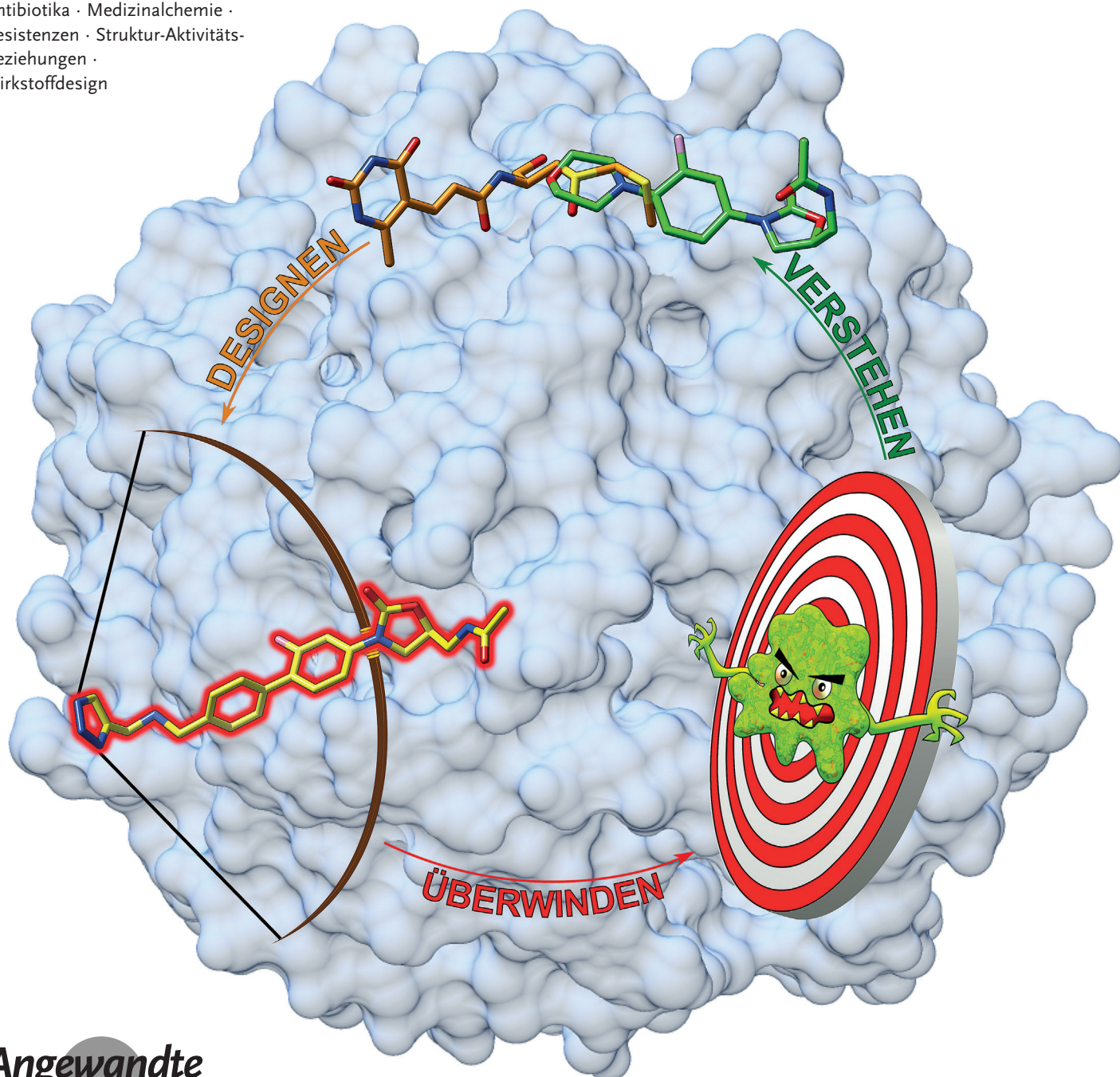


Antibiotikaresistenzen gezielt überwinden

Mathieu F. Chellat, Luka Raguz und Rainer Riedl*

Stichwörter:

Antibiotika · Medizinalchemie ·
Resistenzen · Struktur-Aktivitäts-
Beziehungen ·
Wirkstoffdesign



Neu e Strategien zur Bekämpfung von Antibiotikaresistenzen zu finden, ist eine der größten globalen Herausforderungen für die Gesundheitssysteme. In den letzten Jahrzehnten gab es eine drastische Zunahme an humanpathogenen Bakterien, die resistent gegen Antibiotika sind. Immer mehr Infektionen, die durch resistente Mikroorganismen verursacht werden, lassen sich nicht mehr mit konventionellen Behandlungen kurieren, und selbst Reserveantibiotika verlieren ihre Wirkung. Zusätzlich sind die Entwicklungsströme an neuen Antibiotika aus der pharmazeutischen Industrie in den letzten Jahrzehnten versiegt. Die Weltgesundheitsorganisation hat mit ihrem Aufruf „Combat drug resistance: no action today means no cure tomorrow“ eine Zunahme der Forschungsaktivitäten auf diesem Gebiet stimuliert, und mehrere neue, vielversprechende Strategien zur Wiederherstellung antibiotischer Behandlungsoptionen konnten seitdem entwickelt werden.

1. Einleitung und Hintergrund

Seit den Pionierarbeiten von Alexander Fleming, Paul Ehrlich, Gerhard Domagk und anderen auf dem Gebiet der Antibiotikaforschung vor rund 100 Jahren werden die Vorteile dieser „Wundermittel“ zur Behandlung von Infektionskrankheiten im Gesundheitswesen als Selbstverständlichkeit angesehen. Leider hat es bezüglich der effizienten Anwendung von Antibiotika in den letzten Jahren aber eine drastische negative Veränderung gegeben: Immer mehr Bakterien entwickeln Resistenzen gegen antibiotische Chemotherapien und sprechen nicht mehr auf die Behandlung mit antibakteriellen Wirkstoffmolekülen an, für die sie bisher empfänglich gewesen sind. Dies führt zu länger anhaltenden Infektionen, was unter anderem auch das Risiko der Weiterverbreitung resistenter Stämme zur Folge hat.^[1] Die Entwicklung resistenter Bakterienstämme ist ein natürliches Phänomen, das auf dem Selektionsdruck des Antibiotikums auf die Bakterienpopulation beruht. Resistenzen gegen Antibiotika können prinzipiell auf vier verschiedenen Wegen ausgebildet werden und manifestieren sich in vier verschiedenen Mechanismen. Die gegenwärtig gebräuchlichen Antibiotika wurden vorrangig gegen fünf essentielle molekulare Zielstrukturen („Targets“) der Bakterien entwickelt (Abbildung 1). Der ausgiebige Einsatz von Antibiotika beschleunigt das Auftreten resistenter Stämme. Laut der Weltgesundheitsorganisation (WHO) wurden 2013 z. B. rund 480 000 neue Fälle von multiresistenter Tuberkulose (MDR-TB) und extensiv resistenter Tuberkulose (XDR-TB) in 100 Ländern registriert.^[1] Weltweit gibt es einen hohen Anteil an resistenten Bakterien, die häufig auftretende Infektionen verursachen, wie z. B. Harnwegsinfektionen und Lungenentzündung. Ein substantieller Anteil von Infektionen, die in Krankenhäusern auftreten, wird von stark resistenten Bakterien verursacht, wie z. B. Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen (MRSA) und Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE) oder multiresistenten Gram-negativen Bakterien, die gegen alle β -Lactam-Antibiotika resistent sind. Patienten mit Infektionen, die durch resistente Bakterien verursacht wurden,

haben eine schlechtere klinische Prognose und benötigen mehr Ressourcen aus dem Gesundheitssystem als Patienten, die eine Infektion mit nichtresistenten Bakterien erleiden.^[1]

Durch den jahrzehntelangen Entwicklungsstillstand für neue antibiotische Chemotherapien in der pharmazeutischen Industrie einerseits und das Auftreten resistenter Bakterien andererseits laufen die Gesundheitssysteme Gefahr, Infektionskrankheiten in Zukunft nicht mehr effektiv behandeln zu können. Um dieser sich abzeichnenden Gefährdung entgegenzuwirken, fordern globale Organisationen, wie die Weltgesundheitsorganisation, die Erforschung neuer Ansätze zur Bekämpfung von Antibiotikaresistenzen. Dabei wird die Suche nach neuen Antibiotika durch verschiedene intrinsische Faktoren erschwert. So führt z. B. bei Gram-negativen Bakterien die äußere Membran als Permeabilitätsbarriere im Vergleich zu Gram-positiven Bakterien verstärkt zu Antibiotikaresistenzen. Da die äußere Membran die antibiotischen Wirkstoffe daran hindert, zu ihren therapeutischen Zielen im Bakterium vorzudringen, stellt die Entwicklung neuer Wirkstoffe zur Behandlung von Infektionen, die durch Gram-negative Bakterien verursacht werden, eine große Herausforderung dar. Diesbezüglich können kationische Peptide die Permeabilität der äußeren Membran erhöhen und dem Antibiotikum den Zugang in die Bakterienzelle erleichtern.^[2] Ein weiterer nachteiliger Aspekt der Antibiotikaforschung ist der Mangel an neuen antibiotischen Targets.

Aus dem Inhalt

1. Einleitung und Hintergrund	6711
2. Inhibitoren der Proteinsynthese	6713
3. Inhibitoren der Zellwandsynthese	6724
4. β -Lactamase-Inhibitoren	6730
5. Intervention auf genetischer Ebene	6732
6. Zusammenfassung und Ausblick	6734

[*] Dr. M. F. Chellat, L. Raguž, Prof. Dr. R. Riedl
Institut für Chemie und Biotechnologie
FS Organische Chemie und Medizinalchemie
Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften (ZHAW)
Einsiedlerstrasse 31, CH-8820 Wädenswil (Schweiz)
E-Mail: rainer.riedl@zhaw.ch

© 2016 Die Autoren. Veröffentlicht von Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Dieser Open Access Beitrag steht unter den Bedingungen der Creative Commons Attribution Non-Commercial NoDerivs License, die eine Nutzung und Verbreitung in allen Medien gestattet, sofern der ursprüngliche Beitrag ordnungsgemäß zitiert und nicht für kommerzielle Zwecke genutzt wird und keine Änderungen und Anpassungen vorgenommen werden.

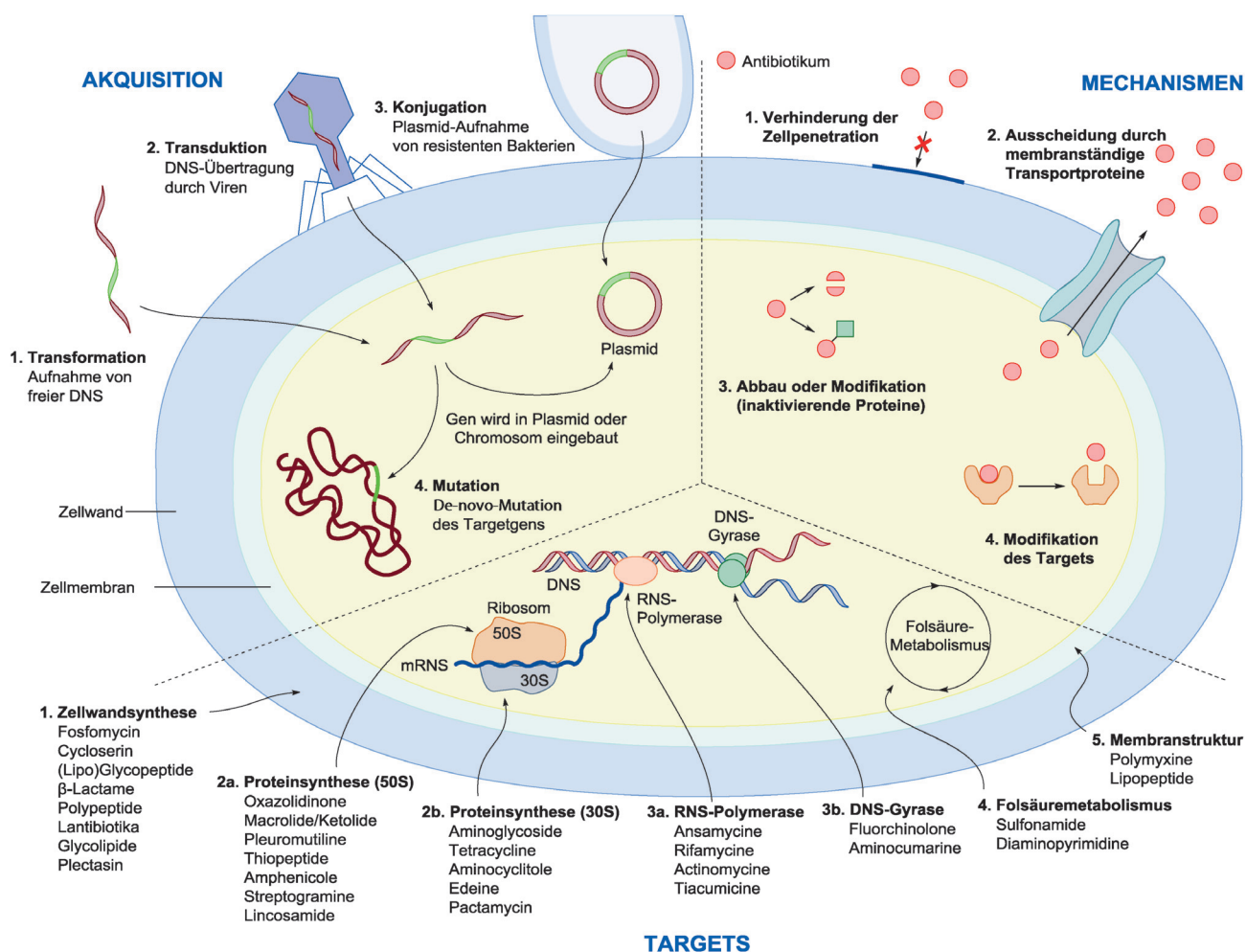


Abbildung 1. Die vier Wege zum Erwerb von Resistenzen, die vier Hauptmechanismen der Resistenzen und die fünf vorrangigen antibiotischen Targets.

Neben den sehr gut verstandenen und sehr stark genutzten antibiotischen Targets, z.B. der bakteriellen Protein- oder Zellwandsynthese, werden dringend neue antibiotische Targets benötigt, um das Arsenal an antibiotischen Behandlungsoptionen auf eine breitere Basis zu stellen. Die Intervention mit der Adenosintriphosphat-Synthase als neuem bakteriellem Target ist in dieser Hinsicht ein erfolgreicher Ansatz für die Behandlung resistenter *Mycobacterium-tu-*

berculosis-Stämme.^[3] Weitere Beispiele mit neuen Wirkmechanismen, z.B. dem Eingriff in die Resistenzbildung auf genetischer Ebene, werden in diesem Aufsatz vorgestellt.

Ein Großteil der Forschungsaktivitäten nach neuen Antibiotika ist leider immer noch auf die Entwicklung verbesserter Versionen bestehender Antibiotika fokussiert. Während viele dieser Verbindungen nur leicht verbesserte Wirkstoffprofile aufweisen, gelang es aber durch rationale und



Mathieu Chellat erhielt 2005 einen M.S. in Chemie (CPE Lyon, Frankreich). Danach forschte er bei Scynexis, Inc., NC, USA an der Synthese von Fungiziden. 2006 begann er sein Promotionsstudium an der Ohio State University bei Prof. Stambuli zur Synthese des marinen Macrolids Leidelid A. 2011 folgte ein Postdoktorat an der Universität Genf mit Prof. Alexakis. Gegenwärtig forschert er als wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Gruppe von Prof. Riedl an neuen Molekülen zur Überwindung von Antibiotikaresistenzen.



Luka Raguž erhielt 2011 einen BSc und 2013 einen MSc in Chemie von der Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften (ZHAW). Während seiner Masterarbeit beschäftigte er sich mit dem strukturbasierten Design und der Synthese neuartiger Proteaseinhibitoren in der Forschungsgruppe von Prof. Riedl. Zurzeit arbeitet er als wissenschaftlicher Assistent in derselben Gruppe an der Entwicklung neuer Strategien zur Bekämpfung von Antibiotikaresistenzen.

systematische Ansätze, auch neue Wirkstoffe zu entwickeln, die weniger anfällig gegen Resistenzbildungen sind. Die Suche nach neuen Antibiotika in natürlichen Quellen ist eine weitere praktizierte Alternative, allerdings bleibt dabei das immanente Risiko der nachfolgenden Resistenzbildung bestehen.

Das mechanistische und strukturelle Verständnis der dem Entstehen von Antibiotikaresistenzen zugrundeliegenden Prozesse bietet weit bessere Möglichkeiten, das Problem am Ursprung anzugehen, anstatt lediglich weitere Resistenzen in der Zukunft zu erzeugen. Durch die Kombination der mechanistischen Informationen von der Resistenzebene mit strukturbasierten Wirkstoffentwicklungsansätzen können Antibiotikaresistenzen umgangen oder sogar ausgeschaltet werden. Diese Strategie wurde in letzter Zeit mit steigendem Erfolg umgesetzt und steht im Fokus dieses Aufsatzes.

Das strukturbasierte Wirkstoffdesign hat sich zu einer etablierten Technologie der Wirkstoffforschung entwickelt. Dieser Ansatz wurde durch die Vielzahl an kristallographischen Strukturdaten von biologischen Makromolekülen ermöglicht und wird durch Genomdaten aus Sequenzierungsprojekten unterstützt. Sobald die Struktur eines Targets oder eine Cokristallstruktur eines Targets zusammen mit einem gebundenen Liganden zur Verfügung stehen, können strukturbasierte Ansätze kreativ und rational eingesetzt werden, um die Eigenschaften von Wirkstoffmolekülen zu optimieren. Fragmentbasierte Ansätze können dabei zur Identifizierung chemischer Startpunkte dienen, während Dockingmethoden das virtuelle Durchsuchen von Wirkstoffbibliotheken ermöglichen und De-novo-Ansätze neue chemische Grundgerüste von Wirkstoffmolekülen liefern können.^[4–8]

Mehrere exzellente und umfangreiche Aufsätze über Antibiotika sind in diesem und anderen Journals erschienen. Deren Fokus lag unter anderem auf der Entdeckung und der Synthese von Antibiotika sowie auf dem Verständnis der Entwicklung von Antibiotikaresistenzen.^[9–13] In unserem Aufsatz stellen wir strukturbasierte Ansätze in den Vordergrund, die erfolgreich eingesetzt wurden, um Antibiotikaresistenzen zu bekämpfen. Dies umfasst mehrere Targetklassen und verschiedene strukturbasierte Techniken, um die breite Anwendbarkeit dieser Strategie zu verdeutlichen. Unsere Auswahl basiert dabei vorrangig auf Projekten, die bereits klinische Wirkstoffe erbracht haben und somit als Vorzeigebeispiele für die antibiotische Wirkstoffforschung dienen



Rainer Riedl studierte Chemie an den Universitäten Heidelberg und Köln. 1998 promovierte er bei Prof. Berkessel in Organischer Chemie, bevor er für ein Postdoktorat in Chemischer Biologie als Humboldt-Stipendiat zu Prof. Schultz an die UC Berkeley und das Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA wechselte. Danach trat er Eli Lilly zu Wirkstoffentwicklungsprojekten in den Bereichen Onkologie, Entzündungskrankheiten und Diabetes bei. Seit 2009 leitet er die Organisationseinheit für Organische Chemie und Medizinalchemie an der ZHAW mit einem Fokus auf der strukturbasierten Entwicklung von Wirkstoffen gegen Infektionskrankheiten.

können. Zusätzlich haben wir aber auch Ergebnisse mit aufgenommen, bei denen die klinische Entwicklung noch nicht abgeschlossen ist, die aber neue, vielversprechende Konzepte repräsentieren.

Durch unseren Fokus auf strukturelle Daten waren wir beim Verfassen des Aufsatzes stark auf Graphik- und Modeling-Software angewiesen. Für die Darstellung von Cokristallstrukturen und struktureller Modelle wurde dabei Chimera 1.10.1^[14] zusammen mit Inkscape^[15] verwendet. Molekulares Docking wurde mit AutoDock Vina 1.1.2 durchgeführt.^[16]

2. Inhibitoren der Proteinsynthese

Die Proteinsynthese der Bakterien ist einer der Hauptangriffspunkte für Antibiotika und wurde für die effiziente strukturbasierte Intervention gegen Antibiotikaresistenzen genutzt.^[17,18] Die Proteinsynthese wird von Ribosomen durchgeführt, wobei aus der mRNA die entsprechende Polypeptidkette gebildet wird.^[19] Dieser Vorgang kann in vier Schritte unterteilt werden: Kettenstart (Initiation), Kettenverlängerung (Elongation), Kettenabbruch (Termination) und Wiederverwertung von Komponenten (Recycling). Die ersten beiden Schritte sind in Abbildung 2 dargestellt und werden kurz näher erläutert, da sie einige strukturelle Angriffstellen für Antibiotika beinhalten.

Bakterien verfügen über 70S-Ribosomen, die aus zwei Untereinheiten gebildet werden.^[19–22] Die große 50S-Untereinheit, in welcher 23S- und 5S-rRNA zu finden sind, bindet Aminoacyl-tRNA (aa-tRNA), katalysiert die Peptidyltransferreaktion und kontrolliert die Elongation. Die kleinere 30S-Untereinheit, welche die 16S-rRNA beinhaltet, bindet mRNA und löst die Proteinsynthese aus. Die Initiation beginnt damit, dass sich die beiden Ribosomenuntereinheiten zusammenfügen und dabei die mRNA und die Starter-fMet-tRNA umschließen. Dieser Vorgang wird durch die drei prokaryotischen Initiationsfaktoren IF1, IF2 und IF3 katalysiert. Der entstandene 70S-Initiationskomplex hat drei Hauptbindestellen für tRNA, die A-, P- und E-Stelle. An der A-Stelle tritt die beladene Aminoacyl-tRNA, welche zum entsprechenden mRNA-Kodon passt, in das Ribosom ein. Die P-Stelle beherbergt die Peptidyl-tRNA bzw. die tRNA, welche die wachsende Peptidkette trägt. Die E-Stelle enthält die deacylierte oder unbeladene tRNA, bevor sie das Ribosom verlässt. Die Elongation beschreibt den Zyklus, in dem schrittweise Aminosäuren zur wachsenden Peptidkette hinzugefügt werden. Dieser Schritt wird auch als Kern der Proteinsynthese angesehen. Im ersten Schritt bindet ein ternärer Komplex, der sich aus aa-tRNA, dem Elongationsfaktor Tu und Guanosintriphosphat zusammensetzt (aa-tRNA•EF-Tu•GTP), an die A-Stelle. Nach erfolgreicher Dekodierung wird der Komplex hydrolysiert, was zur Abtrennung von EF-Tu•GDP (GDP: Guanosindiphosphat) und einem anorganischen Phosphat (Pi) führt. Dies hat zur Folge, dass die aa-tRNA an die A-Stelle binden kann. Die Bildung der Peptidbindung erfolgt nun durch die Übertragung der gesamten Peptidkette von der Peptidyl-tRNA in der P-Stelle auf die aa-tRNA in der A-Stelle. Dieser ribosomale Zustand wird oft als Hybridzu-

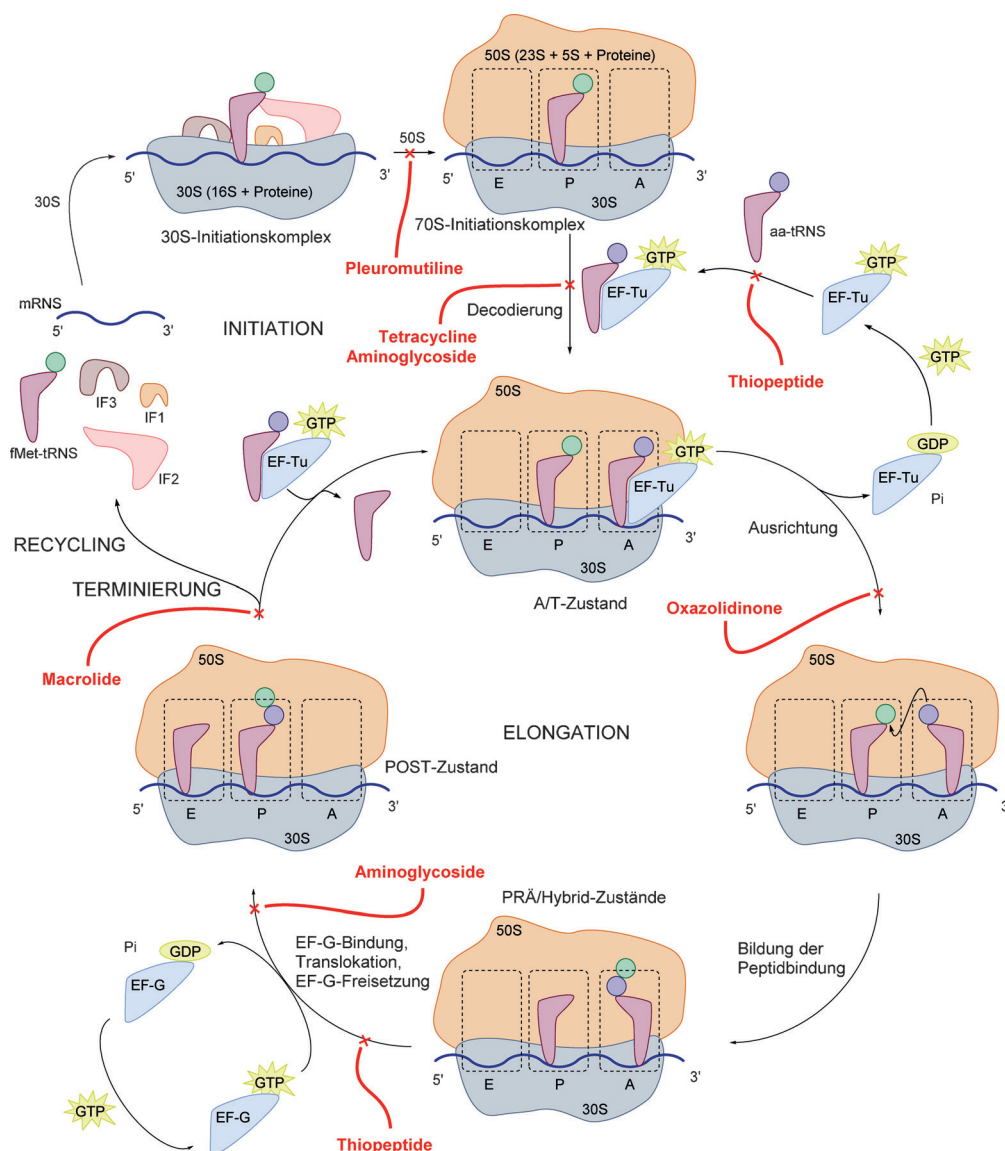


Abbildung 2. Die bakterielle Translationsmaschinerie mit antibiotischen Targets.

stand bezeichnet, da die tRNA sich zwischen den A/A-, P/P-, A/P- und P/E-Stellen hin und her bewegt. Im nächsten Schritt katalysiert der Elongationsfaktor G (EF-G) die Verlagerung des tRNA₂-mRNA-Komplexes um ein Kodon. Das führt dazu, dass die deacylierte tRNA an der E-Stelle zu liegen kommt und die Peptidyl-tRNA an die P-Stelle tritt. Zudem wird die A-Stelle frei, um die nächste aa-tRNA zu binden. Dieser Zyklus wiederholt sich so lange, bis die Peptidkette komplett aufgebaut wurde und ein Stop-Kodon die A-Stelle besetzt.

Wie in Abbildung 2 dargestellt, kann die Proteinsynthese durch eine Vielzahl unterschiedlicher Antibiotikaklassen bei annähernd jedem Schritt des Vorgangs angegriffen werden. Während einige Antibiotikaklassen, wie Macrolide, Oxazolidinone und Pleuromutiline, an die große 50S-Untereinheit binden, interagieren andere, wie Aminoglycoside und Tetracycline, mit der kleineren 30S-Untereinheit.

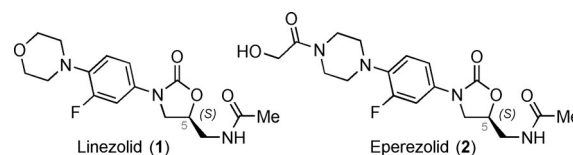


Abbildung 3. Strukturen der beiden ersten durch Upjohn synthetisierten Oxazolidinone.

substitution am Phenylring war nicht notwendig, jedoch führte sie zu einer Erhöhung der Wirksamkeit. Die *para*-Substitution konnte variiert werden, um das antibakterielle Spektrum zu erweitern.

Oxazolidinone sind Wirkstoffe, die an Ribosomen binden und dadurch die bakterielle Proteinsynthese inhibieren. Es benötigte allerdings einige Zeit, um die genaue Bindungsstelle und die mögliche Wirkungsweise zu identifizieren.^[28] Zwei Berichte aus dem Jahr 2008 über Cokristallstrukturen

2.1. Oxazolidinone

Seit über 50 Jahren sind Oxazolidinone die einzige neue Klasse synthetischer Antibiotika, die in die Klinik eingeführt wurde.^[23] Sie wurden 1978 zum ersten Mal beschrieben (E. I. duPont de Nemours & Co.),^[24] jedoch aufgrund erheblicher Toxizität zunächst nicht weiter entwickelt.^[25] Die Forschung auf diesem Gebiet wurde jedoch später wieder aufgenommen (initiiert durch Upjohn, später Pharmacia, jetzt Pfizer Inc.), und bis 1996 konnten zwei nicht-toxische Oxazolidinone entwickelt werden: Linezolid und Eprezolid (1 und 2; Abbildung 3).^[26]

Diese beiden Moleküle waren das Resultat einer umfassenden Struktur-Aktivitäts-Beziehungsstudie, durch welche die optimale Substitution am zentralen Oxazolidinonring ermittelt werden konnte.^[27] Wichtige Faktoren für die antibakterielle Wirkung sind der N-Arylsubstituent, die 5S-Substitution und die C5-Acylaminomethylgruppe. Die *meta*-Fluor-

von an der 50S-Untereinheit gebundenem Linezolid bestätigten die zuvor etablierte Bindungsstelle und schlugen einen Wirkungsmechanismus vor (Abbildung 4).^[29,30]

Linezolid bindet in der A-Stelle am Peptidyltransferasezentrum der 50S-Untereinheit aktiver Ribosomen und beeinflusst die Bindung der beladenen Aminoacyl-tRNS. Genauer betrachtet bindet Linezolid in eine Tasche, welche durch acht RNS-Bausteine geformt wird, wobei das Nukleotid U2585Ec in einer speziellen Konformation stabilisiert wird. Linezolid verhindert das Binden und/oder Positionieren der Starter-tRNS durch die Stabilisierung von U2585Ec in einer unproduktiven Konformation und verhindert somit die Bindung der tRNS an der A-Stelle, was zur Unterbrechung der Translationssequenz führt (Abbildung 4 A).^[29]

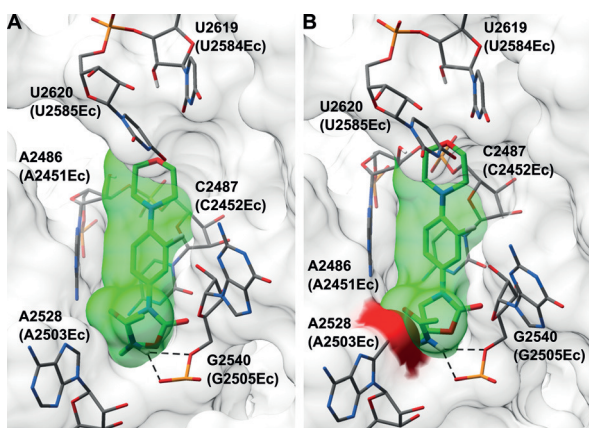


Abbildung 4. A) Cokristallstruktur von Linezolid (1) (C-Atome in Grün, F-Atome in Violett) in der ribosomalen 50S-Untereinheit von *Haloarcula marismortui* (PDB: 3CPW) und B) Modell von Linezolid (1) in der durch Cfr an A2503Ec methylierten ribosomalen 50S-Untereinheit von *H. marismortui*. Die Kollision von Linezolid mit der Methylgruppe ist rot hervorgehoben. Die von *Escherichia coli* abgeleitete Nummerierung ist in Klammern angegeben. Das Modell wurde entsprechend K. J. Shaw et al. mit Chimera 1.10.1 generiert.^[14,35]

Resistenzmechanismen gegen Oxazolidinone sind immer noch recht selten. Bis jetzt konnten drei Klassen von Resistenzmechanismen gegen Oxazolidinone charakterisiert werden.^[31]

Der erste umfasst Mutationen an der zentralen Schlaufe der 23S-rRNS der Domäne V, dem Peptidyltransferasezentrum. Einige der Nukleotide, die von diesen Mutationen betroffen sind, wechselwirken direkt mit den Oxazolidinonen. Der Großteil dagegen beeinflusst den erweiterten Bindungsbereich der Oxazolidinone.^[28] Mutationen an diesen Nukleotiden bewirken kleine Änderungen in der Konformation der Bindungstasche von Linezolid, was sich negativ auf die Wirkstoffbindung auswirkt. Der zweite Mechanismus, welcher weniger oft vorkommt, beinhaltet Mutationen an den Genen *rplC* und *rplD*. Diese Gene kodieren die ribosomalen Proteine L3 und L4.^[31]

Neben diesen chromosomalen Punktmutationen besteht die dritte Möglichkeit der Resistenzbildung darin, das *cfr*-Gen zu akquirieren (Chloramphenicol-Florfenicol-Resistenz). Diese Resistenz ist viel gravierender als die Mecha-

nismen, welche auf Mutationen basieren, da sie horizontal übertragbar ist.^[32,33] Mechanistisch gesehen reduziert die Methyltransferase Cfr durch C8-Methylierung des Schlüssel-nukleotids A2503Ec der 23S-rRNS im Peptidyltransferasezentrum stark die bakterielle Anfälligkeit gegen eine ganze Reihe von ribosomangreifenden Antibiotika, wie Amphenicolen, Lincosamiden, Pleuromutilinen, Streptogramin A, 16-gliedrigen Macroliden und Linezolid.^[34] Wie in Abbildung 4 B zu sehen ist, führt die Addition der Methylgruppe an A2503Ec zu einer Kollision mit der Acetamidgruppe des Linezolid, was zu einer zwei- bis achtfachen Erhöhung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) führt.^[36]

Seit der Entdeckung von Linezolid haben über 30 Firmen mehr als ein Dutzend Kandidaten in die klinische Entwicklung gebracht. Unglücklicherweise sind die meisten aufgrund schlechter pharmakokinetischer Eigenschaften, Toxizitäts- und Löslichkeitsproblemen oder mangelnder Verbesserung der antimikrobiellen Wirkung im Vergleich zu Linezolid gescheitert.

Die Entwicklung von Oxazolidinonen der zweiten Generation steht vor zwei großen Herausforderungen: Es gilt zum einen die bei Linezolid-Therapien gegebene Gefahr der Myelosuppression (Knochenmarkshemmung) zu minimieren, zum anderen eine angemessene Wirksamkeit gegen Linezolid-resistente Bakterienstämme zu erreichen.^[31] Zwei Oxazolidinone der zweiten Generation, die versuchen diese Probleme auf rationalem Weg zu lösen, werden hier vorgestellt.

2.1.1. Tedizolid

Tedizolidphosphat (**3**; zuvor Torezolidphosphat, TR-701, DA-7218) ist die pharmakologisch inaktive Vorstufe von Tedizolid (**4**; zuvor Torezolid, TR-700, DA-7157, entdeckt bei Dong-A Pharmaceuticals, entwickelt von Trius Therapeutics und Cubist Pharmaceuticals).^[37,38] Im Juni 2014 wurde Tedizolid nach zwei erfolgreichen klinischen Studien der Phase III durch die Food and Drug Administration (FDA) die Genehmigung für die Behandlung von MRSA-Hautinfektionen unter dem Handelsnamen Sivextro erteilt (Abbildung 5).

Tedizolid weist gegenüber Linezolid zwei strukturelle Hauptunterschiede auf: den Austausch der Acylaminomethylgruppe am C5 durch eine Hydroxymethylgruppe und ein C/D-Ringsystem, wobei es sich dabei um ein 6-(2-Methyl-2H-tetrazol-5-yl)pyridin handelt (Abbildung 5). Durch die Einführung der beiden C- und D-Ringe und der damit verbundenen Erhöhung der Lipophilie sahen sich die Medizinalchemiker gezwungen, eine angemessene inaktive Vorstufe von Tedizolid zu entwickeln, welche das Problem der schlechten Löslichkeitseigenschaften sowie der geringen Bioverfügbarkeit lösen würde.^[37] Verschiedene Modifikationen wurden überprüft, wobei der Monophosphatester die besten Eigenschaften (hohe Wasserlöslichkeit und verbesserte Bioverfügbarkeit) zeigte und zudem den primären Alkohol tarnte, was zu einem verbesserten Inhibitorprofil gegen Monoaminoxidasen führte.^[31]

Der Effekt, den diese strukturellen Veränderungen hervorrufen, ist in Abbildung 6 klar zu erkennen. Methyliertes

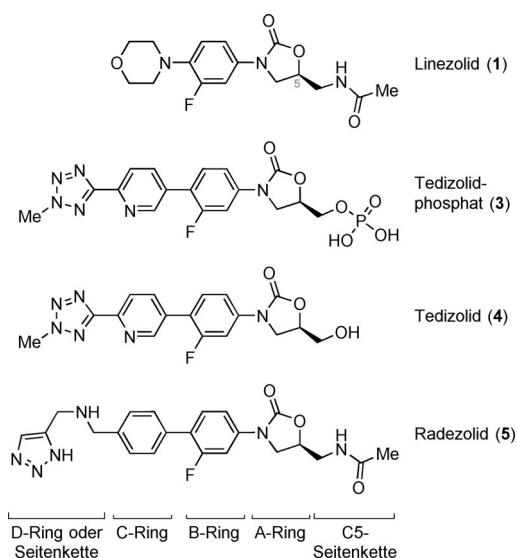


Abbildung 5. Strukturen von Tedizolidphosphat, Tedizolid und Radezolid im Vergleich zu Linezolid.

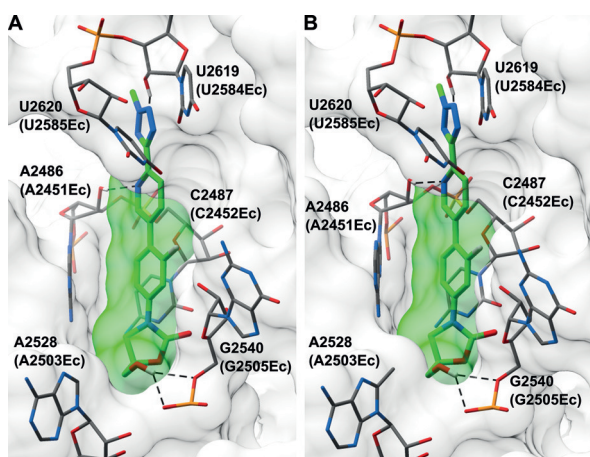


Abbildung 6. Modelle von Tedizolid (4) (C-Atome in Grün, F-Atome in Violett) in (A) der ribosomalen 50S-Untereinheit von *H. marismortui* (PDB: 3CPW) und (B) der durch Cfr methylierten ribosomalen 50S-Untereinheit von *H. marismortui*. Auch nach der Methylierung an A2503Ec ist Tedizolid (4) im Gegensatz zu Linezolid noch in der Lage, an die ribosomale RNS zu binden. Die von *Escherichia coli* abgeleitete Nummerierung ist in Klammern angegeben. Die Modelle wurden mit Chimera 1.10.1 und AutoDock Vina 1.1.2 entsprechend Shaw et al. generiert.^[14,16,35]

A2503Ec am unteren Ende der Bindungsstelle toleriert die kompakte Hydroxymethylgruppe, wobei aber immer noch die Wasserstoffbrücke mit G2505Ec aufrechterhalten werden kann. Zusätzlich werden diesem Modell zufolge zwei neue, stabilisierende Wasserstoffbrücken zwischen dem C/D-Ringsystem und den Ribosezuckern von A2451Ec und U2584Ec ausgebildet.

In einer Studie hinsichtlich der Wirksamkeit gegen Linezolid-resistente Staphylokokken zeigte Tedizolid eine mehr als sechzehnfache Verbesserung gegenüber Linezolid.^[39] Auch gegen multiresistente Stämme konnte es seine Wirkung erhalten. Dies belegt eindrücklich den Nutzen des struktur-basierten Vorgehens.

2.1.2. Radezolid

Radezolid (5; zuvor RX-1741 und Rx-01_667, Abbildung 5) ist ein vollsynthetisches Oxazolidinon (entwickelt von Melinta Therapeutics, ehemals Rib-X), welches Studien der klinischen Phase II durchlaufen hat.^[40] Radezolid ist das Ergebnis eines Entwicklungsprogramms zur Ausweitung des Wirkspektrums von Oxazolidinonen auf Gram-negative Bakterien.^[41] Das Programm begann mit der struktur-basierenden Beobachtung, dass Linezolid und Sparsomycin (6) (ein nichtselektives Antibiotikum) eine überlappende Bindungsstelle im Peptidyltransferasezentrum der ribosomalen 50S-Einheit aufweisen (Abbildung 7).^[42,43]

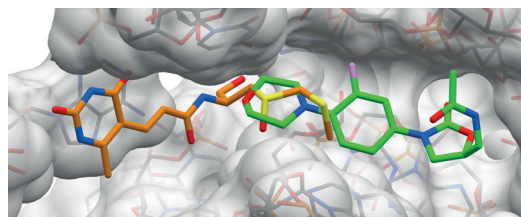


Abbildung 7. Überlagerung von Sparsomycin (6) (C-Atome in Orange) und Linezolid (1) (C-Atome in Grün, F-Atom in Violett) in der ribosomalen 50S-Untereinheit von *H. marismortui* (PDB: 1M90, 3CPW).

Aufgrund dessen wurde die Strategie verfolgt, die beiden Moleküle mit einem geeigneten Linker zu verbinden und nötige strukturelle Veränderungen auf der Sparsomycinseite vorzunehmen, um die Wirksamkeit und Selektivität zu erhöhen.^[41,44] In Abbildung 8 sind zwei Vertreter (7 und 8) einer Vielzahl von Antibiotika dargestellt, die auf dem Weg zu

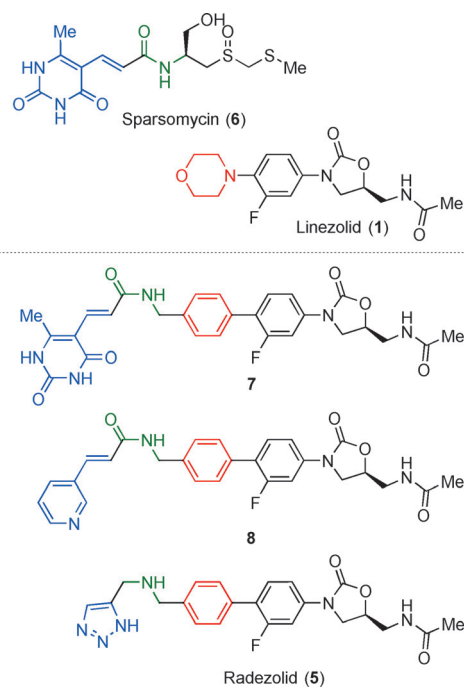


Abbildung 8. Strukturen von Sparsomycin und Linezolid sowie von synthetisierten Molekülen auf dem Weg zu Radezolid.

Radezolid synthetisiert wurden. Dabei ist die Entwicklung der linken Seite und der Verbindungseinheit klar zu erkennen.

Nach der Bestimmung der optimalen Strukturelemente wurde die antibakterielle Wirksamkeit von Radezolid bewertet. Radezolid zeigte dabei im Vergleich zu Linezolid eine höhere Affinität für die Bindung an das bakterielle Ribosom. Dies korrelierte mit einer höheren antibakteriellen Wirkung (zwei- bis achtfache Verbesserung gegenüber Linezolid) gegen verschiedene Gram-positive Bakterien.^[45] Struktur-Aktivitäts-Studien verschiedener Oxazolidinone konnten zeigen, dass Radezolid trotz seiner C5-Acylaminomethylgruppe seine Wirkung gegenüber dem klinischen *cfr*-positiven CM05-Stamm von *S. aureus* bewahrt. Die minimale Hemmkonzentration lag dabei mit $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ zwischen dem von Tedizolid ($0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$) und Linezolid ($8 \mu\text{g mL}^{-1}$). Dieser positive Effekt kommt höchstwahrscheinlich durch zusätzliche Wechselwirkungen des C/D-Ringsystems mit dem Peptidyltransferasezentrum zustande. Diese sind räumlich weit von den zur Linezolidresistenz führenden ribosomalen Veränderungen, einschließlich der durch *cfr*-modulierten Methylierung von A2503Ec, entfernt.^[36,40,46]

Erfreulich ist ebenfalls, dass das Spektrum auf Gram-negative Bakterien wie *Haemophilus influenzae* und *Moraxella catarrhalis* ausgeweitet werden konnte. Neben der Überwindung der durch Ribosomenmutation hervorgerufenen Resistenzen weist es eine hundertfach schwächere Hemmung der Translation in Retikulozyten von Kaninchen im Vergleich zu Ribosomen in *S. aureus* auf. Die Wechselwirkung mit U2585Ec konnte durch biochemische Studien bestätigt werden.^[40]

2.2. Macrolide

Macrolide sind eine Familie von 14-, 15- und 16-gliedrigen Polyketidlactonen, die durch einen oder mehrere Zucker bzw. Aminozucker an verschiedenen Positionen substituiert sind (Abbildung 9).^[47] Das erste und prototypische Macrolid, Erythromycin (**9**), wurde 1949 aus Bakterien der Gattung *Actinomyces* isoliert.^[48] In den frühen 1950er Jahren wurde es zum ersten Mal klinisch eingesetzt. Um die Säureinstabilität von Erythromycin zu beseitigen, wurden Macrolide der zweiten Generation halbsynthetisch wie Clarithromycin (**10**)^[49] und Azithromycin (**11**)^[50] entwickelt (Abbildung 9). Als Resistenzen gegen Macrolide der ersten und zweiten Generation auftraten, wurde die dritte Generation dieser antibiotischen Wirkstoffe entwickelt: die Ketolide. Bei diesen 14-gliedrigen Lactonen wurde der Cladinose-Zucker am C3 durch eine Carbonylgruppe ersetzt. Zudem wurden C11 und C12 Teil eines Oxazolidinonrings, und am Makrolactonkern wurde eine Alkyl-Aryl-Seitenkette positioniert. Telithromycin (**12**) ist dabei gegenwärtig das einzige registrierte Ketolid (Abbildung 9).

Wie viele andere Antibiotikaklassen sind auch Macrolide Bakteriostatika. Sie binden an die 50S-Untereinheit der Ribosomen in der Nähe des Peptidyltransferasezentrums. Dies geschieht nahe der Verengung, welche durch die erweiterten Schlaufen der ribosomalen Proteine L4 und L22

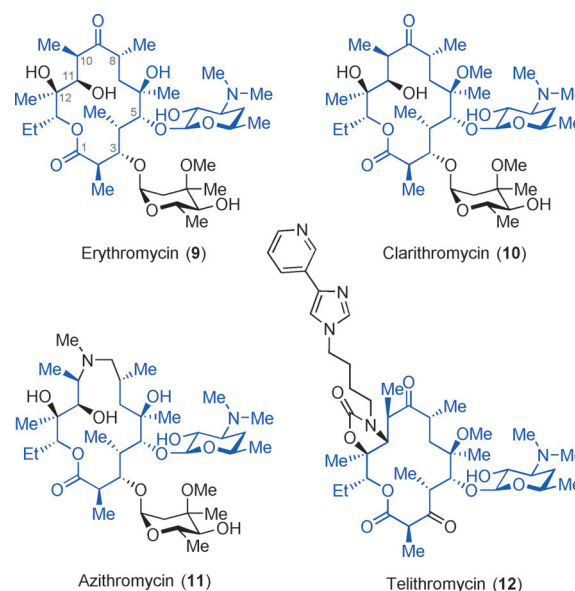


Abbildung 9. Strukturen der drei Macrolide Erythromycin, Clarithromycin und Azithromycin sowie des Ketolids Telithromycin.

gebildet wird. Zunächst wurde vermutet, dass sie durch gänzliches Versperren des ribosomalen Tunnels die Proteinsynthese hemmen.^[51] Modeling-Studien konnten dagegen zeigen, dass auch in Anwesenheit eines gebundenen Macrolids eine entstehende Peptidkette im Tunnel untergebracht werden kann. Die Macrolide behindern allerdings stark die Entwicklung des Peptids, wobei die Peptidyl-tRNS vom Ribosom dissoziiert, bevor das Peptid die volle Größe erreicht hat.^[51,52] Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass Macrolide die Entstehung der großen 50S-Untereinheit beeinträchtigen, da sie an deren Vorläufer binden.^[53]

Es wurde eine Vielzahl von Cokristallstrukturen veröffentlicht, und diese zeigen, dass die Hauptkomponente der Bindungstasche das Nukleotid A2058Ec ist.^[54–56] Die wichtigsten Wechselwirkungen sind polare Wechselwirkungen zwischen dem C5-Desosamin-Zucker und den Nukleotiden A2058Ec und A2059Ec. Zusätzlich sind Wasserstoffbrücken zwischen den drei Hydroxygruppen des Lactons und der 50S-Untereinheit des Ribosoms involviert (Abbildung 10).

