page MGP. Siderophore conjugates[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2013, 1277(1): 115-126
- [28] Miller MJ, Zhu H, Xu YP, et al. Utilization of microbial iron assimilation processes for the development of new antibiotics and inspiration for the design of new anticancer agents[J]. Biometals, 2009, 22(1): 61-75
- [29] Neres J, Labello NP, Somu RV, et al. Inhibition of siderophore biosynthesis in *Mycobacterium tuberculosis* with nucleoside bisubstrate analogues: structure-activity relationships of the nucleobase domain of 5'-O-[N-(salicyl) sulfamoyl] adenosine[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2008, 51(17): 5349-5370
- [30] Juárez-Hernández RE, Miller PA, Miller MJ. Syntheses of siderophore-drug conjugates using a convergent thiol-maleimide system[J]. ACS Medicinal Chemistry Letters, 2012, 3(10): 799-803
- [31] Souto A, Montaos MA, Balado M, et al. Synthesis and antibacterial activity of conjugates between norfloxacin and analogues of the siderophore vanchrobactin[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2013, 21(1): 295-302
- [32] Ji C, Miller PA, Miller MJ. Iron transport-mediated drug delivery: practical syntheses and *in vitro* antibacterial studies of tris-catecholate siderophore-aminopenicillin conjugates reveals selectively potent antipseudomonal activity[J]. Journal of the American Chemical Society, 2012, 134(24): 9898-9901
- [33] Mislin GLA, Schalk IJ. Siderophore-dependent iron uptake systems as gates for antibiotic Trojan horse strategies against *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Metallomics, 2014, 6(3): 408-420
- [34] Ji C, Miller MJ. Chemical syntheses and *in vitro* antibacterial activity of two desferrioxamine B-ciprofloxacin conjugates with potential esterase and phosphatase triggered drug release linkers[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2012, 20(12): 3828-3836
- [35] Levine MN, Raines RT. Trimethyl lock: a trigger for molecular release in chemistry, biology, and pharmacology[J]. Chemical Science, 2012, 3(8): 2412-2420
- [36] Ji C, Miller MJ. Siderophore-fluoroquinolone conjugates containing potential reduction-triggered linkers for drug release: synthesis and antibacterial activity[J]. Biometals, 2015, 28(3): 541-551
- [37] Ferguson AD, Braun V, Fiedler HP, et al. Crystal structure of the antibiotic albomycin in complex with the outer membrane transporter FhuA[J]. Protein Science, 2000, 9(5): 956-963
- [38] Clarke TE, Braun V, Winkelmann G, et al. X-ray crystallographic structures of the *Escherichia coli* periplasmic protein FhuD bound to hydroxamate-type siderophores and the antibiotic albomycin[J]. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(16): 13966-13972
- [39] Vértessy L, Aretz W, Fehlhäber HW, et al. Salmycin A-D, Antibiotika aus *Streptomyces violaceus*, DSM 8286, mit Siderophor-Aminoglycosid-Struktur[J]. Helvetica Chimica Acta, 1995, 78(1): 46-60
- [40] Wenciewicz TA, Miller MJ. Biscatecholate-monohydroxamate mixed ligand siderophore-carbacephalosporin conjugates are selective sideromycin antibiotics that target acinetobacter baumannii[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2013, 56(10): 4044-4052
- [41] Wenciewicz TA, Möllmann U, Long TE, et al. Is drug release necessary for antimicrobial activity of siderophore-drug conjugates? Syntheses and biological studies of the naturally occurring salmycin "Trojan Horse" antibiotics and synthetic desferrioxamine-antibiotic conjugates[J]. Biometals, 2009, 22(4): 633-648
- [42] Andrade MM, Rauter AP. Synthesis of carbohydrate-based artificial siderophores and their biological applications[J]. Journal of Carbohydrate Chemistry, 2012, 38: 398-415
- [43] Heinisch L, Wittmann S, Stoiber T, et al. New tris- and tetrakis-catecholate siderophores based on polyazaalkanoic acids and their β -lactam conjugates[J]. Arzneimittel-Forschung/Drug Research, 2003, 53(3): 188-195
- [44] Zheng TF, Nolan EM. Enterobactin-mediated delivery of β -lactam antibiotics enhances antibacterial activity against pathogenic *Escherichia coli*[J]. Journal of the American Chemical Society, 2014, 136(27): 9677-9691
- [45] Milner SJ, Seve A, Snelling AM, et al. Staphyloferrin A as siderophore-component in fluoroquinolone-based Trojan horse antibiotics[J]. Organic & Biomolecular Chemistry, 2013, 11(21): 3461-3468
- [46] Nagoba B, Vedpathak DV. Medical applications of siderophores-a review[J]. European Journal of General Medicine, 2011, 8(3): 229-235
- [47] Miller MJ, Walz AJ, Zhu H, et al. Design, synthesis, and study of a mycobactin-artemisinin conjugate that has selective and potent activity against tuberculosis and malaria[J]. Journal of the American Chemical Society, 2011, 133(7): 2076-2079