

# Metallo- $\beta$ -lactamasen: ein neuer Inhibitionsansatz\*\*

James Spencer\* und Timothy R. Walsh\*

## Stichwörter:

Antibiotika · Bioorganische Chemie · Inhibitoren · Lactame · Metalloenzyme

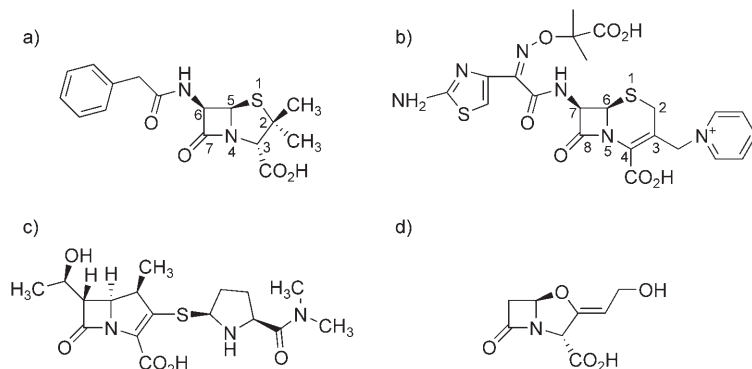
Vor über 60 Jahren wurden erstmalig  $\beta$ -Lactame am Patienten eingesetzt und vor mehr als 20 Jahren gingen Carba-peneme in die klinische Praxis ein (Schema 1). Der therapeutische Nutzen von  $\beta$ -Lactamen ist immer noch außerordentlich – Untersuchungen zufolge machen sie etwa die Hälfte aller verschriebenen Antibiotika aus.<sup>[1]</sup> Angesichts dieses mächtigen Selektions-drucks erstaunt es nicht, dass ständig Resistenzmechanismen aufkommen

und sich unter den pathogenen Bakte-rien verbreiten. Zwar können  $\beta$ -Lac-tam-Resistenzen durch eine Reihe ver-schiedener Mechanismen verursacht werden, zum Beispiel durch Modifika-tion der Zielproteine (Penicillin bin-dende Proteine), verringerte Permeabi-lität oder den Efflux des Antibiotikums. Hauptverursacher für die Desaktive-rungs- und Resistenzmechanismen sind aber  $\beta$ -Lactamasen.<sup>[2]</sup> Derzeit sind an-nähernd 500  $\beta$ -Lactamase-Enzyme be-

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

Bei den meisten  $\beta$ -Lactamasen greift ein aktivierter Serinrest nucleophil das Carbonyl-Kohlenstoffatom der zu spal-tenden Amidbindung des  $\beta$ -Lactams an. Aber noch eine weitere, mit den  $\beta$ -Lac-tamasen nicht verwandte Klasse von Zink-Metalloenzymen stellt die Effek-tivität von  $\beta$ -Lactamen infrage. Metallo- $\beta$ -lactamasen (m $\beta$ ls) sind bekannt für ihr breites Aktivitätsspektrum – sie hy-drolysieren nicht nur Penicilline, Ce-phalosporine und Carbapeneme, son-dern auch Serin- $\beta$ -lactamase-Inhibito-ren wie die Clavulansäure.<sup>[3]</sup> Metallo- $\beta$ -lactamasen stellen eine explizite Be-drohung dar, da sie in panresistenten Gram-negativen Bakterien wie *Pseu-domonas aeruginosa* und *Acinetobac-ter* spp. vorkommen. Diese Bakterien-stämme sind gegen die meisten, wenn nicht gegen alle übrigen Antibiotika-lassen resistent und werden vornehm-lich mit Carbapenemen bekämpft.<sup>[4]</sup> Über 20 m $\beta$ l-Typen sind bekannt, und 4 m $\beta$ l-Gene (*bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>SPM-1</sub> und *bla*<sub>GIM-1</sub>) wurden bereits auf Genele-menten wie Plasmiden, Transposons und Integrans mobilisiert, sodass sie sich leicht über geographische und Spezies-grenzen hinweg verbreiten können.<sup>[5]</sup>

Im aktiven Zentrum der m $\beta$ ls be-findet sich ein zweikerniger Zinkkom-plex mit einem tetraedrisch (Zn1) und einem trigonal bipyramidal koordinierten Zinkion (Zn2). Der Abstand zwi-schen den Zinkionen beträgt 3.6 Å; sie sind durch eine  $\mu$ -Hydroxo-Gruppe verbrückt (Schema 2, Abbildung 1). Auch wenn es Ausnahmen gibt – die spezifischen Carbapenemasen von *Ae-romonas* spp. enthalten nur ein Zn<sup>2+</sup>-Äquivalent, das Enzym BcII von *Bacil-lus cereus* ist als Mono- oder Dizinkform



