

# Antibakterielle Naturstoffe in der medizinischen Chemie – Exodus oder Renaissance?

Franz von Nussbaum, Michael Brands, Berthold Hinzen, Stefan Weigand und Dieter Häbich\*

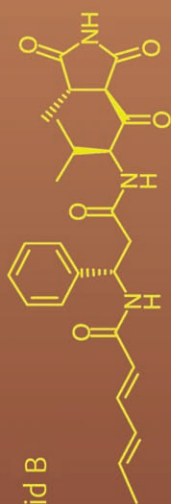
**Stichwörter:**

Antibiotika · Genomik · Glycopeptide ·  
Naturstoffe · Totalsynthesen

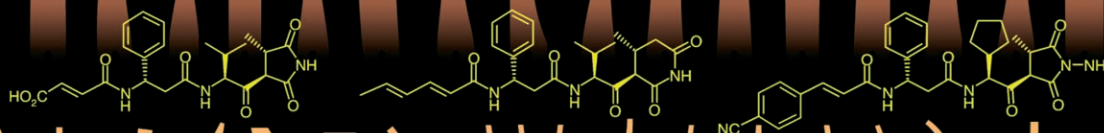
Professor Robert E. Ireland gewidmet

... aus so einfachem Anfange sich eine endlose Reihe der schönsten und wundervollsten

Formen entwickelt hat und noch immer entwickelt. Charles Darwin, *Die Entstehung der Arten*.



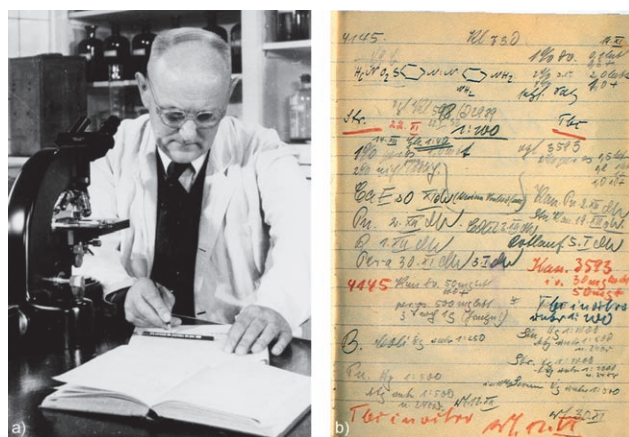
Moiramid B



**Z**ur Entwicklung von Medikamenten müssen die Strukturvorlagen aus der Natur oft durch Semisynthese oder Total-synthese verbessert werden (chemische Post-Evolution). Der Weg vom Naturstoff zum Arzneimittel ist mühsam aber lohnenswert. Die grundlegenden Typen der chemischen Naturstoffmodifikation – Dekoration, Substitution und Abbau – werden hier besprochen, und das biologische, chemische und sozioökonomische Umfeld antibakterieller Forschung wird betrachtet. Naturstoffe waren und bleiben die ergiebigste Leitstrukturquelle für vermarktete Antiinfektiva, und obwohl viele lange bekannte Klassen nie grundlegend erforscht worden sind, erlahmen die industrielle wie die akademische Forschung auf diesem Gebiet – die „altmodischen“ Naturstoffe scheinen nicht mehr ins Bild der modernen Wirkstoff-Forschung zu passen, ihre Handhabung ist aufwändig und erfordert oft nichtstandardisierte Prozesse und längere Bearbeitungszeiten. Eine Neubetrachtung von Naturstoffen mit Methoden der modernen Chemie und Biologie (Reversed Genomics) könnte ihre Renaissance in der Arzneimittelforschung einleiten.

## 1. Einleitung

Alle industrialisierten Gesellschaften verlassen sich darauf, dass die pharmazeutische Industrie ihre medizinische Versorgung gewährleistet. Bei bakteriellen Infektionen fußt dieses Vertrauen auf einer Vielzahl vermarkteter Antibiotika



**Abbildung 1.** a) Pionier der antibakteriellen Chemotherapie: Nobelpreisträger Gerhard Domagk (1895–1964), der Erfinder der Sulfonamide mit seinem wichtigsten Arbeitsgerät. Unter dem Mikroskop studierte er den Effekt verschiedener Chemikalien auf Bakterien. b) Diese Seite aus Domagks Laborjournal beschreibt die außergewöhnliche Wirkung des Azofarbstoffs D 4145 auf Streptokokken. Die Verbindung wurde im Jahr 1935 als „Prontosil“ zugelassen und war ein Diazo-Prodrug der aktiven Komponente 4-Aminophenylsulfonamid, die 1936 unter dem Namen „Prontalbin“ auf den Markt kam. Am Anfang der Chemotherapie standen nicht Naturstoffe, sondern synthetische Farbstoffe. Wichtige Grundprinzipien der Chemotherapie wurden an den Sulfonamiden erarbeitet.

## Aus dem Inhalt

|   |      |
|---|------|
| 1. Einleitung   | 5195 |
| 2. Thematik und Schwerpunkt                                   | 5197 |
| 3. Neue und sichere Antibiotika werden dringend benötigt      | 5199 |
| 4. Besondere Herausforderungen des Antibiotika-Marktes        | 5200 |
| 5. Biologische Targets und chemische Leitstrukturen           | 5201 |
| 6. Die chemische Post-Evolution antibakterieller Naturstoffe  | 5207 |
| 7. $\beta$ -Lactam-Antibiotika                                | 5214 |
| 8. Makrolid- und Ketolid-Antibiotika                          | 5218 |
| 9. Lincosamide  | 5220 |
| 10. Furanomycin, eine Leitstruktur mit ungenügendem Potenzial | 5223 |
| 11. Pyrrolidindion-Antibiotika                                | 5224 |
| 12. Tetrahydropyrimidinon-Antibiotika                         | 5226 |
| 13. Biphenomycine   | 5230 |
| 14. Tuberactinomycine und Capreomycine                        | 5233 |
| 15. Glycopeptid-Antibiotika                                   | 5235 |
| 16. Lysobactine   | 5238 |
| 17. Enopeptine  | 5240 |
| 18. Zusammenfassung und Ausblick                              | 5243 |
| 19. Abkürzungen   | 5244 |

zur Behandlung von banalen ebenso wie lebensbedrohlichen Erkrankungen.<sup>[1]</sup> Die Erforschung und Entwicklung antibakterieller Substanzen im vergangenen Jahrhundert war eine unglaubliche Erfolgsgeschichte, von der letztlich alle

[\*] Dr. F. von Nussbaum, Dr. M. Brands, Dr. B. Hinzen, Dr. S. Weigand, Dr. D. Häbich  
Bayer HealthCare AG  
Medicinal Chemistry Europe  
42096 Wuppertal (Deutschland)  
Fax: (+49) 202-36-5461  
E-Mail: dieter.haebich@bayerhealthcare.com

profitiert haben (Abbildung 1). Seit der Einführung der ersten Sulfonamide und Penicilline in den Jahren 1935 und 1940 ist die einst hohe Mortalitätsrate bei bakteriellen Infektionen drastisch gesunken.<sup>[2]</sup> Antibiotika<sup>[3]</sup> haben Millionen Menschenleben gerettet und das Leiden vieler Patienten gelindert.

Viele antibakterielle Substanzen waren Naturstoffe oder hochwirksame semisynthetische Varianten von Naturstoffen (Tabelle 1).<sup>[4–7]</sup> Es folgten verbesserte Unterklassen wie die Cephalosporine und Carbapeneme oder kürzlich die Ketolide und Glycylcycline. Sie alle dienten als Basisstrukturen für extensive medizinisch-chemische Programme in praktisch jeder größeren pharmazeutischen Firma.

Ab den frühen siebziger Jahren wurde das Arsenal der verfügbaren Therapiemöglichkeiten dann als ausreichend empfunden, und die Notwendigkeit neuer Antibiotika wurde infrage gestellt.<sup>[8]</sup> Schwindendes öffentliches Interesse, die Vernachlässigung hygienischer Maßnahmen und – mit zeitlicher Verzögerung – auch nachlassende Unterstützung der antibakteriellen Forschung durch die Industrie, waren die Folgen dieser Fehleinschätzung. Nach einer jahrzehntelangen Innovationslücke waren ein einziges Oxazolidinon (Linezolid)<sup>[9]</sup> und ein Lipopeptid (Daptomycin)<sup>[10,11]</sup> die ersten Vertreter wirklich neuer Strukturklassen (new chemical entities, NCEs), die für die Therapie am Menschen zugelassen wurden.



Von links nach rechts: B. Hinzen, F. von Nussbaum, D. Häbich, M. Brands, S. Weigand (Foto: P. Voits)

*Franz von Nussbaum, geboren in Frankfurt/Main, studierte Chemie an der Universität München und promovierte 1998 bei Prof. W. Steglich. Nach einem Postdoktorandenaufenthalt als Feodor-Lynen-Stipendiat bei Prof. S. D. Danishefsky an der Columbia University in New York (1999–2000) trat er als Chemiker in die Zentrale Forschung der Bayer AG in Leverkusen ein. Seit 2002 arbeitet er als Medizinalchemiker für die Bayer HealthCare AG in Wuppertal. Die Optimierung bioaktiver Naturstoffe ist eines seiner zentralen Interessensgebiete.*

*Michael Brands, geboren 1966 in Duisburg, studierte Chemie an den Universitäten Münster und Bochum/MPI für Kohlenforschung und promovierte 1993 bei Prof. H. Butenschön. Nach einem Postdoktorandenaufenthalt bei Prof. W. Oppolzer an der Universität Genf (1993–1995) trat er als Medizinalchemiker in die Pharmaforschung der Bayer AG ein. Seit April 2006 ist er Abteilungsleiter in der Medizinischen Chemie und verantwortlich für die chemische Forschung auf den Therapiegebieten Diabetes und Herzinsuffizienz.*

*Berthold Hinzen, geboren 1967 in Köln, studierte Chemie an der Universität Basel und promovierte 1996 bei Prof. F. Diederich an der ETH in Zürich. Nach einem Postdoktorandenaufenthalt bei Prof. S. Ley in Cambridge, Großbritannien, trat er 1998 als Medizinalchemiker in die Bayer AG ein. Seit 2004 ist er Abteilungsleiter in der Medizinischen Chemie und verantwortlich für die chemische Forschung auf dem Therapiegebiet Thrombose.*

*Stefan Weigand, geboren 1969, studierte Chemie an den Universitäten Würzburg und Göttingen und promovierte 1997 bei Prof. R. Brückner. Nach einem Postdoktorandenaufenthalt als Feodor-Lynen-Stipendiat bei Prof. B. M. Trost an der Stanford University (1997–1998) trat er als Medizinalchemiker in die Pharmaforschung der Bayer AG ein. Seit Mai 2005 arbeitet er als Gruppenleiter in der Krebsforschung bei der Roche Diagnostics GmbH in Penzberg.*

