

# 代谢组学技术在抗结核新药研发中的应用研究进展<sup>Δ</sup>

古秀娟<sup>1\*</sup>, 曾娅莉<sup>1,2#</sup>, 邓建军<sup>2,3</sup>, 霍婷婷<sup>3</sup>, 王玉琳<sup>3</sup>, 杨洁<sup>3</sup>(1.西南医科大学临床检验系, 四川 泸州 646000; 2.四川绵阳四〇四医院临床检验科, 四川 绵阳 621010; 3.西南科技大学固体废物处理与资源化教育部重点实验室, 四川 绵阳 621010)

中图分类号 R52;R378.91<sup>1</sup>;R96 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)04-0560-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.04.26

**摘要** 目的:了解代谢组学技术应用于结核分枝杆菌(MTB)代谢物及代谢途径检测的研究情况,为开发治疗耐药MTB感染的安全新药提供参考。方法:以“结核分枝杆菌”“代谢组学”“药物靶点”“药物研发”等的中英文为关键词,在PubMed、中国知网、维普等数据库中组合检索2012年—2018年6月发表的相关文献,并从抗结核药物的新靶点(包括MTB脂代谢、能量代谢、氨基酸代谢、miRNA等途径)、新抗菌化合物的筛选(主要是抑制MTB呼吸链的抗菌化合物)及抗结核新药的临床前评价等3个方面总结代谢组学技术应用于抗结核新药研发的研究进展。结果与结论:共获得相关文献948篇,其中有效文献40篇。应用代谢组学技术研究发现,干扰脂代谢途径的相关酶或基因等(如分枝菌酸、乙酰辅酶A羧化酶、脂酰辅酶A合成酶、泛酸等),干扰能量代谢的异柠檬酸裂解酶,抑制氨基酸代谢途径中的色氨酸合成代谢途径、β-碳酸酐酶合成途径、丙酮酸激酶相关途径,抑制miRNA调控途径等均可作为抗结核药物研发的新作用靶点。通过代谢组学技术已经发现细胞色素bc1复合物QcrB的抑制剂Q203、QOAS,腺苷三磷酸合酶FoF1-ATP抑制剂,细胞色素AtpE抑制剂BDQ,二芳基喹啉(DARQS)等呼吸链抑制化合物,以及腺苷酸合成酶MbtA抑制剂、还原型辅酶I脱氢酶II抑制剂、蛋白酶ClpP和膜蛋白复合体3的抑制剂、脂肪酰基-腺苷一磷酸(AMP)连接酶FadD32和聚酮合成酶的抑制剂等抗菌化合物。应用代谢组学技术分析药物作用后机体的代谢变化,可为抗结核药物的毒性、安全性、疗效等评价提供技术手段。但目前对于代谢组学技术所获数据的处理方法尚不完善,数据分析模型尚需进一步完善与优化;此外,国内对代谢组学技术应用于抗结核药物研发的研究范围较窄,且易漏掉对不稳定的小分子和大分子代谢物的分析,因此需结合蛋白质组学或转录组学以更高效、准确地为抗结核新药研发提供支持。

**关键词** 代谢组学技术;结核分枝杆菌;耐药;靶点;抗菌化合物;新药评价;药物研发

结核病(Tuberculosis, TB)是一种慢性传染性疾病,是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)感染所致。据世界卫生组织(WHO)报道,全世界范围内约有三分之一的人口感染MTB,每年约有800万新增病例,至少有300万人死于该病<sup>[1]</sup>。我国是MTB感染的大国,患病人数位居世界第2位,仅次于印度<sup>[2]</sup>。虽然早在20世纪中期已有大量抗结核药物研发问世并应用于临床,但由于TB病程长、临床用药不规范、人类免疫缺陷病毒(HIV)感染等原因,导致出现了耐药结核分枝杆菌(DR-MTB)。因此,目前一线抗结核药物如异烟肼、利福平等对DR-MTB感染的治疗效果已不容乐观,而多耐药/泛耐药MTB感染患者的增多使临床治疗变得更加棘手。因此,积极寻找、开发治疗耐药性TB的有效新药是一个刻不容缓的全球性重大课题。目前抗结核新药研发主要包括3个方面内容:(1)药物作用新靶点的发现;(2)新抗菌化合物的筛选及合成;(3)抗结核药物的临床开发(包括药物临床前研究和临床研究。其中临床前研究是药物临床开发最为关键的步骤,涉及药动学评

价、安全性评价、药物化学等内容)。其中,新作用靶点的发现或新化合物的筛选及合成是抗结核新药研发的基础,而药物评价是其临床开发的重要环节。

近年来,代谢组学技术迅速发展并渗透到医药研发领域,其通过对小分子代谢物的定量检测,可放大基因和蛋白表达的细微变化;而且该类技术所需检测的代谢物种类较基因和蛋白质少,检测所需样本量少<sup>[3]</sup>。因此,可利用代谢组学技术对所有小分子代谢物进行系统分析,以所获数据辅助抗结核新药的开发。笔者以“结核分枝杆菌”“代谢组学”“药物靶点”“药物研发”等的中英文为关键词,在PubMed、中国知网、维普等数据库中组合检索2012年—2018年6月发表的相关文献。结果,共获得相关文献948篇,其中有效文献40篇。基于此,本文从抗结核药物的新靶点发现、新抗菌化合物的筛选及抗结核新药的临床前评价等3个方面,总结代谢组学技术应用于抗结核新药研发的研究进展,从而为该领域新药的进一步研发提供理论支持。

## 1 代谢组学技术用于抗结核药研发的进展

代谢组学是从20世纪90年代中期发展起来的一项技术,其通过检测相对分子质量约在1 000以内的内源性小分子代谢物(如低分子油脂、氨基酸、醇、核酸、肽、有机酸、糖类、维生素等),从而研究这些代谢物的潜在作用;其主要研究方法包括核磁共振波谱法、质谱法、色

<sup>Δ</sup> 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.41472046,41602033);四川省卫生和计划生育委员会科研课题(No.150170)

\* 硕士研究生。研究方向:抗结核新药研发。E-mail:1627448824@qq.com

# 通信作者:主任技师,硕士。研究方向:抗结核新药研发。E-mail:631734429@qq.com

谱法等,其中以核磁共振波谱法应用最为广泛<sup>[4]</sup>。目前代谢组学的研究主要分为4个方面:①特定靶向分子检测;②对某个代谢途径进行检测,如脂代谢、能量代谢等;③对细胞内外所有小分子代谢物进行分析;④对机体所有小分子代谢物进行非靶向性综合研究,得到庞大数据集后找出差异代谢标志物<sup>[5]</sup>。通过代谢组学技术得到的数据往往复杂多样,故需要先对数据进行预处理(包括标准化、归一化以及数据转换)再进行分析。而对采用代谢组学技术获得的庞大数据集,目前多采用基于回归法分析数据间线性关系的数据分析模型进行处理,主要包括主成分分析法和偏最小二乘法<sup>[6]</sup>。近年来,代谢组学技术开始应用于抗结核药物的研发。例如Chuang YM等<sup>[7]</sup>的研究结果显示,无机多聚磷酸盐是MTB生物膜形成的一个关键调节因子。该研究组通过代谢组学技术检测后发现,缺乏*ppx1*基因或*ppk2*基因的MTB突变菌株细胞内的多聚磷酸盐出现聚集,而3-磷酸甘油、1-脱氧木酮糖-5-磷酸含量显著减少,三羧酸循环代谢物精氨酸和还原型辅酶I(NADH)显著增加;而且*ppk2*基因缺陷的MTB菌株对白花丹素、美罗培南的敏感性增加,*ppx1*基因缺陷的MTB菌株对氯法齐明的敏感性增加,因此研究者认为*ppx1*、*ppk2*基因可作为抗结核药物作用的新靶点。冯鹭等<sup>[8]</sup>运用代谢组学方法分析发现,新型海洋放线菌株NH128的代谢物对MTB标准菌株H37Rv有明显的抑制作用,这可为抗结核新药的研发提供新思路。由此可见,代谢组学技术的应用,可为药物作用靶点的发现和抗菌药物的寻找等提供技术支持。

## 2 代谢组学技术在抗结核药物作用靶点发现中的应用

目前,TB的发病机制以及在人巨噬细胞中长期潜伏生存的机制尚不十分清楚,再加上MTB耐药率的增加,为TB患者的治疗带来巨大阻碍。而细胞内许多生命活动是发生在代谢物层面的,如细胞信号释放、能量传递、细胞间通信等都是受代谢物调控的,因此MTB代谢物的检测具有重要意义。本文从MTB脂代谢、能量代谢、氨基酸代谢、miRNA等途径总结代谢组学技术在抗结核药物靶点发现中的应用。

### 2.1 脂代谢途径

MTB感染宿主巨噬细胞后,以脂肪酸和胆固醇为主要碳源,在细胞内不断生成脂滴诱导细胞泡沫化,因此其毒力、致病性及存活状态可能与其脂质合成及代谢有关<sup>[9]</sup>。MTB细胞壁脂质含量高(约占干质量的60%),其细胞壁是一个动态结构,参与调节营养物质、宿主细胞效应分子和抗结核药物的运输<sup>[10]</sup>。分枝菌酸是一类含60~90个碳原子的分支长链 $\beta$ -羟基脂肪酸,也是MTB细胞壁的重要组成部分,在MTB毒力和致病性方面起着重要作用<sup>[11]</sup>。*KasB*是分枝菌酸合成的关键酶,其发生磷酸化后能减弱MTB的抗酸活性和毒力<sup>[12]</sup>。Vilchèze C等<sup>[12]</sup>采用体外串联质谱法和定点突变揭示了*KasB*发生