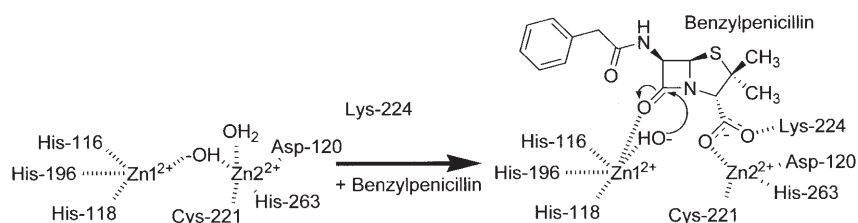
**Schema 1.** Beispiele für  $\beta$ -Lactam-Substrate von Metallo- $\beta$ -lactamasen: a) Benzylpenicillin (Penicillin); b) Cefotaxime (Cephalosporin); c) Meropenem (Carbapenem); d) Clavulansäure (Clavam; Serin- $\beta$ -lactamase-Inhibitor).

[\*] 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

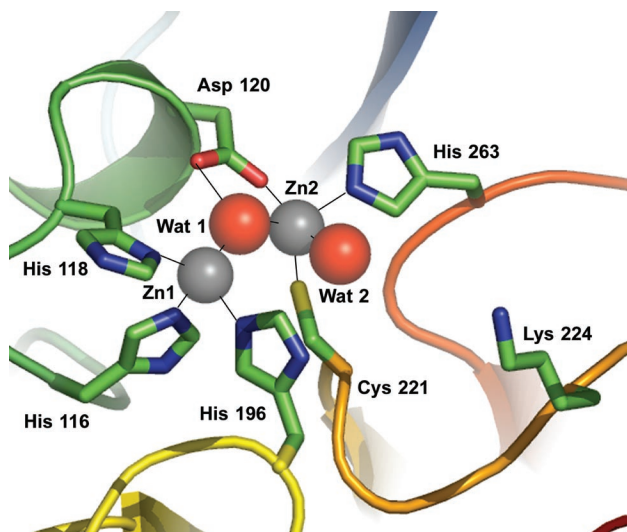
[\*\*] Wir danken Richard Sessions, Jackie Mar-tin, Andrea Hadfield und Dek Woolfson für die sorgfältige Durchsicht des Manu-skripts. J.S. bedankt sich bei den Beit Me-morial Fellowships for Medical Research und beim U.K. Biotechnology and Biolo-gical Sciences Research Council für finan-zielle Unterstützung.

kannt.<sup>[\*]</sup> Die klinische Chemie hat ge-genüber  $\beta$ -Lactamasen und ihren Aus-wirkungen bereits einige Erfolge ver-zeichnen können: Viele  $\beta$ -Lactamasen produzierende Bakterien können durch Kombinationstherapien erfolgreich be-kämpft werden, zum Beispiel mit Aug-mentin. Diese Medikamente bestehen aus Penicillinen, die durch  $\beta$ -Lac-tamasen deaktiviert werden, und  $\beta$ -Lac-tamase-Inhibitoren wie Clavulansäure, Sulbactam oder Tazobactam (Sche-ma 1). Allerdings erreichte bisher kein Inhibitor effektiv alle  $\beta$ -Lactamase-

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



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



**Abbildung 1.** Das zweikernige aktive Zentrum von Metallo- $\beta$ -lactamasen: Dargestellt ist das aktive Zentrum des CcrA-Enzyms<sup>[35]</sup> (die Auflösung der Strukturanalyse von freiem IMP-1<sup>[8]</sup> ist zu gering, um die  $\mu$ -OH-Brücke zu lokalisieren). Zinkionen sind als graue, Wassermoleküle als rote Kugeln dargestellt. Die  $\mu$ -verbrückende OH-Funktion ist mit Wat 1, das Zn2-gebundene „apicale“ Wassermolekül mit Wat 2 bezeichnet. Dünne Linien stehen für koordinative Bindungen und Wasserstoffbrücken.

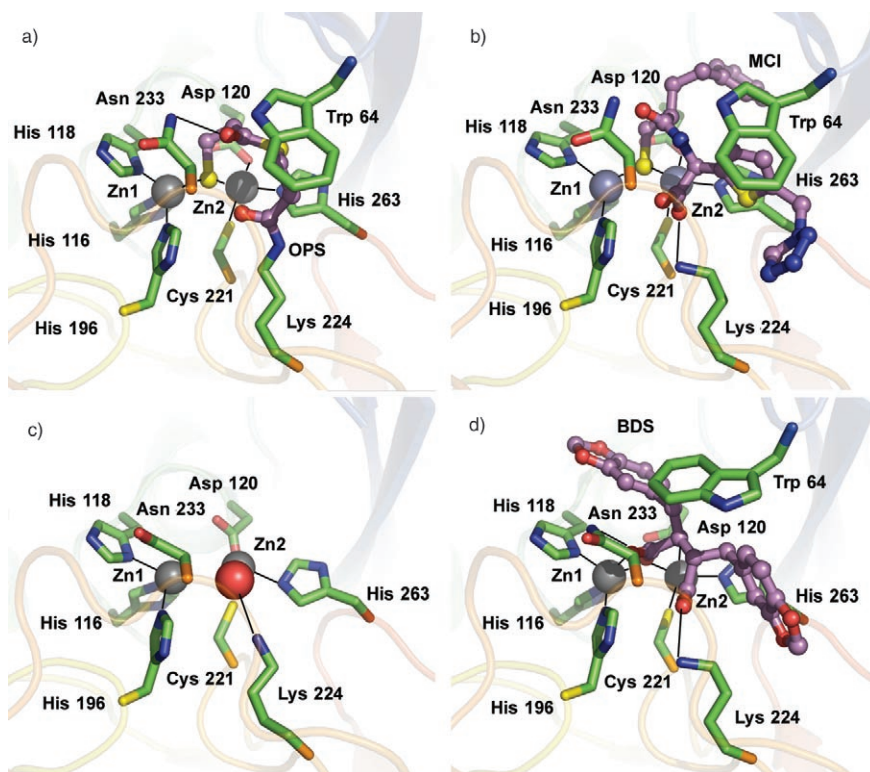
aktiv, und es ist nach wie vor umstritten, welche Form in vivo vorliegt – müssen für die maximale Aktivität in den meisten Fällen beide  $\text{Zn}^{2+}$ -Positionen besetzt sein.<sup>[6]</sup> Diese Anordnung ist in biologischen Systemen üblich: Viele hydrolytische Enzyme enthalten ebenfalls zweikernige Metallzentren. Entsprechend werden die m $\beta$ ls einer großen Enzymfamilie zugerechnet, die vielfältige Hydrolyse- und andere Funktionen ausübt.<sup>[7]</sup> Dank dieser besonderen Struktur können m $\beta$ ls sehr unterschiedlich substituierte  $\beta$ -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  $\beta$ -Lactam-Skeletts binden.<sup>[8,9]</sup> Die große Bedeutung des Metallzentrums für die Substratbindung zeigt sich daran, dass das Apoenzym der m $\beta$ ls anders als das BcII-Apoenzym von *B. cereus* kein  $\beta$ -Lactam zu binden vermag, obwohl es strukturell seinem Holoenzym stark ähnelt.<sup>[10]</sup> Ein analoges Verhalten wird bei anderen Metalloenzymen nicht beobachtet.<sup>[11]</sup> Bei den m $\beta$ ls 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 Trp 64 enthal-

tende Schleife in unterschiedlichen IMP-1-Inhibitor-Komplexen vorliegen kann (Abbildung 2). Diese Wechselwirkungen scheinen allerdings für die Substratbindung nur zweitrangige Bedeutung zu haben, denn sie variieren zwischen einzelnen Enzymen erheblich.<sup>[12]</sup> Die Hemmung von m $\beta$ ls 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 m $\beta$ l-Inhibitoren wurden chemisch so verschiedenartige Verbindungen wie Biphenyltetrazole,  $\beta$ -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 D-Captopril oder Thiomandelsäure oder die Carboxy-Sauerstoffatome von Dibernsteinsäure-Inhibitoren die  $\mu$ -Hydroxo-Brücke am Metallzentrum ersetzen. Nach allgemeinem Verständnis fungiert bei der Hydrolyse dieses Metallzentrum als Nucleophil.<sup>[14,15]</sup> Interessanterweise deuteten aber ESR-spektroskopische Untersuchungen zur Wechselwirkung zwischen  $\text{Co}^{2+}$ -substituiertem L1-Enzym von *Stenotrophomonas maltophilia* mit  $\beta$ -Lactamen an, dass verbrückte Spezies gar nicht an der Bildung von produktiven Enzym-Substrat-Komplexen beteiligt sind.<sup>[16]</sup> Zweitens kommt es zwischen dem N $\epsilon$ -Stickstoffatom von Lys 224, einem Rest, der Mutagenese- und Strukturdaten zufolge Wasserstoffbrücken zur invarianten C3/C4-Carboxygruppe des  $\beta$ -Lactam-Substrats ausrichtet und somit zur Bindung und Orientierung des Substrats beiträgt (Schema 2),<sup>[17,18]</sup> und den Carboxylat- oder Tetrazolsubstituenten des Inhibitors zu ähnlichen Kontakten (Abbildung 2).