*Dieter Häbich, geboren in Stuttgart, studierte Chemie an der Universität Stuttgart und promovierte 1977 bei Prof. F. X. Effenberger. Nach einem Postdoktorandenaufenthalt als NATO-Forschungsstipendiat bei Prof. R. E. Ireland am California Institute of Technology in Pasadena, USA, (1979–1980) trat er als Medizinalchemiker in die Bayer AG ein. Seit 1991 ist er Abteilungsleiter in der Medizinischen Chemie und verantwortlich für die chemische Antiinfektiva-Forschung auf den Gebieten Antibiotika, Antimykotika und antivirale Arzneimittel.*



Infektionskrankheiten sind heute die zweithäufigste Todesursache weltweit und die dritthäufigste Todesursache in Industrienationen (Tabelle 2).<sup>[12]</sup> In den USA sind Bakterien die Ursache der meisten tödlichen Infektionen.<sup>[13]</sup> In vielen Fällen haben Antibiotika ihre Schlagkraft verloren und die Therapieoptionen für bestimmte Mikroorganismen werden immer enger.<sup>[14]</sup> Ehemalige Reserveantibiotika rücken zur Ersttherapie (first-line therapy) auf. Resistenz droht die Zeit zurückzudrehen und floriert, besonders in Krankenhäusern, in denen Antibiotika viel eingesetzt werden.<sup>[15]</sup> Bakterien entwickeln zunehmend Wege, etablierte Therapien zu unterlaufen, und Pathogene, die gegen einzelne oder gar mehrere Antibiotika resistent sind, breiten sich weltweit aus.<sup>[16]</sup> Jeder Einsatz von Antibiotika führt *unweigerlich* zu Resistenzentwicklung und begrenzt damit die Effizienz und die Lebenszeit eines jeden Antibiotikums. Selbst die korrekte Anwendung von Antibiotika kann diesen Prozess zwar stark verlangsamen aber letztlich nicht verhindern; allein die kontinuierliche Entwicklung neuer Medikamente kann das Resistenzproblem nachhaltig in Schach halten. Trotzdem verlassen mehr und mehr pharmazeutische Firmen dieses Gebiet, und der erforderliche Nachschub an neuen Antibiotika bleibt aus. „Bad Bugs, No Drugs“, der Aufruf der Infectious Disease Society of America (IDSA), führt uns diese äußerst gefährliche Situation vor Augen.<sup>[17]</sup> Die heraufziehende Krise<sup>[18]</sup> hat gleicher-

maßen wissenschaftspolitische, ökonomische und regulatorische Ursachen. Ungeachtet gewaltiger Fortschritte in der kombinatorischen Chemie, der Gentechnik und dem Hochdurchsatz-Screening waren Firmen – unabhängig von ihrer Größe – nicht in der Lage, neue valide Antibiotika zu entdecken. Die pharmazeutische Industrie musste sich großen finanziellen und politischen Herausforderungen stellen. Traditionelle Tugenden wie Individualität, Verpflichtung gegenüber der Wissenschaft sowie kulturellen und ethischen Normen scheinen besonders auf dem Gebiet der Antibiotika gefährdet.<sup>[19]</sup> Die auslaufende Erforschung und Entwicklung neuer Antibiotika in Kombination mit dem wachsenden Anteil älterer Menschen und immunsupprimierter Patienten sowie steigende Behandlungskosten bei resistenten Keimen birgt genügend Sprengstoff für eine globale Krise des Gesundheitswesens, die die Ärzte in eine „präantibiotische Vorzeit“ zurückwerfen könnte.<sup>[17]</sup>

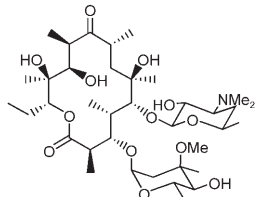
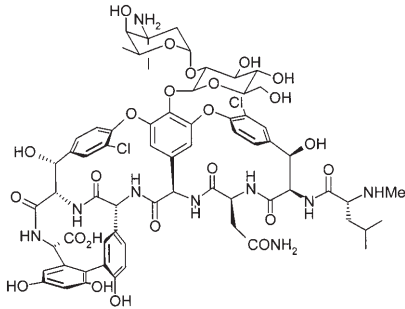
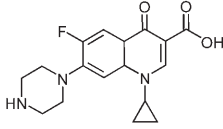
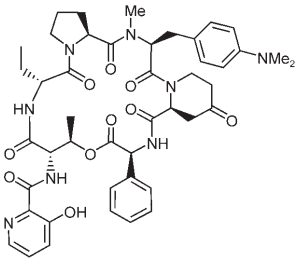
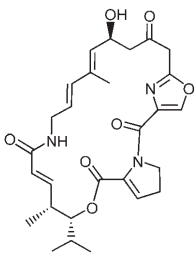
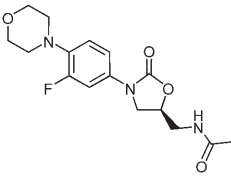
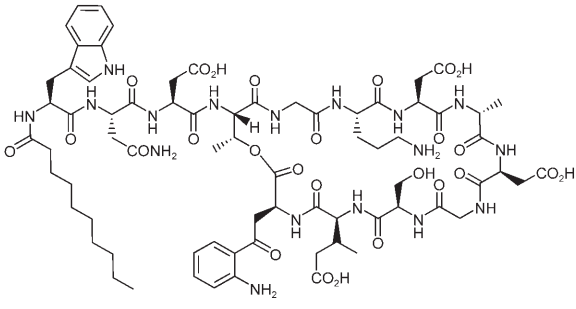
## 2. Thematik und Schwerpunkt

Dieser Aufsatz konzentriert sich auf die medizinisch-chemische Modifikation von Antibiotika durch De-novo-Synthese oder Semisynthese. Wichtige Prinzipien werden anhand einer subjektiven Zusammenstellung etablierter Klassen,

**Tabelle 1:** Einführung neuer antibakterieller Substanzklassen für die Therapie am Menschen.

| Jahr | Klasse                    | Target              | Beispiel        | Struktur |
|------|---------------------------|---------------------|-----------------|----------|
| 1935 | Sulfonamide (synthetisch) | Folsäuresynthese    | Prontosil       |          |
| 1940 | $\beta$ -Lactame          | Zellwandbiosynthese | Penicillin G    |          |
| 1949 | Polyketide                | Proteinbiosynthese  | Tetracyclin     |          |
| 1949 | Phenylpropanoide          | Proteinbiosynthese  | Chloramphenicol |          |
| 1950 | Aminoglycoside            | Proteinbiosynthese  | Tobramycin      |          |

Tabelle 1: (Fortsetzung)

| Jahr | Klasse                      | Target              | Beispiel  | Struktur   |
|------|-----------------------------|---------------------|---|--|
| 1952 | Makrolide                   | Protein-biosynthese | Erythromycin A                                    | <br><b>6</b>  |
| 1958 | Glycopeptide                | Zellwand            | Vancomycin  | <br><b>7</b>   |
| 1962 | Chinolone (synthetisch)     | DNA-Replikation     | Ciprofloxacin                                     | <br><b>8</b>  |
| 1962 | Streptogramine              | Protein-biosynthese | Pristinamycin (I <sub>A</sub> + II <sub>A</sub> ) | <br><b>9</b><br><br><b>10</b> |
| ...  |                             |                     |   |  |
| 2000 | Oxazolidinone (synthetisch) | Protein-biosynthese | Linezolid   | <br><b>11</b>   |
| 2003 | Lipopeptide                 | bakterielle Membran | Daptomycin  | <br><b>12</b>  |

**Tabelle 2:** Wichtige bakterielle Pathogene und die zugehörigen Infektionskrankheiten.

| Pathogen                          | Infektionskrankheiten   |
|-----------------------------------|---|
| <i>Staphylococcus aureus</i>      | Haut- und Wundinfektion, Abszess, Bakteriämie, Endokarditis, Toxisches Schock-Syndrom |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i>   | Infektion der oberen Atemwege, Pneumonie, Otitis, Sinusitis, Meningitis               |
| <i>Streptococcus pyogenes</i>     | Pharyngitis, Tonsillitis, Haut- und Weichteilinfektion, Scharlach                     |
| <i>Enterococcus faecalis</i>      | Bakteriämie, Endokarditis, Harnwegsinfektion, Peritonitis                             |
| <i>Enterococcus faecium</i>       | Bakteriämie, Endokarditis, Peritonitis  |
| <i>Escherichia coli</i>           | Bakteriämie, Infektion der Harnwege und des Magen-Darm-Trakts                         |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>      | Hospitalpneumonie, Bakteriämie  |
| <i>Proteus</i> spp.               | Harnwegsinfektion   |
| <i>Haemophilus influenzae</i>     | Infektion der Atemwege, Otitis, Sinusitis, Meningitis                                 |
| <i>Moraxella catarrhalis</i>      | Infektion der Atemwege  |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>     | Hospitalpneumonie, Infektion von Brandwunden, Bakteriämie                             |
| <i>Acinetobacter</i> spp.         | Pneumonie in immunsupprimierten Patienten   |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | Tuberkulose   |

neuer klinischer Entwicklungskandidaten oder weniger bekannter Naturstoff-Leitstrukturen verdeutlicht. Unveränderte Naturstoffe als Arzneimittel werden bewusst nur am Rande angesprochen. Wir erheben keinen Anspruch auf Vollständigkeit, denn bereits der Versuch einer umfassenden Dokumentation würde den Rahmen jedes Aufsatzes sprengen. So wurden die Aminoglycoside oder wichtige Innovationen wie die Tetracycline,<sup>[20]</sup> die Glycylcycline<sup>[21]</sup> und die Peptid-Deformylase-Inhibitoren<sup>[22]</sup> weggelassen. Mit diesem Aufsatz wollen wir Forscher und Entscheidungsträger auf die Chancen antibakterieller Naturstoffe hinweisen. In der medizinischen Chemie sind sie wertvolle Leitstrukturen oder sogar Wegweiser zu neuen biologischen Targets für zukünftige Therapien. Ein kontinuierlicher Nachschub an sicheren und effektiven Antibiotika ist dringend erforderlich. Neue Ideen sind jetzt gefragt. Langfristig gibt es keine Alternative zu antibakterieller Forschung.

