

University of Groningen

Aminoglycoside antibiotics: modification and novel applications in biomedicine

Yang, Xintong

DOI:
[10.33612/diss.254984489](https://doi.org/10.33612/diss.254984489)

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:
2022

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):
Yang, X. (2022). *Aminoglycoside antibiotics: modification and novel applications in biomedicine*. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.254984489>

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Samenvatting

Al honderdduizenden jaren lang, sinds het begin der beschaving, lijdt de mens aan verschillende ziekten, zoals bacteriële en virale infecties, schade aan organen, neurodegeneratieve ziekten enzovoort. De farmacologie heeft zich ontwikkeld om het lijden van patiënten te verlichten en de door ziekten veroorzaakte schade te verlichten. De afgelopen decennia zijn enorme inspanningen geleverd in de ontwikkeling van antibiotica om de bedreiging door ziekteverwekkende bacteriën aan te pakken. Wetenschappers hebben een breed scala aan antibiotica ontwikkeld, met verschillende soorten chemische structuren, verschillende werkingsgebieden en verschillende niveaus van effectiviteit en toxiciteit. In **Hoofdstuk 1** bespreken wij de geschiedenis van antibiotica, hoe zij werden ontdekt en hoe zij in de schijnwerpers kwamen te staan en in de klinische praktijk werden gebruikt. Wij hebben ook de soorten, structuren en werkingsmechanismen van aminoglycoside-antibiotica en hun toepassingen geïntroduceerd. De ontwikkeling van antibiotica is echter een grote uitdaging geweest. Er zijn tekortkomingen aan het licht gekomen, zoals de juiste diagnose van het vereiste type antibioticum, de manier waarop het antibioticum kan worden vrijgegeven op een manier die precies de doelplaats aanvalt en toxische bijwerkingen beperkt, enz. Om in deze behoeften te voorzien zijn diverse op antibiotica gebaseerde fluorescerende sondes en MRI-sondes uitgevonden, en zijn diverse door licht gereguleerde antibiotica ontworpen. Bovendien, gezien antibiotica worden onderzocht voor andere dan antibacteriële doeleinden, zoals bijvoorbeeld antivirale toepassingen, worden meer geneesmiddelen op basis van antibiotica onderzocht voor de behandeling van ziekten.

In **Hoofdstukken 2 en 3** hebben wij een amfifiel (**DA1**) ontworpen op basis van aminoglycoside antibiotica, door het paromomycinegedeelte te modificeren met een lipideketen en negatief geladen carboxylgroepen. Met succes hebben wij de werking ervan aangetoond bij het omlaag brengen van het $A\beta$ -niveau in AD-cellen en het potentieel ervan als AD-geneesmiddel voor de behandeling van deze neurodegeneratieve ziekte.

In **Hoofdstuk 2** hebben we eerst het proces van $A\beta$ -eiwitvorming en de mogelijke

pathogenese van het A β -eiwit dat leidt tot de ziekte van Alzheimer toegelicht. Het anionische amfifiel gebaseerd op een aminoglycoside werd gesynthetiseerd en getest met LDH-tests om te bevestigen dat het niet toxisch is voor cellen zodat het veilig als geneesmiddel ingezet kan worden. Ook gaf de beschreven MIC-waarde aan dat de antibacteriële activiteit wordt geblokkeerd en dat toediening dus niet zou leiden tot antibioticaresistentie. Om de activiteit bij het omlaag brengen van het A β -niveau te onderzoeken, werden bovendien verschillende soorten A β -peptiden onderzocht met verschillende doseringen van het amfifiel. Met behulp van MesoScale A β -analyse werd geconstateerd dat elk type A β -peptide met een geringe concentratie aan **DA1** werd verminderd. Vervolgens bleek uit western blot experimenten dat het amfifiel door het verlagen van het A β -niveau tegelijkertijd het niveau van CTF β verhoogde en het niveau van CTF α verlaagde. De niveaus van de volgroeide APP, sAPP α en sAPP β eiwitten werden tijdens dit proces niet beïnvloed. Wij concluderen voorzichtig dat de aggregatie van A β -monomeren werd geremd door ons amfifiel.

Om te onderzoeken of andere amfifiele derivaten van aminoglycosiden hetzelfde vermogen hebben om A β te remmen, hebben wij in **Hoofdstuk 3** een homologe reeks van het anionische aminoglycosiden gesynthetiseerd. Daarom synthetiseerden wij met succes derivaten met verschillende alkylketenlengtes en posities van invoering van deze ketens. Met behulp van dot blotting assay hebben wij vastgesteld dat verschillende lengtes van lipideketens en verschillende modificatieplaatsen de bindingsaffiniteit van A β peptiden aan het amfifiel beïnvloeden. In het vorige hoofdstuk stelden wij dat het amfifiel de A β monomeer aggregatie beïnvloedt. Hier hebben wij CD-spectrale analyse en ThT-fluorescentietests uitgevoerd. De experimentele resultaten bevestigden onze hypothese: een matige concentratie amfifiel, die het A β -niveau duidelijk omlaag bracht, verminderde inderdaad aanzienlijk de aggregatie van A β -peptiden. Tenslotte toonde een *in vivo* nestvormingsexperiment aan dat het amfifiel de cognitieve toestand van zieke AD-muizen verbeterde, waarmee werd aangetoond dat het amfifiel gunstig kan zijn voor de ontwikkeling van een veilig geneesmiddel voor de behandeling van de ziekte van Alzheimer.

Om een gemakkelijke en veelzijdige strategie te ontwikkelen waarmee men eenvoudig licht kan gebruiken om de afgifte van antibiotica of andere functionele stoffen aan intracellulaire doelen te controleren, hebben wij in **Hoofdstuk 4** met

licht schakelbare aminoglycoside-antibioticum diaryletheen-conjugaten gesynthetiseerd. Wij veronderstelden dat deze lichtschakelbare antibiotica-conjugaten vanwege hun negatieve lading in hun natuurlijke open-looptoestand geblokkeerd zouden kunnen worden om het celmembraan te passeren, en na schakeling naar een neutrale gesloten-looptoestand door middel van excitatie door UV-licht vervolgens met succes de cel zouden kunnen binnendringen. Wij onderzochten eerst een conjugaat op basis van paromomycine. In tegenstelling tot onze verwachtingen bleek bij het cultiveren en observeren van bacteriën onder CLSM dat het op paromomycine gebaseerde conjugaat geen verschil vertoonde in de permeabiliteit van het celmembraan voor en na UV-excitatie. In beide situaties werden de onderzochte bacteriën gekleurd met het conjugaat. Met behulp van een MIC-test bleek ook de antibacteriële activiteit voor en na UV-excitatie gelijk te zijn. Ook het 3-azido gemodificeerde conjugaat op basis van paromomycine werd onderzocht, voor en na UV-excitatie. Ook hier constateerden wij dezelfde kleuring, zowel voor Gram-positieve als voor Gram-negatieve bacteriën. Het is teleurstellend dat het door ons geïntroduceerde fotoschakelbare diaryletheen molecuul niet kon functioneren als een systeem om de penetratie van het celmembraan te regelen. Het 3-azido gewijzigde paromomycineconjugaat in open vorm vertoonde echter een verbeterde antibacteriële activiteit tegen Gram-negatieve bacteriën in vergelijking met zowel de dichte vorm en het aminoglycosidederivaat ervan. Deze ontdekking biedt mogelijkheden voor de ontwikkeling van een nieuwe benadering van de fotofarmacologie.

Als laatste ontwikkelden wij in **Hoofdstuk 5**, om de uitdaging van de juiste diagnose van bacteriële infecties aan te gaan, een op Gd gebaseerde Gram-negatieve bacteriespecifieke targeting MRI-contraststof, die werd gesynthetiseerd door middel van conjugatie van DOTA met neomycine B gemodificeerd op de 3-positie. Uit *in-vitro* MR-beeldvormingsexperimenten bleek dat de nieuwe probe zich selectief kan richten op de Gram-negatieve *E. coli* zonder sterk te reageren op de Gram-positieve *S. carnosus*. Verdere validatie met een breder scala van Gram-negatieve en positieve bacteriën is echter vereist. Bovendien moet de werking van de sonde ook nog *in vivo* worden aangetoond. De beschikbare resultaten suggereren dat de verdere ontwikkeling van dit type probe veelbelovend is om in de toekomst Gram-negatieve van Gram-positieve infecties bij patiënten te onderscheiden.