Bakterien haben gegen Macrolide verschiedene Resistenzmechanismen entwickelt.^[57] Auch wenn die Mehrzahl von ihnen auf Änderungen der ribosomalen Bindungsstelle basiert, so wurde auch über inaktivierende Enzyme (hauptsächlich Esterasen) und Effluxmechanismen berichtet. Änderungen der ribosomalen Bindungsstelle führen zu einer verringerten Bindungsaffinität des Antibiotikums, wodurch die Proteinsynthese nicht mehr effektiv gehemmt werden kann. Im Falle der Macrolide erfolgen diese ribosomalen Veränderungen vorrangig auf zwei verschiedene Arten: Die erste Modifikation mit der kleinsten Wirkung ist die Änderung der ribosomalen Proteine L4 und L22 am Ende der Haarnadelstruktur in der Nähe der Bindungsstelle.^[58] Interessanterweise führen Mutationen an L4 zu einer starken Senkung der Bindungsaffinität, während die L22-Mutanten zwar keinen Unterschied in der Bindungskonstanten aufweisen, aber trotzdem Resistenzen bilden. Dieser Befund

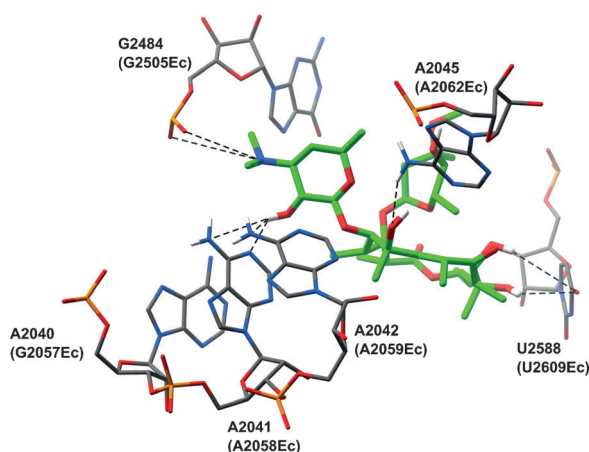


Abbildung 10. Der Bindungsmodus von Erythromycin (**9**) (C-Atome in Grün) an die ribosomale 50S-Untereinheit (PDB: 1JZY) von *Deinococcus radiodurans*. Die Nukleotide sind entsprechend *D. radiodurans* nummeriert (*E. coli*-abgeleitete Nummerierung in Klammern).

kann durch eine Erweiterung des ribosomalen Tunnels erklärt werden, was den Durchgang des Peptids ermöglicht, ohne die Bindung zu beeinflussen.^[59] Die zweite Modifikation und zugleich der häufigste Resistenzmechanismus beruht auf der Abwandlung der rRNS. Dies geschieht, wie nicht anders zu erwarten, am A2058Ec, der Kernkomponente der Bindungstasche. Dabei erfolgt die Mono- und Dimethylierung von A2058Ec durch Erythromycin-Ribosom-Methyltransferasen (Erm).^[60] Während die Monomethylierung nur zu einer mäßigen Resistenz gegen Macrolide führt und zu keiner gegen Ketolide, hat die Dimethylierung zur Folge, dass die Bindungsstelle gänzlich blockiert wird, woraus eine hohe Resistenz gegen Macrolide und Ketolide resultiert.^[18,61] Weiterhin kann auch die Mutation von A2058Ec zu G2058Ec aufgrund von sterischen Hinderungen Resistenzen induzieren. Beachtenswert ist, dass Archaeen und Eukaryoten an Position 2058Ec von Natur aus ein Guanin enthalten, was die selektive Wirkung gegen Bakterien erklärt.^[62]

Wie zuvor erwähnt, wurden Ketolide entwickelt, um der Resistenz gegen Macrolide entgegenzuwirken. Die wichtigsten Strukturmerkmale sind das 14-gliedrige Makrolacton, der Austausch eines Cladinose-Zuckers durch ein Keton, ein cyclisches Carbamat und eine lineare Alkyl-Aryl-Seitenkette (Abbildung 11). Das C3-Keton führt zu einer starken Wirkung gegen resistente Stämme, die durch Erm herbeigeführt wurden, und es überwindet die Effluxresistenz.^[63] Es verringert auch die sterische Beladung um den Desosamin-Zucker. Dieser hat dadurch die Möglichkeit, sich neu zu positionieren, wenn Ketolide an monomethylierte Ribosomen binden.^[64] Das cyclische Carbamat geht zusätzliche Wechselwirkungen mit dem Ribosom ein. Dies stabilisiert die Konformation des Macrolidkerns und führt dadurch zu einer starken antibakteriellen Wirkung.^[65]

Es wurden Cokristallstrukturen von Ketoliden mit den Ribosomen von *D. radiodurans* und *H. marismortui* veröffentlicht, und diese weisen beachtliche Unterschiede hinsichtlich der Bindungsmodi auf.^[51,56,66,67] So kommt die Seitenkette von Telithromycin über der Ebene des Makrolac-

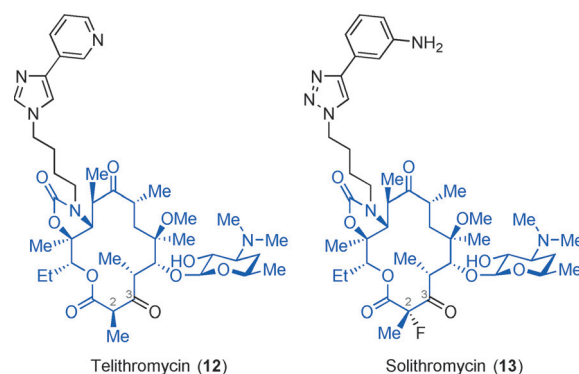


Abbildung 11. Strukturen der Ketolide Telithromycin und Solithromycin.

tonings zu liegen, wenn es mit dem Ribosom von *H. marismortui* (PDB: 1YIJ) komplexiert wird.^[56] Im Komplex mit dem Ribosom von *D. radiodurans* weist die Seitenkette dagegen vom Makrolactonkern weg (PDB: 1P9X).^[66] Dieses Beispiel hebt die Bedeutung kristallographischer Daten hervor und ist eine eindrückliche Mahnung, Vorsicht walten zu lassen, wenn mit Modellen gearbeitet wird. Dessen ungeachtet binden Ketolide auf ähnliche Weise an die Domäne V wie Macrolide, wobei ihre ausgedehnte Alkyl-Aryl-Seitenkette allerdings noch zusätzliche Wechselwirkungen in der Domäne II eingeht. Dies bewirkt eine stärkere Bindung und kompensiert dadurch negative Einflüsse von Mutationen oder Methylierungen in der Domäne V.

Telithromycin (**12**) ist zur Zeit das einzige Ketolid auf dem Markt, allerdings gibt es Bedenken hinsichtlich seines Einsatzes.^[68] Der Gebrauch von Telithromycin wurde mit Sehtrübung und schwerer Lebertoxizität bis hin zu Leberversagen in Verbindung gebracht.^[69] Es wird vermutet, dass dies auf der Hemmung des nikotinischen Acetylcholinrezeptors basiert, wobei der Pyridinring in der Alkyl-Aryl-Seitenkette des Telithromycins dafür verantwortlich sein könnte.^[70] Neue Ketolide, die diesen Pyridinring nicht haben, werden zur Zeit erforscht.

2.2.1. Solithromycin

Solithromycin (**13**; zuvor CEM-101, entwickelt von Cempra) ist ein 2-Fluorketolid, das sich zurzeit in Phase III der klinischen Studien befindet. Solithromycin ist Telithromycin bis auf zwei kleine strukturelle Unterschiede sehr ähnlich (Abbildung 11). Zum einen wurde das zuvor erwähnte problematische Imidazolylpyridin durch ein Triazolylanilin ersetzt, und zum anderen wurde ein Fluoratom an der C2-Position eingeführt. Der Austausch des Imidazolylpyridins ergab eine um den Faktor 30 geringere Hemmung der nikotinischen Acetylcholinrezeptoren im Vergleich zu Telithromycin.^[70] Wie zuvor beschrieben, zeigten Kristallstrukturen von an Ribosomen gebundenen Ketoliden je nach Bakterienspezies sehr unterschiedliche Ausrichtungen der Alkyl-Aryl-Seitenkette. Deswegen stellte sich die Frage der exakten Bindungsweise von Solithromycin und Telithromycin an Ribosomen von human-pathogenen Bakterien. Im Jahr 2010 cokristallisierten Cate, Mankin und Mitarbeiter Solithromycin sowie Telithromycin mit Ribosomen von *E. coli*.

Aufgrund der Bewahrung des Basenpaares A752-U2609 unter vielen Eubakterien konnten sie glaubhaft machen, dass die Positionierung der Ketolide in den *E. coli*-Ribosomen mit hoher Wahrscheinlichkeit die Bindung in den *S. aureus*-Ribosomen widerspiegelt.^[71,72] Diese Kristallstrukturen ermöglichten einige aufschlussreiche Erkenntnisse (Abbildung 12). Es konnte eine π - π -Wechselwirkung mit dem A752-U2609-Basenpaar beobachtet werden, welches im Ribosom von *E. coli* und vielen anderen pathogenen Bakterien zu finden ist. Die Anilineinheit, welche das mit den Nebenwirkungen in Verbindung gebrachte Pyridinfragment ersetzt, geht zusätzliche Wasserstoffbrücken mit A752 und G748 ein, was zu einer höheren Affinität beiträgt.

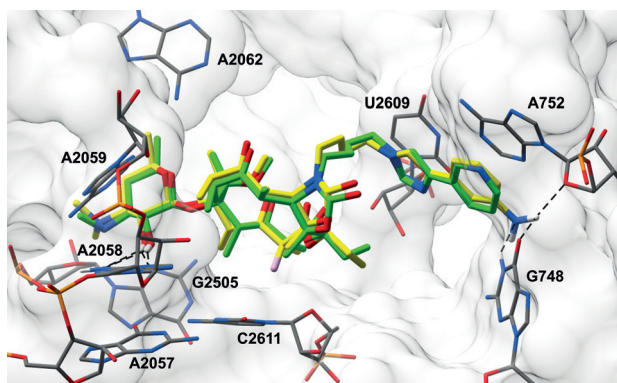


Abbildung 12. Überlagerung von Telithromycin (**12**) (C-Atome in Grün, PDB: 4V7S) und Solithromycin (**13**) (C-Atome in Gelb, F-Atom in Violett) in der ribosomalen 50S-Untereinheit (PDB: 4WWW) von *E. coli*. Die Nukleotide sind entsprechend *E. coli* nummeriert.

Es stellte sich auch heraus, dass das Fluoratom an der C2-Position sowohl zur Wirkstoffbindung beiträgt als auch weitere chemische Eigenschaften wie die Löslichkeit und die zelluläre Aufnahme positiv beeinflusst.^[73] Tatsächlich zeigte die fluorierte Variante im Vergleich zu nichtfluorierten Analoga eine höhere Wachstumshemmung von Streptokokken, die das *erm*-Gen tragen. Interessanterweise konnte für Solithromycin auch eine schwache Bindung an Ribosomen mit dimethyliertem A2058Ec nachgewiesen werden.^[71] Die wichtigsten für die biologische Wirkung relevanten Strukturelemente von Ketoliden sind in Abbildung 13 zusammengefasst (für ein Beispiel eines Ketolids mit einer Seitenkette an der 6-*O*-Position, siehe Cethromycin).^[74,75]

2.3. Thiopeptide

Die Thiopeptide sind eine Familie stark modifizierter, schwefelreicher, makrocyclischer Peptide (Abbildung 14, Nummerierung gemäß Thiomuracin A),^[76] welche aus unterschiedlichen Quellen isoliert wurden (z. B. aus Bodenbakterien und marinen Proben).^[77] Während heutzutage über 100 Thiopeptide bekannt sind, wurde das erste Mitglied dieser Familie, Micrococcin P1 (**14**), bereits 1948 isoliert.^[78] Diese Moleküle sind ribosomalen Ursprungs, stark posttranslational modifiziert und haben einen charakteristischen makrocycli-

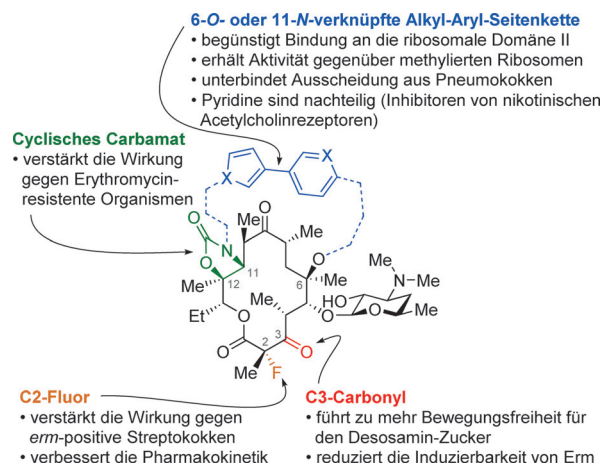


Abbildung 13. Struktur-Aktivitäts-Beziehung von Ketoliden.

schen Kern. Dieser besteht aus mehreren Thiazolen und einem sechsgliedrigen Stickstoffheterocyclus, der in verschiedenen Oxidationszuständen vorkommen kann. Die Thiopeptide stellen eine neue Antibiotikaklasse mit einer neuen Wirkungsweise dar, ihr antibakterieller klinischer Einsatz wurde aber durch die enorme Molekülgröße und die damit verbundene schlechte Wasserlöslichkeit zunächst verhindert. Thiopeptide sind Inhibitoren der bakteriellen Proteinsynthese, jedoch ist ihre Wirkungsweise je nach Größe des Makrocyclus unterschiedlich. Thiostrepton A (**15**),^[79] das archetypische Thiopeptid, hat wie Micrococcin P1 einen 26-gliedrigen makrocyclischen Kern und bindet an die GTPase-assoziierte Region des Ribosom/L11-Protein-Komplexes.^[80] Thiopeptide mit 29-gliedrigen makrocyclischen Kernen, wie z. B. GE2270 A (**16**), wiederum wechselwirken mit GTP-gebundenem, bakteriellem EF-Tu und verhindern so die Entstehung des ternären Komplexes mit der aa-tRNA.^[81] GE2270 A wurde 1991 von Wissenschaftlern am Lepetit Research Institute isoliert.^[82] Trotz exzellenter In-vitro-Aktivitäten dieser Verbindung gegen MRSA, VRE und Streptokokken verhinderte die schlechte Wasserlöslichkeit zunächst die Weiterentwicklung.^[83] Zwei Derivate werden zur Zeit untersucht und im Folgenden beschrieben.

2.3.1. LFF571

Um die Wasserlöslichkeit von GE2270 A zu erhöhen, wurde die labile Oxazolinseitenkette durch löslichkeitsvermittelnde polare Strukturelemente ersetzt (Novartis). Das 4-Aminothiazolyl-Fragment wurde schnell als Ausgangspunkt für diesbezügliche Modifikationen gewählt und mit einem breiten Spektrum von Aminen und Säuren substituiert.^[83-85] Mithilfe röntgenkristallographischer Unterstützung (Cokristalle von EF-Tu mit den synthetischen Derivaten von GE2270 A) konnten zwei potente Analoga mit einer Cyclohexylcarbonsäure-Seitenkette entwickelt werden, wobei die saure Seitenkette in der Nähe des Arg223-Rests von EF-Tu zu liegen kommt.

Diese Verbindungen wurden anschließend durch das Hinzufügen einer zweiten löslichen Gruppe weiter optimiert.^[86] In Anbetracht der Position von Arg262 wurde eine

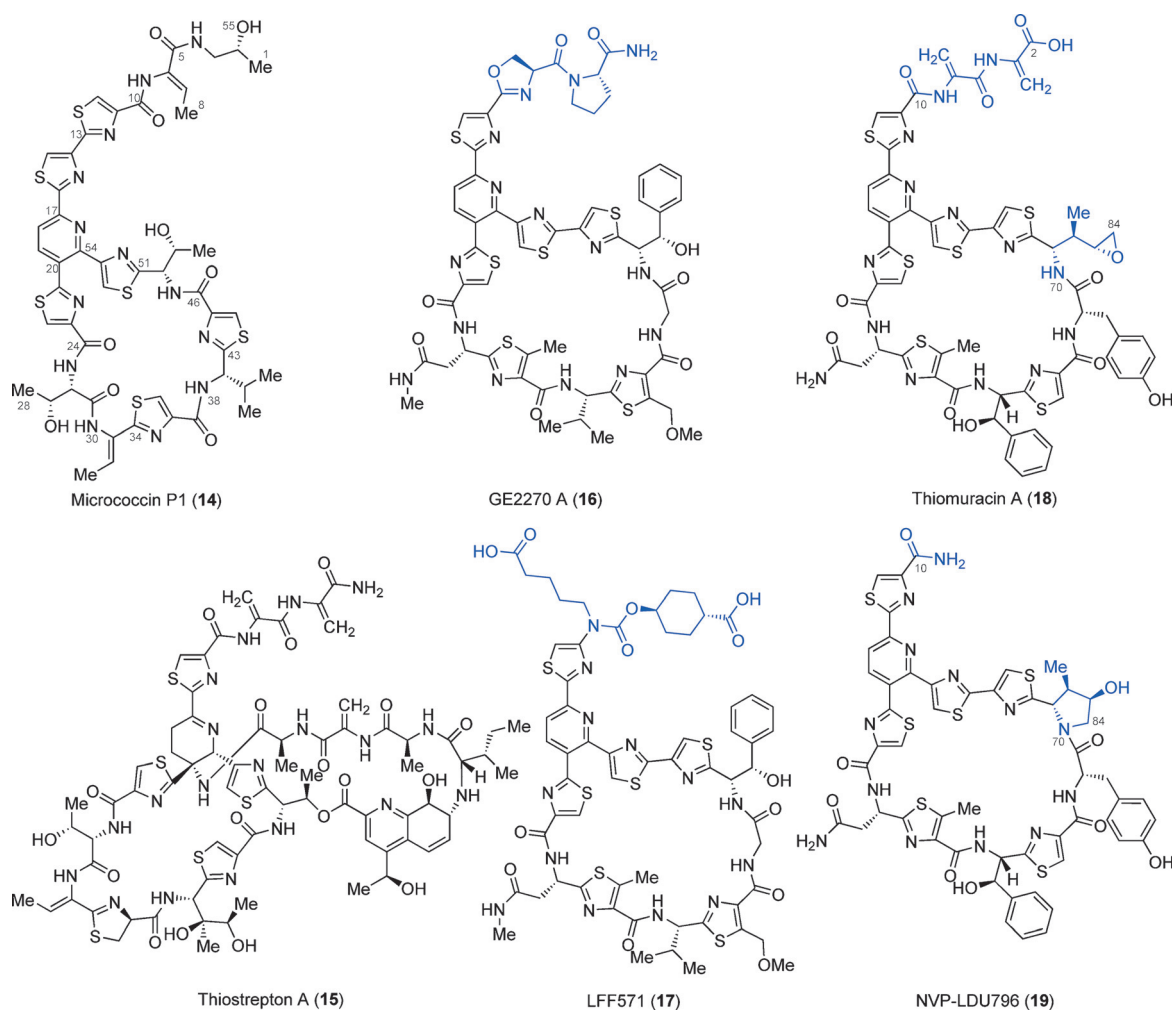


Abbildung 14. Strukturen von Thiopeptiden.

große Variation von säurefunktionalisierten Derivaten synthetisiert. Ein am Aminothiazol angebrachter Pentylcarbon-säure-Rest zeigte sich zusammen mit der Cyclohexylcarbon-säure-Seitenkette als geeignete Kombination, da der Säure-rest in der Nähe von Arg262 platziert werden konnte (LFF571 (17); Abbildung 15). LFF571 (17) zeigte durch die struktur-basierten Modifikationen mit polaren Seitenketten die angestrebte hohe Wasserlöslichkeit ($> 10 \text{ mg mL}^{-1}$). Analoga, die drei Säurereste enthielten, wurden ebenfalls synthetisiert. Diese brachten jedoch keine zusätzlichen Vorteile, und da ihre Synthese komplexer war, wurden sie nicht weiterverfolgt. LFF571 befindet sich zurzeit in klinischen Studien der Phase II zur Bekämpfung von *C.-difficile*-Infektionen.

2.3.2. NVP-LDU796

Im Jahr 2009 wurde über die Isolation von Thiomuracinen, einer neuen Klasse von antibiotischen Thiopeptiden, berichtet (Novartis).^[76] Diese Sekundärmetaboliten eines Stammes von *Nonomuraea* sind strukturell mit GE2270 A verwandt und haben auch dieselbe Wirkungsweise, indem sie an EF-Tu binden. Die Thiomuracine weisen eine starke antibiotische Wirkung gegen MRSA und VRE auf, mit mini-

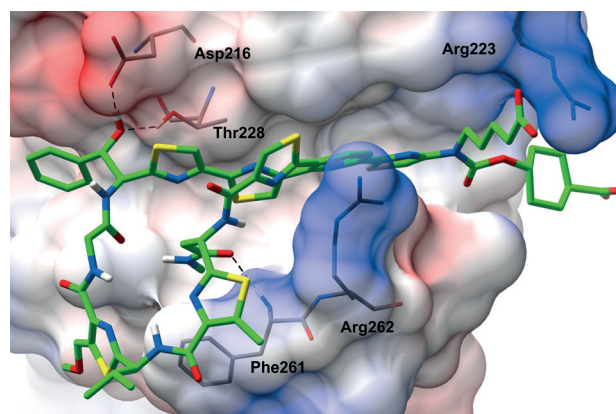


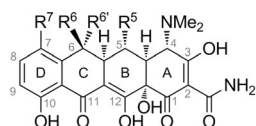
Abbildung 15. Cokristallstruktur von LFF571 (17) (C-Atome in Grün) und EF-Tu (PDB: 3U2Q) von *E. coli*. Die Carbonsäurefunktionalitäten von LFF571 sind in Nachbarschaft zu Arg223 und Arg262 positioniert.

malen Hemmkonzentrationen von unter $1 \mu\text{g mL}^{-1}$. Leider hatten diese neuen antibiotischen Wirkstoffe ähnlich wie GE2270 A Löslichkeits- und Stabilitätsprobleme. Die gleiche Forschungsgruppe berichtete 2012 über die Synthese eines

neuen Derivates von Thiomuracin A (**18**), das seine antibakterielle Wirkung beibehalten konnte und dazu noch eine erhöhte chemische Stabilität und ebenfalls verbesserte physikochemische Eigenschaften aufwies (NVP-LDU796 (**19**), Abbildung 14).^[87] Die wichtigsten Veränderungen waren die Beseitigung der C2-C10-Seitenkette und der Austausch des C84-Epoxids gegen einen N70-C84-Pyrrolidinring. NVP-LDU796 (**19**) nahm in Cokristallstrukturen mit EF-Tu eine sehr ähnliche Konformation wie GE2270 A und LFF571 ein, wobei die Hauptwechselwirkungen erhalten blieben (PDB: 4G5G).^[87]

2.4. Tetracycline

Tetracycline sind Breitbandantibiotika, die sowohl gegen Gram-positive als auch gegen Gram-negative Bakterien wirksam sind.^[88] Chlortetracyclin (**20**) ist das älteste Mitglied dieser Klasse (Abbildung 16). Es wurde 1945 entdeckt und



Chlortetracyclin (20)	R ⁵ = H, R ⁶ = OH, R ^{6'} = Me, R ⁷ = Cl
Tetracyclin (21)	R ⁵ = H, R ⁶ = OH, R ^{6'} = Me, R ⁷ = H
Oxytetracyclin (22)	R ⁵ = OH, R ⁶ = OH, R ^{6'} = Me, R ⁷ = H
Demethylchlortetracyclin (23)	R ⁵ = H, R ⁶ = OH, R ^{6'} = H, R ⁷ = Cl
Doxycyclin (24)	R ⁵ = OH, R ⁶ = H, R ^{6'} = Me, R ⁷ = H
Minocyclin (25)	R ⁵ = H, R ⁶ = H, R ^{6'} = H, R ⁷ = NMe ₂

Abbildung 16. Strukturen von repräsentativen Tetracyclinen.

1948 zum ersten Mal klinisch verwendet.^[89] Seitdem wurden nur drei weitere natürlich vorkommende Tetracycline entdeckt (Tetracyclin (**21**),^[90] Oxytetracyclin (**22**)^[91] und Demethylchlortetracyclin (**23**)^[92]), während unzählige halbsynthetisch hergestellt wurden, z. B. Doxycyclin (**24**)^[93] und Minocyclin (**25**).^[94] Tetracycline können strukturell recht einfach an ihren vier sehr sauerstoffreichen kondensierten Ringen erkannt werden. Da sie neben ihren antibiotischen Eigenschaften keine wesentlichen Nebenwirkungen aufweisen, wurden sie in der Human- und Veterinärmedizin ausgiebig zur Behandlung von Infektionen eingesetzt. Die dritte Generation von Tetracyclinen, die Glycylcycline (Abbildung 17), wurde vor 10 Jahren eingeführt, wobei Tigecyclin (**26**, zuvor GAR-936, entwickelt von Wyeth-Ayerst Research) daraus der erste und bisher einzige klinische Vertreter ist.^[95]

Glycylcycline können durch den Glycylamid-Substituenten am Kohlenstoffatom C9 erkannt werden. Die *tert*-Butylglycylamid-Einheit von Tigecyclin ist in Wechselwirkungen mit dem Nukleotid C1054 der 16S-rRNS involviert. Dies führt zu einer gegenüber Tetracyclin erhöhten Wirksamkeit (Abbildung 18).^[96]

Tetracycline sind in erster Linie Bakteriostatika. Sie durchdringen die äußere Membran von Gram-negativen Bakterien in Form von Chelatkomplexen mit zweiwertigen Metallionen mittels passiver Diffusion durch die OmpF- und OmpC-Porinkanäle.^[88] Sobald das Periplasma erreicht ist,

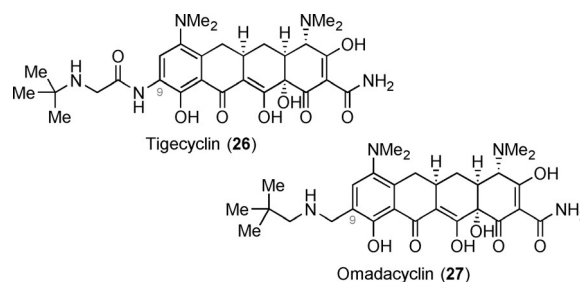


Abbildung 17. Strukturen von repräsentativen Glycylcyclinen und Aminomethylcyclinen.

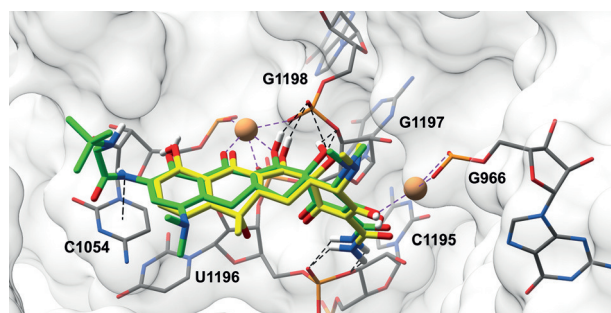


Abbildung 18. Überlagerung von Tetracyclin (**21**) (C-Atome in Gelb, PDB: 4V9A) und Tigecyclin (**26**) (C-Atome in Grün, Mg²⁺-Ionen in Hellbraun, PDB: 4V9B) in der ribosomalen 30S-Untereinheit (PDB: 4V9B) von *Thermus thermophilus*. Tigecyclin geht im Vergleich zu Tetracyclin zusätzliche Wechselwirkungen mit C1054 ein. Die Nucleotide sind entsprechend *T. thermophilus* nummeriert.

diffundiert das freigesetzte Tetracyclin durch die innere Membran. Dies geschieht auf die gleiche Weise, wie es in Gram-positive Bakterien oder andere Organismen eindringt, nämlich mithilfe von energieabhängigem aktivem Transport. Im Cytoplasma angelangt, führen der höhere pH-Wert und die Metallionenkonzentration dazu, dass sich wieder der Metallion-Tetracyclin-Komplex bildet. Dieser wird als die aktive Spezies angenommen und bindet reversibel an die A-Stelle am Kopfende der 30S-Untereinheit (Abbildung 18).^[96,97] Diese Bindungsstelle überlappt leicht mit der Antikodonschleife, was gut mit vorherigen Beobachtungen korreliert, dass Tetracyclin die Bindung des zuvor schon erwähnten aa-tRNA·EF-Tu·GTP-Komplexes an die A-Stelle verhindert.^[98]

Tetracyclinresistenzen können durch vier verschiedene Mechanismen auftreten.^[88] Die Proteine, die für drei der vier Mechanismen verantwortlich sind, werden durch die *tet*-Gene (Tetracyclin) und die *otr*-Gene (Oxytetracyclin) kodiert, wobei davon schon über 40 charakterisiert wurden. Von diesen kodieren nur drei, nämlich *tet(X)*, *tet(34)* und *tet(37)*, einen Resistenzmechanismus, der Tetracycline mithilfe der kodierten Proteine enzymatisch modifiziert.^[88] Von den übrigen Genen kodieren zwei Drittel Effluxproteine und die restlichen ribosomschützende Proteine. Die Effluxproteine treten sowohl in Gram-positiven als auch in Gram-negativen Bakterien auf, wobei sie in letzteren häufiger vertreten sind. Dies sind membranständige Proteine, die Tetracyclin aus der Zelle ausschleusen, wobei das Ribosom durch Reduktion der

Antibiotikakonzentration wirkungsvoll geschützt wird. Die ribosomschützenden Proteine sind cytoplasmatische Proteine, welche das Ribosom vor der Wirkung der Tetracycline schützen, indem sie die Affinität gegenüber Tetracyclinen herabsetzen. Auch sie kommen sowohl in Gram-positiven als auch Gram-negativen Bakterien vor, wobei sie in Gram-positiven Organismen weiter verbreitet sind; *tet(M)* und *tet(O)* sind dabei die häufigsten Genotypen. Strukturell gesehen führen diese Proteine zu einer allosterischen Veränderung der primären Bindungsstelle von Tetracyclinen, wodurch gebundene Tetracycline freigesetzt werden.^[99] Danach ist das Ribosom wieder im Stande, zu seiner produktiven Konformation zurückzukehren und somit die Proteinsynthese fortzusetzen. Der letzte und neueste Resistenzmechanismus ist auf Mutationen in der Nähe der Bindungsstelle der Tetracycline zurückzuführen.^[100]

Die Anwesenheit der *tert*-Butylglycylamid-Einheit in Tigecyclin (**26**) beeinträchtigt die Bindung von TetM an das Ribosom, was dazu führt, dass der Wirkstoff die TetM-vermittelte Resistenz überwindet. Wie in Abbildung 19 dargestellt, überlappen Tigecyclin und TetM im 70S-Ribosom aufgrund der sperrigen *tert*-Butylglycylamid-Substitution des Wirkstoffmoleküls.^[96]

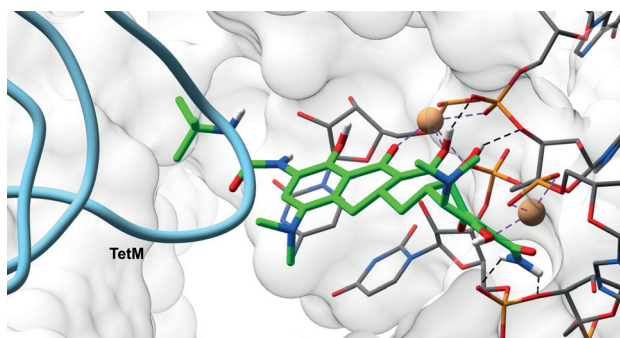


Abbildung 19. Überlagerung von TetM (blaues Band, PDB: 3J25) und Tigecyclin (**26**) (C-Atome in Grün, Mg²⁺-Ionen in Hellbraun, PDB: 4V9B) in der ribosomalen 30S-Untereinheit (PDB: 4V9B) von *T. thermophilus*. Die Abbildung wurde entsprechend Jenner et al. und Dönhöfer et al. unter Verwendung der kryoelektronenmikroskopischen Strukturdaten EMD-2183 des TetM-70S-Komplexes von *E. coli* generiert.^[96,99]

2.4.1. Omadacyclin

Omadacyclin (**27**; zuvor PTK-0796, Paratek Pharmaceuticals; Abbildung 17) ist ein semisynthetisches Tetracyclinderivat und der erste Vertreter der neuen Aminomethylcyclin-Klasse. Zurzeit befindet es sich in klinischen Studien der Phase III für die Behandlung akuter bakterieller Hautinfektionen, ambulant erworbener bakterieller Pneumonie und komplizierter Harnwegsinfektionen. Omadacyclin zeigte Wirkung gegen Stämme, die entweder Effluxproteine (*tet(K)*) oder ribosomschützende Proteine (*tet(M)*) exprimiert haben. Dazu zeigte es eine mäßige Hemmung der Peptidoglycansynthese.^[101,102] Der genaue Mechanismus, durch den sich Omadacyclin dem Ausscheiden aus der Zelle und den ribosomschützenden Proteinen entzieht, ist nicht komplett aufgeklärt. Es wird vermutet, dass Omadacyclin ein schlechtes

Substrat für Effluxproteine ist und dass es mit einem neuartigen Bindungsmodus an das Ribosom bindet und sich dadurch dem Einfluss ribosomschützender Proteine entzieht.^[101] Beide positive Eigenschaften rühren sehr wahrscheinlich von den Strukturänderungen am C9 des Tetracyclin-Grundgerüsts her.

2.5. Aminoglycoside

Aminoglycoside sind hydrophile Moleküle, die aus einem zentralen Aminocyclitolkern bestehen, an den ein oder mehrere Aminozucker gebunden sind. In den meisten Fällen ist das Aminocyclitol Streptomycin oder 2-Desoxystreptomycin (**28** und **29**, Abbildung 20). Aminoglycoside können aufgrund

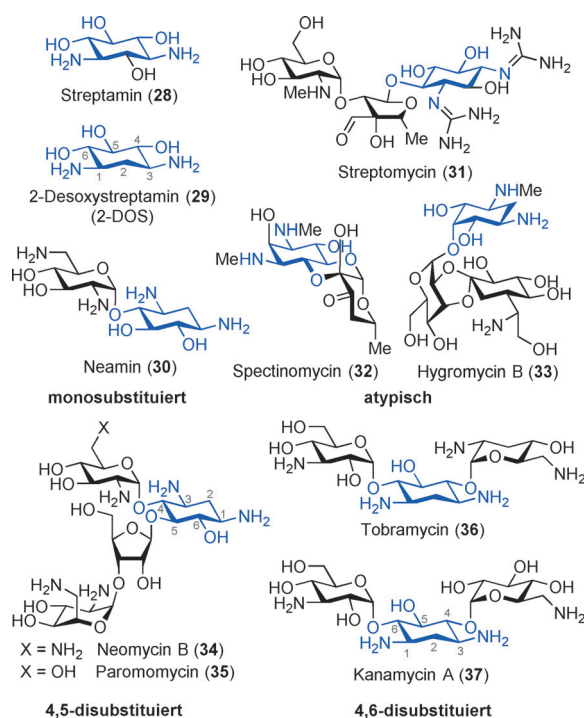


Abbildung 20. Strukturen von typischen und atypischen Aminoglycosiden. Das Aminocyclitol-Grundgerüst ist in Blau dargestellt.

ihres Substitutionsmusters in vier Gruppen unterteilt werden: Die monosubstituierten, wie Neomycin (**30**),^[103] die atypischen, die 4,5- und die 4,6-disubstituierten Aminoglycoside (Abbildung 20).^[104] Die Aminoglycosidfamilie der Antibiotika ist eine der ältesten, mit ihrem ersten Vertreter Streptomycin (**31**), das vor mehr als 70 Jahren entdeckt wurde.^[105] Trotz ihrer langen Geschichte und weit verbreiteten Resistenz- und Toxizitätsproblemen, z. B. Nephro- und Ototoxizität, werden Aminoglycoside heutzutage immer noch häufig eingesetzt.^[106]

Die Aminoglycoside haben zwei unterschiedliche Hauptwirkungsweisen. Sie sind nicht nur potente Translokationsinhibitoren, sondern sie sind auch in der Lage, Fehlablesungen hervorzurufen, indem sie die Bindung falscher tRNA stabilisieren und so Fehler beim Aufbau der Peptidketten hervorrufen.^[104] Die geringe Fehleranfälligkeit der Translati-

on (mit Fehlerfrequenzen im Bereich von 10^{-3} bis 10^{-4} pro Kodon)^[107] wird im Normalfall durch die Fähigkeit des Ribosoms erreicht, an der A-Stelle die richtige tRNS gegenüber der falschen tRNS auszuwählen.

Die Struktur des 30S-Ribosoms weist eine „Decodierungsstelle“ in der Helix 44 (h44) der 16S-rRNS auf. In dieser asymmetrischen inneren Schlaufe sind die beiden universell konservierten Nukleotide A1492 und A1493 unmittelbar in den Decodierungsprozess involviert, wobei sie aus der Helix kippen, um den Kodon-Antikodon-Komplex zu analysieren.^[108] Es wird angenommen, dass die Energie für das Herauskippen dieser Adeninreste durch die stabilisierende Wechselwirkung zwischen den Nukleotiden und dem Kodon-Antikodon-Komplex kompensiert wird, jedoch nur im Falle einer korrekten tRNS. Falls eine falsche tRNS bindet, ist die Energiekompensation unzureichend und die tRNS dissoziiert wieder. Nachdem Aminoglycoside an die innere Schlaufe von h44 gebunden haben, lösen sie eine Reorganisation aus, welche A1492 und A1493 aus der Helix kippt und sie in dieser offenen Konformation stabilisiert (Abbildung 21).^[109] Das führt dazu, dass auch falsche tRNS komplett in der A-Stelle untergebracht werden kann und somit falsche Aminosäuren in die Peptidkette eingebaut werden. Wenn diese veränderten Proteine in die Zellmembran eingefügt werden, ändert dies die Permeabilität der Zelle, was wiederum zu einer erhöhten Aufnahme des Aminoglycosids führt (daher ihre keimtötende und konzentrationsabhängige Wirksamkeit). Inzwischen wurde eine Vielzahl von Cokristallstrukturen gebundener Aminoglycoside veröffentlicht, einschließlich Streptomycin (31, PDB: 1FJG),^[110] Spectinomycin (32, PDB: 1FJG),^[110] Hygromycin B (33, PDB: 1HNZ),^[97] Neomycin B (34, PDB: 4V52),^[111] Paromomycin (35, PDB: 1FJG, 1IBK),^[110,112] Tobramycin (36, PDB: 1LC4)^[113] und Kanamycin A (37, PDB: 2ESI).^[109]

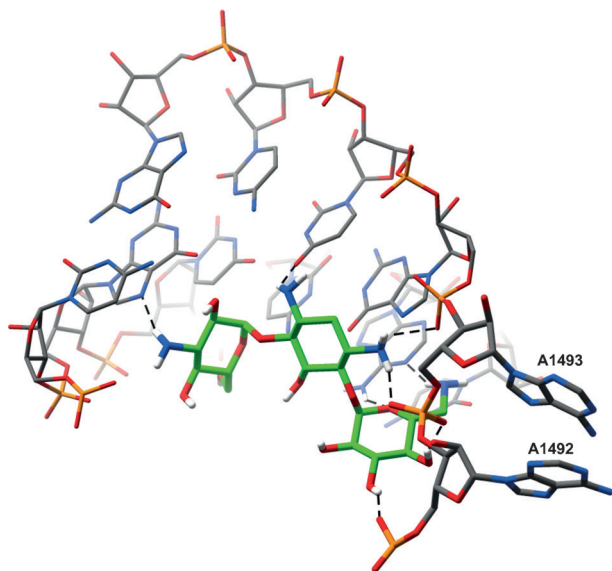


Abbildung 21. Bindungsmodus von Kanamycin A (37) (C-Atome in Grün) an ein decodierendes A-Stellen-Oligonukleotid (PDB: 2ESI). A1492 und A1493 werden durch Kanamycin A in der offenen Konformation stabilisiert. Die Nukleotide sind entsprechend *E. coli* nummeriert.

Bakterien haben gegen Aminoglycoside drei unterschiedliche Resistenzmechanismen entwickelt: Der erste findet auf der Ebene der Aufnahme bzw. Ausscheidung des Antibiotikums statt, der zweite besteht darin, das Ribosom zu schützen, der dritte schließlich basiert auf Modifikationen der Aminoglycoside.^[114] Die beiden ersten Mechanismen sind relativ selten und wurden bei der Entwicklung neuer Wirkstoffe bisher noch nicht berücksichtigt. Aminoglycosid-modifizierende Enzyme (AME) sind hingegen weitverbreitet und verursachen den Resistenzmechanismus, der am häufigsten auftritt. Diese Enzyme werden nach den von ihnen durchgeführten Modifikationen klassifiziert, wobei zusätzlich das Kohlenstoffatom spezifiziert wird, an dem die Veränderung stattfindet.^[115] Die drei bekannten Enzymklassen sind die Aminoglycosid-*N*-Acetyltransferasen (AAC), Aminoglycosid-*O*-Nucleotidyltransferasen (ANT) und Aminoglycosid-*O*-Phosphotransferasen (APH). Abbildung 22 zeigt die Cokristallstruktur von Kanamycin A (37, Abbildung 20) und dem Aminoglycosid-modifizierenden Enzym ANT(2'')-Ia.^[116] Die 2''-Hydroxygruppe ist am Magnesiumion angelagert und somit bereit, vom Enzym modifiziert zu werden.

Eine zweite Generation von Aminoglycosiden, die Neoglycoside,^[117] wird gegenwärtig mit dem Ziel entwickelt, die Stabilität gegen modifizierende Enzyme zu erhöhen und gleichzeitig die Wirkung der ersten Generation beizubehalten.

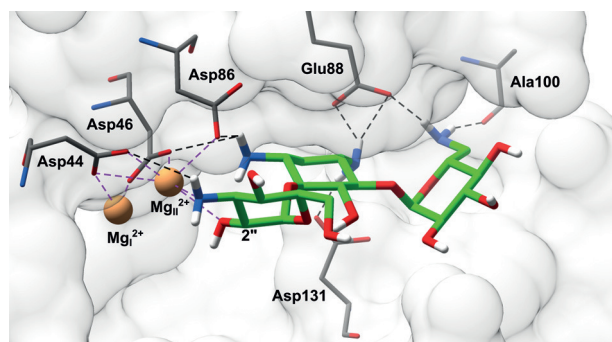


Abbildung 22. Cokristallstruktur von Kanamycin A (37) (C-Atome in Grün) und Adenyltransferase ANT(2'')-Ia (Mg^{2+} -Ionen in Hellbraun, PDB: 4WQL) von *Klebsiella pneumoniae*. Die Bindung von Kanamycin A wird über ein Wasserstoffbrückennetzwerk realisiert.

2.5.1. Plazomicin

Die zwei Aminoglycoside Sisomicin^[118] und Amikacin^[119] (38 und 39; Abbildung 23) wurden als Inspiration für die Entwicklung des semisynthetischen Plazomicins verwendet (40, ehemals ACHN-490, entwickelt von Achaogen), dem ersten Molekül dieser neuen Familie von Antibiotika, die gegenüber Aminoglycosid-modifizierenden Enzymen stabilisiert sind (Abbildung 24).^[117]

Der Unterschied zwischen Sisomicin und Plazomicin ist die Anwesenheit zweier Seitenketten an den Stickstoffatomen der Positionen C1 und C6'. Wie in Abbildung 24 gezeigt, blockiert die rot markierte Hydroxyethylkette AAC(6''), während die in Blau dargestellte und von Amikacin abgelei-

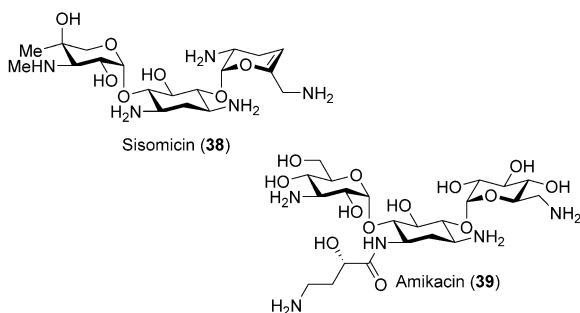


Abbildung 23. Strukturen von Sisomicin und Amikacin.

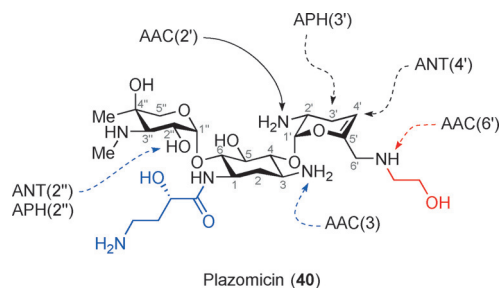


Abbildung 24. Struktur von Plazomicin und Darstellung der Angriffsstellen Aminoglycosid-modifizierender Enzyme. Die HABS-Seitenkette (blau) blockiert Modifikationen an den 3'-N- und den 2''-O-Positionen, die Hydroxyethylseitenkette (rot) blockiert Modifikationen an der 6'-N-Position, und die Abwesenheit der Hydroxygruppen an C3' und C4' verhindert Modifikationen an diesen Positionen. Nur die 2'-N-Position bleibt für Enzyme der AAC-Klasse zugänglich.

tete Hydroxyaminobutansäure (HABS) AAC(3), ANT(2'') und APH(2'') blockiert.^[120,121] Plazomicin ist durch die Abwesenheit der Hydroxygruppen an den Positionen C3' und C4' im Vergleich zu Kanamycin A auch vor APH(3') und ANT(4') geschützt. Die einzigen Aminoglycosid-modifizierenden Enzyme, gegen die Plazomicin immer noch anfällig ist, sind AAC(2'), jedoch wurden diese Enzyme bis jetzt nur in *Providencia stuartii* nachgewiesen. Plazomicin bleibt auch gegen multiresistente Enterobacteriaceae, einschließlich Carbapenem-resistenten Enterobacteriaceae (CRE), wirksam, wohingegen andere Antibiotika, samt den kommerziell erhältlichen Aminoglycosiden, hier aufgrund von Resistenzbildung nur eine eingeschränkte Wirksamkeit aufweisen.

3. Inhibitoren der Zellwandsynthese

Die bakterielle Zellwand besteht aus Peptidoglycan, welches aus Strängen von Glycaneinheiten aufgebaut ist, die über Peptide verbunden sind. Die Synthese des Peptidoglycans findet in drei Schritten statt. Sie beginnt im Cytoplasma, setzt sich durch die innere Membran fort und endet im Periplasma (Abbildung 25). Der Mechanismus dieser Synthese wurde eingehend erforscht und wird hier nur kurz beschrieben.^[122] Der Grundbaustein UDP-MurNAc wird mithilfe der Transferase MurA und der Reduktase MurB aus UDP-GlcNAc gebildet. An dieses Glycan knüpfen die Ligasen MurC-MurF der Reihe nach fünf Aminosäuren an. Die

beiden letzten D-Ala werden durch die Alaninracemase Alr aus L-Ala erzeugt und durch die Alaninligase Ddl verknüpft. Das MurNAc-Pentapeptid wird anschließend durch die Translokase MraY zum Undecaprenylpyrophosphat transferiert, worauf die Addition einer GlcNAc-Einheit durch Glycosyltransferase MurG folgt und somit das Lipid II entsteht. Schließlich werden fünf L-Gly mithilfe der Acyltransferasen FemX, FemA und FemB an das Lipid II angeknüpft.

Mittels Flippasen, wie FtsW und RodA, wird das Lipid II vom Cytoplasma durch die innere Membran ins Periplasma geschleust. Im Periplasma angelangt, wird Lipid II durch den Einsatz von zwei aufeinanderfolgenden Penicillin-bindenden Proteinen (PBP) in die Peptidoglycan-Zellwand eingebaut. Das erste PBP, eine Transglycosylase, katalysiert die Polymerisation der Glycanstränge, während das zweite PBP, eine Transpeptidase, die Glycanstränge zu einem dreidimensionalen Gitter vernetzt.

Eine große Zahl an Antibiotika nimmt die Synthese des Peptidoglycans oder dessen Vorstufen ins Visier, was zum Zelltod führt (Abbildung 25). Eukaryotische Zellen haben keine Peptidoglycan-Zellwand, was diese antibakteriellen Wirkstoffe selektiv für Bakterien macht.

3.1. Glycopeptide und Lipoglycopeptide

Vancomycin (41, Abbildung 26), das prototypische Glycopeptid, wurde 1950 aus Mikroben isoliert, die in Bodenproben gefunden wurden (Eli Lilly & Company).^[123] Seine Struktur wurde in den frühen 1980er Jahren aufgeklärt.^[124] Es ist ein hydrophiles starres Glycopeptid mit schlechter Absorption im Gastrointestinaltrakt. Ab 1959 wurde es klinisch genutzt, allerdings erlaubte seine Toxizität nur den Einsatz als Reserveantibiotikum. Dadurch haben sich Resistenzen zunächst nur zögerlich entwickelt, wobei 1986 über erste starke Resistenzen in Enterokokken berichtet wurde.^[124]

Glycopeptide haben einen Wirkungsmechanismus gemeinsam, indem sie an die C-endständige D-Alanyl-D-Alanin-Sequenz der Peptidoglycan-Vorstufen binden.^[125] Dies wurde zuerst bei Vancomycin in den späten 1960er Jahren entdeckt und 1983 durch NMR-Studien der Williams-Forschungsgruppe^[126] sowie kürzlich mittels Röntgenkristallographie bestätigt.^[127–129] Die sterische Hinderung, die durch diese Bindung hervorgerufen wird, hemmt die Transglycosylierungs- und Transpeptidierungsschritte während der Zellwandsynthese, was schlussendlich zum bakteriellen Zelltod führt (Abbildung 26).^[125]

Um die Wirkung von Glycopeptiden wie Vancomycin zu umgehen, haben Bakterien zahlreiche Resistenzmechanismen entwickelt, wobei der häufigste Phänotyp VanA ist.^[130] Dieser Phänotyp weist eine Substitution des D-Ala-D-Ala-Terminus durch eine D-Ala-D-Lac-Sequenz am Peptidoglycan auf. Dadurch kann Vancomycin nur vier anstelle der üblichen fünf Wasserstoffbrücken mit dem entstehenden Depsipeptid ausbilden, wobei die letzte Bindung durch eine destabilisierende Wechselwirkung zwischen zwei freien Elektronenpaaren ersetzt wird.^[130] Diese scheinbar kleine Änderung führt zu einer bis zu tausendfachen Reduktion der Bindungsaffinität zwischen dem Antibiotikum und dem Target.^[130]

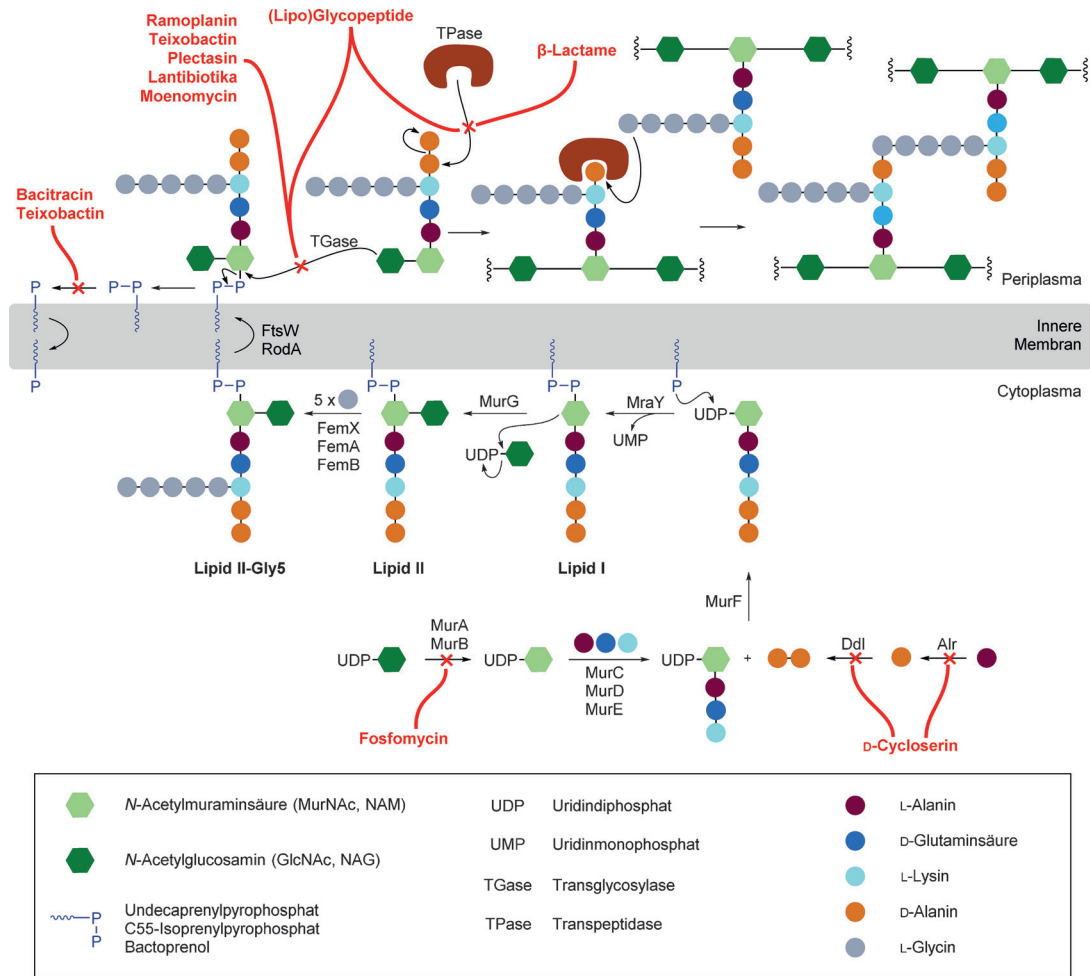


Abbildung 25. Bakterielle Zellwandsynthese und Targets für antibakterielle Wirkstoffe.

3.1.1. Analoga des Vancomycins

Die Forschungsgruppe um Dale Boger am Scripps Research Institute hat über bemerkenswerte Studien hinsichtlich der Synthese von Vancomycin und dessen Analoga berichtet, wobei der Fokus auf der Bindung an D-Ala-D-Lac-Strängen lag.^[131] Peptidoglycane in resistenten Bakterien mit dem D-Ala-D-Lac-Terminus gehen nur vier Wasserstoffbrücken mit Vancomycin ein, was zu einer Verringerung der Bindungsaffinität um den Faktor Tausend führt. Dieser Faktor setzt sich aus zwei Anteilen zusammen: einer zehnfachen Herabsetzung aufgrund des Verlustes einer Wasserstoffbrücke und einer hundertfachen Reduktion durch die Abstoßung der freien Elektronenpaare der benachbarten Sauerstoffatome.^[132] Um die verlorene Bindungsaffinität wiederzuerlangen, wurde eine Serie von Vancomycin-Analoga mit Veränderungen an der Carbonylgruppe von Aminosäure 4 synthetisiert (Abbildung 27 A).^[131,133]

Das Thioamid-Äquivalent erwies sich gegen Vancomycin-sensitive wie auch gegen resistente Bakterien als gänzlich inaktiv. Es wurde postuliert, dass die verringerte Bindungsaffinität des Liganden von der erweiterten Bindungslänge

und der Größe des Schwefelatoms herrührt. Das reduzierte Analogon, das anstatt der Carbonylgruppe eine Methylengruppe aufweist, stellte zwar die eingebüßte Wasserstoffbrücke nicht wieder her, aber es beseitigte den dominierenden Abstoßungsfaktor der freien Elektronenpaare. Dies führte zu einer Steigerung der Bindungsaffinität für den mutierten D-Ala-D-Lac-Strang. Die besten Resultate wurden erzielt, wenn das Amid durch ein Amidin ersetzt wurde. Hierbei kann das Amidin eine Doppelrolle einnehmen (Abbildung 27 B): Falls es an den D-Ala-D-Ala-Strang bindet, kann der Stickstoff die Rolle eines Wasserstoffbrückenakzeptors einnehmen, falls es dagegen an den D-Ala-D-Lac-Strang bindet, kann es als Wasserstoffbrückendonator dienen. In Kombination mit der Einführung der lipophilen 4-(4-Chlorphenyl)benzyl-Seitenkette, die sich von Oritavancin ableitet^[134] und es dem Antibiotikum ermöglicht, sich in der bakteriellen Zellmembran zu verankern und dadurch in räumliche Nähe zum Target zu kommen, führte dies zu beeindruckender antibiotischer Wirksamkeit gegen Vancomycin-sensitive und Vancomycin-resistente Bakterien (MHK = 0.06–0.005 und 0.5–0.06 µg mL⁻¹ für die Amidin- bzw. Methylene-Analoga).^[133]

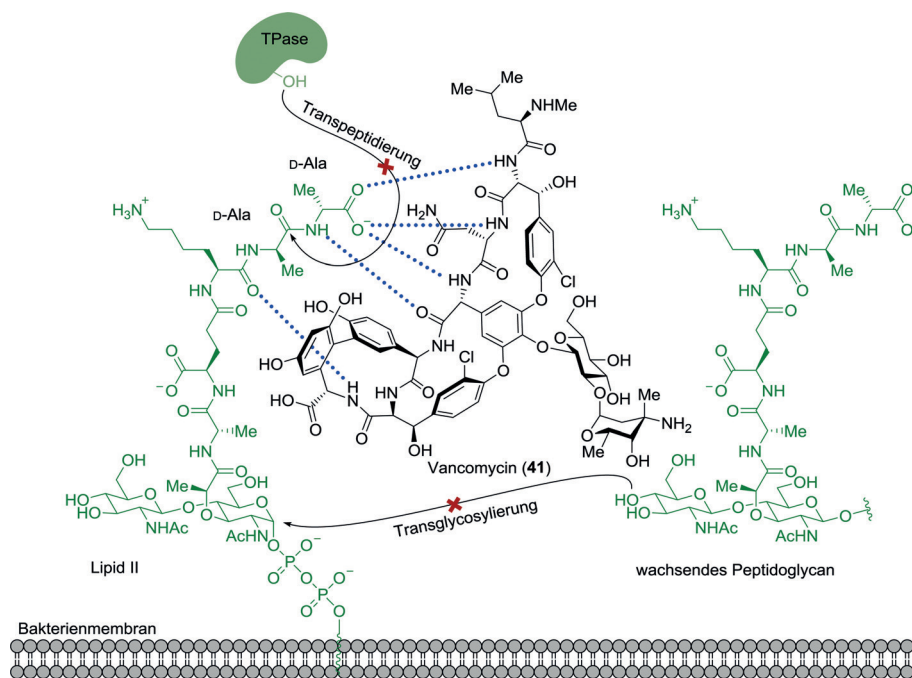


Abbildung 26. Die Bindung von Vancomycin an Lipid II behindert die Transglycosylierung und die Transpeptidierung. Die Schlüsselwechselwirkungen (in Blau dargestellt) von Vancomycin mit dem D-Ala-D-Ala-Fragment wurden in Cokristallstrukturen von Vancomycin mit Analoga bakterieller Zellwandvorstufen identifiziert (PDB: 1FVM).^[129]

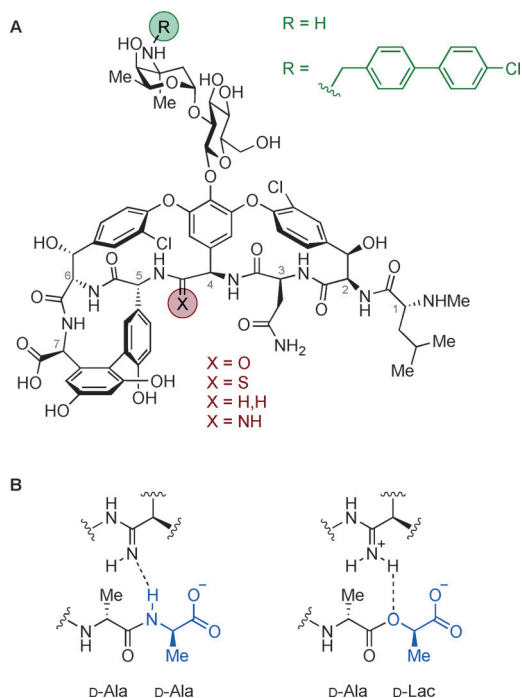


Abbildung 27. A) Vancomycin-Modifikationen der Boger-Gruppe. Addition der lipophilen Seitenkette von Oritavancin (in Grün); Einzelatommodifikationen an der Carbonylgruppe der Aminosäure 4 (in Violett). B) Duales Bindungsverhalten der Amidgruppe.

3.2. β -Lactame

Im Jahr 1928 entdeckte Alexander Fleming die hemmende Wirkung eines *Penicillium*-Schimmelpilzes auf das Wachstum von Bakterien.^[135] Es dauerte allerdings bis zum Jahr 1941, bis der Wirkstoff Penicillin klinisch eingesetzt wurde.^[136] Auch heute noch werden β -Lactam-Antibiotika auf der ganzen Welt häufig verwendet, und Medizinalchemiker haben zahlreiche Variationen und Generationen dieses Grundgerüsts entwickelt.^[137]

Die Wirkung von β -Lactamen ergibt sich durch die kovalente Bindung an Transpeptidasen, wodurch die Zellwandsynthese gehemmt wird.^[138] In der Tat ahmen die β -Lactame den D-Ala-D-Ala-Terminus der Peptidoglycankette nach, des natürlichen Substrates der Transpeptidasen (Abbildung 28, oben rechts). Wie in Abbildung 28 dargestellt, sind die Abstände zwischen den Carbonyl-

gruppen der Peptidoglycankette einerseits und der Carbonsäure und der β -Lactam-Carbonylgruppe andererseits sehr ähnlich. Das Antibiotikum agiert somit als kompetitiver Antagonist hinsichtlich des Transpeptidase-Enzyms. Mechanistisch gesehen reagiert die Hydroxygruppe eines Serinrests mit der Lactam-Carbonylgruppe, was zur Öffnung des viergliedrigen Rings führt (Abbildung 28, violetter Zyklus).^[136]

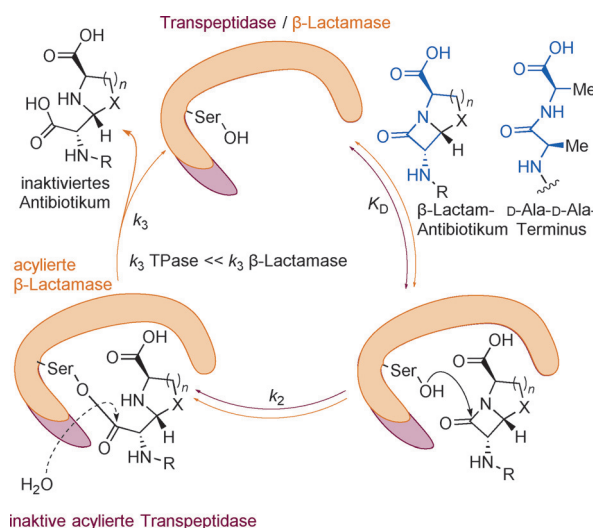


Abbildung 28. Verdeutlichung der strukturellen Ähnlichkeiten zwischen β -Lactam-Antibiotika und der terminalen D-Ala-D-Ala-Sequenz von Peptidoglycanketten (in Blau). Mechanistische Gemeinsamkeiten und Unterschiede von Transpeptidasen (in Violett) und β -Lactamasen (in Orange).

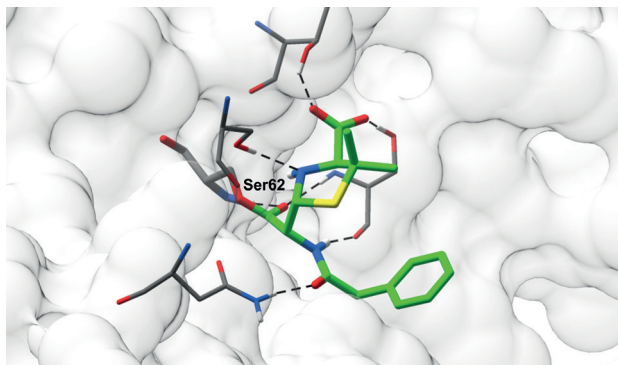


Abbildung 29. Kristallstruktur von kovalent gebundenem Penicillin G (C-Atome in Grün). Die Bindung erfolgt hier über Ser62 an das Penicillin-Bindungsprotein 4 von *E. coli* (PDB: 2EX8).

Die Hydrolyse des entstandenen Acyl-Enzyms (Abbildung 29) ist sehr langsam (kleiner k_3 -Wert), was zu einem inaktiven Enzym und letztendlich zu Zellyse und Zelltod führt.^[139] Resistenzen gegen β -Lactame können sich auf vier Arten entwickeln.^[140] Die ersten beiden Wege sind relativ selten und treten nur in Gram-negativen Bakterien auf. Eine Möglichkeit beinhaltet dabei die Veränderung des Porinkanals, was den Zugang des Antibiotikums zu den Transpeptidasen verhindert, während der zweite Weg Effluxpumpen involviert, die das Antibiotikum ausschleusen. Diese Mechanismen wurden bisher nicht gezielt mit neuen Antibiotika angegangen. Der dritte und häufigste Resistenzmechanismus basiert auf der bakteriellen Expression von β -Lactam-hydrolysierenden Enzymen. Diese Enzyme sind strukturell den Transpeptidasen sehr ähnlich und fungieren auch aus mechanistischer Sicht auf ähnliche Weise, indem sie den β -Lactam-Ring öffnen (Abbildung 28, orangefarbener Zyklus).^[140]

Die beiden Enzyme unterscheiden sich allerdings hinsichtlich der Hydrolyse ihrer acylierten Spezies: Acyltranspeptidasen werden langsam hydrolysiert, wohingegen die acylierten β -Lactamasen viel schneller hydrolysiert werden (hoher k_3 -Wert). Diese schnelle Hydrolyse führt zur Regeneration der β -Lactamasen und damit verbunden zur Deaktivierung des Antibiotikums. Anfänglich wurden β -Lactame dahingehend synthetisch verändert, den β -Lactamasen standzuhalten, was zu vielen Grundstrukturen und mehreren Generationen dieser Klasse von Antibiotika geführt hat. Heute hat sich der Fokus verschoben, indem β -Lactamase-Inhibitoren in Kombination mit β -Lactamen eingesetzt werden (siehe Abschnitt 4).

Der vierte Resistenzmechanismus, der in MRSA vorkommt, ist durch die Anwesenheit eines exogenen β -Lactam-resistenten PBP, genannt PBP2a, gekennzeichnet. Studien zu diesem PBP und dem ähnlichen PBP2 erbrachten Strukturdetails hinsichtlich der Resistenz von PBP2a.^[141,142]

Die Bindungsstelle für das Antibiotikum liegt in PBP2a in einer unreaktiven Konformation vor, da das aktive Serin (Ser403) falsch ausgerichtet ist und nicht acyliert werden kann. Es wurde postuliert, dass nur unter sauren Bedingungen oder falls das β -Lactam einen sperrigen hydrophoben Substituenten trägt, die Acylierung stattfindet.^[143] In der Tat

sind allosterische Wechselwirkungen notwendig, um eine Konformationsänderung auszulösen, wodurch das aktive Zentrum geöffnet wird. Auf diesen Ergebnissen aufbauend wurden die drei Cephalosporine der „fünften Generation“ Ceftarolin,^[144] Ceftribiprol^[145] und Cefzolozan^[146] entwickelt. Dies geschah unter Anwendung der zurzeit bekannten Struktur-Aktivitäts-Beziehung (Abbildung 30) und führte zu Wirksamkeit gegen MRSA.

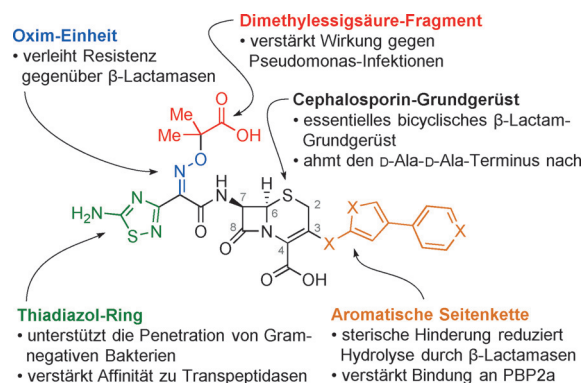


Abbildung 30. Überblick über die Struktur-Aktivitäts-Beziehungen von Cephalosporinen.

3.2.1. Ceftarolin

Ceftarolinfosamil (**42**; zuvor PPI-0903, TAK-599, Forest Laboratories) ist die pharmakologisch inaktive Vorstufe von Ceftarolin (**43**), einem neuen Breitband-Cephalosporin, das 2010 durch die FDA genehmigt wurde (Abbildung 31). Wie

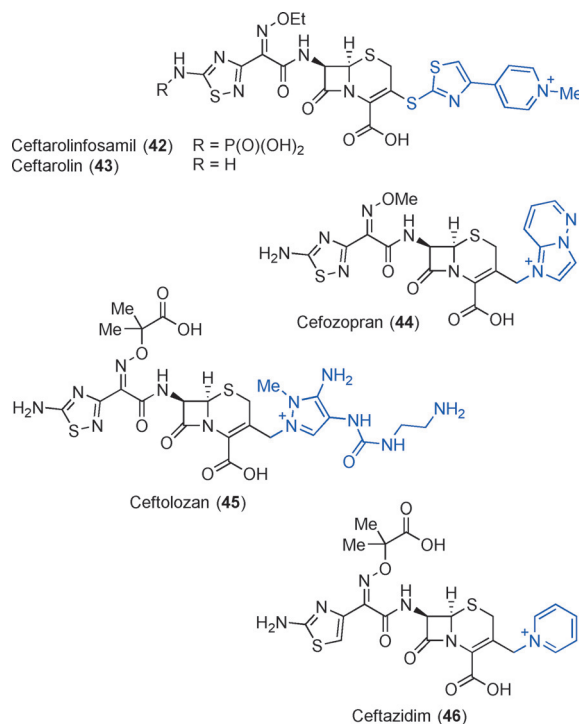


Abbildung 31. Strukturen von Cephalosporinen.

andere β -Lactame weist es eine bakterizide Wirkung gegen Gram-positive Organismen auf, aber auch gegen MRSA.

Ceftarolin wurde durch Modifikation von Cefozopran (**44**), einem Cephalosporin der vierten Generation, entwickelt. Wie in Abbildung 31 zu sehen ist, bleibt die linke Hälfte fast unverändert, wobei das 1,2,4-Thiadiazol und die Oxim-Gruppe erhalten bleiben, um die Penetration von Gram-negativen Bakterien bzw. die β -Lactamase-Resistenz positiv zu beeinflussen.^[144] Es wurde nachgewiesen, dass Ceftarolin nach der Bindung an das Target eine sehr langsame Hydrolyserate aufweist.^[144] Die Phosphongruppe im pharmakologisch inaktiven Ceftarolinfosamil steigert die Wasserlöslichkeit und wird im Plasma schnell abgespalten, um den aktiven Wirkstoff Ceftarolin freizusetzen.^[147]

Durch kristallographische Analyse wurde eine allosterische Bindungstasche in PBP2a für Ceftarolin identifiziert (Abbildung 32). Die allosterische Bindungstasche (Abbildung 32C) ist bemerkenswerte 60 Å (Abbildung 32A) vom aktiven Zentrum entfernt (Abbildung 32B).^[148] Die kristallographische Analyse offenbarte auch die Identität anderer PBP2-Liganden, wie zum Beispiel Muraminsäure (einem Saccharidbestandteil des Peptidoglycans). Aufgrund dessen wurde postuliert, dass es die Aufgabe der allosterischen Domäne sei, das entstehende Peptidoglycan zu erkennen, um somit das aktive Zentrum zu öffnen und die Transpeptidierung zu katalysieren.^[148] Die Entdeckung, dass das Anti-MRSA- β -Lactam-Antibiotikum Ceftarolin und andere Moleküle im Stande sind, die allosterische Öffnung des aktiven Zentrums auszulösen und somit PBP2a durch ein zweites β -

Lactam-Molekül außer Kraft zu setzen, ermöglicht neuartige strukturbasierte Designkampagnen für β -Lactam-Antibiotika.

Nach der Einführung von Ceftarolin in die Klinik wurde über klinische Stämme berichtet, die resistent gegen dieses Antibiotikum geworden sind. Zwei Arten von Mutationen in PBP2a wurden beschrieben (eine Doppelmutante N146K/E150K und eine Dreifachmutante N146K/E150K/H351N).^[149] Diese Mutationen sind fern vom aktiven Zentrum von PBP2a, daher kann ihre Funktion nicht einfach durch den Verlust der Affinität des Antibiotikums zum Zielprotein erklärt werden. Interessanterweise befinden sich beide Mutationen, sowohl N146K als auch E150K, in der allosterischen Domäne, wohingegen sich die H351N-Mutation weder in der allosterischen Domäne noch im aktiven Zentrum befindet. Mobashery, Hermoso und Mitarbeiter konnten mithilfe kinetischer Studien und durch Röntgenkristallographie der beiden Mutantenvarianten zeigen, dass die klinisch beobachteten Mutationen das durch Ceftarolin ausgelöste allosterische Signal entlang des Netzwerkes von wechselwirkenden Aminosäuren zwischen den beiden Bindungsstellen stören.^[148,150] Durch diese Mutationen kann PBP2a die Ceftarolinresistenz über zwei verschiedene Mechanismen entwickeln: Der erste Mechanismus ist der mäßige Anstieg der Dissoziationskonstante von Ceftarolin an der allosterischen Bindungsstelle. Der zweite ist die Unterbrechung der Übertragung von Konformationsänderungen, welche für die Öffnung des aktiven Zentrums nötig sind. Dies führt zur Resistenz gegen Ceftarolin über einen bisher unbekanntem Mechanismus: die Störung der Signaltreue der allosterischen Antwort.^[150]

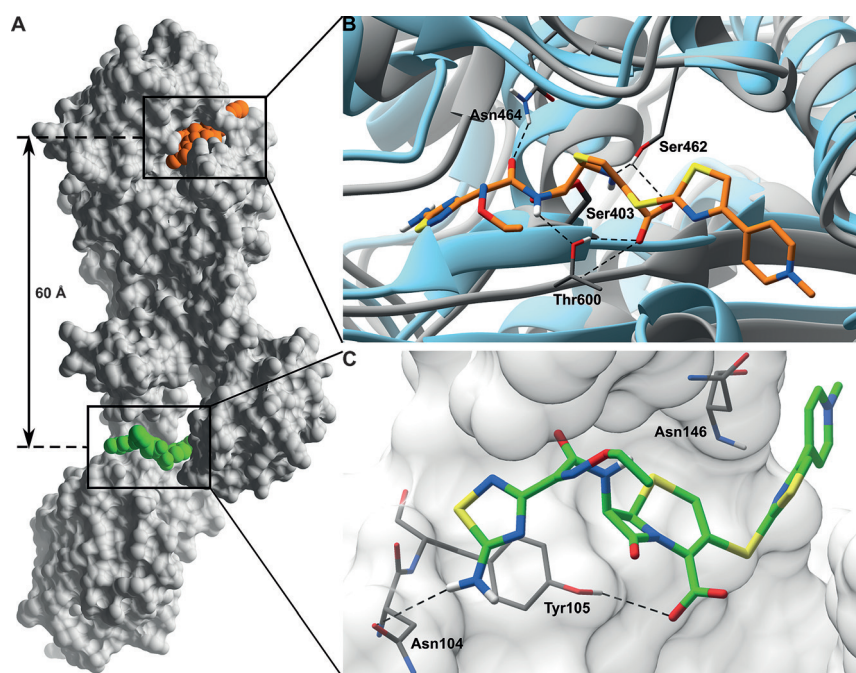


Abbildung 32. A) Überblick über die zwei Bindungsstellen von Ceftarolin (**43**) (C-Atome in Grün [in der allosterischen Bindungstasche] und in Orange [im aktiven Zentrum]) in PBP2a von *S. aureus* (PDB: 3ZG0). B) Kovalent gebundenes Ceftarolin (**43**) (C-Atome in Orange) im aktiven Zentrum von PBP2a (graue Schleifen, PDB: 3ZG0). Sobald in der allosterischen Bindungstasche Ceftarolin gebunden wird, öffnet sich das aktive Zentrum (blaue Schleifen, PDB: 4BL2). C) Nicht kovalent gebundenes Ceftarolin (**43**) (C-Atome in Grün) in der allosterischen Bindungstasche von PBP2a (PDB: 3ZFZ).

3.2.2. Ceftolozan

Ceftolozan (**45**; ehemals CXA-101 und FR264205, entdeckt von Astellas Pharma, entwickelt von Cubist Pharmaceuticals) ist die β -Lactam-Komponente der Cephalosporin/ β -Lactamase-Inhibitor-Kombination Zerbaxa, die 2014 von der FDA zugelassen wurde.^[151]

Wie in Abbildung 31 dargestellt, ist Ceftolozan von Ceftazidim (**46**), einem Cephalosporin der dritten Generation, abgeleitet. Der Aminothiadiazolring und die Oximeinheit von Ceftarolin und Ceftobiprol wurden beibehalten, um die Wirksamkeit gegen Gram-negative Bakterien bzw. die Stabilität gegen β -Lactamasen zu bewahren.^[151] Zusätzlich verleiht die hinzugefügte Dimethylessigsäuregruppe eine verbesserte Anti-Pseudomonas-Wirkung.^[146,151] Auf der rechten Seite bietet ein hochsubstituierter Pyrazolring die nötige sterische Größe, um die Hydrolyse durch β -Lactamasen zu erschweren.^[151] Die Struktur-Aktivitäts-Beziehung des Substitutionsmusters am Pyrazolring wurde genauestens unter-

sucht, wobei die höchste Anti-*Pseudomonas*-Wirkung mit der 5-Amino-1-methyl-1*H*-pyrazol-2-ium-Gruppe korrelierte.^[146] Des Weiteren konnte die Basizität des Substituenten an der 3-Position des Cephalosporinkerns mit einer verbesserten Permeabilität durch die äußere Membran in Verbindung gebracht werden. Unglücklicherweise führte dies auch zu einer Verstärkung von Krampferscheinungen bei Mäusen. Dieses Problem konnte durch Einführung basischer Seitenketten an der 4-Position der 5-Amino-1-methyl-1*H*-pyrazol-2-ium-Einheit gelöst werden, wobei die 2-Aminoethylharnstoff-Gruppe schlussendlich das beste Profil zeigte.

Ceftolozan hat ein breites Wirkungsspektrum, das resistente und multiresistente *Pseudomonas aeruginosa* einschließt.^[151,152] Leider ist es jedoch wie andere Oxyimino-Cephalosporine gegen β -Lactamasen mit erweitertem Spektrum (ESBL) und Carbapenemasen anfällig. Aus diesem Grund wird Ceftolozan in Kombination mit dem β -Lactamase-Inhibitor Tazobactam (siehe Abschnitt 4) eingesetzt, was sein Spektrum auf ESBL-produzierende Stämme von *P. aeruginosa* und *Bacteroides fragilis* erweitert.^[151,153]

3.2.3. BAL30072

Siderophore sind kleine Moleküle, die Eisenionen komplexieren können und es Bakterien somit ermöglichen, dieses für lebensnotwendige zelluläre Prozesse essentielle Element aus der Umgebung aufzunehmen.^[154]

Das Siderophor-enthaltende β -Lactam BAL30072 (47; Abbildung 33, entwickelt von Basilea Pharmaceutica AG)^[155] ist ein Siderophor-Sulfactam-Konjugat, welches von Tigemonam (48) abgeleitet wurde und eine zusätzliche Dihydroxyphenylgruppe enthält, um Eisen zu komplexieren.^[156] Diese Gruppe dient als Bioisoster von Catechol, wodurch der BAL30072-Fe³⁺-Komplex aktiv durch die äußere Membran transportiert werden kann.^[157] Innerhalb des Bakteriums hemmt es PBP1a, PBP2a und PBP3, zudem agiert es als Inhibitor der Klasse C β -Lactamasen.^[155] BAL30072 zeigte in vitro gute antibakterielle Wirkung gegen Gram-negative

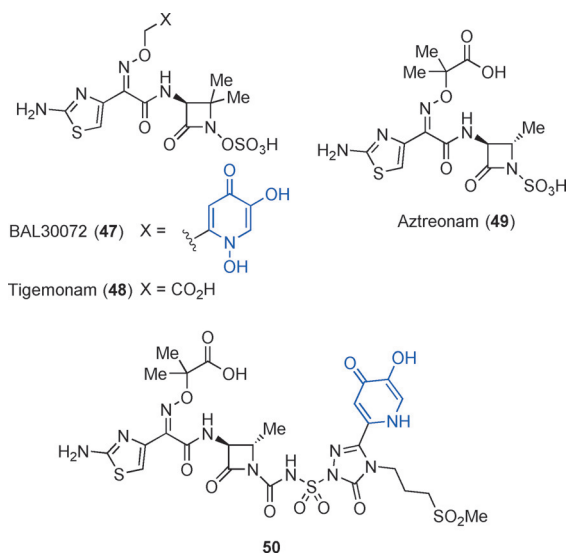


Abbildung 33. Strukturen von monocyclischen β -Lactam-Antibiotika; die Siderophor-Einheiten sind blau hervorgehoben.

Bakterien, war in vivo gegen *Acinetobacter baumannii* wirksam und zeigte synergistische Wirkung in Kombination mit Carbapenemen.^[155,158,159]

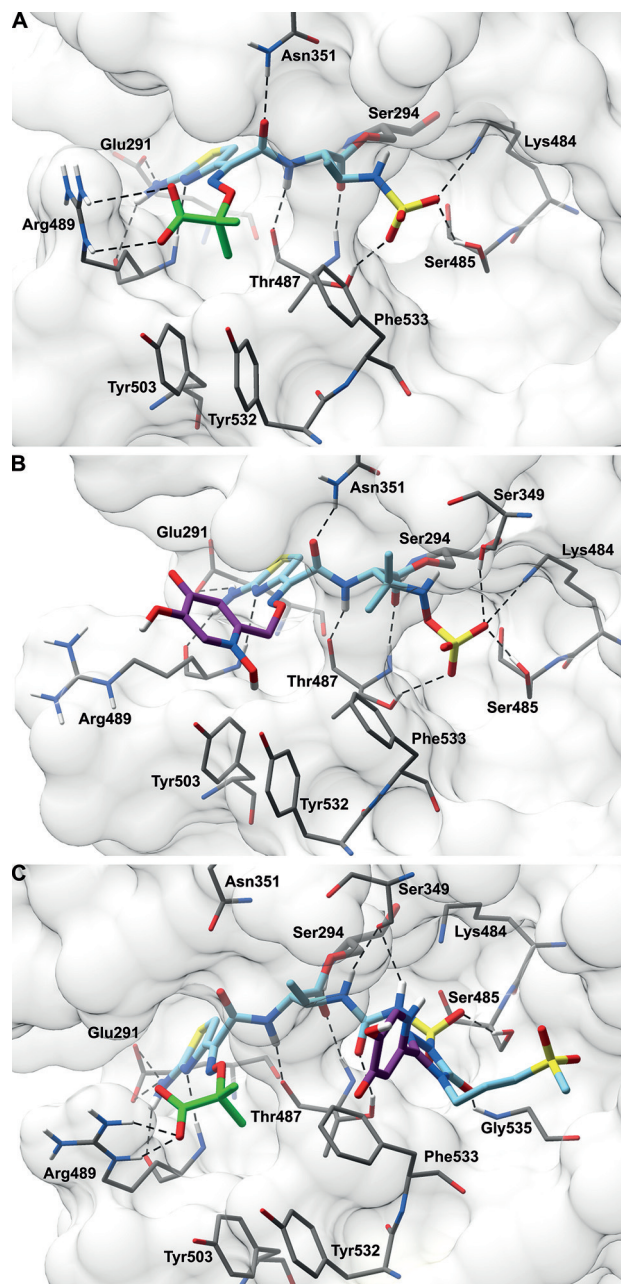


Abbildung 34. Strukturelle Evolution von Siderophor-konjugierten monocyclischen β -Lactam-Antibiotika. A) Aztreonam (49) (C-Atome in Hellblau): kovalent gebunden an PBP3 (PDB: 3PBS) von *P. aeruginosa*. Die Carbonsäureeinheit (C-Atome in Grün) geht polare Wechselwirkungen mit Arg489 ein. Die zwei geminalen Methylgruppen wechselwirken mit der hydrophoben Tasche, die durch Tyr503, Tyr532 und Phe533 gebildet wird. B) BAL30072 (47) (C-Atome in Hellblau): kovalent gebunden an PBP3 (PDB: 4OOM) von *P. aeruginosa*. Die Siderophoreinheit (C-Atome in Violett) von BAL30072 ersetzt die Carbonsäure von Aztreonam und zwingt Arg489 in eine nichtbindende Orientierung. C) 50 (C-Atome in Hellblau): kovalent gebunden an PBP3 (PDB: 4WEL) von *P. aeruginosa*. Optimierte Wechselwirkungen des Siderophor-Monocarbam-Konjugates (Siderophoreinheit: C-Atome in Violett; Carbonsäureeinheit: C-Atome in Grün).

Starr et al. berichteten 2014 über PBP3-BAL30072-Co-kristallstrukturen, die zeigten, dass die Siderophorgruppe möglicherweise nicht an der idealen Position angebracht ist. Und tatsächlich, im Vergleich mit Aztreonam (**49**; Abbildung 33 und 34 A),^[160] einem ähnlichen Monobactam, werden gewisse vorteilhafte Wechselwirkungen nicht mehr eingegangen, z. B. die Salzbrücke mit Arg489 und die hydrophobe Wechselwirkung mit den zwei geminalen Methylgruppen des Antibiotikums (Abbildung 34 B).^[161] Auf Grundlage dieser strukturbasierten Erkenntnisse haben Medizinalchemiker versucht, die Siderophorgruppe an einer geeigneteren Stelle zu platzieren.^[161–163]

Verbindung **50** (Abbildung 33, entwickelt von AstraZeneca) stellt das neueste erfolgreiche Beispiel eines solchen strukturbasierten Vorgehens dar, das es ermöglichte, ein Siderophor-Monocarbam-Konjugat mit verbesserten Wechselwirkungen mit PBP3 von *P. aeruginosa* zu entwerfen (Abbildung 34 C).^[163] Neben der Wiederherstellung der starken Wechselwirkung des Wirkstoffs mit Arg489 positioniert es das polare Siderophor in einer hydrophileren Umgebung, sodass der Wirkstoff zusätzliche Wechselwirkungen mit dem Zielprotein PBP3 eingehen kann (Abbildung 34 C). Verbindung **50** hat exzellente pharmakokinetische Eigenschaften und starke zelluläre Wirksamkeit gegen *P. aeruginosa* (*P. aeruginosa* ARC545; MHK = 0.5 µg mL⁻¹).^[163]

4. β-Lactamase-Inhibitoren

Wie schon erwähnt, sind β-Lactam-Antibiotika eine der ältesten und am weitesten verbreiteten Antibiotikaklassen. Resistenzen gegen diese antibakteriellen Stoffe treten vorwiegend durch die Expression zweier bakterieller Biomoleküle auf: den β-Lactamasen und den β-Lactam-resistenten Penicillin-bindenden Proteinen (PBP). β-Lactamasen werden systematisch klassifiziert: nach der Ambler- und der Bush-Jacoby-Klassifikation.^[164,165] Der erste verwendete β-Lactamase-Inhibitor war Clavulansäure (**51**; entdeckt von Beecham Pharmaceuticals) in der Mitte der 1970er Jahre,^[166] gefolgt von Sulbactam (**52**)^[167] und Tazobactam (**53**) im darauffolgenden Jahrzehnt.^[168] Wie in Abbildung 35 zu sehen ist, verfügen alle diese β-Lactamase-Inhibitoren über ein β-Lactam-Grundgerüst, jedoch weisen sie nur eine begrenzte antibiotische Wirkung auf.

Ihre Wirkungsweise beruht auf der irreversiblen Bindung an die β-Lactamasen, womit die Inaktivierung des Antibiotikums verhindert wird (Abbildung 36).^[169]

Leider sind diese drei β-Lactamase-Inhibitoren nur gegen eine der vier β-Lactamase-Klassen wirksam. Zudem ist in den letzten 20 Jahren die Anzahl der natürlich vorkommenden β-

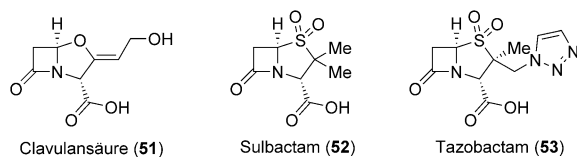


Abbildung 35. Strukturen der derzeitigen klinischen β-Lactamase-Inhibitoren mit einem β-Lactam-Grundgerüst.

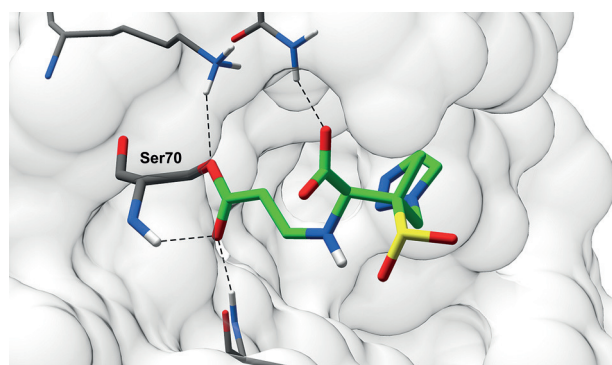


Abbildung 36. Kristallstruktur von kovalent gebundenem Tazobactam (**53**) (C-Atome in Grün). Die Bindung erfolgt hier über Ser70 der β-Lactamase SHV-1 (PDB: 2H10) von *K. pneumoniae*.

Lactamasen seit der Einführung von Tazobactam exponentiell angestiegen. Neue β-Lactamase-Inhibitoren mit einem erweiterten Spektrum werden deshalb dringend benötigt. Neue β-Lactamase-Inhibitoren, die auf strukturellem Design beruhen und kein β-Lactam-Grundgerüst aufweisen, stehen gegenwärtig im Fokus.

4.1. Diazabicycloctane

Vertreter der ersten Klasse dieser „Nicht-β-Lactam-Inhibitoren“ wurden zunächst Mitte der 1990er Jahre entworfen und werden Diazabicycloctane (DBO) genannt (Hoechst Marion Roussel).^[170,171] Diese Inhibitoren sind stärker wirksam und haben ein breiteres Spektrum als die derzeitigen β-Lactamase-Inhibitoren. Mechanistisch gesehen wirken sie auf vergleichbare Weise wie die traditionellen β-Lactamase-Inhibitoren: Die Carbonylgruppe am Imidazolidin-2-on-Ring dient als Elektrophil für den nukleophilen Angriff durch das Serin im aktiven Zentrum der β-Lactamase. Diese strukturelle Ähnlichkeit mit den β-Lactamen ist für die schnelle Erkennung durch β-Lactamasen sehr wichtig (Abbildung 37). Allerdings werden sie im Gegensatz zu traditionellen β-Lactam-Inhibitoren nach der Acylierung nicht hydrolysiert, sondern deacylieren sehr langsam. Zwei dieser neuen DBOs werden hier diskutiert.

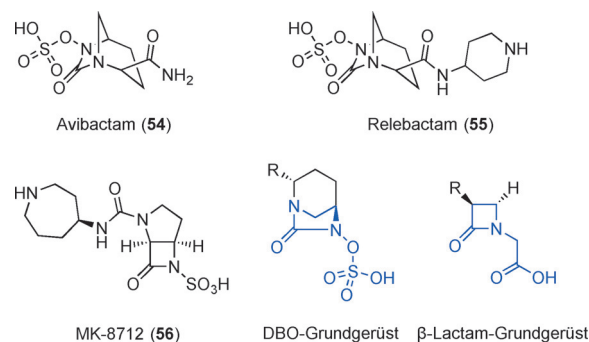


Abbildung 37. Strukturen von Nicht-β-Lactam-Inhibitoren mit DBO-Grundgerüst und deren strukturelle Ähnlichkeit mit β-Lactamen (in Blau).

4.1.1. Avibactam

Avibactam (**54**; ehemals NXL-104, AVE1330A, entwickelt von Actavis) ist ein DBO, das 2015 durch die FDA in Kombination mit dem β -Lactam Cefprozid (**46**) zugelassen wurde. Zudem steht es noch in klinischen Studien in Kombination mit Cefprozid (**43**) und Aztreonam (**49**).^[172] Es ist ein kovalenter, reversibler Inhibitor, der eine sehr schnelle Acylierungsgeschwindigkeit gepaart mit einer sehr langsamen Abspaltungstendenz aufweist, wobei sich die Halbwertszeit der Deacylierung im Bereich von Tagen bewegt.^[173]

Röntgenkristallstrukturen von Avibactam in Komplexen mit drei verschiedenen β -Lactamasen haben wichtige Einblicke in die Wirkungsweise des Wirkstoffes geliefert.^[174–176] Avibactam wechselwirkt mit konservierten Schlüsselresten in einer starren Konformation, und die sehr polare Sulfatgruppe (welche die β -Lactam-Carbonsäure nachahmt, Abbildung 37) bildet starke polare Wechselwirkungen mit Arg261 aus (Abbildung 38).^[177] Nach der kovalenten Anbindung verbleibt Avibactam in einer ähnlichen Konformation. Zusammen mit der Bildung zusätzlicher vorteilhafter Wechselwirkungen mit dem Target und der Stabilität der neuen Carbamoylbindung erklärt dies die Dominanz der Deacylierung gegenüber der Hydrolyse. Aufgrund der geringen Größe von Avibactam und der effizienten Wechselwirkungen mit zentralen katalytischen Resten im aktiven Zentrum sollte die Bindung zu fast allen β -Lactamasen möglich sein. Dies sollte positive Auswirkungen auf die Unterdrückung neu entstehender Resistenzen in der Klinik haben.

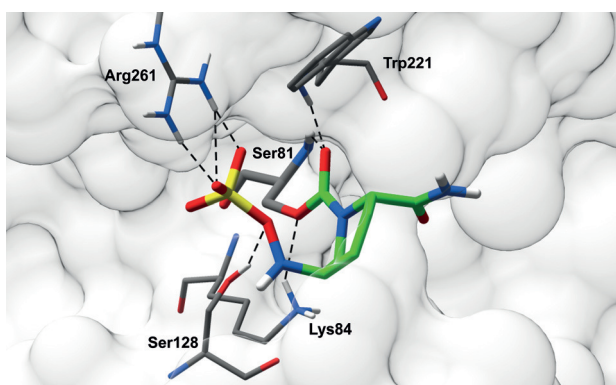


Abbildung 38. Kristallstruktur von kovalent gebundenem Avibactam (**54**) (C-Atome in Grün). Die Bindung erfolgt hier über Ser81 der β -Lactamase OXA-24 (PDB: 4WM9) von *A. baumannii*.

4.1.2. Relebactam

Relebactam (**55**; ehemals MK-7655, Merck & Company, Abbildung 37) ist Avibactam strukturell sehr ähnlich. Der einzige Unterschied ist der zusätzliche Piperidinring an der Amidgruppe. Dieser Heterocyclus ergab sich aus dem Screening verschiedenster basischer und neutraler Heterocyclusfragmente, nachdem die Ergebnisse des Vorläuferinhibitors MK-8712 (**56**) berücksichtigt wurden.^[178] Es zeigte sich, dass das Hinzufügen eines basischen Stickstoffatoms stark

dabei half, die Ausscheidung aus der bakteriellen Zelle zu senken.^[178]

4.2. Boronsäuren

Boronsäuren wurden schon in den 1970er Jahren als wirkungsvolle Serinproteaseinhibitoren erkannt.^[179] Das Boratom kann dabei als Elektrophil dienen, wobei es das Carbonyl-Kohlenstoffatom nachahmt, was zur Bildung einer reversiblen kovalenten Bindung zwischen dem Serin und der Boronsäuregruppe führt. Seit Kiener und Waley 1978 die Verwendung von Phenylboronsäure als β -Lactamase-Inhibitor beschrieben, haben verschiedene Forschungsgruppen versucht, mit dieser funktionellen Gruppe neue Inhibitoren zu entwickeln.^[180] Überraschenderweise wurde erst kürzlich das erste Boronsäurederivat in einem Tierinfektionsmodell getestet.^[181]

4.2.1. RPX7009

Zurzeit ist ein cyclischer Boronsäure- β -Lactamase-Inhibitor in der Entwicklung (Rempex Pharmaceuticals, ein Tochterunternehmen von The Medicines Company). Die ursprüngliche Inspiration für das Design basierte auf einem Bericht von Ness und Mitarbeitern, der 2000 veröffentlicht wurde und Verbindung **57** beschreibt.^[182] Dies führte zur Idee, cyclische Boronsäureester als Inhibitoren zu verwenden: Durch das Arretieren des Boronsäureesters in einem Ringsystem könnte der Inhibitor in eine bevorzugte Konformation gezwungen werden, was zu einer erhöhten Affinität zum Target führen sollte.

Dockingstudien von verschiedenen cyclischen Strukturen mit unterschiedlichen β -Lactamasen führten zur Entdeckung des in Blau dargestellten Grundgerüsts in Abbildung 39.

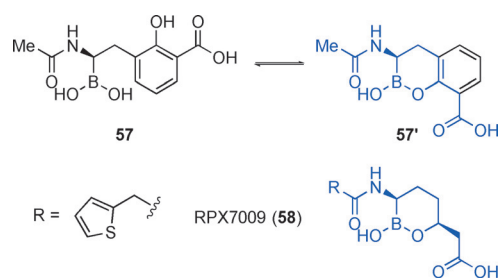


Abbildung 39. Inspiration für RPX7009 und dessen Struktur.

Ausgehend von diesem Grundgerüst wurde eine große Vielfalt von Verbindungen mit unterschiedlichen *N*-Acyl-Substituenten synthetisiert. Das 2-Thienylacetyl-Analogon RPX7009 (**58**) stellte sich als wirksamstes Derivat heraus und wies dazu noch ein breites Hemmspektrum und hohe Selektivität auf.^[181] RPX7009 ist ein Breitbandinhibitor, der insbesondere die Wirkung von Carbapenemen auf Carbapenemase-produzierende *K. pneumoniae*-Stämme wiederherstellt. In Kombination mit Carbapenemen ist RPX7009 ein vielversprechender Kandidat zur Behandlung multiresistenter Gram-negativer Bakterien.^[183]

Röntgenkristallstrukturen von RPX7009 mit β -Lactamase bestätigten, dass das Boratom als Elektrophil für die Serinaddition agiert (Abbildung 40). Zudem konnte ein Wasserstoffbrückennetzwerk zwischen dem Amid sowie der Carbonsäure und dem Enzym identifiziert werden. Dieses Netzwerk kann zur weiteren strukturbasierten Optimierung dieses neuartigen β -Lactamase-Inhibitors verwendet werden.

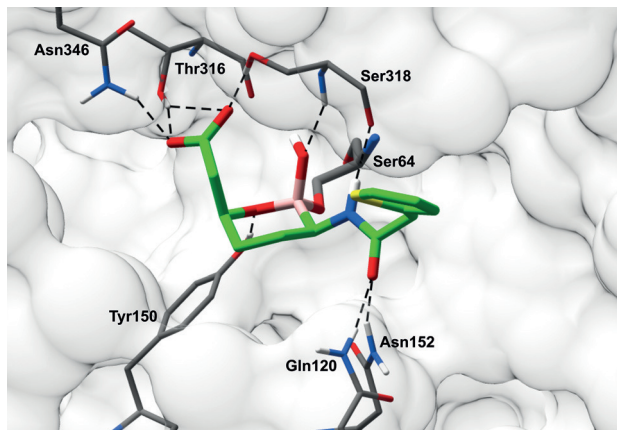


Abbildung 40. Kristallstruktur von kovalent gebundenem RPX7009 (**58**) (C-Atome in Grün, B-Atom in Violett). Die Bindung erfolgt hier über Ser64 von AmpC (PDB: 4XUX) von *Enterobacter cloacae*.

4.2.2. Oxaborole

Kürzlich wurden das Design und die Synthese von Bor-basierten Breitband- β -Lactamase-Inhibitoren veröffentlicht (AstraZeneca).^[184] Die Vorgehensweise ist ein sehr schönes und gut beschriebenes Beispiel für strukturbasiertes Design, das zukünftige Arbeiten in diesem Bereich inspirieren könnte.

Als Ausgangspunkt nutzten Verheijen et al. zwei kürzlich erschienene Berichte, um 2-(1-Hydroxy-6-phenoxy-1,3-dihydrobenzo[*c*][1,2]oxaborol-3-yl)essigsäure (**59**) als Grundstruktur hervorzubringen (Abbildung 41).^[185,186] Eine Studie

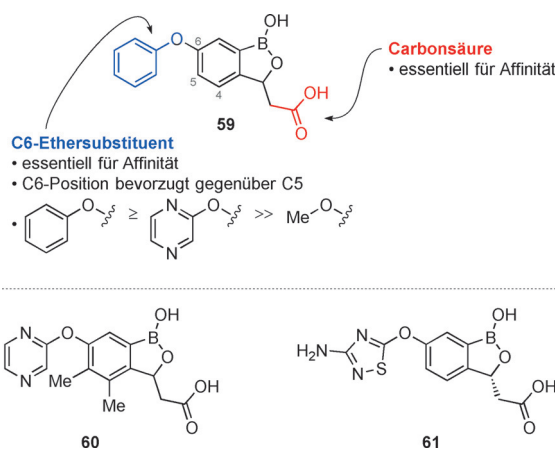


Abbildung 41. Strukturen von Bor-basierten β -Lactamase-Inhibitoren mit Breitbandwirkung.

zur Struktur-Aktivitäts-Beziehung arbeitete die Bedeutung der Carbonsäure und der Ethersubstituenten heraus. Während der Phenyloxysubstituent eine leicht erhöhte Affinität für eine Auswahl repräsentativer β -Lactamase aufwies, waren die Pyrazin-Analoga synthetisch leichter zugänglich und wurden deshalb für weitere Optimierungsstudien bevorzugt.

Dockingstudien mit verschiedenen β -Lactamase zeigten eine lipophile Tasche in der Nähe der C4- und C5-Position, die nur kleine Methylgruppen beherbergen kann. Dies führte zur Entwicklung von Verbindung **60**. An diesem Punkt stellte sich ebenfalls heraus, dass das *R*-Enantiomer das potentere Enantiomer war. Schlussendlich wurde der Pyrazinring durch eine Anzahl verschiedener Heterocyclen ersetzt, um die Affinität für β -Lactamase der Klassen A, C und D zu erhöhen.

Verbindung **61** zeigte dabei das beste Inhibitionsprofil für verschiedene β -Lactamase mit IC_{50} -Werten im nanomolaren Bereich. Für Ceftazidim (**46**) konnte dabei eine MHK von $0.25 \mu\text{mL}^{-1}$ in *E. coli* erreicht werden. Das vorhergesagte Bindungsmodell von Verbindung **61** konnte mittels Röntgenkristallographie in Cokristallstrukturen mit verschiedenen β -Lactamase (PDB: 4WZ4 [in AmpC] und 4WZ5 [in OXA-10]) bestätigt werden. Leider konnte die Empfindlichkeit gegenüber Ceftazidim in anderen Gram-negativen Krankheitserregern, wie *P. aeruginosa* und *A. baumannii*, durch Verbindung **61** nur geringfügig verbessert werden.

5. Intervention auf genetischer Ebene

Transkriptionsfaktoren sind für die Regulation der Gentranskription verantwortlich und deshalb essentiell bei einer Vielzahl zellulärer Prozesse.^[187] Sie enthalten spezifische DNS-Bindungsdomänen, mit denen sie DNS-Sequenzen erkennen und damit die Gentranskription beeinflussen. Durch niedermolekulare Substanzen, die mit dieser Wechselwirkung interferieren, lässt sich somit die Genexpression kontrollieren.^[188,189] Da die Voraussetzungen zur Entwicklung von Antibiotikaresistenzen im Genom der Bakterien codiert sind, stellen Transkriptionsfaktoren vielversprechende Targets für die ursächliche Bekämpfung von Antibiotikaresistenzen dar. Dieser Ansatz kann komplementär zur Suche nach neuen antibiotischen Molekülen verfolgt werden. Dabei profitiert diese Strategie von aktuellen Genomdaten der Bakterien und detaillierten kristallographischen Informationen der Transkriptionsfaktoren, was einen strukturbasierten Ansatz ermöglicht. Auf diesem Gebiet konnten bereits erste ermutigende Ergebnisse erzielt werden. Sowohl mit Oligonukleotiden (McArthur et al., Procarta Biosystems Ltd.)^[190] als auch mit niedermolekularen Molekülen (Baulard et al., BioVersys AG, Riedl et al.)^[191,192] ist es gelungen, die bakterielle Transkriptionsmaschinerie hinsichtlich der Unterdrückung von Resistenzen positiv zu modulieren.

5.1. Transkriptionsfaktor EthR

Baulard et al. beschrieben ein exzellentes Beispiel der Beeinflussung von Transkriptionsfaktoren durch einen

strukturbasierten Ansatz mit niedermolekularen Molekülen. Es ist ihnen gelungen, die genetische Maschinerie eines Bakteriums derart zu manipulieren, dass das Bakterium mit einer höheren Empfindlichkeit auf ein Antibiotikum anspricht.^[191] Dabei modulierten sie den Transkriptionsrepressor EthR, einen Vertreter der TetR-Repressoren,^[193] der die Transkription von *ethA* blockiert. Dieses Gen *ethA* codiert die Monoxygenase EthA, welche die Aktivierung von Ethionamid in *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) katalysiert.^[194]

Ethionamid wird von der WHO für die Behandlung multiresistenter Tuberkulose (MDR-TB) empfohlen, allerdings hat es einen niedrigen therapeutischen Index. Da die meisten der negativen Effekte dosisabhängig sind, würde eine Steigerung der Bioaktivierung von Ethionamid zu einer Verbesserung bei der Behandlung von MDR-TB führen. Die Analyse röntgenkristallographischer Daten von EthR mit gebundenen niedermolekularen Liganden (PDB: 1U9N, 1T56)^[195,196] ließ vermuten, dass die Konformation des Gesamtkomplexes aus EthR und den niedermolekularen Liganden nicht mehr in der Lage sein wird, an die DNS zu binden. Selektive niedermolekulare Binder an EthR sollten deshalb die Repression der *ethA*-Expression unterdrücken. Dies sollte wiederum zu einer Steigerung der Bioaktivierung von Ethionamid führen und dadurch die Menge an zu verabreichendem Ethionamid reduzieren.

Die chemische Struktur und die Bindungsorientierung der in den Cokristallstrukturen identifizierten Liganden (PDB: 1U9N, 1T56; Abbildung 42) inspirierten das fragmentbasierte

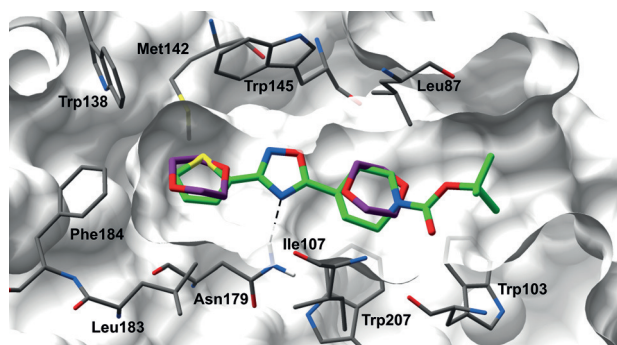


Abbildung 42. Überlagerung der Cokristallstruktur des Transkriptionsfaktors EthR aus *M. tuberculosis* einschließlich der Dioxanfragmente (C-Atome in Violett, PDB: 1T56) und der Cokristallstruktur von EthR-gebundenem BDM14500 (**62**) (C-Atome in Grün, PDB: 3G10, EthR ebenfalls aus *M. tuberculosis*).

Design und die Synthese einer fokussierten Bibliothek niedermolekularer Wirkstoffmoleküle. In dieser Bibliothek konnten die Verbindungen BDM14500 und BDM31343 (**62** und **63**; Abbildung 43) identifiziert werden, welche die DNS-Bindung von EthR inhibieren. Weitergehende medizinisch-chemische Optimierungen führten mit einer strukturbasierten Strategie zu Verbindung **64** (Abbildung 43), welche die Keimbelastung von Mtb-infizierten Mäusen im Vergleich zu Ethionamid mit dreifach erhöhter Wirksamkeit reduzierte.^[197] Diese Verstärker der Bioaktivierung von Ethionamid sind gegenwärtig in der präklinischen Entwicklung.^[198]

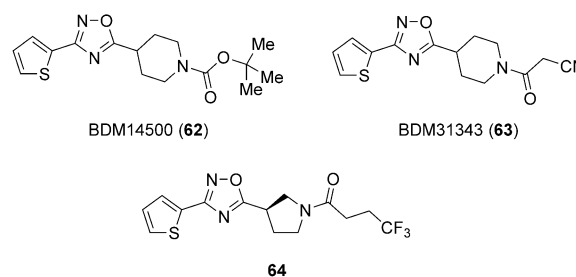


Abbildung 43. Verstärker der Bioaktivierung von Ethionamid.

5.2. Transkriptionsfaktor TetR

Der Transkriptionsfaktor TetR konnte erfolgreich mit niedermolekularen Wirkstoffmolekülen moduliert werden, um sowohl Tetracyclin-resistente Gram-positive als auch Gram-negative Pathogene wieder für Tetracyclin empfänglich zu machen (Bioversys AG in Zusammenarbeit mit unserer Gruppe). Diese Wirkstoffe interferieren mit Transkriptionsfaktoren, die für die Resistenzentwicklung entscheidend sind.^[192] Das Ziel ist es, diese niedermolekularen Moleküle als Wirkungsverstärker einzusetzen, um die Wirkung von Antibiotika gegen resistente Bakterien wieder herzustellen.^[198] Bakterien haben eine Reihe von Resistenzmechanismen gegen Tetracycline entwickelt, wie z.B. das Ausschleusen und die chemische Modifikation von Tetracyclinen sowie den Schutz des bakteriellen Ribosoms.^[199] Die beiden Mechanismen mit der größten klinischen Relevanz sind der Schutz des bakteriellen Ribosoms und das Ausschleusen der Tetracycline aus dem Bakterium.^[199] Letzteres wird durch das Membrantransportprotein TetA verursacht.^[200] Die Expression dieses Proteins wird durch den Tet-Repressor (TetR) reguliert, der an die DNS bindet und somit die Transkription von *tetA* verhindert.^[201] Wenn Tetracyclin mithilfe von Mg^{2+} an TetR bindet (Abbildung 44), ähnlich der Wechselwirkung mit seinem ribosomalen Target, ändert sich die Konformation von TetR, und die Transkription der Resistenzgene kann stattfinden.^[199,201,202]

Basierend auf einer Cokristallstruktur von TetR mit Tetracyclin konnten mit einer strukturbasierten Strategie und in

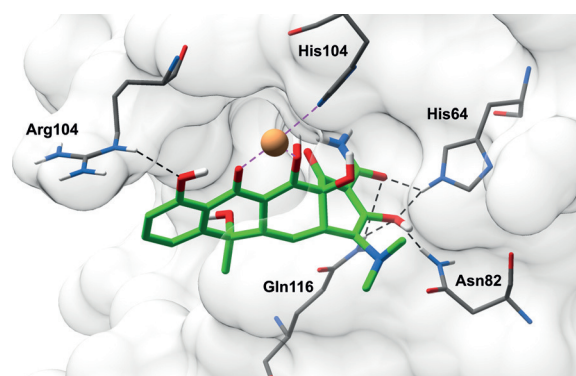


Abbildung 44. Cokristallstruktur von Tetracyclin (**21**) (C-Atome in Grün) und dem Transkriptionsfaktor TetR (Mg^{2+} -Ionen in Hellbraun, PDB: 2TRT) aus *E. coli*.

Kombination mit einem DNS-Protein-Wechselwirkungsassay (*tetO/TetR*) die Verbindungen ZHAWOC1035 und ZHAWOC1132 entwickelt werden (**65** und **66**; Abbildung 45), welche spezifisch an TetR binden und somit das Ablösen von TetR von der DNS in der Gegenwart von Tetracyclin unterbinden.^[192] Diese niedermolekularen Wirkstoffmoleküle konnten in Kombination mit Tetracyclin das Wachstum von Tetracyclin-resistenten Staphylokokken, Enterokokken, Enterobakterien und *Acinetobacter*-Isolaten inhibieren.^[192]

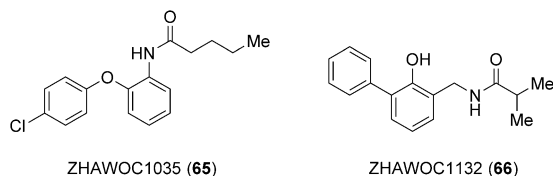


Abbildung 45. Strukturen von TetR-bindenden Molekülen zur Überwindung von Tetracyclinresistenzen.

6. Zusammenfassung und Ausblick

Relevante Institutionen, wie die Weltgesundheitsorganisation, haben die alarmierende Ausbreitung von Antibiotikaresistenzen in jüngster Vergangenheit thematisiert. Nachdem die pharmazeutische Industrie über Jahrzehnte die Entwicklung neuer antibiotischer Chemotherapien vernachlässigt hat, führte das verstärkte Bewusstsein möglicher Szenarien ohne wirksame Antibiotika wieder zu einer verstärkten Aktivität auf diesem spannenden multidisziplinären Forschungsgebiet. Das strukturelle und mechanistische Verständnis antibakterieller Interventionsmöglichkeiten zusammen mit der Entschlüsselung der bakteriellen Prozesse bei der Entwicklung antibiotischer Resistenzen stellt eine solide Basis für rationale Problemlösungsansätze dar. Naturstoffe und synthetische Moleküle sind zwar immer noch eine wichtige Quelle für antibakterielle Wirkstoffe und ermöglichen außergewöhnliche Entdeckungen auf diesem Feld,^[203] unser strukturelles Wissen ermöglicht es uns nun aber auch, mit steigendem Erfolg direkt in die Resistenzmechanismen einzugreifen, wie in diesem Aufsatz an ausgewählten Beispielen gezeigt wurde. Die Verfolgung mehrgleisiger Strategien im Hinblick auf traditionelle und neue antibiotische Targets einerseits sowie Eingriffe auf genetischer Ebene zur „Wiederbelebung“ bekannter Antibiotika andererseits eröffnet vielfältige Möglichkeiten, das Problem der Antibiotikaresistenzen zielgerichtet anzugehen.

Neben wirtschaftlichen Überlegungen der pharmazeutischen Industrie bezüglich der Profitabilität der Entwicklung und Vermarktung neuer antibiotischer Wirkstoffe, steht die eindrucksvolle therapeutische Wirkung der Antibiotika, welche in der Vergangenheit eine Vielzahl von Leben gerettet haben und auf die auch in Zukunft niemand verzichten möchte, außer Frage. Da der Ressourceneinsatz für die Entwicklung eines neuen Wirkstoffmoleküls sehr kostenintensiv und der zu erwartende finanzielle Gewinn aus der zeitlich begrenzten Behandlung einer bakteriellen Infektion vergli-

chen mit chronischen Behandlungen eher gering ist, ist auch die Bereitschaft der Industrie, große Programme zur Entwicklung neuer antibiotischer Wirkstoffe zu starten, nicht sehr ausgeprägt. Trotzdem werden pharmazeutische Unternehmen als starke Partner für solche Forschungs- und Entwicklungsprogramme benötigt, da sie über etablierte Prozesse, das nötige Wissen und wertvolle Erfahrung verfügen, um die komplexen Herausforderungen bei der Entwicklung eines Wirkstoffes für den klinischen Einsatz zu meistern. Es reicht nicht, wenn ein Molekül Bakterien in einer Petrischale tötet. Es benötigt eine detaillierte medizinisch-chemische Optimierung, um schlussendlich eine neue Behandlung für Patienten anbieten zu können.

Während es die Stärke und das Mandat der akademischen Institutionen ist, neue Möglichkeiten für die Bekämpfung von Antibiotikaresistenzen zu entdecken, wird es auch weiterhin die Domäne der pharmazeutischen Industrie sein, diese neuen Möglichkeiten aufzugreifen, die daraus abgeleiteten Wirkstoffe zu entwickeln und nach erfolgreichen klinischen Studien dem Patienten zur Verfügung zu stellen. Ein praktikabler Weg, diese Rahmenbedingungen erfolgreich zu integrieren, ist eine verstärkte Zusammenarbeit akademischer und industrieller Forschungsgruppen im Bereich der antibiotischen Wirkstoffentwicklung zum Vorteil beider Seiten und der Patienten. Es gibt mehrere praktizierte Beispiele, bei denen große pharmazeutische Unternehmen ihre institutionellen Grenzen öffnen und in sehr frühen Phasen der Wirkstoffforschung mit akademischen Gruppen kooperieren. Dank dieser „Open-innovation“-Kooperationen können beide Partner in reziproker Weise auf Ressourcen zugreifen, die ihnen sonst nicht zugänglich wären. Von Vorteil ist dabei, dass zunächst die besten wissenschaftlichen Strategien für eine therapeutische Indikation evaluiert werden, bevor spezifische Programme zur Wirkstoffentwicklung gestartet werden. Stärker fokussierte Zusammenarbeiten mit dem Ziel der Entwicklung einer neuen klinischen Behandlungsoption können dann in Forschungskonsortien mit den geeigneten Partnern erfolgen, wobei etablierte pharmazeutische Unternehmen, Jungunternehmen und akademische Gruppen involviert sind.

Diese translationalen Forschungsansätze, z. B. die Innovative Medicines Initiative (IMI), sollten es ermöglichen, die Kluft zwischen der Grundlagenforschung und der Vermarktung eines neuen Wirkstoffes zu überwinden. Die Forschung im Bereich neuer Strategien zur Bewältigung von Antibiotikaresistenzen sollte in besonderer Weise von diesem Konzept profitieren, da diese Resistenzen eine besondere Herausforderung für die Gesundheitssysteme darstellen.

Danksagung

Wir danken für die finanzielle Unterstützung der Kommission für Technologie und Innovation KTI, Schweiz, zur Etablierung von Forschungskonsortien zwischen akademischen und industriellen Partnern auf dem Gebiet der antimikrobiellen Wirkstoffforschung (KTI-11601.1 PFLS-LS, KTI-12667.1 PFLS-LS, KTI-15235.1 PFLS-LS, KTI-16445.1 PFLS-LS). Wir würdigen die stimulierenden interdisziplinären Zusam-

menarbeiten mit den Forschungsgruppen der Professoren Martin Fussenegger (ETHZ), Daniel Gygax (FHNW), Nina Khanna Gremmelmaier (Universitätsspital Basel), Vincent Perreten (Universität Bern), Jacques Schrenzel (Universitätsspital Genf) und der Bioversys AG, Basel, mit dem Ziel der Entwicklung neuer antibiotischer Behandlungsoptionen.

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 6600–6626
Angew. Chem. **2016**, *128*, 6710–6738

- [1] WHO | Antimicrobial resistance: global report on surveillance **2014**, ISBN 978 92 4 156474 8.
- [2] P. B. Savage, *Ann. Med.* **2001**, *33*, 167–171.
- [3] K. Andries, P. Verhasselt, J. Guillemont, H. W. H. Göhlmann, J.-M. Neefs, H. Winkler, J. V. Gestel, P. Timmerman, M. Zhu, E. Lee, et al., *Science* **2005**, *307*, 223–227.
- [4] P. J. Hajduk, J. Greer, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2007**, *6*, 211–219.
- [5] D. E. Scott, A. G. Coyne, S. A. Hudson, C. Abell, *Biochemistry* **2012**, *51*, 4990–5003.
- [6] G. Sliwoski, S. Kothiwale, J. Meiler, E. W. Lowe, *Pharmacol. Rev.* **2014**, *66*, 334–395.
- [7] J. Lanz, R. Riedl, *ChemMedChem* **2015**, *10*, 451–454.
- [8] T. Fischer, R. Riedl, *ChemMedChem* **2013**, *8*, 1457–1461.
- [9] K. M. G. O'Connell, J. T. Hodgkinson, H. F. Sore, M. Welch, G. P. C. Salmond, D. R. Spring, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 10706–10733; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 10904–10932.
- [10] F. von Nussbaum, M. Brands, B. Hinzen, S. Weigand, D. Häbich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5072–5129; *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 5194–5254.
- [11] P. M. Wright, I. B. Seiple, A. G. Myers, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 8840–8869; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 8984–9014.
- [12] J. Davies, D. Davies, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2010**, *74*, 417–433.
- [13] J. R. Miller, G. L. Waldrop, *Expert Opin. Drug Discovery* **2010**, *5*, 145–154.
- [14] E. F. Pettersen, T. D. Goddard, C. C. Huang, G. S. Couch, D. M. Greenblatt, E. C. Meng, T. E. Ferrin, *J. Comput. Chem.* **2004**, *25*, 1605–1612.
- [15] <https://inkscape.org/en/>.
- [16] O. Trott, A. J. Olson, *J. Comput. Chem.* **2010**, *31*, 455–461.
- [17] J. Poehlsgaard, S. Douthwaite, *Nat. Rev. Microbiol.* **2005**, *3*, 870–881.
- [18] D. N. Wilson, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **2009**, *44*, 393–433.
- [19] D. N. Wilson, K. H. Nierhaus, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3464–3486; *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 3586–3610.
- [20] V. Ramakrishnan, *Cell* **2002**, *108*, 557–572.
- [21] T. A. Steitz, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2008**, *9*, 242–253.
- [22] P. B. Moore, *Annu. Rev. Biophys.* **2012**, *41*, 1–19.
- [23] B. Bozdogan, P. C. Appelbaum, *Int. J. Antimicrob. Agents* **2004**, *23*, 113–119.
- [24] „5-Halomethyl-3-Phenyl-2-Oxazolidinone“: R. B. Fugitt, R. W. Luckenbaugh, US4128654 A, **1978**.
- [25] A. M. Slee, M. A. Wuonola, R. J. McRipley, I. Zajac, M. J. Zawada, P. T. Bartholomew, W. A. Gregory, M. Forbes, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1987**, *31*, 1791–1797.
- [26] S. J. Brickner, D. K. Hutchinson, M. R. Barbachyn, P. R. Manninen, D. A. Ulanowicz, S. A. Garmon, K. C. Grega, S. K. Hedges, D. S. Toops, C. W. Ford, et al., *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 673–679.
- [27] M. R. Barbachyn, C. W. Ford, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2010–2023; *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 2056–2070.
- [28] K. L. Leach, S. M. Swaney, J. R. Colca, W. G. McDonald, J. R. Blinn, L. M. Thomasco, R. C. Gadwood, D. Shinabarger, L. Xiong, A. S. Mankin, *Mol. Cell* **2007**, *26*, 393–402.
- [29] D. N. Wilson, F. Schluenzen, J. M. Harms, A. L. Starosta, S. R. Connell, P. Fucini, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 13339–13344.
- [30] J. A. Ippolito, Z. F. Kanyo, D. Wang, F. J. Franceschi, P. B. Moore, T. A. Steitz, E. M. Duffy, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 3353–3356.
- [31] K. J. Shaw, M. R. Barbachyn, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2011**, *1241*, 48–70.
- [32] S.-M. Toh, L. Xiong, C. A. Arias, M. V. Villegas, K. Lolans, J. Quinn, A. S. Mankin, *Mol. Microbiol.* **2007**, *64*, 1506–1514.
- [33] J. M. LaMarre, J. B. Locke, K. J. Shaw, A. S. Mankin, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, *55*, 3714–3719.
- [34] L. K. Smith, A. S. Mankin, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2008**, *52*, 1703–1712.
- [35] K. J. Shaw, S. Poppe, R. Schaadt, V. Brown-Driver, J. Finn, C. M. Pillar, D. Shinabarger, G. Zurenko, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2008**, *52*, 4442–4447.
- [36] J. B. Locke, J. Finn, M. Hilgers, G. Morales, S. Rahawi, K. G. C. , J. J. Picazo, W. Im, K. J. Shaw, J. L. Stein, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, *54*, 5337–5343.
- [37] W. B. Im, S. H. Choi, J.-Y. Park, S. H. Choi, J. Finn, S.-H. Yoon, *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1027–1039.
- [38] L. Vera-Cabrera, E. Gonzalez, A. Rendon, J. Ocampo-Candiani, O. Welsh, V. M. Velazquez-Moreno, S. Hak Choi, C. Molina-Torres, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2006**, *50*, 3170–3172.
- [39] I. Rodriguez-Avial, E. Culebras, C. Betriu, G. Morales, I. Pena, J. J. Picazo, *J. Antimicrob. Chemother.* **2012**, *67*, 167–169.
- [40] E. Skripkin, T. S. McConnell, J. DeVito, L. Lawrence, J. A. Ippolito, E. M. Duffy, J. Sutcliffe, F. Franceschi, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2008**, *52*, 3550–3557.
- [41] J. Zhou, A. Bhattacharjee, S. Chen, Y. Chen, E. Duffy, J. Farmer, J. Goldberg, R. Hanselmann, J. A. Ippolito, R. Lou, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 6179–6183.
- [42] F. Franceschi, E. M. Duffy, *Biochem. Pharmacol.* **2006**, *71*, 1016–1025.
- [43] J. L. Hansen, T. M. Schmeing, P. B. Moore, T. A. Steitz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 11670–11675.
- [44] J. Zhou, A. Bhattacharjee, S. Chen, Y. Chen, E. Duffy, J. Farmer, J. Goldberg, R. Hanselmann, J. A. Ippolito, R. Lou, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 6175–6178.
- [45] L. Lawrence, P. Danese, J. DeVito, F. Franceschi, J. Sutcliffe, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2008**, *52*, 1653–1662.
- [46] F. Franceschi, J. DeVito, J. Dalton, J. Remy, E. Skripkin, J. Ippolito, E. Duffy, Poster C1-095, *50th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC)*, 12.–15. September 2010, http://www.melinta.com/uploads/Rib-X_Radezolid_ICAAC-2010_C1-095.pdf.
- [47] L. Katz, G. W. Ashley, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 499–528.
- [48] J. M. McGuire, R. L. Bunch, R. C. Anderson, H. E. Boaz, E. H. Flynn, H. M. Powell, J. W. Smith, *Antibiot. Chemother. Northfield Ill* **1952**, *2*, 281–283.
- [49] S. Morimoto, Y. Takahashi, Y. Watanabe, S. Omura, *J. Antibiot.* **1984**, *37*, 187–189.
- [50] J. Retsema, A. Girard, W. Schelkly, M. Manousos, M. Anderson, G. Bright, R. Borovoy, L. Brennan, R. Mason, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1987**, *31*, 1939–1947.
- [51] A. S. Mankin, *Curr. Opin. Microbiol.* **2008**, *11*, 414–421.
- [52] K. Kannan, N. Vázquez-Laslop, A. S. Mankin, *Cell* **2012**, *151*, 508–520.
- [53] W. Champney, *Curr. Top. Med. Chem.* **2003**, *3*, 929–947.
- [54] F. Schlünzen, R. Zarivach, J. Harms, A. Bashan, A. Tocilj, R. Albrecht, A. Yonath, F. Franceschi, *Nature* **2001**, *413*, 814–821.
- [55] J. L. Hansen, J. A. Ippolito, N. Ban, P. Nissen, P. B. Moore, T. A. Steitz, *Mol. Cell* **2002**, *10*, 117–128.
- [56] D. Tu, G. Blaha, P. B. Moore, T. A. Steitz, *Cell* **2005**, *121*, 257–270.

- [57] R. Leclercq, *Clin. Infect. Dis.* **2002**, *34*, 482–492.
- [58] H. S. Chittum, W. S. Champney, *J. Bacteriol.* **1994**, *176*, 6192–6198.
- [59] N. Davydova, V. Streltsov, M. Wilce, A. Liljas, M. Garber, *J. Mol. Biol.* **2002**, *322*, 635–644.
- [60] B. Vester, S. Douthwaite, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, *45*, 1–12.
- [61] D. N. Wilson, *Nat. Rev. Microbiol.* **2014**, *12*, 35–48.
- [62] E. C. Böttger, B. Springer, T. Prammananan, Y. Kidan, P. Sander, *EMBO Rep.* **2001**, *2*, 318–323.
- [63] A. Bonnefoy, *J. Antimicrob. Chemother.* **1997**, *40*, 85–90.
- [64] F. Van Bambeke, *Ann. Med.* **2014**, *46*, 512–529.
- [65] A. M. Nilius, Z. Ma, *Curr. Opin. Pharmacol.* **2002**, *2*, 493–500.
- [66] R. Berisio, J. Harms, F. Schluenzen, R. Zarivach, H. A. S. Hansen, P. Fucini, A. Yonath, *J. Bacteriol.* **2003**, *185*, 4276–4279.
- [67] F. Schlünzen, J. M. Harms, F. Franceschi, H. A. Hansen, H. Bartels, R. Zarivach, A. Yonath, *Structure* **2003**, *11*, 329–338.
- [68] D. B. Ross, *N. Engl. J. Med.* **2007**, *356*, 1601–1604.
- [69] A. D. Brinker, R. T. Wassel, J. Lyndly, J. Serrano, M. Avigan, W. M. Lee, L. B. Seeff, *Hepatology* **2009**, *49*, 250–257.
- [70] D. Bertrand, S. Bertrand, E. Neveu, P. Fernandes, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, *54*, 5399–5402.
- [71] B. Llano-Sotelo, J. Dunkle, D. Klepacki, W. Zhang, P. Fernandes, J. H. D. Cate, A. S. Mankin, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, *54*, 4961–4970.
- [72] J. A. Dunkle, L. Xiong, A. S. Mankin, J. H. D. Cate, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 17152–17157.
- [73] M. G. Krokidis, V. Marquez, D. N. Wilson, D. L. Kalpaxis, G. P. Dinos, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2014**, *58*, 472–480.
- [74] Y. S. Or, R. F. Clark, S. Wang, D. T. W. Chu, A. M. Nilius, R. K. Flamm, M. Mitten, P. Ewing, J. Alder, Z. Ma, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1045–1049.
- [75] Z. Ma, R. F. Clark, A. Brazzale, S. Wang, M. J. Rupp, L. Li, G. Griesgraber, S. Zhang, H. Yong, L. T. Phan, et al., *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4137–4156.
- [76] R. P. Morris, J. A. Leeds, H. U. Naegeli, L. Oberer, K. Memmert, E. Weber, M. J. LaMarche, C. N. Parker, N. Burrer, S. Esterow, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5946–5955.
- [77] X. Just-Baringo, F. Albericio, M. Álvarez, *Mar. Drugs* **2014**, *12*, 317–351.
- [78] T. L. Su, *Br. J. Exp. Pathol.* **1948**, *29*, 473–481.
- [79] R. Donovan, J. F. Pagano, H. A. Stout, M. J. Weinstein, *Antibiot. Annu.* **1955**, *3*, 554–559.
- [80] J. M. Harms, D. N. Wilson, F. Schluenzen, S. R. Connell, T. Stachelhaus, Z. Zaborowska, C. M. T. Spahn, P. Fucini, *Mol. Cell* **2008**, *30*, 26–38.
- [81] P. H. Anborgh, A. Parmeggiani, *EMBO J.* **1991**, *10*, 779–784.
- [82] E. Selva, G. Beretta, N. Montanini, G. S. Saddler, L. Gastaldo, P. Ferrari, R. Lorenzetti, P. Landini, F. Ripamonti, B. P. Goldstein, et al., *J. Antibiot.* **1991**, *44*, 693–701.
- [83] M. J. LaMarche, J. A. Leeds, K. Amaral, J. T. Brewer, S. M. Bushell, J. M. Dewhurst, J. Dzink-Fox, E. Gangl, J. Goldovitz, A. Jain, et al., *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 8099–8109.
- [84] M. J. LaMarche, J. A. Leeds, J. Dzink-Fox, K. Gunderson, P. Krastel, K. Memmert, M. A. Patane, E. M. Rann, E. Schmitt, S. Tiamfook, et al., *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 2517–2521.
- [85] M. J. LaMarche, J. A. Leeds, J. Dzink-Fox, S. Mullin, M. A. Patane, E. M. Rann, S. Tiamfook, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 3210–3215.
- [86] M. J. LaMarche, J. A. Leeds, A. Amaral, J. T. Brewer, S. M. Bushell, G. Deng, J. M. Dewhurst, J. Ding, J. Dzink-Fox, G. Gamber, et al., *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 2376–2387.
- [87] M. J. LaMarche, J. A. Leeds, J. Dzink-Fox, E. Gangl, P. Krastel, G. Necker, D. Palestrant, M. A. Patane, E. M. Rann, S. Tiamfook, et al., *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 6934–6941.
- [88] I. Chopra, M. Roberts, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2001**, *65*, 232–260.
- [89] L. T. Wright, M. Sanders, *JAMA J. Am. Med. Assoc.* **1948**, *138*, 408–412.
- [90] L. E. Putnam, F. D. Hendricks, H. Welch, *Antibiot. Chemother. Northfield Ill* **1953**, *3*, 1183–1186.
- [91] A. C. Finlay, G. L. Hobby, S. Y. P'an, P. P. Regna, J. B. Routien, D. B. Seeley, G. M. Shull, B. A. Sobin, I. A. Solomons, J. W. Vinson, et al., *Science* **1950**, *111*, 85–85.
- [92] C. M. Kunin, M. Finland, *N. Engl. J. Med.* **1958**, *259*, 999–1005.
- [93] C. R. Stephens, K. Murai, H. H. Rennhard, L. H. Conover, K. J. Brunings, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 5324–5325.
- [94] R. F. R. Church, R. E. Schaub, M. J. Weiss, *J. Org. Chem.* **1971**, *36*, 723–725.
- [95] P.-E. Sum, P. Petersen, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 1459–1462.
- [96] L. Jenner, A. L. Starosta, D. S. Terry, A. Mikolajka, L. Filonava, M. Yusupov, S. C. Blanchard, D. N. Wilson, G. Yusupova, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2013**, *110*, 3812–3816.
- [97] D. E. Brodersen, W. M. Clemons, Jr., A. P. Carter, R. J. Morgan-Warren, B. T. Wimberly, V. Ramakrishnan, *Cell* **2000**, *103*, 1143–1154.
- [98] S. C. Blanchard, R. L. Gonzalez, H. D. Kim, S. Chu, J. D. Puglisi, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2004**, *11*, 1008–1014.
- [99] A. Dönhöfer, S. Franckenberg, S. Wickles, O. Berninghausen, R. Beckmann, D. N. Wilson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 16900–16905.
- [100] C. A. Trieber, D. E. Taylor, *J. Bacteriol.* **2002**, *184*, 2131–2140.
- [101] M. P. Draper, S. Weir, A. Maccone, J. Donatelli, C. A. Trieber, S. K. Tanaka, S. B. Levy, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2014**, *58*, 1279–1283.
- [102] A. B. Maccone, B. K. Caruso, R. G. Leahy, J. Donatelli, S. Weir, M. P. Draper, S. K. Tanaka, S. B. Levy, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2014**, *58*, 1127–1135.
- [103] R. L. Peck, C. E. Hoffhine, P. Gale, K. Folkers, *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 2590–2591.
- [104] S. Magnet, J. S. Blanchard, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 477–498.
- [105] A. Schatz, E. Bugle, S. A. Waksman, *Exp. Biol. Med.* **1944**, *55*, 66–69.
- [106] S. B. Vakulenko, S. Mobashery, *Clin. Microbiol. Rev.* **2003**, *16*, 430–450.
- [107] M. V. Rodnina, W. Wintermeyer, *Trends Biochem. Sci.* **2001**, *26*, 124–130.
- [108] J. M. Ogle, A. P. Carter, V. Ramakrishnan, *Trends Biochem. Sci.* **2003**, *28*, 259–266.
- [109] B. François, R. J. M. Russell, J. B. Murray, F. Aboul-ela, B. Masquida, Q. Vicens, E. Westhof, *Nucleic Acids Res.* **2005**, *33*, 5677–5690.
- [110] A. P. Carter, W. M. Clemons, D. E. Brodersen, R. J. Morgan-Warren, B. T. Wimberly, V. Ramakrishnan, *Nature* **2000**, *407*, 340–348.
- [111] M. A. Borovinskaya, R. D. Pai, W. Zhang, B. S. Schuwirth, J. M. Holton, G. Hirokawa, H. Kaji, A. Kaji, J. H. D. Cate, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2007**, *14*, 727–732.
- [112] J. M. Ogle, *Science* **2001**, *292*, 897–902.
- [113] Q. Vicens, E. Westhof, *Chem. Biol.* **2002**, *9*, 747–755.
- [114] G. G. Zhanel, C. D. Lawson, S. Zelenitsky, B. Findlay, F. Schweizer, H. Adam, A. Walkty, E. Rubinstein, A. S. Gin, D. J. Hoban, et al., *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* **2012**, *10*, 459–473.
- [115] M. S. Ramirez, M. E. Tolmasky, *Drug Resist. Updates* **2010**, *13*, 151–171.
- [116] G. Cox, P. J. Stogios, A. Savchenko, G. D. Wright, *mBio* **2015**, *6*, e02180-14.
- [117] A. Endimiani, K. M. Hujer, A. M. Hujer, E. S. Armstrong, Y. Choudhary, J. B. Aggen, R. A. Bonomo, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 4504–4507.

- [118] D. J. Cooper, R. S. Jaret, H. Reimann, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1971**, 285–286.
- [119] J. G. Reiffenstein, S. W. Holmes, G. H. Hottendorf, M. E. Bierwagen, *J. Antibiot.* **1973**, 26, 94–100.
- [120] E. S. Armstrong, G. H. Miller, *Curr. Opin. Microbiol.* **2010**, 13, 565–573.
- [121] P. Dozzo, H. E. Moser, *Expert Opin. Ther. Pat.* **2010**, 20, 1321–1341.
- [122] I. Nikolaidis, S. Favini-Stabile, A. Dessen, *Protein Sci.* **2014**, 23, 243–259.
- [123] M. H. McCormick, J. M. McGuire, G. E. Pittenger, R. C. Pittenger, W. M. Stark, *Antibiot. Annu.* **1955**, 3, 606–611.
- [124] D. P. Levine, *Clin. Infect. Dis.* **2006**, 42, S5–S12.
- [125] P. E. Reynolds, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **1989**, 8, 943–950.
- [126] D. H. Williams, B. Bardsley, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1172–1193; *Angew. Chem.* **1999**, 111, 1264–1286.
- [127] M. Schäfer, T. R. Schneider, G. M. Sheldrick, *Structure* **1996**, 4, 1509–1515.
- [128] P. J. Loll, A. E. Bevivino, B. D. Korty, P. H. Axelsen, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 1516–1522.
- [129] Y. Nitanaï, T. Kikuchi, K. Kakoi, S. Hanamaki, I. Fujisawa, K. Aoki, *J. Mol. Biol.* **2009**, 385, 1422–1432.
- [130] D. Kahne, C. Leimkuhler, W. Lu, C. Walsh, *Chem. Rev.* **2005**, 105, 425–448.
- [131] R. C. James, J. G. Pierce, A. Okano, J. Xie, D. L. Boger, *ACS Chem. Biol.* **2012**, 7, 797–804.
- [132] C. C. McComas, B. M. Crowley, D. L. Boger, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 9314–9315.
- [133] A. Okano, A. Nakayama, K. Wu, E. A. Lindsey, A. W. Schammel, Y. Feng, K. C. Collins, D. L. Boger, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, 137, 3693–3704.
- [134] A. Markham, *Drugs* **2014**, 74, 1823–1828.
- [135] A. Fleming, *Br. J. Exp. Pathol.* **1929**, 10, 226–236.
- [136] D. J. Waxman, J. L. Strominger, *Annu. Rev. Biochem.* **1983**, 52, 825–869.
- [137] A. A. Medeiros, *Clin. Infect. Dis.* **1997**, 24, S19–S45.
- [138] J. F. Fisher, S. O. Meroueh, S. Mobashery, *Chem. Rev.* **2005**, 105, 395–424.
- [139] H. Kishida, S. Unzai, D. I. Roper, A. Lloyd, S.-Y. Park, J. R. H. Tame, *Biochemistry* **2006**, 45, 783–792.
- [140] S. M. Drawz, R. A. Bonomo, *Clin. Microbiol. Rev.* **2010**, 23, 160–201.
- [141] D. Lim, N. C. J. Strynadka, *Nat. Struct. Biol.* **2002**, 9, 870–876.
- [142] C. Fuda, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 40802–40806.
- [143] S. Lemaire, C. Fuda, F. Van Bambeke, P. M. Tulkens, S. Mobashery, *J. Biol. Chem.* **2008**, 283, 12769–12776.
- [144] G. G. Zhanel, G. Sniezek, F. Schweizer, S. Zelenitsky, P. R. S. Lagacé-Wiens, E. Rubinstein, A. S. Gin, D. J. Hoban, J. A. Karlowsky, *Drugs* **2009**, 69, 809–831.
- [145] G. G. Zhanel, A. Lam, F. Schweizer, K. Thomson, A. Walkty, E. Rubinstein, A. S. Gin, D. J. Hoban, A. M. Noreddin, J. A. Karlowsky, *Am. J. Clin. Dermatol.* **2008**, 9, 245–254.
- [146] A. Toda, H. Ohki, T. Yamanaka, K. Murano, S. Okuda, K. Kawabata, K. Hatano, K. Matsuda, K. Misumi, K. Itoh, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 4849–4852.
- [147] J. B. Laudano, *J. Antimicrob. Chemother.* **2011**, 66, iii11–iii18.
- [148] L. H. Otero, A. Rojas-Altuve, L. I. Llarrull, C. Carrasco-López, M. Kumarasiri, E. Lastochkin, J. Fishovitz, M. Dawley, D. Heseck, M. Lee, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2013**, 110, 16808–16813.
- [149] R. E. Mendes, A. Tsakris, H. S. Sader, R. N. Jones, D. Biek, P. McGhee, P. C. Appelbaum, K. Kosowska-Shick, *J. Antimicrob. Chemother.* **2012**, 67, 1321–1324.
- [150] J. Fishovitz, A. Rojas-Altuve, L. H. Otero, M. Dawley, C. Carrasco-López, M. Chang, J. A. Hermoso, S. Mobashery, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 9814–9817.
- [151] G. G. Zhanel, P. Chung, H. Adam, S. Zelenitsky, A. Denisuk, F. Schweizer, P. R. S. Lagacé-Wiens, E. Rubinstein, A. S. Gin, A. Walkty, et al., *Drugs* **2014**, 74, 31–51.
- [152] C. Juan, L. Zamorano, J. L. Perez, Y. Ge, A. Oliver, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, 54, 846–851.
- [153] H. S. Sader, P. R. Rhomberg, D. J. Farrell, R. N. Jones, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, 55, 2390–2394.
- [154] M. Miethke, M. A. Marahiel, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2007**, 71, 413–451.
- [155] M. G. P. Page, C. Dantier, E. Desarbres, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, 54, 2291–2302.
- [156] S. Mushtaq, M. Warner, D. Livermore, *J. Antimicrob. Chemother.* **2010**, 65, 266–270.
- [157] T. Mima, B. H. Kvitko, D. A. Rhol, M. G. P. Page, E. Desarbres, H. P. Schweizer, *Int. J. Antimicrob. Agents* **2011**, 38, 157–159.
- [158] B. Hofer, C. Dantier, K. Gebhardt, E. Desarbres, A. Schmitt-Hoffmann, M. G. P. Page, *J. Antimicrob. Chemother.* **2013**, 68, 1120–1129.
- [159] T. A. Russo, M. G. P. Page, J. M. Beanan, R. Olson, A. M. Hujer, K. M. Hujer, M. Jacobs, S. Bajaksouzian, A. Endimiani, R. A. Bonomo, *J. Antimicrob. Chemother.* **2011**, 66, 867–873.
- [160] S. Han, R. P. Zaniwski, E. S. Marr, B. M. Lacey, A. P. Tomaras, A. Evdokimov, J. R. Miller, V. Shanmugasundaram, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, 107, 22002–22007.
- [161] J. Starr, M. F. Brown, L. Aschenbrenner, N. Caspers, Y. Che, B. S. Gerstenberger, M. Huband, J. D. Knafels, M. M. Lemmon, C. Li, et al., *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 3845–3855.
- [162] K. E. Murphy-Benato, P. R. Bhagunde, A. Chen, H. E. Davis, T. F. Durand-Réville, D. E. Ehmann, V. Galullo, J. J. Harris, H. Hatoum-Mokdad, H. Jahić, et al., *J. Med. Chem.* **2015**, 58, 2195–2205.
- [163] K. E. Murphy-Benato, B. Dangel, H. E. Davis, T. F. Durand-Réville, A. D. Ferguson, N. Gao, H. Jahić, J. P. Mueller, E. L. Manyak, O. Quiroga, et al., *ACS Med. Chem. Lett.* **2015**, 6, 537–542.
- [164] D. M. Livermore, *Clin. Microbiol. Rev.* **1995**, 8, 557–584.
- [165] K. Bush, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2013**, 1277, 84–90.
- [166] C. Reading, M. Cole, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1977**, 11, 852–857.
- [167] A. R. English, J. A. Retsema, A. E. Girard, J. E. Lynch, W. E. Barth, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1978**, 14, 414–419.
- [168] S. C. Aronoff, M. R. Jacobs, S. Johanning, S. Yamabe, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1984**, 26, 580–582.
- [169] M. A. Totir, P. S. Padayatti, M. S. Helfand, M. P. Carey, R. A. Bonomo, P. R. Carey, F. van den Akker, *Biochemistry* **2006**, 45, 11895–11904.
- [170] K. Coleman, *Curr. Opin. Microbiol.* **2011**, 14, 550–555.
- [171] „Azabicyclic Compounds, Preparation Thereof and Use of Same as Drugs, Especially Beta-Lactamase Inhibitors“: B. Ledoussal, M.-E. Gourdel, WO/2009/133442, **2009**.
- [172] D. M. Livermore, S. Mushtaq, M. Warner, J. Zhang, S. Maharran, M. Doumith, N. Woodford, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, 55, 390–394.
- [173] D. E. Ehmann, H. Jahic, P. L. Ross, R.-F. Gu, J. Hu, G. Kern, G. K. Walkup, S. L. Fisher, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, 109, 11663–11668.
- [174] H. Xu, S. Hazra, J. S. Blanchard, *Biochemistry* **2012**, 51, 4551–4557.
- [175] S. D. Lahiri, S. Mangani, T. Durand-Reville, M. Benvenuti, F. De Luca, G. Sanyal, J.-D. Docquier, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2013**, 57, 2496–2505.
- [176] S. D. Lahiri, M. R. Johnstone, P. L. Ross, R. E. McLaughlin, N. B. Olivier, R. A. Alm, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2014**, 58, 5704–5713.
- [177] S. D. Lahiri, S. Mangani, H. Jahić, M. Benvenuti, T. F. Durand-Reville, F. De Luca, D. E. Ehmann, G. M. Rossolini, R. A. Alm, J.-D. Docquier, *ACS Chem. Biol.* **2015**, 10, 591–600.

- [178] T. A. Blizzard, H. Chen, S. Kim, J. Wu, R. Bodner, C. Gude, J. Imbriglio, K. Young, Y.-W. Park, A. Ogawa, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 780–785.
- [179] R. Smoum, A. Rubinstein, V. M. Dembitsky, M. Srebnik, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 4156–4220.
- [180] P. A. Kiener, S. G. Waley, *Biochem. J.* **1978**, *169*, 197–204.
- [181] S. J. Hecker, K. R. Reddy, M. Totrov, G. C. Hirst, O. Lomovskaya, D. C. Griffith, P. King, R. Tsivkovski, D. Sun, M. Sabet, et al., *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 3682–3692.
- [182] S. Ness, R. Martin, A. M. Kindler, M. Paetzel, M. Gold, S. E. Jensen, J. B. Jones, N. C. J. Strynadka, *Biochemistry* **2000**, *39*, 5312–5321.
- [183] D. M. Livermore, S. Mushtaq, *J. Antimicrob. Chemother.* **2013**, *68*, 1825–1831.
- [184] D. C. McKinney, F. Zhou, C. J. Eyermann, A. D. Ferguson, D. B. Prince, J. Breen, R. A. Giacobbe, S. Lahiri, J. C. Verheijen, *ACS Infect. Dis.* **2015**, *1*, 310–316.
- [185] „Boron-Containing Small Molecules“: Y. Xia, M. Alley, Y. Zhou, V. Hernandez, J. Plattner, C. Ding, K. Cao, Y.-K. Zhang, T. Akama, J. Sligar, et al., WO2009140309 (A2), **2009**.
- [186] Y. Xia, K. Cao, Y. Zhou, M. R. K. Alley, F. Rock, M. Mohan, M. Meewan, S. J. Baker, S. Lux, C. Z. Ding, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 2533–2536.
- [187] F. Spitz, E. E. M. Furlong, *Nat. Rev. Genet.* **2012**, *13*, 613–626.
- [188] L. Supekova, J. P. Pezacki, A. I. Su, C. J. Loweth, R. Riedl, B. Geierstanger, P. G. Schultz, D. E. Wemmer, *Chem. Biol.* **2002**, *9*, 821–827.
- [189] J. M. Gottesfeld, L. Neely, J. W. Trauger, E. E. Baird, P. B. Dervan, *Nature* **1997**, *387*, 202–205.
- [190] „Transcription Factor Decoys for the Treatment and Prevention of Infections Caused by Bacteria Including Clostridium Difficile“: M. McArthur, US2014274800 (A1), **2014**.
- [191] N. Willand, B. Dirié, X. Carette, P. Bifani, A. Singhal, M. Desroses, F. Leroux, E. Willery, V. Mathys, R. Déprez-Poulain, et al., *Nat. Med.* **2009**, *15*, 537–544.
- [192] „Composition for Treatment of Pathogens That Are Resistant to Tetracyclines“: P. Schneider, R. Riedl, M. Tigges, M. Gitzinger, M. Pieren, A. Levi, M. Sephton, B. Schellhorn, P. Zueger, M. Brand, et al., WO2014118361 (A1), **2014**.
- [193] J. Engohang-Ndong, D. Baillat, M. Aumercier, F. Bellefontaine, G. S. Besra, C. Locht, A. R. Baulard, *Mol. Microbiol.* **2004**, *51*, 175–188.
- [194] F. Frénois, A. R. Baulard, V. Villeret, *Tuberculosis* **2006**, *86*, 110–114.
- [195] F. Frénois, J. Engohang-Ndong, C. Locht, A. R. Baulard, V. Villeret, *Mol. Cell* **2004**, *16*, 301–307.
- [196] L. G. Dover, P. E. Corsino, I. R. Daniels, S. L. Cocklin, V. Tatturi, G. S. Besra, K. Fütterer, *J. Mol. Biol.* **2004**, *340*, 1095–1105.
- [197] M. Flipo, M. Desroses, N. Lecat-Guillet, B. Dirié, X. Carette, F. Leroux, C. Piveteau, F. Demirkaya, Z. Lens, P. Rucktooa, et al., *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 2994–3010.
- [198] M. Pieren, M. Tigges, *Curr. Opin. Pharmacol.* **2012**, *12*, 551–555.
- [199] M. Thaker, P. Spanogiannopoulos, G. D. Wright, *Cell. Mol. Life Sci.* **2009**, *67*, 419–431.
- [200] C. Kisker, W. Hinrichs, K. Tovar, W. Hillen, W. Saenger, *J. Mol. Biol.* **1995**, *247*, 260–280.
- [201] J. L. Ramos, M. Martínez-Bueno, A. J. Molina-Henares, W. Terán, K. Watanabe, X. Zhang, M. T. Gallegos, R. Brennan, R. Tobes, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2005**, *69*, 326–356.
- [202] W. Hinrichs, C. Kisker, M. Düvel, A. Müller, K. Tovar, W. Hillen, W. Saenger, *Science* **1994**, *264*, 418–420.
- [203] L. L. Ling, T. Schneider, A. J. Peoples, A. L. Spoering, I. Engels, B. P. Conlon, A. Mueller, T. F. Schärerle, D. E. Hughes, S. Epstein, et al., *Nature* **2015**, *517*, 455–459.

Eingegangen am 23. Juni 2015

Online veröffentlicht am 22. März 2016