### 3. Neue und sichere Antibiotika werden dringend benötigt

Immer mehr bakterielle Infektionen sprechen nicht mehr auf die Standardbehandlung an und sind daher schwierig – oft auch gar nicht mehr – zu therapieren. Resistenz gegen mehrere Antibiotika<sup>[23]</sup> breitet sich weltweit aus: Besonders in Krankenhäusern häufen sich die Therapieversager, und die Behandlungskosten steigen (Tabelle 3).<sup>[11,24]</sup> Die extensive,

**Tabelle 3:** Resistenzrate von Hospitalinfektionen, USA 2004.<sup>[42]</sup>

| Antibiotikum                     | Pathogen                          | Resistenz [%] |
|----------------------------------|-----------------------------------|---------------|
| Methicillin                      | <i>S. aureus</i>                  | 59.5          |
|                                  | Coagulase-negative Staphylokokken | 89.1          |
| Vancomycin                       | Enterokokken                      | 28.5          |
| Cephalosporine der 3. Generation | <i>Enterobacter</i> spp.          | 31.1          |
|                                  | <i>P. aeruginosa</i>              | 31.9          |
|                                  | <i>E. coli</i>                    | 5.8           |
|                                  | <i>K. pneumoniae</i>              | 20.6          |
| Imipenem                         | <i>P. aeruginosa</i>              | 21.4          |
| Chinolone                        | <i>P. aeruginosa</i>              | 29.5          |

oft auch unsachgemäße Anwendung von Antibiotika, mangelhafte Hygiene (auch in hochmodernen Krankenhäusern), weltweites Reisen, der wachsende Anteil älterer Menschen und immunsupprimierter Patienten sowie der Mangel an schnellen Diagnosemethoden haben dieses Problem noch verstärkt.

Die Gegenwart eines jeden Antibiotikums übt einen Evolutionsdruck auf die Mikrobenpopulation aus und selektiert resistente Organismen. Bakterien können sich der tödlichen Wirkung von Antibiotika durch verschiedene Mechanismen entziehen,<sup>[25,26]</sup> zum Beispiel durch Veränderung des Targetproteins,<sup>[27]</sup> durch enzymatische Inaktivierung des Antibiotikums,<sup>[28]</sup> durch erhöhte Penetrationsbarrieren<sup>[29]</sup> oder verstärkten Efflux.<sup>[30]</sup> Zudem haben sich mobile genetische Elemente (Plasmide), die eine Resistenzentwicklung beschleunigen könnten, zu einer ernststen Bedrohung entwickelt.<sup>[31]</sup> Resistenz gegen Gram-positive Bakterien trat zunächst vor allem bei Hospitalinfektionen in Intensivstationen (intensive care units, ICU) auf, wird heute aber mehr und mehr auch bei Infektionen beobachtet, die außerhalb der Klinik erworben wurden (community-acquired infections).<sup>[32]</sup> Gram-positive Pathogene wie der Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA),<sup>[33,34]</sup> Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE)<sup>[35]</sup> und der Penicillin-resistente *Streptococcus pneumoniae* (PRSP)<sup>[36–38]</sup> sind in diesem Zusammenhang die wichtigsten Keime. Auch der Methicillin-resistente *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) gewinnt zunehmend an Bedeutung.<sup>[39]</sup> All diese Keime haben – unabhängig von ihren historischen Namen (MRSA, VRE usw.) – inzwischen Resistenzen gegen mehrere Antibiotikaklassen ausgebildet; oft setzte diese Entwicklung bereits in den 90er Jahren

ein.<sup>[40]</sup> Auch das Auftreten neuer bakterieller Pathogene wie *Acinetobacter*- und *Legionella*-Spezies oder Koagulase-negativer Staphylokokken<sup>[41]</sup> verlangt dringend nach neuen Antibiotika ohne Kreuzresistenz zu gegenwärtig verwendeten Medikamenten.

In vielen Fällen entscheiden Vancomycin, Quinupristin/Dalfopristin oder Linezolid als letzte Therapiemöglichkeit über Leben und Tod eines Patienten. Mit Sorge beobachtet man daher das Auftreten klinischer Keime mit reduzierter Empfindlichkeit gegenüber Vancomycin (VISA),<sup>[43]</sup> die zunehmende Glycopeptid-Resistenz in Enterokokken und die ersten Fälle von Vancomycin-Hochresistenz in *S. aureus* (VRSA).<sup>[44,45]</sup> Gegen Quinupristin/Dalfopristin und Linezolid resistente Staphylokokken sind bereits bekannt.<sup>[46]</sup> Im Juli 2004 berichtete die Infectious Disease Society of America (IDSA), dass sich in US-Krankenhäusern jährlich zwei Millionen Patienten bakterielle Infektionen zuziehen, 90000 davon mit Todesfolge. Bei etwa 70 % dieser Infektionen sind die Erreger gegen mindestens ein Medikament resistent. Die Zunahme der Infektionen und der Wirkstoffresistenz scheint nicht nachzulassen. Resistente Pathogene treiben die Behandlungskosten in die Höhe, da oft teurere Medikamente und längere stationäre Aufenthalte erforderlich werden. Insgesamt entstehen in den USA dadurch Mehrkosten von fünf Milliarden US-Dollar im Jahr.<sup>[17]</sup>

Die Entwicklung von Resistenzen bei Patienten auf Intensivstationen in US-Krankenhäusern (aber auch in Europa) ist alarmierend.<sup>[47]</sup> Vor sieben Jahren war nur die Hälfte der dort isolierten *S.-aureus*-Bakterien multiresistent (MRSA). Bedingt durch die dort sehr verbreitete Verwendung von Antibiotika war der entsprechende MRSA-Anteil in Japan stets noch höher.<sup>[48]</sup> Inzwischen haben Ärzte weltweit auch massive Resistenzprobleme mit Gram-negativen Pathogenen,<sup>[30e,49]</sup> speziell mit *Pseudomonas aeruginosa* (HAP, cSSTI), *Escherichia coli* (cUTI, IAI), Enterobacteriaceen mit Breitspektrum- $\beta$ -Lactamasen und bestimmten *Klebsiella*-Spezies.<sup>[50]</sup> Zudem verlangen multiresistente Varianten von *Mycobacterium tuberculosis* nach neuen und wirksameren Medikamenten gegen Tuberkulose, die weltweit am weitesten verbreitete Infektionskrankheit.<sup>[51–55]</sup> Man schätzt, dass ca. 1.9 Milliarden Menschen Träger von *M. tuberculosis* sind!

Auf der 44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC),<sup>[56,57]</sup> dem herausragenden Forum für aktuelle Themen zu Antibiotika-Resistenz, Forschungsprogrammen und klinischer Entwicklung, haben Spezialisten für Infektionskrankheiten ernste Bedenken darüber geäußert, dass sich immer mehr unbehandelbare Pathogene entwickeln. Mikrobielle Resistenzen sind die Ursache von schlechten klinischen Heilungsraten und steigenden Gesundheitskosten.<sup>[47]</sup> Neue antibakterielle Arzneimittel ohne Kreuzresistenz zu momentan verwendeten Antibiotika, Förderinitiativen für den verantwortlichen und fachgemäßen Gebrauch von Antibiotika<sup>[58]</sup> und effizientere Maßnahmen zur Infektionskontrolle werden dringend benötigt. Da tote Erreger nicht mehr mutieren können, wurden als Resistenzbrecher eher bakterizide als bakteriostatische Mittel empfohlen.<sup>[59]</sup> Oft ist gerade die offensive Hochdosis-Therapie – nicht selten mit Antibiotika-Kombinationen – die Methode der Wahl, um die Resistenzentwicklung zu verlangsamen.

Zusätzlich kann die Verwendung pharmakodynamischer Modelle<sup>[60]</sup> dabei helfen, Resistenzen in Schach zu halten.

#### 4. Besondere Herausforderungen des Antibiotika-Marktes

Mit über 200 Arzneimitteln ist der Antibiotikamarkt ein reifes Gebiet mit hohem therapeutischem Standard. Zurzeit kostet es etwa 800 Millionen US-Dollar, bis ein neues Medikament auf den Markt gebracht werden kann, und oft dauert dieser Vorgang mehr als zehn Jahre.<sup>[61]</sup> Wegen dieser enormen Kosten und der immer komplexeren Forschungs- und Entwicklungsprozesse hat die gesamte pharmazeutische Industrie ihre Aktivitäten verlagert: weg von akuten Infektionskrankheiten (Kurzzeittherapie), hin zu den profitableren chronischen Erkrankungen (Langzeittherapie). Schnell und effizient wirkende Antibiotika sind unbestritten einer der größten medizinischen Erfolge! Leider sind sie aber aus rein ökonomischer Sicht weniger attraktive Arzneimittel, gerade weil sie eine Krankheit innerhalb von wenigen Tagen kurieren und dann kein weiterer Bedarf besteht (Auto-Obsolenz). Der geringere Verkaufserlös pro Patient ist leider kommerziell wenig interessant, verglichen mit vielen chronischen Erkrankungen, für die Medikamente über Jahre oder gar lebenslang verschrieben werden, sobald die Diagnose einmal erfolgt ist. Der kommerzielle Erfolg „chronischer Arzneimittel“ und die „Auto-Obsolenz der Antibiotika“<sup>[62]</sup> hat viele Firmen veranlasst, bevorzugt in Gebieten wie Lipidstoffwechsel, Bluthochdruck, Demenz, Stimmungsschwankungen, Schmerz, Asthma, Arthritis oder Fettleibigkeit zu investieren.<sup>[63]</sup>

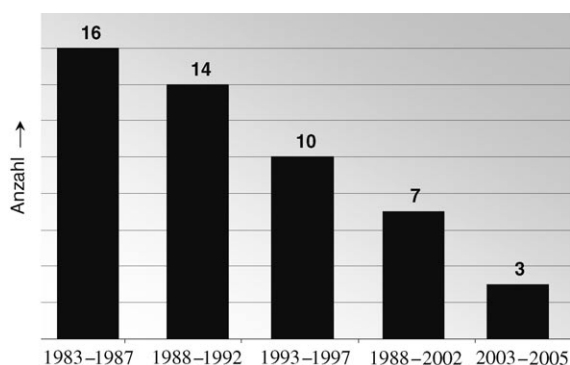
Investitionen in antibakterielle Forschung und Entwicklung durch große Pharmaunternehmen lassen nach. Abbott, Aventis, Bristol-Myers Squibb, Eli Lilly, GlaxoSmithKline, Proctor & Gamble, Hoffmann-La Roche und Wyeth haben diese Sparte deutlich verkleinert oder bereits verlassen, Bayer und andere folgen. Unterschiedlichste Gründe spielen eine Rolle.<sup>[15,18,64]</sup> Die Resistenzentwicklung begrenzt die Lebensspanne jedes Antibiotikums und bedroht die zugrundeliegenden Investitionen. Auch die Dynamik des Pharmamarktes schwächt die Antibiotikaforschung. Die wachsende Fragmentierung des Marktes, das jüngste Auslaufen der Patente umsatzträchtiger Wirkstoffe (Blockbuster) und zunehmende gesetzgeberische Auflagen für die klinische Evaluierung neuer Antibiotika sind weitere Gründe.<sup>[65]</sup> Der Wunsch nach Blockbuster-Medikamenten<sup>[63]</sup> zwingt große Unternehmen zur Konzentration auf sichere Breitspektrum-Antibiotika mit großer Anwendungsbreite. Gleichzeitig aber verhindert die – in der öffentlichen Diskussion zunehmend hörbare – Forderung, die Verwendung von Breitspektrum-Antibiotika zu begrenzen, den Einsatz gerade neuer Antibiotika als Ersttherapie und schmälert damit deren Verkaufserwartung.<sup>[66]</sup>

Antibakterielle Forschung und Entwicklung hat sich von großen pharmazeutischen Unternehmen hin zu kleineren Biotechnologie-Firmen und Spezialbetrieben verlagert, die sich auf – für große Unternehmen nicht lohnende – Schmalspektrum- und Nischen-Arzneimittel konzentrieren. Zudem

haben Biotech-Firmen auf Eis liegende Produkte – beispielsweise Daptomycin<sup>[10,11]</sup> – erfolgreich fortgeführt, nachdem diese von den großen Partnern beiseite gelegt worden waren.

