

天然产物中细菌群体感应抑制剂虚拟筛选研究进展

孟凡颖¹, 杨敏², 顾雯¹, 杨兴鑫¹, 俞捷^{1*} (1. 云南中医药大学, 云南省南药资源可持续利用重点实验室, 昆明 650500; 2. 昆明市第三人民医院, 昆明 650041)

摘要: 群体感应现象是近年来微生物学领域研究的热点。随着对群体感应研究的不断深入, 各种群体感应抑制剂相继涌现。虚拟筛选是基于小分子数据库开展的活性化合物筛选手段, 是寻找先导化合物、发现药物构效关系、优化药物设计、发现药物作用靶标的有效方法。虚拟筛选具有成本低、效率高的优点, 将该技术应用于筛选群体感应抑制剂研究具有良好的应用前景。本文主要依据细菌群体感应信号分子的种类, 综述目前应用虚拟筛选技术筛查天然产物来源群体感应抑制剂的研究现状。

关键词: 虚拟筛选; 群体感应; 天然产物; 群体感应抑制剂

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2022)05-0695-010

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.05.022

引用本文: 孟凡颖, 杨敏, 顾雯, 等. 天然产物中细菌群体感应抑制剂虚拟筛选研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(5): 695-704.

Research Progress on Virtual Screening of Bacterial Quorum Sensing Inhibitors in Natural Products

MENG Fanying¹, YANG Min², GU Wen¹, YANG Xingxin¹, YU Jie^{1*} (1. Yunnan Key Laboratory of Southern Medicine Utilization, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China; 2. Kunming Third People's Hospital, Kunming 650041, China)

ABSTRACT: Quorum sensing is a hot topic in microbiology in recent years. With the deepening of quorum sensing research, various quorum sensing inhibitors have emerged. Virtual screening is an active compound screening method based on small molecule database. It is an effective method to search for lead compounds, discover drug structure-activity relationships, optimize drug design, and discover drug targets. Virtual screening has the advantages of low cost and high efficiency, and it has a good application prospect in screening quorum sensing inhibitors research. In this paper, based on the types of bacterial quorum sensing signaling molecules, the current research status of screening quorum sensing inhibitors from natural products by virtual screening technology was reviewed.

KEYWORDS: virtual screening; quorum sensing; natural products; quorum sensing inhibitors

人们曾经认为细菌是以独立个体生长繁殖的, 直到 20 世纪 80 年代才发现, 细菌之间存在交流沟通^[1]。1994 年 Fuqua 等^[2]提出了群体感应(quorum sensing, QS)这一概念, 它是指微生物在生长过程中会释放一种被称为自身诱导物质的信号分子到外界环境中, 当信号分子达到一定阈值就会诱导微生物体内特定基因及蛋白质的表达, 进而调控微生物群体的特殊生理特征, 如生物发光^[3]、抗生素合成^[4]、接合转移 Ti 质粒^[5]、肠道定植能力^[6]以及生物膜形成^[7]等。细菌之间的信息交流主要依靠信号分子来实现, 细菌中的信号分子主要有酰基高丝氨酸内酯(acylated homoserine

lactone, AHL)、自诱导寡肽(autoinducing peptide, AIP)、自体诱导物 II 类分子(autoinducer-2, AI-2)^[8-9]、喹诺酮类信号分子(pseudomonas quinolone signal, PQS)^[10]、扩散性信号分子(diffusible signalling factor, DSF)^[11-12]以及二酮哌嗪(diketopiperazine, DKP)^[13]等。多样的 QS 信号分子意味着细菌中存在复杂的通讯调控网络, 深入了解细菌语言并加以利用将会对改善人类生活有举足轻重的影响。

细菌通过 QS 感知环境中其他细菌的密度, 通过干扰细菌信号分子可以有效调节细菌的群体行为。目前, 群体感应抑制剂(quorum sensing inhibitor, QSI)在医药领域^[14-15]、食品保藏^[16]、水产感染疾

基金项目: 国家自然科学基金项目(82174037, 81960710); 云南省科技计划项目(202001AV070007, 2019IB009, 202001AZ070001-037)

作者简介: 孟凡颖, 男, 硕士生 E-mail: 1026792964@qq.com *通信作者: 俞捷, 女, 博士, 教授 E-mail: cz.yujie@gmail.com

病的治疗^[17]、污水治理^[18]、海水养殖^[19]、植物病害防治^[20]等方面具有重要应用价值。然而, QSI 的筛选工作并不轻松, 传统筛选 QSI 的方法是建立高通量筛选平台, 实验验证每一个化合物活性, 结果伴随着随机偶然性, 费时费力且成功率低。虚拟筛选(virtual screening, VS)技术基于药物设计理论, 能够在海量候选化合物中快速、高效地筛选出苗头化合物, 更有目的性地进行活性实验验证^[21]。本文回顾 VS 技术在天然产物中搜寻 QSI 的应用, 总结 QSI 调控细菌群体行为的作用机制, 为天然 QSI 在医药、食品等行业中的应用发展提供参考。

1 天然产物中 QSI 的研究进展

当前, 越来越多的 QSI 已被发现验证, 可大致分为天然产物和人工合成化合物 2 类。天然产物资源丰富, 是 QSI 开发过程中不可忽视的重要来源。根据来源不同, 目前发现的天然 QSI 主要分为动物源、植物源、微生物源 3 类^[22]。其中研究最为广泛的是植物天然产物, 许多水果、蔬菜、中药及香料中都发现了丰富的能够抗 QS 活性的小分子物质^[22], 这些物质主要为黄酮类、萜类、生物碱类化合物^[23-24]。动物体内同样存在 QSI, 如在绞碎的牛肉^[25]、人类上皮细胞^[26]、蜂蜜和蜂胶^[27-28]中都发现了能够抑制 QS 的物质。微生物源天然 QSI 有青霉酸和棒曲霉素^[29], 海洋链霉菌(*Streptomyces*)产生的次生代谢产物^[30]等。

2 QSI 作用机制

病原菌的致病性与 QS 有着密切关联, 抑制信号分子的合成、集聚及与受体蛋白的识别都有可能控制病原菌的致病性, 同时不会导致病原菌的耐药性^[31-32]。目前, QSI 的作用机制主要有以下 3 种方式: 阻断 QS 信号分子合成、降解 QS 信号分子、干扰受体蛋白与信号分子结合。

2.1 阻断 QS 信号分子合成

通过抑制信号分子合成过程中合成酶活性或消除底物从而抑制信号分子合成。姜油酮抑制铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)中 AHL 合成酶活性^[33]; 二氯苯氧氯酚抑制铜绿假单胞菌中脂酰-ACP 合成进而干扰 AHL 组装^[34], 二者抑制 AHL 信号分子合成, 阻碍病原菌生物膜的形成。还有水杨酸、丹宁酸、反式-肉桂醛阻断铜绿假单胞菌中 AHL 合成^[35]; 吡啶 3-乙酸抑制鼻疽伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia mallei*)AHL 合成酶活性^[36]。

2.2 降解 QS 信号分子

酶类是降解信号分子的主要物质之一, 目前发现的信号分子降解酶主要是降解 AHL 信号分子, 主要有 AHL 内酯酶、AHL 酰基转移酶、对氧磷酶及氧化还原酶^[37]。由芽孢杆菌(*Bacillus* 240B1)中分离的 AiiA 酶是 1 种 AHL 内酯酶, 具有很强的降解 AHL 活性, 能够有效地降低细菌的致病能力^[38]。对氧磷酶和氧化还原酶能将 AHL 中的羰基还原而失活, 抑制致病菌的毒力作用^[39-40]。另外, 还有 AHL 酰基转移酶 AiiD 能够破坏酰胺键, 使 AHL 失活^[41], 猪的肾脏酰化酶 I 可以脱去 C4-HSL 和 C8-HSL 的酰基^[42]。除了酶类以外, 还有一些其他物质能够降解信号分子, 如某些动物血清中的物质能够灭活 AHL 信号分子中的 3-oxo-C12-HSL^[43], 短小芽孢杆菌菌株 *Bacillus pumilus* S8-07 能够降解 3-oxo-C12-HSL^[44], 呋喃香豆素可抑制 *Vibrio harveyi* BB886 和 BB170 中的 AHL 和 AI-2 活性^[45]。在扩散性信号分子信号通路中, 柑橘叶中分离出的 *Pseudomonas* sp. SJ01、*Pseudomonas* sp. SJ02 和 *Bacillus* sp. SJ13 菌株可以降解 *Xanthomonas citri* 的 DSF 信号分子^[46]。

2.3 干扰受体蛋白与信号分子结合

信号分子与受体蛋白识别结合后, 可激活下游 QS 转录调控因子, 进而诱导病原菌毒力因子表达^[47]。吡罗昔康和美洛昔康与信号分子结构相似, 能够与受体蛋白 LasR 和 PqsE 竞争性结合, 从而抑制铜绿假单胞菌致病性^[48]。氯硫内酯和氯内酯^[49]、 β -酮酯类似物^[50]、焦糖酸^[51]、穿心莲内酯衍生物 AL-1^[52]、人工合成的氯代内酯和氯硫代内酯类化合物^[53]、槲皮素^[54]、三唑-N-乙酰高丝氨酸内酯^[55]等 QSI 都是借此机制抑制某些细菌的 QS 系统。

3 VS 技术在天然产物中筛选 QSI 的应用

VS 也被称作计算机筛选, 是指利用计算机在大规模化合物数据库中筛选出与药物靶标作用的分子, 是计算机辅助药物设计(computer-aided drug design, CADD)的核心技术之一^[56-57]。随着 VS 技术不断发展, VS 筛选速度和精度已经有了很大改善, 其有效性得到学术界的一致肯定, 现已成为新药发现途径中的重要工具^[58-59]。天然产物在新药研发中占据着至关重要的地位^[60-62], VS 技术大大加快了天然产物的开发力度, 应用 VS 在天然产物中寻找可调控 QS 的活性分子已成为一种便捷途径^[63]。近年来, 计算机辅助药物设计被越来越

多的科研人员所需要, 出现了许多专门用于筛选化合物的数据库, 并且陆续建立了多种适用于中药、天然产物的 VS 数据库, 见表 1。

分子对接是 VS 中的常用手段, 几十年时间, 分子对接技术不断发展, 其对接对象已拓展到任意生物大分子之间(蛋白质-小分子、蛋白质-蛋白质、蛋白质-多肽、蛋白质- DNA/RNA 等)。分子对接在筛选 QSI 中被广泛应用, 通过分析配体与受体之间的相互作用, 如氢键作用、疏水作用、范德华作用等来预测两者之间的结合方式, 由分子对接中的打分系统对结果进行评价, 从而找出在空间结构、作用能量以及结合构象中与受体蛋白具有较好契合的先导化合物, 筛选出能够调节 QS 的苗头化合物。另一方面, 也有学者运用药效团筛选 QSI。药效团是特征化的三维结构要素的组合, 即基于活性化合物结构, 归纳提取出的共有药效特征元素。药效特征元素主要包括氢键供体、氢键受体、正负电荷中心、芳环中心、疏水基团、亲水基团。药效团筛选 QSI 的基本流程是先确定大量 QSI 的特定立体结构和电子特征元素, 建立药效团模型, 在数据库中筛选与药效团模型匹配度高的化合物。相较于分子对接, 药效团筛选具有计算量小、速度快等优势, 但存在假阳性率高的缺陷。

3.1 VS 技术在 AHL 系统中筛选天然 QSI 的应用

3.1.1 VS 技术筛选铜绿假单胞菌天然 QSI 抗菌药物的滥用使得细菌耐药问题变得愈加突出, 特别是医院内耐药菌株的感染使病死率大幅增加, 其治疗已成为临床上的难题。铜绿假单胞菌是一种医院获得性肺炎、尿路感染、血液感染的条件

致病菌^[64], 而 QS 对铜绿假单胞菌毒力因子生成和生物膜形成具有调控作用^[65]。研究发现铜绿假单胞菌至少存在 2 套基于 AHL 的 QS 系统: 控制细胞毒力因子的 *las* 系统和控制几种二级代谢的 *rhl* 系统^[66-67]。通过使用小分子 QSI 来降低铜绿假单胞菌的致病性, 很可能在未来的慢性感染治疗策略中发挥作用^[68]。

LasR 和 RhlR 是铜绿假单胞菌中极为重要的 QS 信号分子受体。张燎原等^[69]通过蛋白同源建模, 模拟铜绿假单胞菌 QS 受体蛋白 RhlR 的空间结构, 运用 VS 技术在中草药小分子数据库中筛选出与 RhlR 相互作用力强的化合物, 活性测定显示穿心莲内酯和绿原酸均具有较好的抑制群体感应系统活性。Annapoorani 等^[70]在 Interbioscreen 数据库中挑选出 1 920 种天然化合物, 筛选铜绿假单胞菌 LasR 和 RhlR 的抑制剂, 实验表明分子对接排名前 5 的迷迭香酸、柚皮苷、绿原酸、桑黄素、芒果苷都有良好的毒力因子抑制作用。Zhong 等^[71]采用 VS 技术, 在拥有 4 687 种植物来源天然产物的 Chemfaces 数据库中筛选 QSI, 计算机模拟结果认为儿茶素-7-木糖苷、苏木酚以及紫柳因与 LasR 蛋白有相互作用, 并且在干预化合物后不影响铜绿假单胞菌生长的情况下, 能够显著减少生物膜、绿脓菌素、弹性蛋白酶和鼠李糖脂的形成。Kim 等^[72]研究发现, 6-姜醇与 LasR 通过氢键和疏水键相互作用, 6-姜醇可以抑制铜绿假单胞菌生物膜的形成及其毒力基因的表达。刘颖^[73]运用 VS 技术, 以 LasR 作为靶标, 在 ZINC 数据库中筛选耐药铜绿假单胞菌 QSI, 结果表明化合物 STL038792、STL327934、STK135354 具有 QS 抑制活性, 对