磷酸化的位点是在第334、336位的苏氨酸;同时,将*KasB*基因缺失或*KasB*基因第334、336位发生突变的MTB缺陷菌株与亲本菌株比较后发现,其脂代谢途径受到干扰,代谢产物改变,脂肪酸底物摄取减少;且突变菌株的分枝菌酸缺少了4~6个碳原子并发生环丙烷化反应,使MTB的抗酸活性和毒力均减弱。这表明,*KasB*及其编码基因可作为抗MTB作用靶点。此外,Thompson AP等<sup>[13]</sup>利用代谢组学技术研究发现,MTB的生物素依赖酶乙酰辅酶A羧化酶(ACCs)在脂肪代谢和能量代谢中起关键作用,该酶也可作为抗MTB的作用靶点。

利用代谢组学技术分析发现,MTB引起的干酪样坏死物主要成分和感染MTB的泡沫巨噬细胞内脂质成分基本一致,即主要为磷脂、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油<sup>[9]</sup>,由此提示MTB的致病性及其在泡沫巨噬细胞内的存活情况与其脂代谢有关。MTB的*FadD3*基因表达产物是脂酰辅酶A合成酶,该酶可影响MTB的脂代谢和胆固醇代谢。Casabon I等<sup>[14]</sup>运用代谢组学技术检测敲除了*FadD3*基因的MTB菌株后发现,其代谢产物明显改变且致病性减弱,说明脂酰辅酶A合成酶及其编码/调控基因可作为抗MTB的作用靶点。泛酸是MTB脂质合成酶的前体物质,由*PanC*、*PanD*基因编码。Slavik MC等<sup>[15]</sup>研究发现,敲除*PanC*、*PanD*基因的变异MTB菌株的脂肪酸底物浓度比正常菌株高且致病性更弱,表明泛酸合成途径可成为抗MTB的作用靶点。还有学者运用代谢组学技术比较了野生型MTB与两种*rpoB*基因突变型MTB菌株的脂代谢差异,结果显示*rpoB*基因突变株在复制、生长等生物活动减弱的同时对脂肪酸底物的消耗量也有所减少<sup>[16]</sup>。因此,*rpoB*基因及其影响的脂代谢途径可作为抗MTB的作用靶点。

MTB脂代谢途径与其毒力和致病性密切相关,因此干扰脂代谢途径的相关酶或基因等(如分枝菌酸、ACCs、脂酰辅酶A合成酶、泛酸等)均可作为抗结核药研发的新作用靶点,通过对各个靶点的干扰来抑制MTB相关脂代谢途径,从而达到治疗TB的效果。

### 2.2 能量代谢途径

在不利的环境条件下(如营养限制、低氧张力或低/高pH值等),可能引起MTB代谢的广泛适应,使菌株进入一个非常缓慢或不生长的休眠状态,在这一状态下的MTB菌株细胞中腺苷三磷酸(ATP)水平比复制期菌株低5~10倍<sup>[17]</sup>。Eoh H等<sup>[18]</sup>利用代谢组学技术研究发现,休眠状态的MTB能量代谢活性下降,进而使其多种生物合成活性减弱,这也是MTB对靶向于蛋白质、DNA和细胞壁生物合成的抗菌药物(如链霉素、利福平、异烟肼等)敏感性降低的主要原因。因此,清除宿主体内对抗菌药物敏感性低的休眠状态MTB是对抗急性、慢性或潜伏性结核感染的主要手段。Lee YV等<sup>[19]</sup>利用代谢组学技术研究发现,当MTB细胞中异柠檬酸裂解酶第322位点的赖氨酸突变为精氨酸时,可使其乙醛酸旁路代谢

途径受阻,使休眠状态的MTB无法从乙醛酸旁路获取能量,从而杀伤休眠状态的MTB。因此,异柠檬酸裂解酶可作为抗MTB的作用靶点。

### 2.3 氨基酸代谢途径

生物体内氨基酸代谢途径复杂多样,而MTB可从宿主的巨噬细胞内摄取丙氨酸、谷氨酸/谷氨酰胺、天冬氨酸/天冬酰胺作为氮源<sup>[20]</sup>。如Gouzy A等<sup>[20]</sup>的研究表明,细菌蛋白AnsP2、AnsA运转和水解天冬酰胺后,可将天冬酰胺或其水解产物作为重要氮源,来保障MTB氨基酸合成代谢途径的运转并有助于MTB抵抗宿主免疫,由此提示AnsP2、AnsA蛋白可作为抗MTB的作用靶点。周宁等<sup>[21]</sup>运用代谢组学技术研究发现,TB患者体内赖氨酸水平降低,谷氨酸、缬氨酸、丙氨酸、亮氨酸和色氨酸水平升高;张宗德等<sup>[22]</sup>研究发现,*trpD*(*Rv2192c*)基因编码的邻氨基苯甲酸磷酸核糖转移酶参与色氨酸的生物合成,抑制邻氨基苯甲酸磷酸核糖转移酶的产生及色氨酸的合成;Angeli A等<sup>[23]</sup>研究发现,*L*-色氨酸可激活MTB中由*Rv3273*基因编码的 $\beta$ -碳酸酐酶,而抑制 $\beta$ -碳酸酐酶的活性可显著抑制MTB的生长。上述研究表明,氨基酸代谢途径中的邻氨基苯甲酸磷酸核糖转移酶途径、色氨酸合成及代谢途径、 $\beta$ -碳酸酐酶合成途径可作为抗MTB的作用靶点。Noy T等<sup>[24]</sup>运用非靶向性高敏感代谢组学技术的研究显示,丙酮酸激酶的失活可导致MTB中磷酸烯醇式丙酮酸、乌头酸等氨基酸积累。丙酮酸激酶是糖酵解的关键酶,其可催化磷酸烯醇式丙酮酸生成丙酮酸和ATP,丙酮酸经过一系列反应生成辅酶A(CoA),CoA可作为三大代谢的前体物质或直接进入三羧酸循环而产生ATP。而敲除丙酮酸激酶相关基因后发现,MTB在短链脂肪酸和葡萄糖组合的培养基中生长活动减弱,推测其原因是丙酮酸激酶缺乏可抑制MTB三大代谢途径且无法产生足够的ATP供能,从而抑制MTB的活性和致病性。因此,与丙酮酸激酶相关的氨基酸代谢途径也可作为抗MTB的作用靶点。

上述研究表明,氨基酸相关代谢途径有望成为抗结核新药的作用靶点,通过抑制氨基酸代谢途径中的色氨酸合成代谢途径、 $\beta$ -碳酸酐酶合成途径、丙酮酸激酶相关途径等可起到治疗TB的作用。

### 2.4 miRNA途径

miRNA是一类非编码的单链微小RNA,在基因表达调控中具有重要作用,可参与生命活动进程中的一系列重要过程,包括细胞生长、增殖、分化、代谢、凋亡、自噬等<sup>[25]</sup>。目前,MTB的免疫逃避机制尚不十分清楚,但有研究表明miRNA在其中起重要作用。Von Both U等<sup>[26]</sup>研究发现,MTB在巨噬细胞内存活和繁殖的免疫逃避现象是由*hsa-miR-22*、*hsa-miR-199a*、*Alu*等miRNA/DNA序列调控元件控制的。Pires D等<sup>[27]</sup>对MTB代谢物中miRNA进行检测发现,miR-106b-5p可与组织蛋白S的mRNA-3'端非编码区结合,从而避免巨噬细胞吞噬

MTB后对其的杀伤作用;还能抑制T细胞的活化,从而避免未被吞噬的MTB被T细胞直接杀灭。Etna MP等<sup>[28]</sup>研究发现,MTB代谢物中的miR-155可抑制*ATG3*基因表达,从而抑制树突细胞对MTB的吞噬及抗原提呈作用,避免MTB被机体免疫细胞杀灭。miRNA的检测技术大多采用高通量的RNA测序技术和逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)技术,但前者费用昂贵,而后者检测miRNA的灵敏度不高。目前代谢组学技术已可用于小分子核酸的检测,虽然在MTB诱导表达的miRNA检测方面的应用较少,但是随着其技术发展,其有望为miRNA的检测提供新的技术支持。

利用代谢组学技术对不同miRNA进行分析,了解其在基因调控中的作用并作为抗MTB的作用靶点,进而筛选或设计出相应的抗miRNA靶点抑制剂,可为杀灭长期生存于巨噬细胞中的MTB提供重要思路。

## 3 代谢组学技术在抗菌化合物筛选中的应用

### 3.1 抑制MTB呼吸链的抗菌化合物

呼吸链是一条电子传递链,它将代谢物脱下的氢原子传递给氧生成水,同时合成ATP;其中ATP合酶是呼吸链途径生成ATP的重要酶,而细胞色素复合物是呼吸链的重要组成部分<sup>[29]</sup>。近年来,抑制呼吸链新药成为了一个新的药物研发领域,可为抗DR-MTB新药研发提供新的手段,而通过代谢组学高通量筛选技术已获得ATP合酶或细胞色素bc1复合物的小分子抑制剂。MTB可以通过底物水平磷酸化或氧化磷酸化生成ATP,而当MTB发生高密度突变或缺失突变时则不能通过底物水平磷酸化获得足够的能量,此时需要氧化磷酸化供能;在氧化磷酸化过程中,呼吸链的蛋白质复合物在生物膜上建立一个质子动力(PMF),这个PMF的能量随后被ATP合成酶用于生产ATP。ATP合成酶抑制剂等小分子化合物能阻止呼吸链的电子传递,破坏PMF,从而阻止ATP的产生,进而起到对MTB的抑制作用<sup>[30]</sup>。因此Black PA等<sup>[30]</sup>通过代谢组学技术筛选得到ATP合成酶抑制剂BDQ,该化合物可对MTB发挥有效的抗菌作用。氧化磷酸化产生的能量对MTB的存活必不可少,如Bown L等<sup>[31]</sup>研究发现了细胞色素bc1复合物QcrB的抑制剂Q203、QOAS,腺苷三磷酸合酶FoF1-ATP抑制剂,细胞色素AtpE抑制剂BDQ,二芳基喹啉(DARQS),这些抑制剂可抑制MTB呼吸链从而抑制ATP的产生,导致MTB因不能获得足够能量而最终死亡。Q203、QOAS、FoF1-ATP抑制剂、BDQ和DARQS等抗菌化合物的发现,为抗结核新药的开发奠定了基础。

### 3.2 其他抗菌化合物

Berney M等<sup>[32]</sup>利用代谢组学技术研究发现,宿主体内*S*-腺苷甲硫氨酸和蛋氨酸的中间代谢产物可导致MTB死亡,因此上述中间代谢产物可能开发为新的抗菌化合物,但这一抗菌产物的作用机制未完全清楚。Viljoen A等<sup>[33]</sup>研究发现,亲脂性的双环磷酸盐天然产物

CYC可与MTB细胞壁的合成代谢有关的酶相结合,从而抑制MTB细胞中阿拉伯半乳糖霉菌酸化抗原85(Ag85)复合物的活性,而Ag85复合物有助于MTB侵入宿主细胞,且与MTB细胞壁的形成有关。利用代谢组学技术检测CYC作用后的MTB代谢物,结果发现细菌的脂代谢异常,脂肪酸、三酰甘油利用水平下降,表明MTB的脂合成途径受到抑制,并推测CYC可通过影响Ag85复合物的活性从而抑制MTB的生长和对宿主细胞的侵袭。因此,CYC有望开发为MTB的抗菌抑制剂。除此之外,耿叶慧等<sup>[34]</sup>总结了大量运用代谢组学技术筛选的MTB相关抗菌抑制剂,包括与铁代谢有关的腺苷酸合成酶MbtA抑制剂、与能量代谢途径有关的NADH脱氢酶II(NDH-2)抑制剂、与膜运转途径有关的蛋白酶ClpP和膜蛋白复合体3的抑制剂、与细胞壁合成相关的脂肪酰基-腺苷一磷酸(AMP)连接酶FadD32和聚酮合成酶的抑制剂。

近年来,抑制呼吸链的新药研发是国内的热门研究领域,利用代谢组学技术筛选抑制MTB呼吸链的小分子抑制剂是抗结核新药研发过程中的一大进步。除此之外,*S*-腺苷甲硫氨酸和蛋氨酸的中间代谢产物、CYC、MbtA抑制剂、NDH-2抑制剂、ClpP蛋白酶抑制剂、膜蛋白复合体3抑制剂、FadD32抑制剂等也有望成为新型MTB抗菌化合物。

#### 4 代谢组学技术在抗结核新药评价中的应用

利用代谢组学技术可以发现药物作用后机体的代谢变化,从而为药物的毒性、安全性、疗效等评价提供依据。目前,代谢组学技术用于抗结核中药的研究较多,例如Jahromi HK等<sup>[35]</sup>利用代谢组学技术研究发现兰花提取物Salep具有抗氧化能力,对抗结核药异烟肼导致的肝毒性有预防作用。而在抗结核药物评价方面,关瑾等<sup>[36]</sup>研究发现,抗结核药物的毒副作用会破坏体内正常细胞的功能和结构、改变细胞的代谢,因此利用代谢组学技术获得的体内某种代谢物或生物分子的动态变化可作为药物毒性的评价指标。Das MK等<sup>[37]</sup>对较长时间持续给药的TB患者的尿液进行全程代谢动态监测,对其尿液中的上千种代谢物进行综合分析,结果发现随着给药时间延长,患者尿液的代谢谱发生明显变化,并且这一变化比组织病理学观察、血液生化指标检测和体质量测定等毒性评价方法的结果更敏感,在监测药物毒性作用的发生与发展方面有很好的应用前景。廖艳等<sup>[38]</sup>运用代谢组学技术研究发现,某种抗结核药物组的小鼠尿液中牛磺酸和葡萄糖水平明显升高,柠檬酸和 $\alpha$ -酮戊二酸水平明显降低,表明该结核药的毒性可能与三羧酸循环的能量代谢异常、线粒体功能异常以及葡萄糖代谢紊乱有关。此外,金文龙等<sup>[39]</sup>利用代谢组学技术对新型抗结核药物Bis-biguanide dihydrochloride(BBD)的代谢通路进行研究,结果显示BBD对卡介苗菌株的碳水化合物、嘌呤碱的代谢及氨基酸合成路径影响较大,尤其对

半胱氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、色氨酸的代谢有抑制作用,表明BBD对MTB核糖体的氧化磷酸化等代谢通路有明显的抑制作用。迪拉马尼是一种新型多耐药MTB抗菌药物,Shimokawa Y等<sup>[40]</sup>将该药与人或动物血浆共同孵育,利用代谢组学技术检测到*R*-2-氨基-4,5-二氢嘞啉衍生物为该药的主要代谢物,并且确立了药物半衰期、药物作用适宜的温度及pH值。

对抗结核药物的毒性、安全性及疗效等进行评价是药物研发的必经过程。代谢组学作为新兴发展的技术,为抗结核新药研发提供了重要的技术手段。用药后机体内尿液的代谢物动态监测、BBD的作用机制研究、迪拉马尼代谢产物检测及半衰期等的确定等成果都有助于抗结核新药研发工作的进一步开展。

#### 5 结语

运用代谢组学技术对生物体小分子代谢物进行综合分析研究,可发现并明确MTB的特殊代谢途径,进而可为抗结核新药的研发提供更多信息,包括:分枝菌酸、ACCs、脂酰辅酶A合成酶、泛酸等脂代谢途径相关抗菌靶点的发现;异柠檬酸裂解酶等能量代谢途径相关抗菌靶点的发现;色氨酸、 $\beta$ -碳酸酐酶、丙酮酸激酶等氨基酸合成代谢途径相关抗菌靶点的发现;与miRNA调控的免疫逃逸机制相关抗菌靶点的发现;Q203、QOAS、FoF1-ATP酶、BDQ、DARQS以及其他MTB相关抗菌抑制剂等新抗菌化合物的发现;抗结核药物的毒性、安全性、疗效评价等。

通过代谢组学技术往往会得到海量的数据集,而目前对于海量数据处理的方法大多是基于回归法探讨代谢物之间的线性关系,但还难以从所获代谢物的数据来精确反映药物代谢的反应速率等,而且对非线性数据的处理方法还不完善,因此代谢组学样本数据处理分析模型仍需要进一步优化改进。此外,国内目前关于代谢组学技术在抗结核药研发中的研究范围还比较窄,且容易漏掉对性质不稳定的小分子和大分子代谢物的分析,因此建议将代谢组学技术与蛋白质组学或转录组学研究相结合,多学科交叉融合,以更加高效、准确地为抗结核新药的研发提供多方位的技术支持。

#### 参考文献

- [1] Eurosurveillance Editorial Team. WHO publishes global tuberculosis report 2013[J]. *Euro Surveill*, 2013, 18(43): 20615.
- [2] JOHNSTON J, ADMON A, IBRAHIM A, et al. Long term follow-up of drug resistant and drug susceptible tuberculosis contacts in a low incidence setting[J]. *BMC Infect Dis*, 2012. DOI: 10.1186/1471-2334-12-266.
- [3] 冯洁,郭莹.代谢组学在心力衰竭诊治中的研究与应用[J]. *医学临床研究*, 2015, 32(4): 792-794.
- [4] ZHAO YY, CHENG XL, VAZIRI ND, et al. UPLC-based metabolomic applications for discovering biomarkers of

- diseases in clinical chemistry[J]. *Clin Biochem*, 2014, 47(15):16-26.
- [5] 秦昆明,王彬,陈林伟,等.代谢组学在中药现代研究的应用与展望[J].*中国中药杂志*,2014,39(16):3010-3017.
- [6] 纪勇,郭盛磊,杨玉焕.代谢组学方法研究进展[J].*安徽农业科学*,2015,43(25):21-23.
- [7] CHUANG YM, DUTTA NK, HUNG CF, et al. Stringent response factors PPX1 and PPK2 play an important role in *Mycobacterium tuberculosis* metabolism, biofilm formation, and sensitivity to isoniazid in vivo[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(11):6460-6470.
- [8] 冯鹭,孟繁超.海绵衍生放线菌抗结核分枝杆菌活性物质的筛选及分离[J].*山东大学学报(医学版)*,2016,54(5):29-33.
- [9] 周宁,杜祥博,杨莉,等.不同病程的结核病人的血浆代谢组学研究[J].*波谱学杂志*,2016,33(2):224-225.
- [10] 董娜,付玉荣,伊正君.结核分枝杆菌感染致脂代谢异常及其机制研究进展[J].*中华结核和呼吸杂志*,2016,39(7):548-550.
- [11] 孙勇,李传友,许绍发.结核分枝杆菌耐药机制的研究进展[J].*国际呼吸杂志*,2010,30(24):295-301.
- [12] VILCHÈZE C, MOLLE V, CARRÈRE-KREMER S, et al. Phosphorylation of KasB regulates virulence and acid-fastness in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *PLoS Pathog*, 2014. DOI:10.1371/journal.ppat.1004115.
- [13] THOMPSON AP, STERNICKI L M, WEGENER KL, et al. 生物素-抗结核药物新研究方向[J].*江苏预防医学*,2016,27(3):257-261.
- [14] CASABON I, ZHU SH, OTANI H, et al. Regulation of the KstR2 regulon of *Mycobacterium tuberculosis* by a cholesterol catabolite[J]. *Mol Microbiol*, 2013, 89(6):1201-1212.
- [15] SLAVIK MC, HOUSEWEART C, CRAMER C, et al. Anticancer susceptibility profiles of *Escherichia coli* strains lacking multidrug efflux pump genes[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 45(4):1126-1136.
- [16] PREEZ ID, LOOTS DT. Altered fatty acid metabolism due to rifampicin-resistance conferring mutations in the rpoB gene of *Mycobacterium tuberculosis*: mapping the potential of pharmaco-metabolomics for global health and personalized medicine[J]. *Omic*s, 2012, 16(11):596-603.
- [17] KOUL A, VRANCKX L, DENDOUGA N, et al. Diarylquinolines are bactericidal for dormant mycobacteria as a result of disturbed ATP homeostasis[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(37):25273-25280.
- [18] EOH H, RHEE KY. Multifunctional essentiality of succinate metabolism in adaptation to hypoxia in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(16):6554-6559.
- [19] LEE YV, WAHAB HA, CHOONG YS. Potential inhibitors for isocitrate lyase of *Mycobacterium tuberculosis* and non-M. tuberculosis: a summary[J]. *Biomed Res Int*, 2015. DOI:10.1155/2015/895453.
- [20] GOUZY A, LARROUY-MAUMUS G, BOTTAI D, et al. *Mycobacterium tuberculosis* exploits asparagine to assimilate nitrogen and resist acid stress during infection[J]. *PLoS Pathog*, 2014. DOI:10.1371/journal.ppat.1003928.
- [21] 周宁,杜祥博,杨莉.不同病程的结核病人的血浆代谢组学研究[J].*波谱学杂志*,2016,33(2):224-235.
- [22] 张宗德,李自慧,杜博平,等.结核杆菌体内诱导基因的筛选及初步分析[J].*结核病与胸部肿瘤*,2008(3):161-162.
- [23] ANGELI A, DEL PRETE S, OSMAN SM, et al. Activation studies with amines and amino acids of the betacarboxylic anhydrase encoded by the Rv3273 gene from the pathogenic bacterium *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2018, 33(1):364-369.
- [24] NOY T, VERGNOLLE O, HARTMAN TE, et al. Central role of pyruvate kinase in carbon co-catabolism of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(13):7060-7069.
- [25] 刘翠莲.miR-1在吞噬活性调控以及肿瘤生长和转移中的作用[D].杭州:浙江大学,2016.
- [26] VON BOTH U, BERK M, AGAPOW PM, et al. *Mycobacterium tuberculosis* exploits a molecular off switch of the immune system for intracellular survival[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):661.
- [27] PIRES D, BERNARD EM, POMBO JP, et al. *Mycobacterium tuberculosis* modulates miR-106b-5p to control cathepsin s expression resulting in higher pathogen survival and poor T-cell activation[J]. *Front Immunol*, 2017. DOI:10.3389/fimmu.2017.01819.
- [28] ETNA MP, SINIGAGLIA A, GRASSI A, et al. *Mycobacterium tuberculosis*-induced miR-155 subverts autophagy by targeting ATG3 in human dendritic cells[J]. *PLoS Pathog*, 2018. DOI:10.1371/journal.ppat.1006790.
- [29] 彭丽娜,贾鹏.玛咖对力竭运动后老年模型大鼠肾脏线粒体呼吸功能及抗衰老能力的影响[J].*中国组织工程研究*,2016,20(18):2711-2716.
- [30] BLACK PA, WARREN RM, LOUW GE, et al. Energy metabolism and drug efflux in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58(5):2491-2503.
- [31] BOWN L, SRIVASTAVA SK, PIERCEY BM, et al. Mycobacterial membrane proteins QcrB and AtpE: roles in energetics, antibiotic targets, and associated mechanisms of resistance[J]. *J Membr Biol*, 2018, 251(1):105-117.
- [32] BEMEY M, BERNEY-MEYER L, WONG KW, et al. Essential roles of methionine and S-adenosylmethionine in the autarkic lifestyle of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(32):10008-10013.
- [33] VILJOEN A, RICHARD M, NGUYEN PC, et al. Cyclopiostins and cyclophostin analogs inhibit the antigen 85C

# 遍地金的生药学鉴定、化学成分和药理活性研究概况<sup>Δ</sup>

杨 兰<sup>1\*</sup>, 魏 莹<sup>1</sup>, 张 帆<sup>1#</sup>, 许兴铭<sup>2</sup>(1.川北医学院药学院/川北医学院药物研究所, 四川南充 637000; 2.川北医学院基础医学院临床医学系2016级, 四川南充 637000)

中图分类号 R93 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)04-0565-06  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.04.27