Antibakterielle Arzneimittel haben aber auch Vorteile. Ihre Entwicklung profitiert von außerordentlich prädiktiven Tiermodellen mit der Folge überdurchschnittlich hoher klinischer Erfolgsraten von etwa 17 % (durchschnittlich 11 %).<sup>[67]</sup> Im Unterschied zu anderen Therapiegebieten, in denen oftmals fehlende Wirksamkeit den entscheidenden Grund für ausbleibenden Erfolg in klinischen Studien darstellt, sind bei Antibiotika eher Verträglichkeit oder klinische Arzneimittelsicherheit die kritischen Punkte.<sup>[68]</sup>

Die Zahl der von der US-Gesundheitsbehörde FDA neu zugelassenen Antibiotika hat sich über die letzten beiden Jahrzehnte mehr als halbiert (Abbildung 2), und nur 6 von 506 neuen Wirkstoffen in der Entwicklung waren antibakterielle Arzneimittel (new molecular entities, NCEs).<sup>[62]</sup> Unter den 89 Erstzulassungen im Jahr 2002 befand sich kein einziges Antibiotikum.



**Abbildung 2.** Neu zugelassene antibakterielle Medikamente in den USA.<sup>[62]</sup>

Nach der Ansicht von Finanzanalysten<sup>[70]</sup> haben Firmen, die antibakterielle Wirkstoffe herstellen, zurzeit enorme Schwierigkeiten, die Verkaufszahlen ihrer Produkte aufrechtzuerhalten, und besonders die großen Unternehmen sehen hier mageren Zeiten entgegen. Die Patente auf einige ihrer profitabelsten Medikamente wie Amoxycillin/Clavulansäure oder Ciprofloxacin sind abgelaufen, sodass Generika-Herstellern der Verkauf billiger Kopien erlaubt ist. Die Konkurrenz durch Generika, die Resistenzentwicklung und zunehmende regulatorische Anforderungen haben der Gewinnspanne von Antibiotika deutlich zugesetzt. Aktionärsinteressen bestimmen zunehmend die Investitionsstrategien in Forschung und Entwicklung, und Stagnation wird finanzwirtschaftlich nicht geduldet. Demzufolge sehen viele Analysten und Manager die Aussichten des Antibiotikamarkts äußerst kritisch.<sup>[63]</sup>

Im Vergleich zu anderen Gebieten entwickelte sich der Antibiotikamarkt tatsächlich in jüngster Zeit schleppend. Datamonitor<sup>[70]</sup> sagt eine Wachstumsrate von nur 1,4 % für das Jahr 2010 vorher. Es wird erwartet, dass die Zahl der antibakteriellen Blockbuster-Medikamente abnimmt und der Hospitalsektor von Spezialistenprodukten dominiert wird.

Wirksamkeit gegen resistente Isolate, kürzere Behandlungszeit, die Möglichkeit zum Umschwenken von parenteraler (intravenöser) auf orale Verabreichung, Kosten und verbesserte Nebenwirkungsprofile sind Treiber des Krankenhausmarktes; den stärksten Zuwachs verzeichneten die Indikationen Atemwegserkrankungen (RTI, 6,2 % der Umsätze im Jahr 2002), Harnwegsinfektionen (UTI, 4,9 %) sowie Haut- und Weichteilinfektionen (SSTI, 4,9 %).<sup>[70]</sup> Andererseits ist der Antibiotikamarkt mit Umsätzen von 25,8 Milliarden US-Dollar das drittgrößte Segment des globalen Arzneimittelmarkts (Tabelle 4). Ein Drittel davon wird für parenterale Hospital-Antibiotika ausgegeben. Trotz geringen Wachstums ist der Antibiotikamarkt immer noch attraktiv.

**Tabelle 4:** Die zehn größten Antibiotika-Hersteller geordnet nach globalem Antibiotika-Umsatz 2004 (Quelle: Wood Mackenzie<sup>[69]</sup>).

| Rang         | Firma             | Mio US-Dollar |
|--------------|-------------------|---------------|
| 1            | Pfizer            | 2938          |
| 2            | GlaxoSmithKline   | 2425          |
| 3            | Abbott            | 1657          |
| 4            | Bayer             | 1346          |
| 5            | Johnson & Johnson | 1295          |
| 6            | Hoffmann-La Roche | 1142          |
| 7            | Wyeth             | 846           |
| 8            | Merck & Co.       | 704           |
| 9            | Daiichi           | 687           |
| 10           | Shionogi          | 678           |
| Weitere      |                   | 12 064        |
| <b>Summe</b> |                   | <b>25 782</b> |

## 5. Biologische Targets und chemische Leitstrukturen

### 5.1. Naturstoffe als antibakterielle Leitstrukturen<sup>[71]</sup> – Co-Evolution von Target und Inhibitor

Weniger als 1 % aller bekannten organischen Verbindungen sind Naturstoffe, 99 % sind Synthetika. Doch trotz dieser David-gegen-Goliath-Situation beruht mehr als ein Drittel aller Arzneimittelumsätze (1981–2004) auf Naturstoffen oder deren „intellectual DNA“.<sup>[4]</sup> Naturstoffe dienen nicht nur als chemische Leitstrukturen in der Arzneimittelforschung, sondern auch als Wegweiser zu – pharmazeutisch unerforschten, aber durch die Evolution validierten – Targets und Wirkmechanismen, die dann mithilfe synthetischer Mimika genauer untersucht werden konnten.<sup>[72]</sup>

Die einzigartige Vielfalt der Naturstoffstrukturen stellt die Synthetika in den Schatten. Komplexe Funktionalisierungsmuster wie sie in Naturstoffen zu beobachten sind, werden sich niemals de novo in einem Chemie-Laboratorium entwickeln lassen. Naturstoffe haben einmalige Ringarchitekturen (Vancomycin, Stephacidin B) und komplexe molekulare Pharmakophore (Erythromycin, Epothilon). Ihr Wirkungsbereich reicht von der Bindung kleiner Moleküle (Cycloserin, Salicylsäure) bis hin zu quasi-supramolekularen Wechselwirkungen (Ramoplanin, Palytoxin). Viele natürliche Pharmakophore gleichen eher molekularen Maschinen ( $\beta$ -



Lactame, Mitomycin C) als starren Inhibitoren. Oft sind sie flankiert von Erkennungsregionen, die selektiv einen „molekularen Sprengkopf“ in unmittelbarer Nähe des Targets aktivieren (Calicheamicin). Eine Bindung an das Target kann sogar zu Wechselwirkungen höherer Ordnung führen, wie sie etwa bei porenbildenden Komplexen (Nisin/Lipid II) zu beobachten sind. Viele Naturstoffe attackieren nicht einzelne Enzyme, sondern ganze Enzymfamilien ( $\beta$ -Lactame/PBPs), oder haben verschiedene Wirkmechanismen (Vancomycin: Hemmung von Transpeptidasen und Transglycosylasen). Dieser natürliche Multi-Target-Ansatz steht in krassem Gegensatz zum HTS-getriebenen Mono-Target-Dogma der modernen Arzneimittelforschung.

Der außergewöhnliche Erfolg von Naturstoffen als Wegweiser zu neuen Medikamenten ist besonders bei antibakteriellen Arzneimitteln klar ersichtlich.<sup>[6]</sup> Viel stärker als in anderen Indikationen haben sich hier Naturstoff-Leitstrukturen bei der Entdeckung neuer klinisch relevanter Therapeutika durchgesetzt.<sup>[73–75]</sup> Über 75 % der zwischen 1984 und 2004 eingereichten neuen Wirkstoffe basierten auf Naturstoff-Leitstrukturen.<sup>[4]</sup> Nur 21 % der antibakteriellen NCEs waren rein synthetisch,<sup>[4]</sup> wie beispielsweise die Oxazolidinone, die auf einen Screening-Hit der Firma DuPont zurückgingen.

Aus Sicht der Evolutionstheorie ist es nicht verwunderlich, dass Naturstoffe besonders gute Leitstrukturen für antibakterielle Arzneimittel sind.<sup>[76]</sup> Viele Mikroorganismen, vor allem Pilze, aber auch Bakterien (z. B. die Actinomyzeten), entwickelten über Jahrtausende ein regelrechtes chemisches Waffenarsenal gegen bakterielle Konkurrenten. Antibiotika waren lebensnotwendig im ständigen Kampf um Raum und Ressourcen. Sicherlich hat es hier eine Co-Evolution der pilzlichen Sekundärmetaboliten und der entsprechenden bakteriellen Targets gegeben. Moleküle aus mikrobiellen Produzenten, die Bakterien in der Umgebung töten oder an ihrer Vermehrung hindern, haben sich im Wechselspiel mit bakteriellen Abwehrstrategien entwickelt (Resistenz). In-vitro-Potenz, Eigenverträglichkeit und Biosyntheseaufwand waren entscheidende Selektoren bei der Evolution von Antibiotika. Um zu wirken, müssen die meisten Antibiotika in der Lage sein, bakterielle Membranen zu durchdringen<sup>[77]</sup> und mindestens ein molekulares Target zu attackieren. Im Verlauf der Evolution war die Kontrolle bakterieller Resistenz eine weitere große Herausforderung für mikrobielle Antibiotika-Produzenten. Fast alle Antibiotika sind Sekundärmetabolite, das heißt sie entstammen nichtessenziellen Biosynthesewegen, die bei Bedarf an- oder abgeschaltet werden können. Die strukturelle Anpassung bioaktiver Sekundärmetabolite beruht auf der Evolution von Biosynthesewegen. Hierzu wird die Biosynthesemaschinerie auf genetischer Ebene mutiert (Genverdopplung, gene shuffling). In jüngster Zeit haben diese Evolutionsprozesse großes Interesse geweckt.<sup>[78,79]</sup> So versucht man, bekannte Biosynthesewege zu modifizieren (kombinatorische Biosynthese, Stoffwechsel-Engineering) oder „stille“ Biosynthesegencluster aufzuspüren. Letztere tragen – genetisch verschlüsselte<sup>[80]</sup> – Anleitungen zur Synthese unerforschter Naturstoffe (metabolome mining), die sich auf dem Wege klassischer Fermentationsansätze nicht gewinnen lassen.<sup>[81]</sup>

Auch das Konzept der „privilegierten Strukturen“<sup>[82]</sup> erklärt die hohe Erfolgsrate von Naturstoff-Leitstrukturen in verschiedenen Therapiegebieten, nicht nur bei den Antibiotika. Trotz unterschiedlichster biologischer Funktion und divergenter Peptidsequenz besteht doch eine Strukturanalogie zwischen vielen Enzymen, denn gleiche Faltungstypen und Domänenfamilien sind im gesamten Proteom verbreitet. Dieses Konzept ist besonders hilfreich, um das Verhalten von Naturstoffen in verschiedenen Therapiegebieten zu erklären, die in keinerlei Beziehung zum ursprünglichen ökologischen Zweck der Sekundärmetaboliten stehen.<sup>[83]</sup> Aus diesem Grund kann es durchaus sinnvoll sein, antibakterielle Naturstoffe gegen ein ZNS-Target zu screenen.