Kurosaki et al. nutzten nun diese gemeinsame Substrat- und Inhibitorbindung von m $\beta$ ls, um eine neue Klasse von irreversiblen Inhibitoren mit Thiolfunktion zu entwickeln.<sup>[19]</sup> Die irrever-



**Abbildung 2.** Die Kristallstruktur von Komplexen der Metallo- $\beta$ -lactamase IMP-1 mit verschiedenen Inhibitoren: a) 3-(3-Mercaptopropionylsulfanyl)propionsäure (OPS; pdb-Zugang 1vgn<sup>[19]</sup>); b) 2-[5-(1-Tetrazolylmethyl)thien-3-yl]-N-[2-(mercaptomethyl)-4-(phenylbutyryl)glycin] (MCI; pdb 1ddk<sup>[8]</sup>); c) nichtkompleziertes Protein (pdb 1dd6<sup>[8]</sup>); d) 2,3-Bis-benzo[1,3]dioxol-5-ylmethylbernsteinsäure (BDS; pdb 1jji<sup>[15]</sup>). Die Richtung der Proteinhauptkette 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). Zinkionen sind als graue, Wassermoleküle als rote Kugeln dargestellt. Dünne Linien geben koordinative Bindungen und Wasserstoffbrücken wieder.

sible Hemmung von mβls 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 Thiofunktionen postuliert, die bei der Öffnung des Dihydrothiazinrings von Cephalosporin nach Spaltung der  $\beta$ -Lactam-Amidbindung frei werden.<sup>[20,21]</sup> Lippard und Mitarbeiter zeigten, dass Diaryldisulfide durch einen Thiol-Disulfid-Austausch in ähnlicher Weise kovalent an das Ccra-Enzym von *Bacteroides fragilis* binden.<sup>[22]</sup> Der Unterschied der neuen Strategie zu diesen Beispielen besteht darin, dass eine Thiofunktion, die mit dem zweikernigen Zinkzentrum einen stabilen  $\mu$ -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).

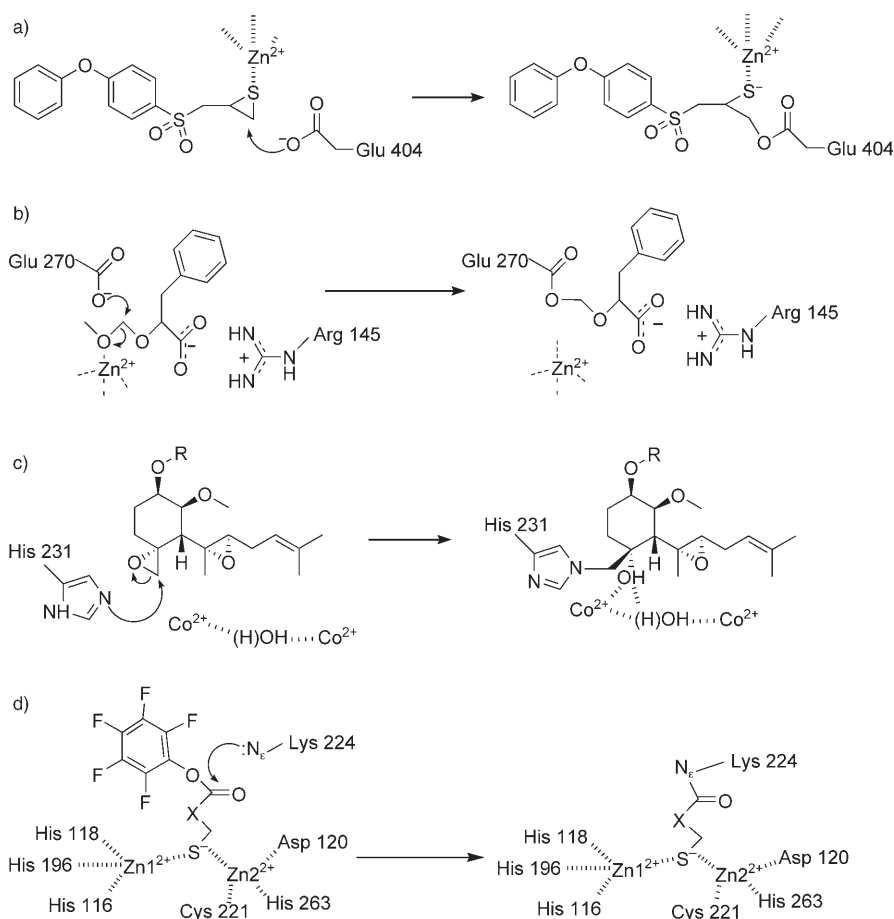
Zwar wurde schon über irreversible Hemmstoffe für verschiedene  $Zn^{2+}$ -Metalloenzyme berichtet, der von Kurosaki et al. vorgeschlagene Hemm-Mechanismus unterscheidet sich von den anderen jedoch in einem wichtigen Aspekt. Bei der Inaktivierung der Carboxypeptidase A (CPA) durch Epoxide, Acetale oder Oxazolidinone,<sup>[23,24]</sup> der Inaktivierung von Matrixmetallo-

proteasen (MMPs) durch Thiirane<sup>[25]</sup> oder der Inhibition des zweikernigen Cobaltenzym Methionin-Aminopeptidase (MetAP) durch den Angiogenese-Hemmstoff Fumagillin<sup>[26,27]</sup> 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 mβls erfolgen dagegen sowohl die Substratbindung als auch die Katalyse vorrangig durch die Zinkionen, und die wichtigen Aminosäuren (mit der möglichen Ausnahme von Asp120<sup>[28]</sup>) wirken eher als Liganden an den Zinkionen und nehmen selbst nicht am Reaktionsmechanismus teil. Zwar führt die Modifikation von Lys224 auch bei mβls 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 Reagentien auch als Affinitätsmarkierungen einstufen und nicht als Inhibitoren mit mechanistischer Grundlage,<sup>[29]</sup> die Wirksamkeit ihrer mβl-Inhibitions-methode 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 mβl-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 variieren, wie es eher für eine uneinheitliche Enzymgruppe mit geringer Sequenzähnlichkeit zu erwarten wäre.<sup>[20,30]</sup> Im Zuge der Ausbreitung der mobilisierten mβls haben sich multiple Varianten der *bla*<sub>IMP</sub>- und *bla*<sub>VIM</sub>-Genprodukte gebildet, die sich teilweise substanziiell in ihrer Reaktivität gegenüber verschiedenen Substratklassen unterscheiden.<sup>[31,32]</sup> Die Wechselwirkung der Proteinseitenketten mit der C3/C4-Carboxygruppe des  $\beta$ -Lac-





**Schema 3.** Irreversible Inhibitoren von Metalloenzymen: a) Hemmung der Gelatinase (MMP-2) durch 2-(4-Phenoxyphenylsulfonylmethyl)thiiran.<sup>[25]</sup> b) Hemmung der Carboxypeptidase A durch 2-Benzyl-3,5-dioxahexansäure.<sup>[24]</sup> c) Hemmung der Methionin-Aminopeptidase durch Fumagillin.<sup>[27]</sup> d) Hemmung der Metallo- $\beta$ -lactamase IMP-1 durch die Pentafluorphenylester von 3-Mercapto- und 3-(3-Mercaptopropionylsulfanyl)-propionsäure ( $X = \text{COSCH}_2\text{CH}_2$ ).<sup>[19]</sup>

tams ist höchstwahrscheinlich innerhalb der gesamten m $\beta$ l-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.<sup>[8,9,18,32]</sup>

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 Metalls Zn<sup>2+</sup> in m $\beta$ l mit der Substrat-Carboxylatgruppe besser imitiert. Durch diese spezifischen Kontakte zum Zn<sup>2+</sup>-Ion könnten auch weniger reaktive

Inhibitoren aktiviert werden. Panresistente Gram-negative opportunistische Pathogene wie das Bakterium *P. aeruginosa*, das gegen sämtliche therapeutischen Wirkstoffe einschließlich  $\beta$ -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- $\beta$ -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 m $\beta$ ls.<sup>[33]</sup> Entsprechend sind  $\beta$ -Lactame auch weiterhin bei der Bekämpfung dieser Organismen unersetzlich. Auf der Suche nach effektiven m $\beta$ l-Inhibitoren ist daher der neue Weg von Kurosaki 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. Mobashery, *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. Larak, 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. Daiyasu, 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. Quirocho, 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. Grosslambert, 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. Ikejiri, 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. Pompliano, 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. Pompliano, 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.