**摘要** 目的:为遍地金的进一步研究与开发利用提供参考。方法:以“遍地金”“生药学鉴定”“化学成分”“药理活性”“*Hypericum wightianum*”“*Hypericum elodeoides*”“Chemical composition”“Chemical constituents”“Pharmacologic actions”等为关键词,在中国知网、万方、维普、百链外文数据库检索平台、PubMed、EBSCO等数据库中组合查询2000年—2018年8月发表的相关文献,对遍地金的生药学鉴定、化学成分、药理活性方面的研究进行归纳和总结。结果与结论:共检索到相关文献68篇,其中有效文献45篇。目前有关遍地金的生药学鉴定的研究主要集中在其分泌结构的形态特征、显微构造及类型鉴定和特征性差热图谱、近红外漫反射图谱及高效液相指纹图谱鉴定上。从遍地金及挺茎遍地金植物全草或地上部分中分离、鉴定或检测到的化学成分主要有间苯三酚类、萜二萜酮类、黄酮类、咕吨酮类、异戊烯基苯甲酮类以及挥发性化学成分等。遍地金具有抗抑郁、抗菌、抗肿瘤等药理活性,但其研究主要集中在抗抑郁方面。目前,国内外有关遍地金的研究较少,药理学基础理论薄弱。今后有必要进行系统而深入的研究,包括加强药效物质基础研究,尤其是抗抑郁和抗肿瘤活性成分研究;加强药理活性机制研究,尤其是抗抑郁和抗肿瘤活性机制研究;加强萜二萜酮类化合物和异戊烯基苯甲酮类化合物抗病毒药理活性研究;加强对主要活性成分间苯三酚类、萜二萜酮类及挥发性化学成分的分离、鉴定及发现新化合物的研究;加强对鉴定方法与药材质量标准研究。

**关键词** 遍地金;生药学鉴定;化学成分;药理活性

遍地金来源于藤黄科金丝桃属遍地金组一年生植物遍地金(*Hypericum wightianum* Wall.ex Wight et Arn.)和挺茎遍地金(*Hypericum elodeoides* Choisy)<sup>[1-2]</sup>的干燥全草。遍地金广泛分布于我国各地,主产于广西、四川、贵州及云南等西南地区<sup>[1]</sup>。其药用记录最早出自明代兰茂撰《滇南本草》,该药又名小疔药、蚂蚁草、锅巴草、小化血、雀舌草、痧子草、青鱼胆、肝炎草等,性寒,味苦涩,具有清热解毒、止泻的功效,治日久水泻、久痢赤白<sup>[2]</sup>。我国民间亦用其全草治毒蛇咬伤、黄水疮、小儿白口疮、肺炎及乳腺炎等症,用法为鲜品外敷或干品煎水内服。近

年来,以贯叶连翘为代表的金丝桃属植物被研究发现在抗抑郁、抗肿瘤和抗病毒方面具有突出作用<sup>[3-4]</sup>,其同属植物遍地金的研究亦逐渐引起国内外医药科研工作者的关注。为了解该药材的国内外研究现状,笔者以“遍地金”“生药学鉴定”“化学成分”“药理活性”“*Hypericum wightianum*”“*Hypericum elodeoides*”“Chemical composition”“Chemical constituents”“Pharmacologic actions”等为关键词,在中国知网、万方、维普、百链外文数据库检索平台、PubMed、EBSCO等数据库中组合查询2000年—2018年8月发表的相关文献。结果,共检索到相关

from Mycobacterium tuberculosis both in vitro and in vivo [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(8): 2755-2769.

[34] 耿叶慧, 李子强, 张瑜. 抗结核靶点的研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2017, 42(2): 90-97.

[35] JAHROMI HK, POURAHMAD M, ABEDI HA, et al. Protective effects of Salep against isoniazid liver toxicity in wistar rats[J]. *J Tradit Complement Med*, 2018, 8(1): 239-243.

[36] 关瑾, 许文雅, 阎峰, 等. 液相色谱-质谱联用技术在药物代谢组学研究中的应用进展[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(1): 9-16.

[37] DAS MK, ARYA R, DEBNATH S, et al. Global urine metabolomics in patients treated with first-line tuberculosis drugs and identification of a novel metabolite of ethambutol[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(4): 2257-2264.

[38] 廖艳, 彭双清, 颜贤. 抗结核药物利福平肝毒性时效关系的代谢组学[J]. 中国医学科学院学报, 2008, 30(6): 696-702.

[39] 金文龙, 黄慧嫦, 王菲菲, 等. 新型抗结核药物BBD的筛选及作用机制初探[J]. 中国病原生物学杂志, 2017, 12(7): 595-600.

[40] SHIMOKAWA Y, SASAHARA K, KOYAMA N, et al. Metabolic mechanism of delamanid, a new anti-tuberculosis drug, in human plasma[J]. *Drug Metab Dispos*, 2015, 43(8): 1277-1283.

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81460637);四川省教育厅大学生创新创业训练计划项目(No.201710634051)

\* 讲师。研究方向:生药的鉴定和品质评价。电话:0817-3300337。E-mail:orchid090112@hotmail.com

# 通信作者:教授,博士生导师,博士。研究方向:中药与民族药的研究与利用。电话:0817-3300337。E-mail:Zhangfan596@163.com

(收稿日期:2018-06-28 修回日期:2019-01-03)  
(编辑:段思怡)