Auch statistische Untersuchungen sind herangezogen worden, um die hohe Erfolgsrate von Naturstoffen im Vergleich zu Synthetika zu erklären.<sup>[4]</sup> Bislang ließen sich jedoch keine klaren Regeln aus diesen Studien ableiten. Es sieht so aus, als könnte das Erfolgsgeheimnis der Naturstoffstrukturen nicht mit einfachen statistischen Mitteln wie dem Abzählen von Funktionalitäten, Ringen und Chiralitätszentren oder durch Erheben physikochemischer Parameter wie Membranaffinität, polarer Oberfläche (polar surface area, PSA),  $pK_s$ -Wert etc. gelüftet werden. Offensichtlich beruht die Bedeutung von Naturstoffen in der medizinischen Chemie nicht auf einem allgemeingültigen physikochemischen oder strukturellen Gesamtkonzept, sondern auf der Tatsache, dass jeder einzelne Sekundärmetabolit im Verlauf der Evolution in einem Netzwerk komplexer biologischer Abhängigkeiten entstanden ist. Dennoch konnte man mithilfe moderner Suchmethoden (data mining) einige Trends herausarbeiten, die Naturstoffe von Synthetika unterscheiden und auf eine gewisse Komplementarität beider Strukturräume hinweisen.<sup>[84,85]</sup> Statistisch haben Naturstoffe höhere Molekulargewichte als Synthetika; zudem sind sie polarer und tragen mehr Hydroxygruppen.

## 5.2. Der klassische Ansatz – vom Bakterium zum Arzneimittel

Antibakterielle In-vitro-Aktivität wird über die minimale Hemmkonzentration (MHK) beurteilt. Im MHK-Test wird die niedrigste Konzentration einer Substanz bestimmt, die das Wachstum von Bakterien über einen Zeitraum von 18–24 h vollkommen hemmt. MHK-Bestimmung und andere mikrobiologische In-vitro-Techniken<sup>[86]</sup> waren enorm wichtig bei der Suche nach zukunftsfruchtigen Strukturtypen.<sup>[87]</sup> Medizinische Chemiker verbesserten dann Stabilität, Potenz, antibakterielles Spektrum und Selektivität zusammen mit den pharmakologischen Eigenschaften der Verbindungen. Bis heute wurden alle etablierten antibakteriellen Substanzklassen mit MHK-Ganzzellassays gefunden.<sup>[88]</sup> Diesen „klassischen“ Ansatz vervollständigten üblicherweise Tiermodelle,<sup>[89,90]</sup> die die antibakterielle Aktivität widerspiegeln und prädiktiv für die klinische Situation am Menschen sind. Daneben ist die mikrobielle Pharmakodynamik immer wichtiger geworden.<sup>[60]</sup> Hierbei werden erreichbare Plasmaspiegel und Potenz eines Arzneimittels mit dem therapeutischen antibakteriellen Effekt – auf einen bestimmten Erreger – in Beziehung gesetzt. Während ein Parameter wie die Cytotoxizität

mit In-vitro-Standardmodellen leicht zu überwachen ist, sind Tiermodelle zur Abschätzung der systemischen Verträglichkeit von Verbindungen aufwändig und teuer. Der Durchsatz von Tiermodellen ist generell niedrig, und sie eignen sich daher nur für die Untersuchung ausgewählter Leitstrukturkandidaten.

Der häufige Einsatz von Antibiotika übt einen Evolutionsdruck auf die Mikrobenpopulationen aus und selektiert resistente Bakterien. Um mit der Resistenzentwicklung Schritt zu halten, untersuchten pharmazeutische Firmen jahrzehntelang kleinste Strukturabwandlungen in etablierten antibakteriellen Substanzklassen. Auf diese Weise sind viele Klassen bis in die dritte und vierte Generation vorangetrieben worden, und es bleibt offen, wie viele Generationen noch folgen können, bevor eine Substanzklasse endgültig ihre Wirksamkeit verliert.

Die meisten vermarkteten Antibiotika hemmen oder de-regulieren die Biosynthese bakterieller Makromoleküle über nur eine Handvoll klinisch validierter Wirkmechanismen (Target-Bereiche, Tabelle 5). So setzen  $\beta$ -Lactam-Antibioti-

**Tabelle 5:** Geschätzte Anzahl essenzieller Breitspektrum-Gene/Targets.

| Target-Gebiet        | Essenzielle Gene | Etablierte Antibiotika-Klassen |
|----------------------|------------------|--------------------------------|
| DNA-Replikation      | 20               | 3                              |
| Divisom              | 8                | 0                              |
| Transkription        | 6                | 1                              |
| Translation          | 58               | 8                              |
| Fettsäurebiosynthese | 12               | 0                              |
| Zellwandbiosynthese  | 17               | 3                              |
| Nucleotidbiosynthese | 9                | 0                              |
| Coenzymbiosynthese   | 6                | 2                              |
| Sekretion            | 5                | 0                              |
| <b>Summe</b>         | <b>141</b>       | <b>17</b>                      |

ka, Glycopeptide und Fosfomycin an der bakteriellen Zellwandsynthese an (Abbildung 3), wogegen Lipopeptide (Daptomycin) und kationische Peptide (Polymyxin) die Integrität bakterieller Membranen zerstören. Die Folsäurebiosynthese wird von Trimethoprim und den Sulfonamiden blockiert, Novobiocin und Chinolone hemmen die Replikation bakterieller DNA, und Rifampicin legt die Transkription (RNA-Synthese) lahm.<sup>[91]</sup> Die Inhibition der bakteriellen Proteinsynthese (Translation) durch selektive Hemmung des Ribosoms<sup>[92]</sup> ist ein häufig genutzter Target-Bereich.<sup>[93–95]</sup> Antibiotika zahlreicher unterschiedlicher Strukturklassen wie Streptogramine,<sup>[96]</sup> Tetracycline,<sup>[20]</sup> Makrolide, Lincosamide, Aminoglycoside<sup>[97]</sup> oder Chloramphenicol wechselwirken alle mit dem Ribosom, jedoch mit unterschiedlichen Bindungsmodi, an verschiedenen Untereinheiten<sup>[98]</sup> oder in verschiedenen Teilschritten dieses komplexen Prozesses (Abbildung 4). Traditionell wurde der Wirkmechanismus eines Antibiotikums erst nach seiner Entdeckung, und oft lange nach seiner Einführung in die klinische Therapie, untersucht und aufgeklärt. Bei Penicillin dauerte es fast ein halbes

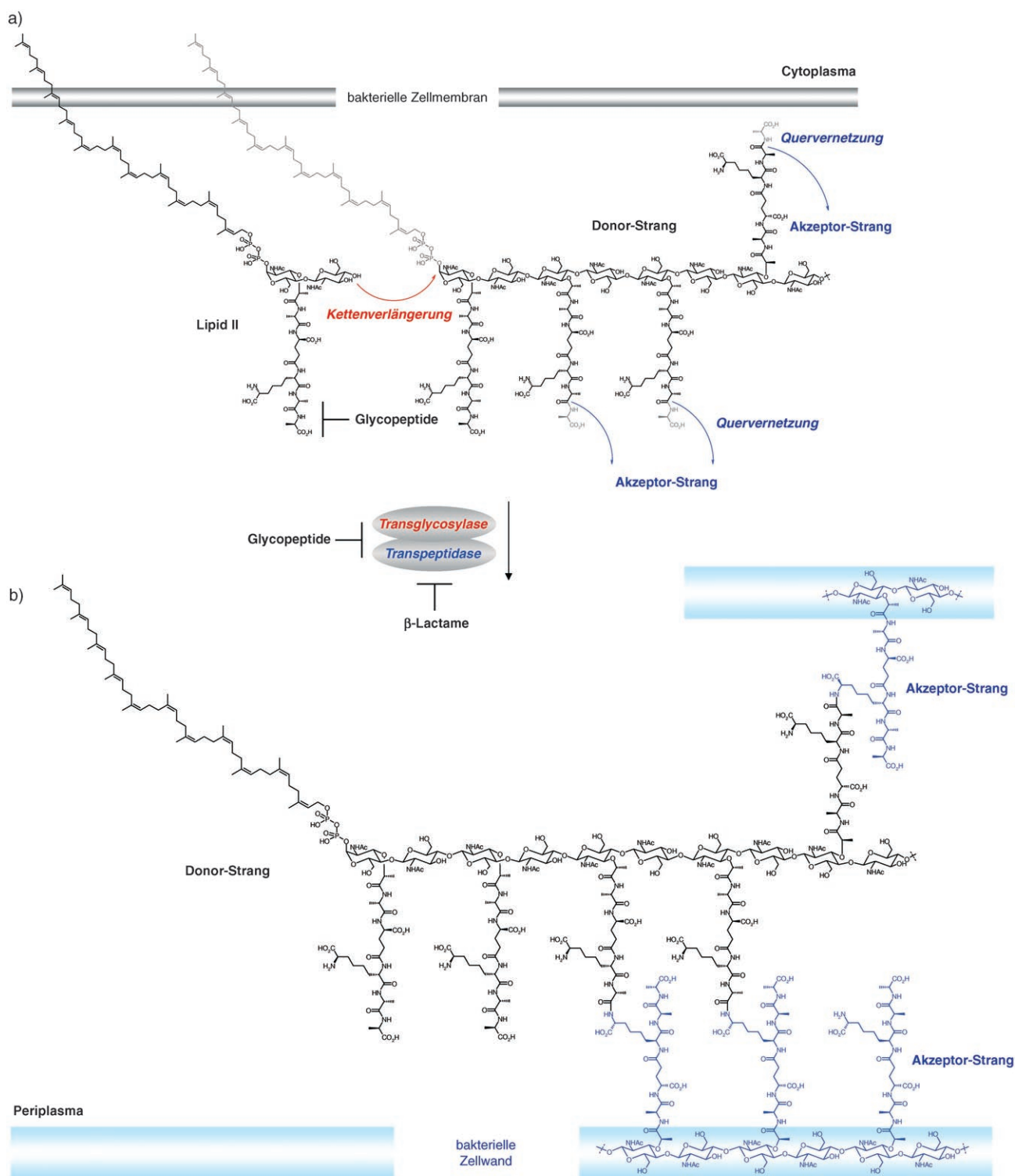
Jahrhundert, bis seine molekularen Targets, die Penicillin-Bindeproteine, identifiziert wurden.<sup>[99]</sup> Dank neuer Computermethoden und des erstaunlichen Fortschritts der Hochdurchsatztechniken in Screening, kombinatorischer Chemie und Genomik hat sich die industrielle Arzneimittelforschung grundlegend verändert (genomics revolution).<sup>[100]</sup> In den vergangenen Jahren haben sich Wissenschaftler und Manager auf der Suche nach neuen biologischen Targets von den traditionellen Ansätzen und bewährten antibakteriellen Substanzklassen abgewendet.

### 5.3. Der Target-basierte Ansatz – vom Target zur Leitstruktur

Die wachsende Information über bakterielle Genome, angestoßen durch die erste Publikation einer kompletten bakteriellen Gensequenz im Jahr 1995 (*Haemophilus influenzae*),<sup>[101]</sup> trieb zusammen mit den neuen Techniken der Gen-Expressionsprofilierung<sup>[102]</sup> und der Proteomik<sup>[103]</sup> das Paradigma funktioneller Genomanalyse voran – nicht nur in der antibakteriellen Arzneimittelforschung.<sup>[104,105]</sup> Die exponentiell anwachsende Entschlüsselung weiterer Sequenzen kompletter prokaryotischer Gene<sup>[106]</sup> legte plötzlich eine Fülle bislang brachliegender bakterieller Targets offen, die nur darauf warteten genutzt zu werden.<sup>[107]</sup> Doch ist die Identifizierung valider Targets aus Genomsequenzen keinesfalls trivial, und die Auswahl der richtigen Targets zum Screening von Substanzbibliotheken ist zur schwerwiegenden Entscheidung auf allen Gebieten der Pharmaforschung geworden.<sup>[108–111]</sup> Die genaue Kenntnis der Wirkungsweise und des molekularen Targets einer neuen antibakteriellen Verbindung wird heute als notwendige Voraussetzung für einen Projektstart erachtet. Nur auf der Grundlage dieser Information kann im Interesse rationaler Struktur-Wirkungs-Beziehungen (SAR) ein Verfahren für die Optimierung von Potenz und Selektivität im kombinierten In-vitro-/In-vivo-Screening etabliert werden.

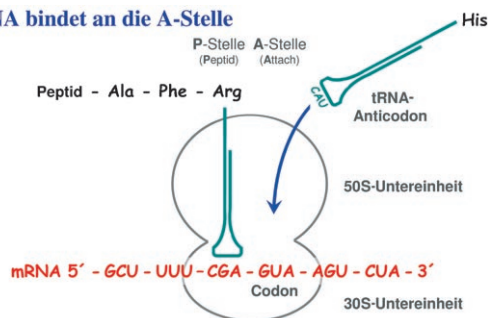
Der Target-basierte Ansatz hat viele neue Möglichkeiten eröffnet, aber der Prozess der Targetvalidierung ist facettenreich und oft mit Unsicherheiten behaftet. Ein valides antibakterielles Target<sup>[107,112]</sup> muss über einen breiten Bereich medizinisch relevanter Pathogene konserviert sein (Spektrum) und in Säugern entweder gar nicht vorhanden oder zumindest ausreichend verschieden sein (Selektivität).<sup>[113]</sup> Es muss essenziell,<sup>[112–115]</sup> screenbar<sup>[116]</sup> und arzneimitteltauglich (druggable)<sup>[117,118]</sup> sein und darf eine Kreuzresistenz zu vermarkteten Antibiotika nicht zulassen. Jedes neue Antibiotikum muss eine niedrige Resistenzfrequenz aufweisen. Ungefähr 10 % aller mikrobiellen Gene werden als essenziell für das bakterielle Wachstum in vitro angesehen (Tabelle 5),<sup>[119,120]</sup> doch der Beweis dafür, dass ein Target in vivo essenziell ist, kann experimentell sehr kompliziert sein.<sup>[121]</sup> Trotz dieser Anforderungen verbleiben genug antibakterielle Breitspektrum-Targets, weit mehr als bis heute mit etablierten Antibiotika adressiert werden konnten.

Proteine aus Gensequenzen, die diese Kriterien erfüllen, werden als Targets ausgewählt und zum Aufbau von Hochdurchsatz-Screenings (HTS)<sup>[122,123]</sup> verwendet. In einem HTS wird der Effekt einer großen Zahl von Verbindungen auf die

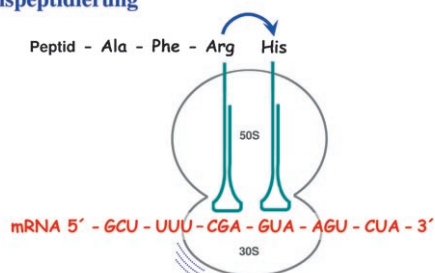


**Abbildung 3.** Peptidoglycan-Biosynthese aus der Sicht eines Chemikers. Ein idealisiertes Schema für das Gram-negative Bakterium *E. coli* ist dargestellt – die Peptidoglycan-Struktur ist für verschiedene Bakterien leicht unterschiedlich. a) Lipid II – das nächste Monomer – wird in einem Verlängerungsschritt (Transglycosylierung; rot) mit der wachsenden Peptidoglycankette verknüpft. Das Monomer und die wachsende Kette navigieren dabei mit ihren  $C_{55}$ -Lipid-Enden in der Bakterienmembran. Im Vernetzungsschritt (Transpeptidierung; blau), greift die Donorkette nach verfügbaren Akzeptorketten. b) Der entstehende Peptidoglycan (oder Murein)-Sakkulus ist ein flexibles, stabiles makromolekulares Netzwerk, das die Form der Bakterienzelle bestimmt und den Mikroorganismus gegen seinen hohen inneren osmotischen Druck schützt. Bestimmte Antibiotika beeinträchtigen diese letzten Schritte der bakteriellen Zellwandsynthese: Glycopeptid-Antibiotika binden an den D-Ala-D-Ala-Terminus von Lipid II und blockieren bakterielle Transglycosylasen und Transpeptidasen;  $\beta$ -Lactame inhibieren Transpeptidasen.

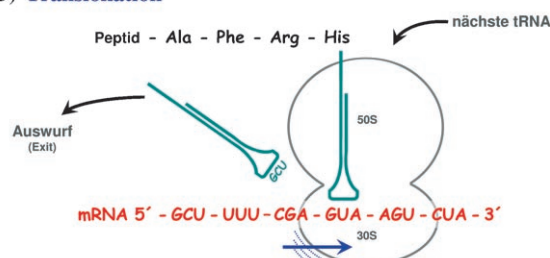
## 1) tRNA bindet an die A-Stelle



## 2) Transpeptidierung



## 3) Translokation



**Abbildung 4.** Das Ribosom, der Proteinsyntheseapparat des Bakteriums, besteht aus einer 30S- und einer 50S-Untereinheit. Es bewegt sich entlang einer Messenger-RNA (mRNA) und übersetzt die aufeinander folgenden Codes – jeweils drei Nucleotide stehen für eine spezifische Aminosäure – in eine wachsende Peptidkette: 1) Bindung: Eine Transfer-RNA (tRNA), beladen mit einer Aminosäure (His), bindet über komplementäre Basenpaarung an die Akzeptor-Stelle (A). 2) Transpeptidierung: Die tRNA in der Peptidyltransferase-Stelle (P) überträgt die wachsende Peptidkette auf die Aminosäure an der tRNA in der A-Stelle. 3) Translokation: Das Ribosom rückt zum nächsten Code auf der mRNA vor. Die neue A-Stelle ist nun frei zum Andocken der nächsten tRNA und die entladene tRNA wird abgestoßen (Auswurf-Stelle, E für Exit). Inhibitoren der bakteriellen Proteinsynthese stören diesen komplexen Vorgang auf unterschiedlichen Stufen: Tetracycline konkurrieren mit der tRNA um eine Bindung an die A-Stelle, Aminoglycoside verursachen Fehler beim Ablesen der mRNA und den Einbau falscher Aminosäuren in die wachsende Peptidkette, Chloramphenicol und Tetrahydropyrimidinon-Antibiotika blockieren die Transpeptidierung und Makrolide/Ketolide hemmen die Translokation. Viele Antibiotika wirken, indem sie den Peptid-Ausgangstunnel des Ribosoms blockieren.

enzymatische Aktivität<sup>[105]</sup> oder auf genetisch veränderte Zellen<sup>[124]</sup> überprüft. Die aktiven Verbindungen, so genannte Hits, werden erneut getestet und ergeben einen Satz „bestätigter Hits“, der dann einer Prüfung in Sekundärassays unterworfen wird, um etwa den Wirkmechanismus zu stützen oder Resistenzanalysen durchzuführen. Die bestätigten Hits werden in Gruppen ähnlicher Strukturen (Cluster) zusam-

mengefasst, priorisiert, und aus den Screening-Daten werden erste Struktur-Wirkungs-Beziehungen (SAR) erhoben. Eine eindeutige SAR dient dann als Grundlage der Optimierung von Potenz und Selektivität anhand von Target-Aktivität ( $IC_{50}$ ), MHK und, falls diese verfügbar ist, auch der Struktur des Targetproteins.<sup>[125,126]</sup> Gleichzeitig wird die chemische Reinheit der Hits geprüft, oftmals werden sie erneut synthetisiert, und ihre Tauglichkeit wird kritisch abgewogen, bevor sie sich als „Leitstrukturen“ für gezielte Chemie-Programme qualifizieren, in denen nicht nur die In-vitro-Potenz, sondern auch das pharmakologische Profil (z. B. Serum-Halbwertszeit, Gewebeverteilung und Löslichkeit) verbessert werden soll.

Das genaue molekulare Target einer Verbindung, die aus einem Einzeltarget-Screening stammt, ist prinzipiell bekannt. Doch der Wirkmechanismus vieler erfolgreicher antibakterieller Substanzklassen, wie der  $\beta$ -Lactame, Glycopeptide oder Chinolone, ist facettenreich und lässt sich keinesfalls auf die simple Wechselwirkung mit einem einzigen Target reduzieren.<sup>[127]</sup> Ohne Zweifel stoßen die „Ein-Target-eine-Krankheit“-Philosophie und die „Mono-Target-Medizin“ hier an ihre Grenzen.<sup>[128]</sup> Auch ausgefeilte genetische Strategien und Techniken waren nicht in der Lage, nur ein einziges antibakterielles Medikament, das mithilfe moderner HTS-Prozesse identifiziert wurde, zur klinischen Anwendung zu bringen.<sup>[100,129,130]</sup> Die HTS-Ansätze aller Firmen litten bislang unter einer zu hohen Target- und Assay-Diversität mit der Folge einer zu niedrigen Erfolgsrate vom Hit zur Leitstruktur.<sup>[107]</sup> In der Hoffnung, vermehrt erste Vertreter neuer Wirkstoffklassen (first-in-class drugs) zu entwickeln, verschob man die Forschungsaktivitäten weg von validierten Targets und „privilegierten“ Strukturen hin zu unbekannten Targets und einfachen, vollsynthetischen Leitstrukturen.

Aber Arzneimittel, die über neue Mechanismen wirken, scheitern mit höherer Wahrscheinlichkeit und haben entsprechend deutlich weniger zur Wertschöpfung beigetragen als Medikamente mit validierten Targets.<sup>[131]</sup> In ihrer kritischen Analyse „Antibiotics: where did we go wrong?“ sprechen Overby und Barrett von einer Verführung durch die Genomik und vom Vergessen, wie man Medikamente macht.<sup>[18b]</sup> In der Tat konzentrierten sich Target-basierte Ansätze primär auf die Target-Aktivität und brachten zwar potente Inhibitoren hervor, die jedoch oft nicht in der Lage waren, bakterielle Zellwände zu durchdringen, und damit auch keine antibakterielle Wirkung hatten. Aus einer solchen Situation heraus antibakterielle Aktivität zu erreichen und auch noch zu steigern, bedeutet einen enormen medizinisch-chemischen Aufwand, und selbst neue synthetische Strukturen mit MHK können sich bezüglich Aktivität, Spektrum und Verträglichkeit kaum mit den fortgeschrittenen Generationen etablierter Klassen messen. In letzter Konsequenz schlugen die Versuche großer wie kleiner Firmen fehl, neue und tragfähige antibakterielle Medikamente durch Target-basierte Ansätze zu finden. Für manch eine Indikation mag die Verlagerung des Schwerpunkts auf Target-basierte Forschung zur Abnahme der Produktivität der pharmazeutischen Industrie beigetragen zu haben.<sup>[132]</sup> In der antibakteriellen Arzneimittelforschung hat dieser Ansatz schlicht versagt, und daher muss er modifiziert oder ersetzt werden. Nur so kann die Produktivitätslücke wieder geschlossen werden.<sup>[133]</sup> Im

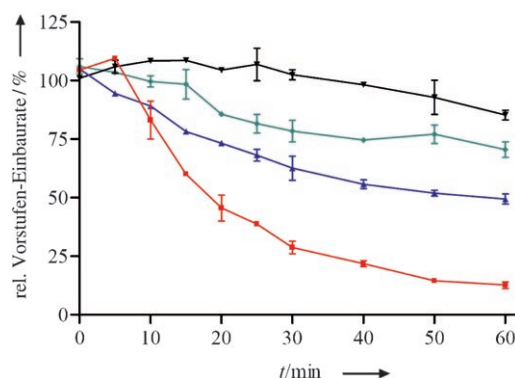


Interesse eines risikobalancierten Portfolios sollten Target-basierte Ansätze mit validen Targets, Me-toos, oder Reversed-Genomics-Ansätzen ergänzt werden.

#### 5.4. Der Reversed-Genomics-Ansatz – von der aktiven Verbindung zur Leitstruktur

Entdeckung und Auswahl einer tauglichen Leitstruktur sind der Schlüssel zum Erfolg. Unzureichende Leitstrukturqualität war der vorrangige Grund für das Versagen vieler Forschungsprogramme. Bei der Leitstrukturherzeugung ist der Reversed-Genomics(RG)-Ansatz eine effiziente komplementäre Alternative zum Target-basierten Ansatz (Abbildung 5). Er geht aus von einer aktiven antibakteriellen Verbindung mit MHK, deren Target und Wirkmechanismus noch unbekannt sind. Die moderne Molekularbiologie bietet heute ein Repertoire ausgezeichneter Techniken zur schnellen Entdeckung und Validierung unbekannter molekularer Targets und ganzer Target-Bereiche.<sup>[86,100,134,135]</sup> Bakterien reagieren auf widrige Umgebungsverhältnisse wie Hitze, Hunger oder die Gegenwart eines Antibiotikums mit der Aktivierung stressabhängiger regulatorischer Netzwerke. Die Reaktion auf ein bestimmtes Antibiotikum steht in enger Beziehung zu dessen Wirkmechanismus und kann mithilfe verschiedener Reversed-Genomics-Techniken verfolgt werden, z.B. durch 1) den Einbau spezifischer radioaktiver Vorläufermoleküle, 2) Transkriptomanalyse, 3) Proteomanalyse und 4) Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie (FT-IR). Diese Standardmethoden können durch spezifische Assays für bestimmte Stoffwechselwege, Enzymtests und resistente Mutanten ergänzt werden. Der nichtpathogene *Bacillus subtilis* ist der ideale Modellorganismus für Proteomik und die Erstellung von Expressionsprofilen.<sup>[135,136]</sup> *B. subtilis* ist eines der bestuntersuchten Bakterien und gleichzeitig eng verwandt mit den klinisch relevanten Gram-positiven Erregern.<sup>[137–140]</sup>

1) Vorstufeneinbautest: Eine schnelle Methode zur Aufklärung des Wirkmechanismus eines Antibiotikums ist die Untersuchung seines Effekts auf die wichtigsten Biosynthesewege bakterieller Makromoleküle in Gegenwart von spezifischen, radioaktiv markierten Vorläufermolekülen in intakten Zellen (Abbildung 6). Der Einbau radioaktiver Moleküle zeigt an, welcher der vier Hauptwege – Proteinbiosynthese, DNA-Synthese, RNA-Synthese oder Zellwandsynthese – am stärksten auf die Substanz reagiert. Unselektive

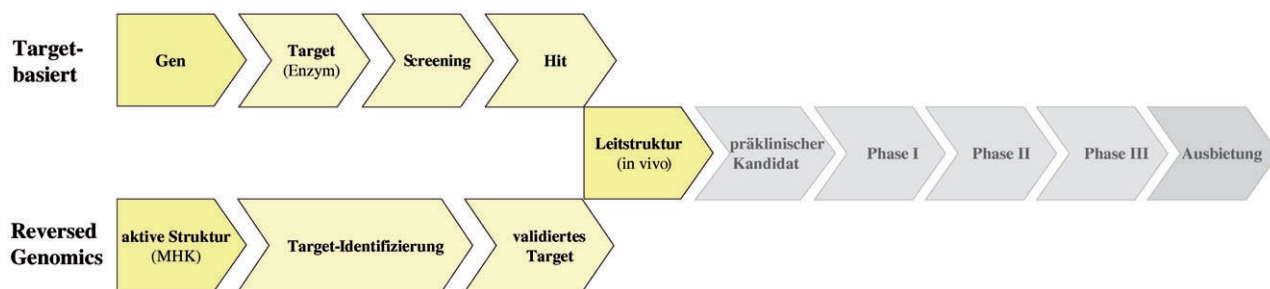


**Abbildung 6.** Einbauteil mit radioaktiven Biosynthesevorstufen: der Effekt des Tetrahydropyrimidinon-Antibiotikums **13** auf die wichtigsten Biosynthesewege bakterieller Makromoleküle von *S. aureus* in Gegenwart von spezifischen, radioaktiv markierten Vorläufermolekülen. Der Einbau radioaktiver Moleküle zeigt an, welcher der vier Hauptwege – Proteinbiosynthese/[<sup>14</sup>C]Leucin (rot), DNA-Synthese/[<sup>14</sup>C]Thymidin (blau), RNA-Synthese/[<sup>14</sup>C]Uridin (schwarz) oder Zellwandsynthese/N-Acetyl[<sup>14</sup>C]glucosamin (grün) – am stärksten auf die Substanz reagiert. Im Beispiel hemmt **13** bevorzugt die Proteinbiosynthese.<sup>[141]</sup>

Verbindungen neigen hingegen dazu, mehrere Wege gleichzeitig zu blockieren.<sup>[142,143]</sup> Dieser Assay dient als erster Hinweis für weitere Untersuchungen.

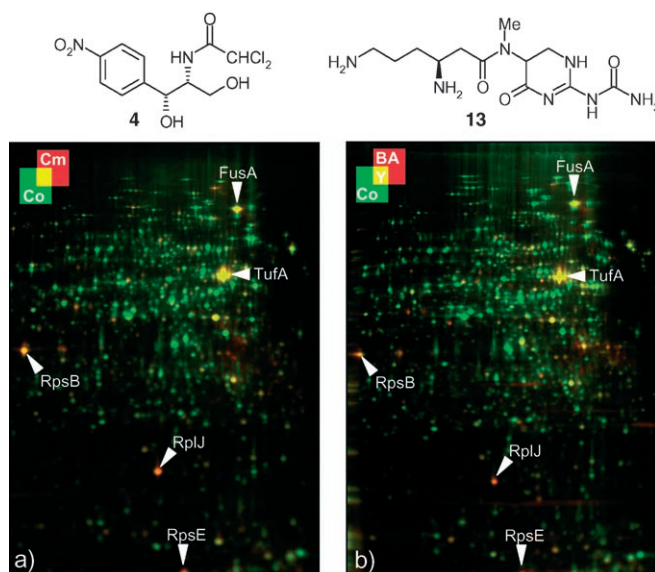
2) Transkriptomanalyse: Die Hemmung eines spezifischen Targets durch ein Antibiotikum induziert charakteristische Veränderungen im Expressionsprofil des Mikroorganismus. Diese zeigt sich in der regulativen Verstärkung oder Abschwächung bestimmter Gene. Die Transkriptionsaktivität aller Gene des bakteriellen Genoms kann gleichzeitig mithilfe von Expressionsprofiltechniken (Transkriptomanalyse) an DNA-Mikrochips untersucht werden. Die erhaltenen Profile können mit den Referenzprofilen etablierter Antibiotika verglichen werden und erlauben so Rückschlüsse auf den Wirkmechanismus neuer antibakterieller Verbindungen. Die Transkriptomanalyse ist zu einem effizienten Hilfsmittel bei der Suche nach dem Wirkmechanismus oder Target neuer Wirkstoffe geworden.<sup>[138,142,144]</sup> Mit einem passenden Satz an Referenz-Antibiotika lässt sich der Wirkmechanismus von Verbindungen mit analogem Mechanismus rasch aufklären.

3) Proteomanalyse: Durch Antibiotika verursachte Veränderungen im Genexpressionsmuster bakterieller Erreger lassen sich quantitativ auch auf der Proteinebene untersuchen.



**Abbildung 5.** Target-basierter Ansatz und Reversed-Genomics-Ansatz als komplementäre Prozesse bei der Suche nach antibakteriellen Leitstrukturen.

chen, indem die zellulären Proteine mit zweidimensionaler Gelelektrophorese aufgetrennt und studiert werden (Abbildung 7).<sup>[136]</sup> Diese Methode vermag alle Veränderungen auf Translationsebene aufzuzeigen, auch Varianten und Modifi-



**Abbildung 7.** Die Proteomanalyse ist ein wertvolles Hilfsmittel zur Klassifizierung bakterieller Wirkmechanismen. Durch Antibiotika verursachte Veränderungen im Genexpressionsmuster bakterieller Erreger lassen sich untersuchen, indem die zellulären Proteine mit zweidimensionaler Gelelektrophorese aufgetrennt und studiert werden. Jedes Antibiotikum hat ein individuelles Proteinexpressionsprofil, doch ähnliche Expressionsmuster (Pfeile) weisen auf einen verwandten Wirkmechanismus hin. Der Vergleich des Profils von **13** mit dem Profil von Chloramphenicol (**4**) zeigt, dass **13** ein Peptidyl-Transferase-Inhibitor ist.<sup>[136]</sup>

kationen bestimmter Proteine. Die Proteomanalyse wurde sowohl bei der Klassifizierung von Wirkmechanismen neuer antibakterieller Substanzen<sup>[136]</sup> als auch zur Targetvalidierung<sup>[145]</sup> erfolgreich eingesetzt.

4) FT-IR-Spektroskopie: Infrarotspektren von ganzen Bakterien können ebenfalls zur Aufklärung von Wirkmechanismen dienen. Werden Bakterien mit Antibiotika behandelt, so treten charakteristische Veränderungen im IR-Absorptionsverhalten auf. Eine Aufzeichnung dieser Veränderungen im Fourier-Transformations-Infrarotspektrum (FT-IR) gibt Hinweise auf die prinzipiellen Wirkmechanismen.<sup>[146,147]</sup>

Diese Reversed-Genomics(RG)-Techniken ergänzen sich gegenseitig und stellen in ihrer Gesamtheit eine effiziente Plattform zur Identifizierung und Validierung von Leitstrukturen dar. Nach unserer nun mehr als zehnjährigen Erfahrung mit sowohl dem Target-basierten HTS- als auch dem RG-Ansatz hat letzterer, besonders wenn er bei Naturstoffen eingesetzt wird, eine signifikant höhere Erfolgsrate bei der Generierung valider antibakterieller Leitstrukturen. Trotzdem erwarten wir, dass am Ende die ausgewogene Kombination aller Technologien, zusammen mit neuen Ideen, den Weg zu validen Leitstrukturen und neuen antibakteriellen Medikamenten bahnen wird.

## 6. Die chemische Post-Evolution antibakterieller Naturstoffe

Zurzeit fühlen sich Naturstoffchemiker in der chemischen Industrie fast wie Neanderthaler.<sup>[148]</sup> Naturstoff-Forschung wird vielerorts stigmatisiert als altmodisch, teuer, ineffizient und nicht kompatibel mit den Arbeitsabläufen der modernen Arzneimittelforschung.

### 6.1. Naturstoff-basierte Antibiotika sind anders

Antibakterielle Arzneimittel unterscheiden sich in vielen Aspekten von „anderen“ Wirkstoffen (Tabelle 6). Wichtige empirische Regeln der medizinischen Chemie (von Lipinski et al. formuliert<sup>[149]</sup>) treffen häufig auf Naturstoff-basierte antibakterielle Wirkstoffe nicht zu (Makrolide, Glycopeptide). Viele antibakterielle Medikamente müssen die – oft gegensätzlichen – Anforderungen einer parenteralen und einer oralen Anwendung gleichzeitig erfüllen.

**Tabelle 6:** Gegenüberstellung von Antibiotika aus Naturstoffen und „anderen“ Arzneimitteln (empirisch).

| Thema                         | Antibiotika   | Andere (Lipinski usw.)   |
|-------------------------------|---|--|
| <b>Target/Wirkmechanismus</b> | mehrere Targets, multivalent, vollständige Hemmung des Targets notwendig  | Einzeltarget, selektiv, Modulation des Targets oft ausreichend |
| <b>Struktur</b>               | komplex, mehrere Pharmakophore  | einfach, einzelnes Pharmakophor                                |
| <b>Physikochemie</b>          | $M_w$ [g mol <sup>-1</sup> ] > 500<br>log MA (pH 7.5) < 3 (parenteral) < 5 (oral)<br>rotierbare Bindungen > 10<br>H-Donoren > 5 (parenteral)<br>H-Akzeptoren > 10<br>Löslichkeit [g L <sup>-1</sup> ] > 0.5–2 | < 500<br>< 5<br>< 10<br>< 5<br>< 10<br>< 1                     |
| <b>Pharmakokinetik</b>        | Dosis oft hoch<br>Proteinbindung [%] kritisch   | oft niedrig<br>weniger kritisch                                |

Die antimikrobielle Chemotherapie beruht auf Paul Ehrlichs Prinzip der „selektiven Toxizität“. Antibakterielle Wirkstoffe hemmen das Wachstum von Bakterien (bakteriostatisch) oder – noch besser – töten sie ab (bakterizid). Die schnelle Vernichtung pathogener Bakterien *in Zusammenarbeit mit dem Immunsystem* ist das Ziel jeder Behandlung. Die Tatsache, dass antibakterielle Chemotherapie eine „Killer-Disziplin“ ist, hat mannigfaltige Konsequenzen für das physikochemische und pharmakologische Profil antibakterieller Wirkstoffe.

**Targets:** In vielen Therapiegebieten ist die partielle Modulierung eines einzigen Targets vollkommen ausreichend für einen pharmakologischen Effekt. Dagegen erfordert eine effiziente antibakterielle Therapie oft die *komplette Hemmung mehrerer Targets*. Essenzielle bakterielle Biosynthesewege müssen dabei vollkommen blockiert werden. Die Inhibition mehrerer Targets erhöht die In-vitro-Potenz und minimiert gleichzeitig die Resistenzentwicklung. Viele Naturstoffe agieren gleichzeitig über mehrere Wirkmechanismen und verhalten sich so wie „Pharmakophor-Chamäleons“ (Vancomycin). In der Tat neigen Antibiotika zu hohen Molekulargewichten und „abschreckend“ komplexen Strukturen.

**Physikochemie:** Das Polaritätsfenster eines Antibiotikums wird von Löslichkeitsanforderungen und Penetrationsphänomenen bestimmt. Bei Gram-negativen Bakterien erfolgt die Aufnahme über Porine, die oft eine schwierige Eintrittsbarriere für lipophile Moleküle sind.<sup>[77]</sup> Für parenterale Medikamente ist eine ausreichend hohe Löslichkeit in wässrigem Medium eine Grundvoraussetzung (0.5 bis 2 g L<sup>-1</sup> oder mehr). Infolgedessen müssen parenterale antibakterielle Medikamente eine gewisse Polarität mitbringen (log MA < 3). Andererseits vermögen zu polare Moleküle die bakterielle Cytoplasma-Membran nur unzureichend zu durchdringen.<sup>[150]</sup> Sehr polare Wirkstoffe wiederum können sich über spezifische aktive Transportmechanismen in Bakterien anreichern. In diesen Fällen ist eine passive Diffusion durch die Membran nicht erforderlich. Sowohl Influx- als auch Efflux-Phänomene haben stets etwas mit Polarität zu tun. Auch bakterielle Transporter für mehrere Wirkstoffe (multi-drug transporter) pumpen amphiphile und lipophile Verbindungen rascher wieder aus dem Bakterium als hydrophile Moleküle. Um in vivo wirksam zu sein, muss eine orale Verbindung substanzielle passive Absorption aus dem Magen-Darm-Trakt ins Blut zeigen, eine weitere Eigenschaft, für die ausreichende Löslichkeit und moderate Lipophilie gefordert sind.<sup>[151]</sup> Aufgrund dieser speziellen Polaritätsanforderungen können viele kombinatorische Substanzbibliotheken von der Suche nach Antibiotika grundsätzlich ausgeschlossen werden. Freie OH und NH Gruppen sind „bedrohte Spezies“ in kombinatorischen Bibliotheken. Sie verlocken den kombinatorischen Chemiker zur dekorierenden Derivatisierung. Deshalb, und auch wegen der einfacheren Endreinigung, enthielten kombinatorische Standardbibliotheken lange Zeit eher lipophile als polare Verbindungen.

**Pharmakokinetik/Pharmakodynamik:** Bakterielle Erreger können zwar jeden Teil des menschlichen Körpers befallen, doch die meisten Infektionen sind lokal begrenzt (Blut, Haut, Lunge, Harnwege). Der Konzentrations-Zeit-Verlauf des ungebundenen Wirkstoffs am Ort der Infektion wird durch dessen pharmakokinetische Eigenschaften bestimmt ( $V_{ss}$ ,  $t_{1/2}$ , AUC,  $f_u$ ). Die Proteinbindung von Antibiotika sollte möglichst nicht zu hoch sein (unter 90 %), da ausschließlich die freie Verbindung wirken kann (ungebundene Fraktion,  $f_u > 10\%$ ).<sup>[152]</sup>

Die abtötende Wirkung einer bestimmten Antibiotika-Konzentration (Konzentration gegen antibakteriellen Effekt) hängt von den pharmakodynamischen Charakteristika der betreffenden Substanz ab. Nur eine spezielle Form des Zeit-

verlaufs der Wirkstoffkonzentration garantiert klinische Wirksamkeit. Dieser „Treiber der Wirksamkeit“ wird durch den pharmakokinetischen/pharmakodynamischen Index (PK/PD-Index; Zeit gegen antibakteriellen Effekt)<sup>[60,153]</sup> beschrieben, der für verschiedene antibakterielle Arzneimittel sehr unterschiedlich sein kann. Der PK/PD-Index der meisten  $\beta$ -Lactam-Antibiotika ist beispielsweise die „Zeit über der MHK“: Ein ausreichender Abtötungseffekt wird nur erreicht, wenn die  $\beta$ -Lactam-Konzentration am Ort der Infektion für etwa 40 % der Behandlungsdauer über der MHK verbleibt (ca. 9 h pro Tag).

**Dosis:** Im Unterschied zu anderen Therapeutika sind bei Antibiotika oft sehr hohe Dosen nötig, um ausreichende Wirkstoff-Konzentrationen im infizierten Gewebe zu erreichen. Bei schweren Infektionen können einem Patienten täglich bis zu 36 g Penicillin G oder 4 g Erythromycin verabreicht werden.<sup>[154]</sup> Die Gabe solch hoher Dosen setzt eine hervorragende Verträglichkeit voraus. Erwartungsgemäß sind deshalb Arzneimittel gegen bakterielle Targets, die es in Säugern nicht gibt (Peptidoglycan), aussichtsreich für einen guten therapeutischen Index. Diese Medikamente können prinzipiell keine mechanismusbasierte Unverträglichkeit aufweisen. