

Metallo- β -lactamasen: ein neuer Inhibitionsansatz**

James Spencer* und Timothy R. Walsh*

Stichwörter:

Antibiotika · Bioorganische Chemie · Inhibitoren ·

Lactame · Metalloenzyme

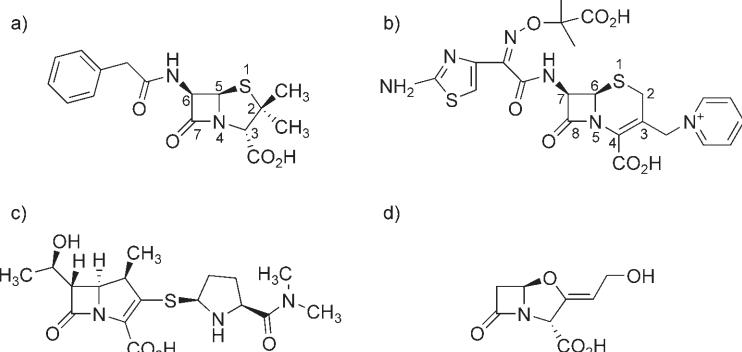
Vor über 60 Jahren wurden erstmalig β -Lactame am Patienten eingesetzt und vor mehr als 20 Jahren gingen Carabapeneme in die klinische Praxis ein (Schema 1). Der therapeutische Nutzen von β -Lactamen ist immer noch außergewöhnlich – Untersuchungen zufolge machen sie etwa die Hälfte aller verschriebenen Antibiotika aus.^[1] Angesichts dieses mächtigen Selektionsdrucks erstaunt es nicht, dass ständig Resistenzmechanismen aufkommen

und sich unter den pathogenen Bakterien verbreiten. Zwar können β -Lactam-Resistenzen durch eine Reihe verschiedener Mechanismen verursacht werden, zum Beispiel durch Modifikation der Zielproteine (Penicillin bindende Proteine), verringerte Permeabilität oder den Efflux des Antibiotikums. Hauptverursacher für die Desaktivierungs- und Resistenzmechanismen sind aber β -Lactamasen.^[2] Derzeit sind anähernd 500 β -Lactamase-Enzyme be-

Klassen, und viele pathogene Bakterien entwickeln immer wieder Enzyme mit Inhibitorresistenzen.

Bei den meisten β -Lactamasen greift ein aktiverter Serinrest nucleophil das Carbonyl-Kohlenstoffatom der zu spaltenden Amidbindung des β -Lactams an. Aber noch eine weitere, mit den β -Lactamasen nicht verwandte Klasse von Zink-Metallocenzymeren stellt die Effektivität von β -Lactamen in Frage. Metallo- β -lactamasen (m β ls) sind bekannt für ihr breites Aktivitätsspektrum – sie hydrolysern nicht nur Penicilline, Cephalosporine und Carabapeneme, sondern auch Serin- β -lactamase-Inhibitoren wie die Clavulansäure.^[3] Metallo- β -lactamasen stellen eine explizite Bedrohung dar, da sie in panresistenten Gram-negativen Bakterien wie *Pseudomonas aeruginosa* und *Acinetobacter* spp. vorkommen. Diese Bakterienstämme sind gegen die meisten, wenn nicht gegen alle übrigen Antibiotikaklassen resistent und werden vornehmlich mit Carabapenemen bekämpft.^[4] Über 20 m β l-Typen sind bekannt, und 4 m β l-Gene (*bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{SPM-1} und *bla*_{GIM-1}) wurden bereits auf Genselementen wie Plasmiden, Transposons und Integrons mobilisiert, sodass sie sich leicht über geographische und Speziesgrenzen hinweg verbreiten können.^[5]

Im aktiven Zentrum der m β ls befindet sich ein zweikerniger Zinkkomplex mit einem tetraedrisch (Zn1) und einem trigonal bipyramidal koordinierten Zinkion (Zn2). Der Abstand zwischen den Zinkionen beträgt 3.6 Å; sie sind durch eine μ -Hydroxo-Gruppe verbrückt (Schema 2, Abbildung 1). Auch wenn es Ausnahmen gibt – die spezifischen Carabapenemasen von *Aeromonas* spp. enthalten nur ein Zn²⁺-Äquivalent, das Enzym BcII von *Bacillus cereus* ist als Mono- oder Dizinkform



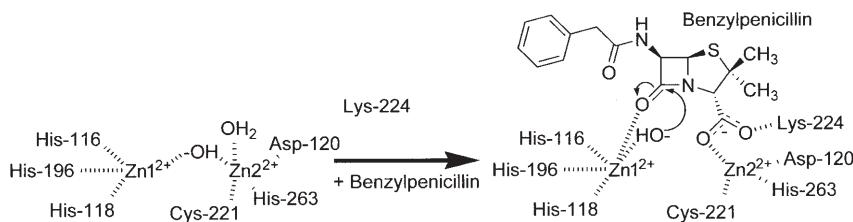
Schema 1. Beispiele für β -Lactam-Substrate von Metallo- β -lactamasen: a) Benzylpenicillin (Penicillin); b) Ceftazidim (Cephalosporin); c) Meropenem (Carabapenem); d) Clavulansäure (Clavam; Serin- β -lactamase-Inhibitor).

[*] Dr. J. Spencer, Dr. T. R. Walsh
Department of Cellular and Molecular Medicine
School of Medical Sciences
University of Bristol
University Walk
Bristol BS8 1TD (Großbritannien)
Fax: (+44) 117-928-7896
E-mail: jim.spencer@bristol.ac.uk
t.r.walsh@bristol.ac.uk

[**] Wir danken Richard Sessions, Jackie Martin, Andrea Hadfield und Dek Woolfson für die sorgfältige Durchsicht des Manuskripts. J.S. bedankt sich bei den Beit Memorial Fellowships for Medical Research und beim U.K. Biotechnology and Biological Sciences Research Council für finanzielle Unterstützung.

kannt.^[*] Die klinische Chemie hat gegenüber β -Lactamasen und ihren Auswirkungen bereits einige Erfolge verzeichnen können: Viele β -Lactamasen produzierende Bakterien können durch Kombinationstherapien erfolgreich bekämpft werden, zum Beispiel mit Augmentin. Diese Medikamente bestehen aus Penicillinen, die durch β -Lactamasen desaktiviert werden, und β -Lactamase-Inhibitoren wie Clavulansäure, Sulbactam oder Tazobactam (Schema 1). Allerdings erreichte bisher kein Inhibitor effektiv alle β -Lactamase-

[*] <http://www.lahey.org/studies>.



Schema 2. Die β -Lactam-Bindung durch Metallo- β -lactamasen. Bei der Bindung von Benzylpenicillin durch IMP-1 koordiniert vermutlich die Amidfunktion des β -Lactams an Zn1, die C3-Carboxylatgruppe bindet an Lys 224 und Zn2. Das Substrat ist so ausgerichtet, dass ein nucleophiler Angriff der (vorher μ -verbrückenden) OH-Funktion am Carbonylkohlenstoffatom erfolgen kann. Koordinative Bindungen sind durch gestrichelte Linien dargestellt. Die Standard-BBL-Nummerierung^[34] gilt im gesamten Highlight.

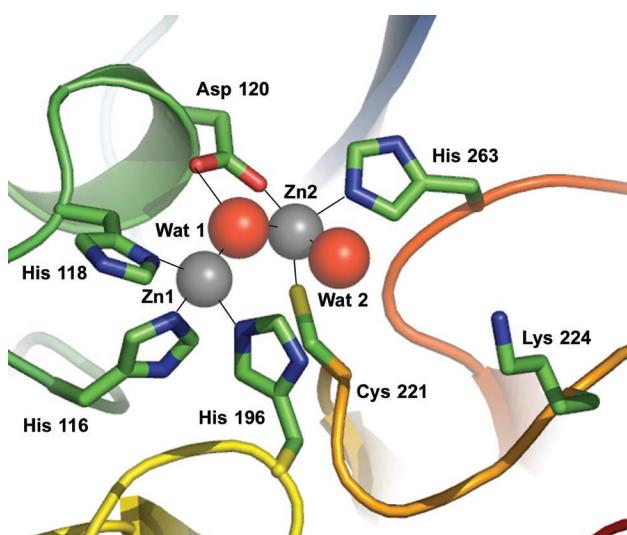


Abbildung 1. Das zweikernige aktive Zentrum von Metallo- β -lactamasen: Dargestellt ist das aktive Zentrum des CcrA-Enzyms^[35] (die Auflösung der Strukturanalyse von freiem IMP-1^[8] ist zu gering, um die μ -OH-Brücke zu lokalisieren). Zinkionen sind als graue, Wassermoleküle als rote Kugeln dargestellt. Die μ -verbrückende OH-Funktion ist mit Wat1, das Zn2-gebundene „apicale“ Wassermoleköl mit Wat2 bezeichnet. Dünne Linien stehen für koordinative Bindungen und Wasserstoffbrücken.

aktiv, und es ist nach wie vor umstritten, welche Form in vivo vorliegt – müssen für die maximale Aktivität in den meisten Fällen beide Zn²⁺-Positionen besetzt sein.^[6] Diese Anordnung ist in biologischen Systemen üblich: Viele hydrolytische Enzyme enthalten ebenfalls zweikernige Metallzentren. Entsprechend werden die mβls einer großen Enzymfamilie zugerechnet, die vielfältige Hydrolyse- und andere Funktionen ausübt.^[7] Dank dieser besonderen Struktur können mβls sehr unterschiedlich substituierte β -Lactame hydrolysieren. Das Metallzentrum dient dabei nicht nur zur Katalyse, sondern es erkennt auch bestimmte funktionelle Gruppen am Substrat. Vieles deutet darauf hin, dass Zn1 und Zn2 jeweils

spezifisch die Amid- bzw. die C3/C4-Einheit des β -Lactam-Skeletts binden.^[8,9] Die große Bedeutung des Metallzentrums für die Substratbindung zeigt sich daran, dass das Apoenzym der mβls anders als das BcII-Apoenzym von *B. cereus* kein β -Lactam zu binden vermag, obwohl es strukturell seinem Holoprotein stark ähnelt.^[10] Ein analoges Verhalten wird bei anderen Metalloenzymen nicht beobachtet.^[11] Bei den mβls ermöglicht die Proteinumgebung des aktiven Zentrums (eine offene, flache Furche) produktive hydrophobe und/oder Wasserstoffbrücken-Wechselwirkungen mit den Substituenten an C6/C7 und C2/C3 des Substrats. Dies verdeutlichen die verschiedenen Konformationen, in denen die Trp64 enthal-

tende Schleife in unterschiedlichen IMP-1-Inhibitorkomplexen vorliegen kann (Abbildung 2). Diese Wechselwirkungen scheinen allerdings für die Substratbindung nur zweitrangige Bedeutung zu haben, denn sie variieren zwischen einzelnen Enzymen erheblich.^[12] Die Hemmung von mβls stellt somit eine besonders schwierige Aufgabe dar, denn das Metallzentrum ähnelt demjenigen vieler anderer Enzymsysteme, und es existieren in diesen Proteinen keine Taschen mit konservierter Spezifität, die das Design von Wirkstoffen erleichtern würden.

Auf der Suche nach effektiven mβl-Inhibitoren wurden chemisch so verschiedenartige Verbindungen wie Biphenyltetrazole, β -Lactame, Trifluormethylketone, Bernsteinsäure-Derivate sowie eine Reihe von Thiolen untersucht (siehe die Übersichten in Lit. [5,13]). Schon in den wenigen vorliegenden Strukturinformationen zeigen sich Gemeinsamkeiten bei den Wechselwirkungen der unterschiedlichen Reagentien mit den Zielenzymen. Erstens können die Schwefelatome von Thiolreagentien wie α -Captopril oder Thiomandelsäure oder die Carboxy-Sauerstoffatome von Dibernsteinsäure-Inhibitoren die μ -Hydroxo-Brücke am Metallzentrum ersetzen. Nach allgemeinem Verständnis fungiert bei der Hydrolyse dieses Metallzentrum als Nucleophil.^[14,15] Interessanterweise deuten aber ESR-spektroskopische Untersuchungen zur Wechselwirkung zwischen Co²⁺-substituiertem L1-Enzym von *Stenotrophomonas maltophilia* mit β -Lactamen an, dass verbrückte Spezies gar nicht an der Bildung von produktiven Enzym-Substrat-Komplexen beteiligt sind.^[16] Zweitens kommt es zwischen dem N_e-Stickstoffatom von Lys 224, einem Rest, der Mutagenese- und Strukturdaten zufolge Wasserstoffbrücken zur invarianten C3/C4-Carboxylatgruppe des β -Lactam-Substrats ausrichtet und somit zur Bindung und Orientierung des Substrats beiträgt (Schema 2),^[17,18] und den Carboxylat- oder Tetrazolsubstituenten des Inhibitors zu ähnlichen Kontaktten (Abbildung 2).

Kurosaki et al. nutzten nun diese gemeinsame Substrat- und Inhibitorbindung von mβls, um eine neue Klasse von irreversiblen Inhibitoren mit Thiolfunktion zu entwickeln.^[19] Die irrever-

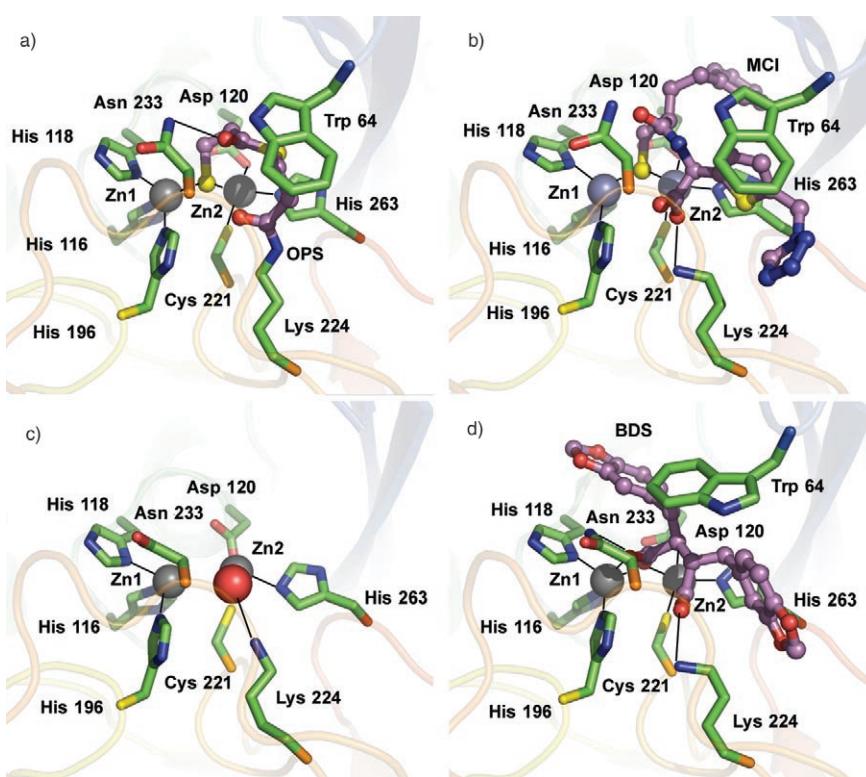


Abbildung 2. Die Kristallstruktur von Komplexen der Metallo- β -lactamase IMP-1 mit verschiedenen Inhibitoren: a) 3-(3-Mercaptopropionylsulfanyl)propionsäure (OPS; pdb-Zugang 1vgn^[19]); b) 2-[5-(1-Tetrazolylmethyl)thien-3-yl]-N-[2-(mercaptopropionyl)-4-(phenylbutyryl)glycin] (MCI; pdb 1ddk^[8]); c) nichtkomplexiertes Protein (pdb 1ddg^[8]); d) 2,3-Bis-benzo[1,3]dioxol-5-ylmethylbersteinsäure (BDS; pdb 1jjt^[15]). Die Richtung der Proteininhauptkette ist durch Farbschattierung vom N- zum C-Terminus angegeben; Sekundärstrukturelemente sind im Hintergrund angedeutet. Die Farben der Seitenketten- und Inhibitoratome entsprechen dem Standard, mit Ausnahme der Inhibitor-Kohlenstoffatome (magenta). Zinkatome sind als graue, Wassermoleküle als rote Kugeln dargestellt. Dünne Linien geben koordinative Bindungen und Wasserstoffbrücken wieder.

sible Hemmung von m β ls durch Thiole ist keine neue Beobachtung – es wurde schon gezeigt, dass Mercaptoessigsäurethiolester eine Disulfidbrücke mit dem an Zn2 bindenden Cys221 von BcII bildet. Eine analoge Disulfidbildung wurde für Thiolfunktionen postuliert, die bei der Öffnung des Dihydrothiazinrings von Cephalosporin nach Spaltung der β -Lactam-Amidbindung frei werden.^[20,21] Lippard und Mitarbeiter zeigten, dass Diaryldisulfide durch einen Thiol-Disulfid-Austausch in ähnlicher Weise kovalent an das CcrA-Enzym von *Bacteroides fragilis* binden.^[22] Der Unterschied der neuen Strategie zu diesen Beispielen besteht darin, dass eine Thiolfunktion, die mit dem zweikernigen Zinkzentrum einen stabilen μ -verbrückten Komplex bildet, mit einer Esterfunktion kombiniert wird, die gerade ausreichend aktiviert ist, um an den substratbindenden Rest Lys224 zu bin-

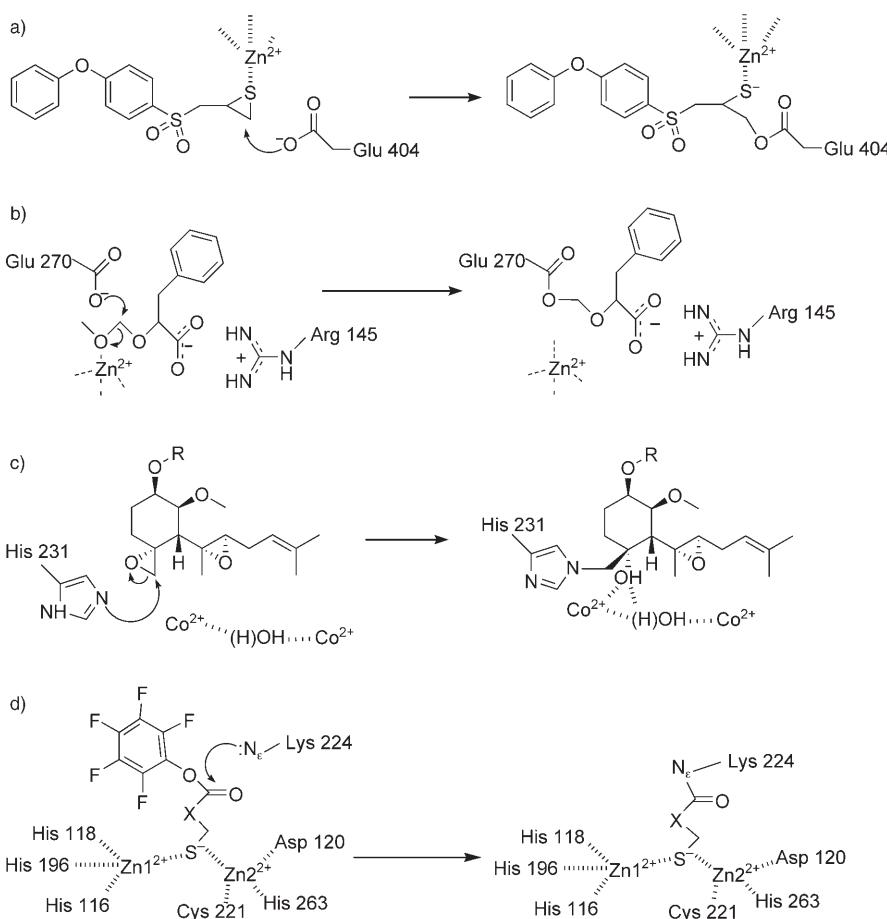
den. Kurosaki et al. wiesen für die Pentafluorphenylester von 3-Mercapto- und 3-(3-Mercaptopropionylsulfanyl)propionsäure Hemmkinetiken nach, die auf einen Mechanismus mit reversibler Anlagerung und anschließender irreversibler Inaktivierung unter Abspaltung von Pentafluorphenolat schließen lassen (Schema 3). Massenspektrometrische Analysen und Kristallstrukturdaten sprechen für den gewünschten Bindungsmodus im Enzymkomplex (Abbildung 2).

Zwar wurde schon über irreversible Hemmstoffe für verschiedene Zn²⁺-Metalloenzyme berichtet, der von Kurosaki et al. vorgeschlagene Hemm-Mechanismus unterscheidet sich von den anderen jedoch in einem wichtigen Aspekt. Bei der Inaktivierung der Carboxypeptidase A (CPA) durch Epoxide, Acetale oder Oxazolidinone,^[23,24] der Inaktivierung von Matrixmetallo-

proteasen (MMPs) durch Thiirane^[25] oder der Inhibition des zweikernigen Cobaltenzyms Methionin-Aminopeptidase (MetAP) durch den Angiogenese-Hemmstoff Fumagillin^[26,27] wird zunächst eine Vorstufe durch das Metallzentrum aktiviert. Diese Aktivierung erleichtert die folgende kovalente Anlagerung an einen nucleophilen Rest des Proteins, z.B. Glu270 (CPA), Glu404 (MMP-2) oder His231 (MetAP; Schema 3). Im weiteren Verlauf werden Aminosäurereste modifiziert, die entscheidend zur Katalyse beitragen.

Bei m β ls erfolgen dagegen sowohl die Substratbindung als auch die Katalyse vorrangig durch die Zinkatome, und die wichtigen Aminosäuren (mit der möglichen Ausnahme von Asp120^[28]) wirken eher als Liganden an den Zinkatomen und nehmen selbst nicht am Reaktionsmechanismus teil. Zwar führt die Modifikation von Lys224 auch bei m β ls zu einer irreversiblen Inaktivierung, aber da dieser Rest durch seine unmittelbare Proteinumgebung nicht merklich aktiviert wird, gelingt sie erst mit einem reaktiveren Reagens; wahrscheinlich dient auch Lys224 mehr der molekularen Erkennung als der Katalyse. Zwar könnte man diese neuen Reagenzien auch als Affinitätsmarkierungen einstufen und nicht als Inhibitoren mit mechanistischer Grundlage,^[29] die Wirksamkeit ihrer m β l-Inhibitormethode steht jedoch außer Frage. Nun können Verbindungen entwickelt werden, die ähnlich aktiv sind wie die besten handelsüblichen reversiblen Inhibitoren.

Dennoch sind auf dem Weg zu klinisch effektiven m β l-Inhibitoren noch einige Hindernisse zu überwinden. Früheren Studien zufolge kann die Wirksamkeit einer bestimmten Verbindung selbst gegenüber ganz eng verwandten Zielproteinen schon um mehrere Größenordnungen variiieren, wie es eher für eine uneinheitliche Enzymgruppe mit geringer Sequenzähnlichkeit zu erwarten wäre.^[20,30] Im Zuge der Ausbreitung der mobilisierten m β ls haben sich multiple Varianten der *bla*_{IMP}- und *bla*_{VIM}-Genprodukte gebildet, die sich teilweise substanzlich in ihrer Reaktivität gegenüber verschiedenen Substratklassen unterscheiden.^[31,32] Die Wechselwirkung der Proteinseitenketten mit der C3/C4-Carboxygruppe des β -Lac-



Schema 3. Irreversible Inhibitoren von Metalloenzyme: a) Hemmung der Gelatinase (MMP-2) durch 2-(4-Phenoxyphenylsulfonylmethyl)thiiran.^[25] b) Hemmung der Carboxypeptidase A durch 2-Benzyl-3,5-dioxahexansäure.^[24] c) Hemmung der Methionin-Aminopeptidase durch Fumagillin.^[27] d) Hemmung der Metallo-β-lactamase IMP-1 durch die Pentafluorphenylester von 3-Mercapto- und 3-(3-Mercaptopropionylsulfanyl)-propionsäure (X=COSCH₂CH₂).^[19]

tams ist höchstwahrscheinlich innerhalb der gesamten mβl-Familie konserviert, sie wird aber auf unterschiedliche Art und Weise erreicht: An der Stelle von Lys224 können auch Tyr-, His-, Arg- oder Ser-Reste vorliegen.^[8,9,18,32]

Die extrem weite Verbreitung von zweikernigen Metallzentren sowie die Notwendigkeit eines Pentafluorphenylesters, um die erforderliche Reaktivität des Inhibitors zu gewährleisten, werfen Fragen hinsichtlich der Spezifität auf: Derartig aktivierte Verbindungen mit so vielen möglichen Zielsubstanzen eignen sich in ihrer derzeitigen Form kaum für den klinischen Einsatz *in vivo*. Dennoch könnte man die Selektivität steigern, indem man die Wechselwirkungen des Metallions Zn2 in mβl mit der Substrat-Carboxylatgruppe besser imitiert. Durch diese spezifischen Kontakte zum Zn²⁺-Ion könnten auch weniger reaktive

Inhibitoren aktiviert werden. Panresistente Gram-negative opportunistische Pathogene wie das Bakterium *P. aeruginosa*, das gegen sämtliche therapeutischen Wirkstoffe einschließlich β-Lactamen resistent ist, verwenden häufig Mehrfachmechanismen wie die Expressionsmodifizierung von Porinen und Effluxpumpen, um Antibiotika von ihrer Zielstruktur fernzuhalten. Da auch solche undurchlässigen Organismen geknackt werden müssen, steigen die Anforderungen an die chemischen Eigenschaften neuer Wirkstoffe ständig.

Es sieht so aus, als ob die Metallo-β-lactamasen in den kommenden Jahren erheblich an klinischer Bedeutung gewinnen werden. Zwar stehen einige neue Antibiotikaklassen schon jetzt oder in naher Zukunft zur Verfügung, aber keine von ihnen wirkt effektiv gegen sämtliche Gram-negativen Wirt-

spezies für mβls.^[33] Entsprechend sind β-Lactame auch weiterhin bei der Bekämpfung dieser Organismen unersetzblich. Auf der Suche nach effektiven mβl-Inhibitoren ist daher der neue Weg von Kurokaki et al. ausgesprochen willkommen.

Online veröffentlicht am 11. Januar 2006

- [1] S. Molstad, C. S. Lundborg, A. K. Karlsson, O. Cars, *Scand. J. Infect. Dis.* **2002**, 34, 366.
- [2] K. Poole, *Cell. Mol. Life Sci.* **2004**, 61, 2200; J. F. Fisher, S. O. Meroueh, S. Mabashery, *Chem. Rev.* **2005**, 105, 395; G. A. Jacoby, L. S. Munoz-Price, *N. Engl. J. Med.* **2005**, 352, 380.
- [3] A. Felici, G. Amicosante, A. Oratore, R. Strom, P. Ledent, B. Joris, L. Fanuel, J. M. Frere, *Biochem. J.* **1993**, 291, 151; C. Prosperi-Meys, G. Llabres, D. de Seny, R. P. Soto, M. H. Valladares, N. Laraki, J. M. Frere, M. Galleni, *FEBS Lett.* **1999**, 443, 109.
- [4] D. M. Livermore, *Ann. Med.* **2003**, 35, 226.
- [5] T. R. Walsh, M. A. Toleman, L. Poirel, P. Nordmann, *Clin. Microbiol. Rev.* **2005**, 18, 306.
- [6] M. Hernandez Valladares, A. Felici, G. Weber, H. W. Adolph, M. Zeppezauer, G. M. Rossolini, G. Amicosante, J. M. Frere, M. Galleni, *Biochemistry* **1997**, 36, 11534; R. M. Rasia, A. J. Vila, *Biochemistry* **2002**, 41, 1853; S. Wommer, S. Rival, U. Heinz, M. Galleni, J. M. Frere, N. Franceschini, G. Amicosante, B. Rasmussen, R. Bauer, H. W. Adolph, *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 24142.
- [7] H. Daiyku, K. Osaka, Y. Ishino, H. Toh, *FEBS Lett.* **2001**, 503, 1; D. S. Auld, *Biomaterials* **2001**, 14, 271.
- [8] N. O. Concha, C. A. Janson, P. Rowling, S. Pearson, C. A. Cheever, B. P. Clarke, C. Lewis, M. Galleni, J. M. Frere, D. J. Payne, J. H. Bateson, S. S. Abdel-Meguid, *Biochemistry* **2000**, 39, 4288.
- [9] J. Spencer, J. Read, R. B. Sessions, S. Howell, G. M. Blackburn, S. J. Gamblin, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 14439.
- [10] A. Carfi, E. Duee, M. Galleni, J. M. Frere, O. Dideberg, *Acta Crystallogr. Sect. D* **1998**, 54(Pt3), 313; R. M. Rasia, A. J. Vila, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 26046.
- [11] B. F. Cooper, V. Sideraki, D. K. Wilson, D. Y. Dominguez, S. W. Clark, F. A. Quiroga, F. B. Rudolph, *Protein Sci.* **1997**, 6, 1031; J. G. Krum, H. Ellsworth, R. R. Sargeant, G. Rich, S. A. Ensign, *Biochemistry* **2002**, 41, 5005; D. S. Auld, B. Holmquist, *Biochemistry* **1974**, 13, 4355.

- [12] C. Moali, C. Anne, J. Lamotte-Brasseur, S. Groslambert, B. Devreese, J. Van Beeumen, M. Galleni, J. M. Frere, *Chem. Biol.* **2003**, *10*, 319; J. J. Huntley, W. Fast, S. J. Benkovic, P. E. Wright, H. J. Dyson, *Protein Sci.* **2003**, *12*, 1368; J. D. Garrity, J. M. Pauff, M. W. Crowder, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 39663.
- [13] J. H. Toney, J. G. Moloughney, *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2004**, *5*, 823.
- [14] I. Garcia-Saez, J. Hopkins, C. Papamicael, N. Franceschini, G. Amicosante, G. M. Rossolini, M. Galleni, J. M. Frere, O. Dideberg, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 23868; C. Damblon, M. Jensen, A. Ababou, I. Barsukov, C. Papamicael, C. J. Schofield, L. Olsen, R. Bauer, G. C. Roberts, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 29240.
- [15] J. H. Toney, G. G. Hammond, P. M. Fitzgerald, N. Sharma, J. M. Balkovec, G. P. Rouen, S. H. Olson, M. L. Hammond, M. L. Greenlee, Y. D. Gao, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 31913.
- [16] J. D. Garrity, B. Bennett, M. W. Crowder, *Biochemistry* **2005**, *44*, 1078.
- [17] M. P. Yanchak, R. A. Taylor, M. W. Crowder, *Biochemistry* **2000**, *39*, 11330; S. Haruta, E. T. Yamamoto, Y. Eriguchi, T. Sawai, *FEMS Microbiol. Lett.* **2001**, *197*, 85; I. C. Materon, Z. Beharry, W. Huang, C. Perez, T. Palzkill, *J. Mol. Biol.* **2004**, *344*, 653.
- [18] G. Garau, C. Bebrone, C. Anne, M. Galleni, J. M. Frere, O. Dideberg, *J. Mol. Biol.* **2005**, *345*, 785.
- [19] H. Kurosaki, Y. Yamaguchi, T. Higashi, K. Soga, S. Matsueda, H. Yumoto, S. Misumi, Y. Yamagata, Y. Arakawa, M. Goto, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 3929; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3861.
- [20] D. J. Payne, J. H. Bateson, B. C. Gasson, D. Proctor, T. Khushi, T. H. Farmer, D. A. Tolson, D. Bell, P. W. Skett, A. C. Marshall, R. Reid, L. Ghosez, Y. Combret, J. Marchand-Brynaert, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1997**, *41*, 135.
- [21] A. Badarau, A. Llinas, A. P. Laws, C. Damblon, M. I. Page, *Biochemistry* **2005**, *44*, 8578.
- [22] H. Boerzel, M. Koeckert, W. Bu, B. Spingler, S. J. Lippard, *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 1604.
- [23] M. Lee, D. H. Kim, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 913; S. J. Chung, S. Chung, H. S. Lee, E. J. Kim, K. S. Oh, H. S. Choi, K. S. Kim, Y. J. Kim, J. H. Hahn, D. H. Kim, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 6462.
- [24] M. S. Han, C. H. Ryu, S. J. Chung, D. H. Kim, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3149.
- [25] M. Ikekjiri, M. M. Bernardo, R. D. Bonfil, M. Toth, M. Chang, R. Fridman, S. Mobashery, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 33992.
- [26] S. Liu, J. Widom, C. W. Kemp, C. M. Crews, J. Clardy, *Science* **1998**, *282*, 1324; S. G. Bernier, D. D. Lazarus, E. Clark, B. Doyle, M. T. Labenski, C. D. Thompson, W. F. Westlin, G. Hannig, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 10768.
- [27] E. C. Griffith, Z. Su, S. Niwayama, C. A. Ramsay, Y. H. Chang, J. O. Liu, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 15183.
- [28] J. D. Garrity, A. L. Carenbauer, L. R. Herron, M. W. Crowder, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 920; Y. Yamaguchi, T. Kuroki, H. Yasuzawa, T. Higashi, W. Jin, A. Kawanami, Y. Yamagata, Y. Arakawa, M. Goto, H. Kurosaki, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 20824.
- [29] M. J. Mueller, M. Andberg, J. Z. Haeggstrom, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 11570.
- [30] M. L. Greenlee, J. B. Laub, J. M. Balkovec, M. L. Hammond, G. G. Hammond, D. L. Pompiano, J. H. Epstein-Toney, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 2549; G. G. Hammond, J. L. Huber, M. L. Greenlee, J. B. Laub, K. Young, L. L. Silver, J. M. Balkovec, K. D. Pryor, J. K. Wu, B. Leiting, D. L. Pompiano, J. H. Toney, *FEMS Microbiol. Lett.* **1999**, *179*, 289; D. J. Payne, J. H. Bateson, B. C. Gasson, T. Khushi, D. Proctor, S. C. Pearson, R. Reid, *FEMS Microbiol. Lett.* **1997**, *157*, 171.
- [31] S. Iyobe, H. Kusadokoro, J. Ozaki, N. Matsumura, S. Minami, S. Haruta, T. Sawai, K. O'Hara, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2000**, *44*, 2023; S. Iyobe, H. Kusadokoro, A. Takahashi, S. Yomoda, T. Okubo, A. Nakamura, K. O'Hara, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46*, 2014; P. Oelschlaeger, R. D. Schmid, J. Pleiss, *Biochemistry* **2003**, *42*, 8945.
- [32] J. D. Docquier, J. Lamotte-Brasseur, M. Galleni, G. Amicosante, J. M. Frere, G. M. Rossolini, *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, *51*, 257.
- [33] D. M. Livermore, *Clin. Microbiol. Infect.* **2004**, *10*(Suppl 4), 1.
- [34] M. Galleni, J. Lamotte-Brasseur, G. M. Rossolini, J. Spencer, O. Dideberg, J. M. Frere, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, *45*, 660.
- [35] N. O. Concha, B. A. Rasmussen, K. Bush, O. Herzberg, *Structure* **1996**, *4*, 823.