表 1 常用 VS 数据库

Tab. 1 Common VS databases

数据库名称	小分子数目	备注
ZINC	>1 亿	能免费下载 SMILES、MOL2、SDF 等多种格式, 提供一个基于 Web 的应用程序来支持快速复杂查询及下载功能
SPECS 数据库	35 万	天然产物的种类包括植物、真菌、海洋生物、细菌和天然产物衍生物
CHEMnet BASE 数据库	29 万	天然产物数据库中较全面的数据库
ChemBank 数据库	1 200 万	公共的化学生物学数据平台, 2D 数据库
中国天然产物数据库(Chinese Natural Product Database, CNPD)	57 000	涵盖天然产物 37 个类别, 注明了天然产物各类信息, CNPD 首次将天然产物、生物活性数据、原植物来源及中药传统应用融合在一起, 并且提供三维结构信息及其 Rasmol 在线显示
中药系统药理学数据库与分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP)	30 000	包含了 499 味草药以及每味草药的化合物成分, 针对每个化合物提供了较全面的人体吸收、分布、代谢与排泄(ADME)性质评价数据
中药化学数据库(Traditional Chinese Medicine Database, TCMD)	37 170	目前世界上最大、收录最全的中药小分子数据库

QS 中的相关毒力基因 *lasI*, *lasR* 和 *lasB* 都表现出显著的下调作用。Yang 等^[74]在 SuperDrug 和 SuperNatural 数据库中,以基于结构的虚拟筛选进行 LasR 抑制剂筛选,结果发现水杨酸对铜绿假单胞菌具有良好的 QS 抑制作用,具有作为抗致病性药物的潜力。

根癌农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 的 TraR 蛋白和铜绿假单胞菌的 LasR 蛋白同属 LuxR 蛋白家族,它们具有很高的同源性,因此使用 TraR 蛋白可以代替 LasR 进行筛选,利用 TraR 蛋白作为筛选铜绿假单胞菌 QSI 的靶标是行之有效的方法,并且已经有了成功案例^[75]。在中药数据库中筛选 TraR 抑制剂,分子对接结果提示大黄酸、大黄酚、紫花前胡苷元、紫草素、大黄素、秦皮苷是 TraR 的潜在抑制剂,其中大黄素能够显著抑制铜绿假单胞菌和嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*) 的生物膜形成,还可诱导大肠杆菌的 TraR 蛋白降解,大黄素可能适合发展为一种抗菌药物^[76]。曾芝瑞^[77]利用 DOCK5.3.0 软件,将 TraR 与自建中药活性成分数据库进行分子对接,筛选结果表明有十几种中药活性成分可能成为 QSI,其中黄芩素在 $20\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时能有效抑制铜绿假单胞菌的生物膜形成,而不抑制该菌的生长,并且当黄芩素浓度达到 $40\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时能够促进 TraR 降解,黄芩素有很大可能是通过干扰 TraR 进而抑制 QS。众多天然 QSI 的发现,能够减弱铜绿假单胞菌的毒力因子,避免了耐药问题,使得从“抗菌”转变为“抗发病机制”成为现实,这对抗微生物感染具有重要意义。

3.1.2 VS 技术筛选荧光假单胞菌天然 QSI 荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*) 是属于假单胞菌属的嗜冷微生物,常在乳制品、肉类和水产品中发现,将其 QS 系统作为靶标,调控荧光假单胞菌引起的食品腐败,是提高食品质量和安全的可行途径。丁婷^[78]以 LuxI 和 LuxR 为对接靶标,通过基于分子相似性、基于配体和受体药效团模型的方法,在 ChEBI、ChEMBL、中药数据库 (TCM Database@Taiwan) 和 ZINC 等数据库中筛选 *P. fluorescens* P07 的 QSI,结果发现丙酸-2-苯乙酯、和厚朴酚、厚朴酚、尼泊金乙酯、姜酮、愈创木酚、辛可尼丁、水杨苷、柠檬醛、香兰素及褪黑素等可能具有较强的 QS 抑制活性,香兰素对于 *P. fluorescens* P07 的群集性、生物被膜以及细菌胞

外聚合物均具有显著的抑制效果。另外,分子对接结果表明 (+)-儿茶素、米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) 次级代谢产物中的环二肽 (L-苯丙氨酸-L-脯氨酸) 与 LuxI 可能存在竞争性结合,可有效减少 AHL 形成,进而阻断 QS 通路,因此,荧光假单胞菌的生物膜形成、胞外聚合物合成、泳动能力等也随之受到抑制^[79-80]。荧光假单胞菌 QSI 的出现,对于乳制品、水产品等的安全性、保藏保鲜、延长货架期都具有重要的参考价值。

3.1.3 VS 技术筛选温和气单胞菌天然 QSI 微生物的生长代谢是导致水产品腐败变质的主要原因, QS 可调节细菌的腐败表型,因此,寻求腐败菌 QSI 是防止水产品腐败变质的有效策略。大菱鲆源温和气单胞菌 (*Aeromonas sobria*) 是水产品腐败菌的一种,通过同源建模获得 LuxI/R 蛋白模型,利用 VS 技术从传统中药数据库中筛选出 30 个具有潜力的 QSI,发现邻氨基苯甲酸甲酯、香兰素、辣椒素均具有较强的抗 QS 活性,其中邻氨基苯甲酸甲酯对温和气单胞菌生物膜形成、细菌运动性和蛋白酶活性具有显著的抑制作用,这可能与 LuxI/R 竞争性结合有关^[81],为水产品保鲜技术提供了可靠实验依据。

3.1.4 VS 技术筛选其他细菌天然 QSI 在其他细菌中也有类似研究报道,运用薛定谔软件及微量热泳动技术分析生物分子相互作用,在天然产物数据库中寻找紫色杆菌 (*Chromobacterium violaceum*) 基于 CviR (一种 LuxR 蛋白同源物) 介导的 QSI,分子对接结果表明苏木酚、紫铆因、补骨脂二氢黄酮以及儿茶素-7-木糖苷是潜在的 QSI,而微量热泳动实验结果表明紫铆因、补骨脂二氢黄酮以及苏木酚与 CviR 具有显著的结合能力,但是只有苏木酚对紫色杆菌素的产生具有促进作用,其他三者都为抑制作用,并且共聚焦激光扫描结果显示苏木酚没有表现出抑制生物膜形成的能力,最终作者将紫铆因、补骨脂二氢黄酮以及儿茶素-7-木糖苷定义为潜在的 CviR 介导的 QSI^[82],由于 LuxR 同源物广泛存在于多种细菌,这些筛选出来的 QSI 为广谱抗感染药物的发展奠定了基础。SdiA 同样是 LuxR 蛋白的同源物, SdiA 存在于埃希菌属、沙门菌属、志贺菌属和克雷伯菌属等,能感知其他菌群合成的 AHL 信号分子,是信号分子 AHL 的胞内受体^[83],以 SdiA 作为靶标,发现在南岭楝树 (*Melia dubia*) 的树皮提取物中, BL39R1 可能是大

肠杆菌(*Escherichia coli*)的有效 QSI^[84], 这种化合物可能是一种潜在的用于治疗大肠杆菌引起的尿路感染的药物。沙门氏菌(*Salmonella*)是一种常见的食源性致病菌, 广泛分布于外界环境中, 研究发现植物成分中的 Z-叶绿醇可作为沙门氏菌中 SdiA 蛋白的抑制剂^[85], 抑制其生物膜形成, 对于避免食品在加工、运输及出售过程中出现的沙门氏菌感染, 具有不可小觑的价值。

3.2 VS 技术在 AIP 系统中筛选天然 QSI 的应用

目前关于应用 VS 技术筛选 AIP 介导的 QSI 研究报道还较少。Kiran 等^[86]通过基于 RNAIII-inhibiting peptide(RIP)药效团筛选的方法[RNAIII 存在于金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)AIP 介导的 Agr 系统中, 起着编码毒力因子的作用^[87], 在一个包含 30 万个化合物的化学品数据库进行 RIP 非肽类似物筛选, 结果显示金缕梅单宁可作为 RIP 的非肽类似物, 它能够很好地抑制表皮葡萄球菌和耐甲氧西林金葡菌的 QS 系统, 实验表明金缕梅单宁能够显著降低细菌的黏附, 抑制生物被膜的形成, 可用于治疗葡萄球菌感染。

3.3 VS 技术在 AI-2 系统中筛选天然 QSI 的应用

QS 与致病菌的行为相关, AI-2 广泛存在于革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌中, 拮抗 AI-2 是改变细菌行为的一种可能方法。LuxP 蛋白是哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*)中 AI-2 的受体蛋白, Bassler 研究小组解析出了哈维氏弧菌 LuxP 的结构(Protein Data Bank 编号: 1JX6)^[88]。通过基于药效团和基于结构的 VS 技术来识别 LuxP 抑制剂, Rajamanikandan 等^[89]在 ChemBridge 数据库中筛选到哈维氏弧菌 6 个候选 LuxP 抑制剂, 为进一步开发针对哈维氏弧菌 LuxP 的药物奠定了基础。还有李敏勇等^[90]以哈维氏弧菌的 LuxP 蛋白为筛选靶标, 在近 170 万个化合物的多个数据库中利用计算机筛选出 27 个化合物并进行生物活性测试, 认为 LuxP 蛋白中的精氨酸 215 和精氨酸 310 在稳定蛋白—配体的复合物中起着关键作用, 结果表明化合物 KM-03009 和 SPB-022292 能够抑制 AI-2 介导的 QS 通路, 并且对哈维氏弧菌无不良反应, KM-03009 和 SPB-022292 的发现为 LuxP 抑制剂的人工设计合成提供了重要参考价值。

哈维氏弧菌的 AI-2 内化进入菌体内部, 需要完整的膜受体 LuxPQ 进行协助, LuxPQ 由周质结合蛋白(LuxP)和组氨酸传感器激酶(LuxQ)亚基组

成, 有报道指出 LuxP 和 LuxQ 结合时会发生变化, 生成 AI-2-LuxPQ 复合物进而触发 QS 通路, 因此有人认为将 LuxPQ 作为 AI-2 信号分子的 QSI 靶标更为准确^[91-92]。Zhu 等^[93]通过 VS 的方法, 在 SPECS 数据库中筛选出 7 个 LuxPQ 抑制剂, 对哈维氏弧菌无毒性或低毒性, 这些化合物是目前已知为数不多的能够调控 LuxPQ 的抑制剂, 具有很高的研究价值。

5'-甲硫腺苷核苷酶(5'-methylthioadenosine nucleosidase, MTAN, 也被称作 S-腺苷高半胱氨酸核苷酶, Pfs)与细菌的 AI-2 信号分子合成有关, MTAN 能够催化 S-腺苷高半胱氨酸(S-adenosylhomocysteine, SAH)生成 S-核糖高半胱氨酸(S-ribosylhomocysteine, SRH)和腺嘌呤, S-核糖高半胱氨酸经过一系列反应后最终生成 AI-2^[94]。因此, 抑制 MTAN 蛋白活性能够阻止 AI-2 的合成, 从而达到调控 QS 的目的。刘恒^[95]对 ZINC 数据库的 lead-like 子库进行筛选, 有 53 个化合物成功结合到 MTAN 活性位点附近, 虽然该研究还未进行实验验证, 但已经极大地缩小了目标化合物数目, 为开发新的 MTAN 抑制剂提供了丰富的理论依据。部分通过 VS 技术筛选出来的 QSI 见表 2。

4 讨论与展望

4.1 VS 应用于 QSI 筛选的局限性

VS 在筛选 QSI 时也有着自己的局限性, 一是现有的模拟手段并不能完全保证计算结果的正确性, 缺乏完善有效的对接评价方法, 存在假阳性、假阴性问题^[96-97]; 二是许多问题在 VS 中仍然不能很好地解决, 例如受体蛋白的柔性、溶剂效应、熵效应等^[98-99]; 三是筛选数据库往往比较庞大, 且分子构象较多, 计算量巨大^[100]。另外, 通过 VS 得到的活性成分并不能完全依赖打分函数等判定方法确定其药效。有研究发现, 以 LasR 为靶标, 对 Chembridge 库中的化合物进行筛选, 以打分最高的 8 个化合物进行验证, 最后实验发现其中 5 个可作为 QS 激动剂, 3 个可作为 QSI^[101]。计算机模拟得到的对 QS 具有调节作用的化合物, 必须进行进一步的生物活性验证, 才能最终确定活性物质的类型。

因此, VS 技术只能看作是药物相关研究的辅助性工具, 为实验研究提供思路和线索, 不可能通过 VS 技术完全模拟高通量筛选的结果, 必须进行客观、综合的评价 VS 技术。

表 2 利用 VS 技术从天然产物中筛选 QSI 研究结果的汇总

Tab. 2 Summary of studies on screening QSI from natural products using VS technology

QS 信号分子	菌株	受体蛋白	对接环境	QSI	对接分数
AHL	铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	RhlR	ICM-DOCK	穿心莲内酯 ^[69]	-41.97
				绿原酸 ^[69]	-40.94
		LasR 和 RhlR	Glide	迷迭香酸 ^[70]	-11.32
				柚皮苷 ^[70]	-8.83
				绿原酸 ^[70]	-12.49
				桑黄素 ^[70]	-10.83
				芒果苷 ^[70]	-11.75
				儿茶素-7-木糖苷 ^[71]	-13.508
				苏木酚 ^[71]	-10.964
				紫铆因 ^[71]	-9.245
		LasR	Schrodinger	大黄酸 ^[76]	-7.78
				大黄酚 ^[76]	-2.96
				大黄素 ^[76]	-15.46
				秦皮苷 ^[76]	-20.16
	荧光假单胞菌 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	TraR	DOCK	黄芩素 ^[77]	-20.16
				1,10-癸二醇 ^[78]	6.261 9
		LuxR	SYBYL-X	1-十二醇 ^[78]	6.180 5
				甲酸玫瑰酯 ^[78]	6.577 0
		LuxI		苯甲醇 ^[78]	6.380 1
				(+)-儿茶素 ^[79]	69.339 8
		LuxR	Discovery studio	环二肽(L-苯丙氨酸-L-脯氨酸) ^[80]	4.583 6
				邻氨基苯甲酸甲酯 ^[81]	69.485 7
				邻氨基苯甲酸甲酯 ^[81]	65.040 5
				辣椒素 ^[81]	60.097 8
AIP	温和气单胞菌 <i>Aeromonas sobria</i>	LuxR	Discovery Studio	紫铆因 ^[82]	-11.246
				补骨脂二氢黄酮 ^[82]	-8.056
		LuxI		儿茶素-7-木糖苷 ^[82]	-7.414
				BL39R1 ^[84]	-5.41
				Z-叶绿醇 ^[85]	-87.89
	紫色杆菌 <i>Chromobacterium violaceum</i>	CviR	Schrodinger	金缕梅单宁 ^[86]	/
				KM-03009 ^[90]	-10.89
				SPB-022292 ^[90]	-14.75
AI-2	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	SdiA	AutoDock		
AI-2	沙门氏菌 <i>Salmonella</i>	SdiA	CLC Drug Discovery Workbench		
AI-2	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	RIP	/		
AI-2	哈维氏弧菌 <i>Vibrio harveyi</i>	LuxP	DOCK		

4.2 VS 筛选天然 QSI 的展望

以细菌 QS 系统作为靶标防治细菌病害,并不杀死或抑制细菌生长,不易使细菌产生抗药性^[102],这一观点也被大多数人所认可。安全高效 QSI 的筛选与开发利用越来越受到人们的关注,理想的 QSI 须达到以下几个条件:①分子量小且具有较强的 QS 抑制活性;②化学性质稳定,不易降解;③对宿主无害;④特异性强;⑤不干扰细菌正常基础代谢^[78]。Vattem 等^[103]建议在水果、蔬菜、药用植物成分中寻找 QSI,这种从饮食来源中发现的安

全抗 QS 药物的新策略,可大大减少毒性,而不存在抗菌药物耐药的风险。另外,天然产物活性基团多样、立体构型复杂,这些性质能够使天然产物更容易和相应靶标结合。天然产物本是由生命体所“设计”出来,会天然地与蛋白受体结合,筛选与天然配体结构类似的化合物会大大提高命中率。天然产物结构多样、拥有较高的活性和低毒性^[57],然而,使用天然产物作为 QSI 也有其缺陷,如某些筛选出来的苗头天然产物含量过少,生物利用度低,不易提取和分离纯化,为 QSI 的

药理学验证带来了较大困难。当前,天然 QSI 的研究越来越受到研究者的青睐,而实体天然产物数据库中的化合物数量依然难以达到 VS 的需求。因为海洋中的天然产物具有更加新颖的结构以及庞大的资源储备,其中许多化合物表现出良好的抗菌、抗病毒、抗肿瘤等活性,有人将海洋天然产物列为补充天然产物数据库的重要来源,这将大大补充候选分子的数量和结构多样性。若要将 VS 筛选 QSI 研发效率最大化,实体天然产物数据库的建设是一个亟待解决的关键点。

目前 QSI 研究的关键问题还有很多,如 VS 靶标的发现和选择、天然产物数据库的完善、实验验证方法体系的发展和完善等。但不可否认的是,VS 能够大大加快 QSI 的筛选研究,经过众多研究人员的不懈探索,QSI 在医药、食品安全、动植物病害防治等许多领域已表现出不容小觑的发展潜力。总之,VS 技术在天然 QSI 研究中具有广阔的发展空间,应当对此给予足够的重视。

REFERENCES

- [1] WHITELEY M, DIGGLE S P, GREENBERG E P. Progress in and promise of bacterial quorum sensing research[J]. *Nature*, 2017, 551(7680): 313-320.
- [2] FUQUA W C, WINANS S C, GREENBERG E P. Quorum sensing in bacteria: The LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators[J]. *J Bacteriol*, 1994, 176 (2): 269-275.
- [3] ENGBRECHT J, NEALSON K, SILVERMAN M. Bacterial bioluminescence: Isolation and genetic analysis of functions from *Vibrio fischeri*[J]. *Cell*, 1983, 32(3): 773-781.
- [4] PIERSON L S, KEPPEL V D, WOOD D W. Phenazine antibiotic biosynthesis in *Pseudomonas aureofaciens* 30-84 is regulated by PhzR in response to cell density[J]. *J Bacteriol*, 1994, 176(13): 3966-3974.
- [5] ZHANG L H, MURPHY P J, KERR A, et al. *Agrobacterium* conjugation and gene regulation by N-acyl-L-homoserine lactones[J]. *Nature*, 1993, 362(6419): 446-448.
- [6] MEDELLIN-PÉÑA M J, GRIFFITHS M W. Effect of molecules secreted by *Lactobacillus acidophilus* strain La-5 on *Escherichia coli* O157: H7 colonization[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75(4): 1165-1172.
- [7] ZHONG H C, HE Y F. Research advances on regulative role of quorum sensing system in formation of bacterial biofilm[J]. *Anim Husb Feed Sci(畜牧与饲料科学)*, 2020, 41(5): 7-12.
- [8] HENSE B A, SCHUSTER M. Core principles of bacterial autoinducer systems[J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2015, 79(1): 153-169.
- [9] DAI X, ZHOU J H, ZHU L, et al. Research advance in the function of quorum sensing in the biological aggregates[J]. *Chin J Appl Ecol(应用生态学报)*, 2014, 25(4): 1206-1212.
- [10] WEI Q, BHASME P, WANG Z, et al. Chinese medicinal herb extract inhibits PQS-mediated quorum sensing system in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *J Ethnopharmacol*, 2020(248): 112272.
- [11] ZHOU L, WANG X Y, HE Y W. DSF signal-dependent quorum sensing in plant pathogenic bacteria *Xanthomonas*[J]. *Sci Agric Sin(中国农业科学)*, 2013, 46(14): 2910-2922.
- [12] GUO Y Z, ZHAO Y P, TANG X, et al. Deciphering bacterial social traits via diffusible signal factor (DSF) -mediated public goods in an anammox community[J]. *Water Res*, 2021(191): 116802.
- [13] FU L, WANG C, LIU N, et al. Quorum sensing system-regulated genes affect the spoilage potential of *Shewanella baltica*[J]. *Food Res Int*, 2018(107): 1-9.
- [14] YANG M, GU W, YANG B R, et al. Effect of traditional Chinese medicine in improving human health by regulating bacterial quorum sensing system[J]. *China J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2020, 45(6): 1297-1303.
- [15] HO K K, CHEN R, WILLCOX M D, et al. Quorum sensing inhibitory activities of surface immobilized antibacterial dihydropyrrolones via click chemistry[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(7): 2336-2345.
- [16] WU R, GU Y, ZHANG Y, et al. Quorum sensing inhibitors and application in food preservation[J]. *Chin J Bioprocess Eng(生物加工过程)*, 2019, 17(3): 264-270.
- [17] DEFOIRDT T, BOON N, SORGELOOS P, et al. Quorum sensing and quorum quenching in *Vibrio harveyi*: Lessons learned from *in vivo* work[J]. *Isme J*, 2008, 2(1): 19-26.
- [18] SIDDIQUI M F, SAKINAH M, SINGH L, et al. Targeting N-acyl-homoserine-lactones to mitigate membrane biofouling based on quorum sensing using a biofouling reducer[J]. *J Biotechnol*, 2012, 161(3): 190-197.
- [19] NHAN D T, CAM D T, WILLE M, et al. Quorum quenching bacteria protect *Macrobrachium rosenbergii* larvae from *Vibrio harveyi* infection[J]. *J Appl Microbiol*, 2010, 109(3): 1007-1016.
- [20] ZHOU J H, YAN Z, GAO C S, et al. Quorum sensing inhibition and its application in plant disease control: A review [J]. *J South Agric(南方农业学报)*, 2017, 48(12): 2197-2203.
- [21] LIU A L, DU G H. Research progress of virtual screening aided drug discovery[J]. *Acta Pharm Sin(药科学)*, 2009, 44(6): 566-570.
- [22] ZHAO H, MA W J, ZHANG Y J, et al. A comprehensive review update and future trends of natural products as quorum sensing inhibitors[J]. *Chin J Bioprocess Eng(生物加工过程)*, 2019, 17(3): 300-309.
- [23] DAMTE D, GEBRU E, LEE S J, et al. Evaluation of anti-quorum sensing activity of 97 indigenous plant extracts from Korea through bioreporter bacterial strains *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *J Microb Biochem Technol*, 2013, 5(2): 42-46.
- [24] ADONIZIO A L, DOWNUM K, BENNETT B C, et al. Anti-quorum sensing activity of medicinal plants in southern Florida[J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 105(3): 427-435.
- [25] SONI K A, LU L, JESUDHASAN P R, et al. Influence of autoinducer-2 (AI-2) and beef sample extracts on *E. coli* O157: H7 survival and gene expression of virulence genes *yadK* and

- hhA[J]. J Food Sci, 2008, 73(3): M135-M139.
- [26] STOLTZ D A, OZER E A, NG C J, et al. Paraoxonase-2 deficiency enhances *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing in murine tracheal epithelia[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2007, 292(4): L852-L860.
- [27] TRUCHADO P, LÓPEZ-GÁLVEZ F, GIL M I, et al. Quorum sensing inhibitory and antimicrobial activities of honeys and the relationship with individual phenolics[J]. Food Chem, 2009, 115(4): 1337-1344.
- [28] ALJADI A M, YUSOFF K M. Isolation and identification of phenolic acids in Malaysian honey with antibacterial properties [J]. Turk J Med Sci, 2003, 33(4): 229-236.
- [29] RASMUSSEN T B, SKINDERSOE M E, BJARNSHOLT T, et al. Identity and effects of quorum-sensing inhibitors produced by *Penicillium* species[J]. Microbiology: Reading, 2005, 151(Pt 5): 1325-1340.
- [30] YOUNIS K M, USUP G, AHMAD A. Secondary metabolites produced by marine streptomycetes as antibiofilm and quorum-sensing inhibitor of uropathogen *Proteus mirabilis*[J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2016, 23(5): 4756-4767.
- [31] KALIA V C, PUROHIT H J. Quenching the quorum sensing system: Potential antibacterial drug targets[J]. Crit Rev Microbiol, 2011, 37(2): 121-140.
- [32] ZAHEER Z, KHAN F A, SANGSHETTI J N, et al. Novel amalgamation of phthalazine-quinolines as biofilm inhibitors: One-pot synthesis, biological evaluation and in silico ADME prediction with favorable metabolic fate[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2016, 26(7): 1696-1703.
- [33] KUMAR L, CHHIBBER S, KUMAR R, et al. Zingerone silences quorum sensing and attenuates virulence of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Fitoterapia, 2015(102): 84-95.
- [34] HOANG T T, SCHWEIZER H P. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* enoyl-acyl carrier protein reductase (FabI): A target for the antimicrobial triclosan and its role in acylated homoserine lactone synthesis[J]. J Bacteriol, 1999, 181(17): 5489-5497.
- [35] CHANG C Y, KRISHNAN T, WANG H, et al. Non-antibiotic quorum sensing inhibitors acting against N-acyl homoserine lactone synthase as druggable target[J]. Sci Rep, 2014(4): 7245.
- [36] CHRISTENSEN Q H, GROVE T L, BOOKER S J, et al. A high-throughput screen for quorum-sensing inhibitors that target acyl-homoserine lactone synthases[J]. PNAS, 2013, 110(34): 13815-13820.
- [37] QI L L, CHEN B, WANG J B. Research progress on inhibitors toward quorum sensing system[J]. Chem Life(生命的化学), 2016, 36(3): 311-314.
- [38] DONG Y H, XU J L, LI X Z, et al. AiiA, an enzyme that inactivates the acylhomoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora*[J]. PNAS, 2000, 97(7): 3526-3531.
- [39] DU Y F, LI T, WAN Y F, et al. Signal molecule-dependent quorum-sensing and quorum-quenching enzymes in bacteria[J]. Crit Rev Eukaryot Gene Expr, 2014, 24(2): 117-132.
- [40] SIKDAR R, ELIAS M. Quorum quenching enzymes and their effects on virulence, biofilm and microbiomes: a review of recent advances[J]. Exp Rev Anti-infect Ther, 2020, 18(12): 1221-1233.
- [41] LIN Y H, XU J L, HU J, et al. Acyl-homoserine lactone acylase from *Ralstonia* strain XJ12B represents a novel and potent class of quorum-quenching enzymes[J]. Mol Microbiol, 2003, 47(3): 849-860.
- [42] XU F, BYUN T, DUSSEN H J, et al. Degradation of N-acylhomoserine lactones, the bacterial quorum-sensing molecules, by acylase[J]. J Biotechnol, 2003, 101(1): 89-96.
- [43] YANG F, WANG L H, WANG J, et al. Quorum quenching enzyme activity is widely conserved in the sera of mammalian species[J]. FEBS Lett, 2005, 579(17): 3713-3717.
- [44] NITHYA C, ARAVINDRAJA C, PANDIAN S K. *Bacillus pumilus* of Palk Bay origin inhibits quorum-sensing-mediated virulence factors in Gram-negative bacteria[J]. Res Microbiol, 2010, 161(4): 293-304.
- [45] GIRENAVAR B, CEPEDA M L, SONI K A, et al. Grapefruit juice and its furocoumarins inhibits autoinducer signaling and biofilm formation in bacteria[J]. Int J Food Microbiol, 2008, 125(2): 204-208.
- [46] CAICEDO J C, VILLAMIZAR S, FERRO M I T, et al. Bacteria from the *Citrus phylloplane* can disrupt cell-cell signalling in *Xanthomonas citri* and reduce *Citrus canker* disease severity[J]. Plant Pathol, 2016, 65(5): 782-791.
- [47] KE X, MILLER L C, BASSLER B L. Determinants governing ligand specificity of the *Vibrio harveyi* LuxN quorum-sensing receptor[J]. Mol Microbiol, 2015, 95(1): 127-142.
- [48] SOHEILI V, BAZZAZ B S, ABDOLLAHPOUR N, et al. Investigation of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing signaling system for identifying multiple inhibitors using molecular docking and structural analysis methodology[J]. Microb Pathog, 2015(89): 73-78.
- [49] SWEM L R, SWEM D L, O'LOUGHLIN C T, et al. A quorum-sensing antagonist targets both membrane-bound and cytoplasmic receptors and controls bacterial pathogenicity[J]. Mol Cell, 2009, 35(2): 143-153.
- [50] FORSCHNER-DANCAUSE S, POULIN E, MESCHWITZ S. Quorum sensing inhibition and structure-activity relationships of β -keto esters[J]. Molecules, 2016, 21(8): 971.
- [51] NI N, CHOUDHARY G, LI M, et al. Pyrogallol and its analogs can antagonize bacterial quorum sensing in *Vibrio harveyi*[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2008, 18(5): 1567-1572.
- [52] MA L, LIU X, LIANG H, et al. Effects of 14- α -lipoyl andrographolide on quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2012, 56(12): 6088-6094.
- [53] O'LOUGHLIN C T, MILLER L C, SIRYAPORN A, et al. A quorum-sensing inhibitor blocks *Pseudomonas aeruginosa* virulence and biofilm formation[J]. PNAS, 2013, 110(44): 17981-17986.
- [54] GOPU V, MEENA C K, SHETTY P H. Quercetin influences quorum sensing in food borne bacteria: *In-vitro* and in-silico evidence[J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0134684.
- [55] STACY D M, LE QUEMENT S T, HANSEN C L, et al. Synthesis and biological evaluation of triazole-containing N-acyl homoserine lactones as quorum sensing modulators[J]. Org Biomol Chem, 2013, 11(6): 938-954.
- [56] RESTER U. From virtuality to reality-virtual screening in lead

- p>discovery and lead optimization: A medicinal chemistry perspective[J]. Curr Opin Drug Discovery Dev, 2008, 11(4): 559-568.
- [57] QIAO L S, ZHANG Y L. Application of CADD on multi-target drug R & D in natural products[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2014, 39(11): 1951-1955.
- [58] QIAO H J, DAI Z R, GE G B, et al. Applications of molecular docking in drug discovery[J]. J Nanyang Norm Univ(南阳师范学院学报), 2015, 14(12): 29-35.
- [59] GORGULLA C, BOESZOERMENYI A, WANG Z F, et al. An open-source drug discovery platform enables ultra-large virtual screens[J]. Nature, 2020, 580(7805): 663-668.
- [60] BI Y M, YIN B, FAN G J, et al. Study on screening of antithrombotic active components of *spatholobi caulis* based on molecular docking technology[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2021, 38(15): 1803-1812.
- [61] GAO Y, WANG F X, LIU H B. Application of in silico screening technology in the medical research of natural products[J]. Int J Pharm Res(国际药学研究杂志), 2020, 47(8): 602-608.
- [62] CHEN L X, CHENG L, ZHENG M Z, et al. Progress in structure-based screening of active natural products[J]. Prog Pharm Sci(药学进展), 2018, 42(1): 39-51.
- [63] AHMED M Z, MUTEEB G, KHAN S, et al. Identifying novel inhibitor of quorum sensing transcriptional regulator (SdiA) of *Klebsiella pneumoniae* through modelling, docking and molecular dynamics simulation[J]. J Biomol Struct Dyn, 2021, 39(10): 3594-3604.
- [64] VAN DELDEN C, IGLEWSKI B H. Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections[J]. Emerg Infect Dis, 1998, 4(4): 551-560.
- [65] STRUSS A K, NUNES A, WAALEN J, et al. Toward implementation of quorum sensing autoinducers as biomarkers for infectious disease states[J]. Anal Chem, 2013, 85(6): 3355-3362.
- [66] GAMBELLO M J, IGLEWSKI B H. Cloning and characterization of the *Pseudomonas aeruginosa* lasR gene, a transcriptional activator of elastase expression[J]. J Bacteriol, 1991, 173(9): 3000-3009.
- [67] OCHSNER U A, KOCH A K, FIECHTER A, et al. Isolation and characterization of a regulatory gene affecting rhamnolipid biosurfactant synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. J Bacteriol, 1994, 176(7): 2044-2054.
- [68] RASMUSSEN T B, GIVSKOV M. Quorum sensing inhibitors: A bargain of effects[J]. Microbiology: Reading, 2006, 152(Pt 4): 895-904.
- [69] ZHANG L Y, CHEN L Z, YAN L F, et al. Virtual screening for quorum sensing inhibitors from the TCM database[J]. Acta Agric Univ Jiangxiensis(江西农业大学学报), 2012, 34(5): 948-953.
- [70] ANNAPOORANI A, UMAMAGESWARAN V, PARAMESWARI R, et al. Computational discovery of putative quorum sensing inhibitors against LasR and RhIR receptor proteins of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. J Comput Aided Mol Des, 2012, 26(9): 1067-1077.
- [71] ZHONG L, RAVICHANDRAN V, ZHANG N, et al. Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing by natural products: Virtual screening, evaluation and biomolecular interactions[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(6): 2190.
- [72] KIM H S, LEE S H, BYUN Y, et al. 6-Gingerol reduces *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and virulence via quorum sensing inhibition[J]. Sci Rep, 2015, 5(1): 8656.
- [73] LIU Y. Virtual screening for quorum sensing inhibitors in *pseudomonas aeruginosa*[D]. Tangshan: North China University of Science and Technology, 2017.
- [74] YANG L, RYBTKE M T, JAKOBSEN T H, et al. Computer-aided identification of recognized drugs as *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing inhibitors[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(6): 2432-2443.
- [75] MUH U, HARE B J, DUERKOP B A, et al. A structurally unrelated mimic of a *Pseudomonas aeruginosa* acyl-homoserine lactone quorum-sensing signal[J]. PNAS, 2006, 103(45): 16948-16952.
- [76] DING X, YIN B, QIAN L, et al. Screening for novel quorum-sensing inhibitors to interfere with the formation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm[J]. J Med Microbiol, 2011, 60(Pt 12): 1827-1834.
- [77] ZENG Z R. Virtual screening and identification bacterial quorum sensing inhibitors from Chinese herb medicines[D]. Guangzhou: Sun Yat-Sen University, 2009.
- [78] DING T. Screening and inhibitory mechanism of quorum sensing inhibitors of *pseudomonas fluorescens* P07[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019.
- [79] DING T, LI T, LI J. Virtual screening for quorum-sensing inhibitors of *Pseudomonas fluorescens* P07 from a food-derived compound database[J]. J Appl Microbiol, 2019, 127(3): 763-777.
- [80] DING T, LI Y. Inhibition on quorum sensing of *Pseudomonas fluorescens* by cyclic dipeptide isolated from *Aspergillus oryzae* and its mechanism[J]. Chin J Bioprocess Eng(生物加工过程), 2020, 18(2): 234-244.
- [81] SUN X J. Study on quorum sensing luxI/luxR gene expression and its inhibitors in *Aeromonas sobria* isolated from turbot[D]. Jinzhou: Bohai University, 2020.
- [82] RAVICHANDRAN V, ZHONG L, WANG H, et al. Virtual screening and biomolecular interactions of CviR-based quorum sensing inhibitors against *Chromobacterium violaceum*[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2018(8): 292.
- [83] WANG Z H, ZUO J K, JIANG W, et al. Effect of acyl homoserine lactone synthase LasI on the biological characteristics of avian pathogenic *Escherichia coli*[J]. Microbiol China(微生物学通报), 2019, 46(12): 3355-3362.
- [84] RAVICHANDIRAN V, SHANMUGAM K, ANUPAMA K, et al. Structure-based virtual screening for plant-derived SdiA-selective ligands as potential antiviral agents against uropathogenic *Escherichia coli*[J]. Eur J Med Chem, 2012(48): 200-205.
- [85] ALMEIDA F A, VARGAS E L G, CARNEIRO D G, et al. Virtual screening of plant compounds and nonsteroidal anti-inflammatory drugs for inhibition of quorum sensing and biofilm formation in *Salmonella*[J]. Microb Pathog, 2018(121): 369-388.
- [86] KIRAN M D, ADIKESAVAN N V, CIRIONI O, et al. Discovery of a quorum-sensing inhibitor of drug-resistant

- staphylococcal infections by structure-based virtual screening[J]. Mol Pharmacol, 2008, 73(5): 1578-1586.
- [87] KIM M K, ZHAO A, WANG A, et al. Surface-attached molecules control *Staphylococcus aureus* quorum sensing and biofilm development[J]. Nat Microbiol, 2017(2): 17080.
- [88] CHEN X, SCHAUDER S, POTIER N, et al. Structural identification of a bacterial quorum-sensing signal containing boron[J]. Nature, 2002, 415(6871): 545-549.
- [89] RAJAMANIKANDAN S, SRINIVASAN P. Pharmacophore modeling and structure-based virtual screening to identify potent inhibitors targeting LuxP of *Vibrio harveyi*[J]. J Recept Signal Transduct Res, 2016, 36(6): 617-632.
- [90] LI M Y, NI N T, CHOU H T, et al. Structure-based discovery and experimental verification of novel AI-2 quorum sensing inhibitors against *Vibrio harveyi*[J]. ChemMedChem, 2008, 3(8): 1242-1249.
- [91] NEIDITCH M B, FEDERLE M J, POMPEANI A J, et al. Ligand-induced asymmetry in histidine sensor kinase complex regulates quorum sensing[J]. Cell, 2006, 126(6): 1095-1108.
- [92] STOCK A M. Transmembrane signaling by asymmetry[J]. Nat Struct Mol Biol, 2006, 13(10): 862-863.
- [93] ZHU P, PENG H, NI N, et al. Novel AI-2 quorum sensing inhibitors in *Vibrio harveyi* identified through structure-based virtual screening[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2012, 22(20): 6413-6417.
- [94] GALLOWAY W R, HODGKINSON J T, BOWDEN S D, et al. Quorum sensing in Gram-negative bacteria: Small-molecule modulation of AHL and AI-2 quorum sensing pathways[J]. Chem Rev, 2011, 111(1): 28-67.
- [95] LIU H. Ligands screening for autoinducer-2(AI-2) secrete proteins MTAN and LuxS targeting[D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2008.
- [96] DING X, HONG Z Y, CHAI Y F. New technologies for high throughput screening of effective traditional Chinese medicine components[J]. J Pharm Pract(药学实践杂志), 2015, 33(3): 193-197.
- [97] ZHU W, CHEN K J, XU X J. Application of computerized virtual screening technique in traditional Chinese medicine[J]. Chin J Integr Tradit West Med(中国中西医结合杂志), 2007, 27(3): 263-266.
- [98] LI H L. Design of algorithms and programs for drug discovery and drug targeted virtual screening[D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2005.
- [99] SCIOR T, BENDER A, TRESADERN G, et al. Recognizing pitfalls in virtual screening: A critical review[J]. J Chem Inf Model, 2012, 52(4): 867-881.
- [100] WU K Z, LI K, LI A X. Virtual screening and new drug discovery[J]. J Logist Univ PAP Med Sci(武警医学院学报), 2011, 20(5): 415-419.
- [101] SKOVSTRUP S, LE QUEMENT S T, HANSEN T, et al. Identification of LasR ligands through a virtual screening approach[J]. ChemMedChem, 2013, 8(1): 157-163.
- [102] ZHANG L Q, TIAN T, MEI G Y. Quorum quenching, a new strategy for controlling plant bacterial diseases[J]. Chin J Biol Contr(中国生物防治), 2010, 26(3): 241-247.
- [103] VATTEM D A, MIHALIK K, CRIXELL S H, et al. Dietary phytochemicals as quorum sensing inhibitors[J]. Fitoterapia, 2007, 78(4): 302-310.

收稿日期: 2021-04-28

(本文责编: 蔡珊珊)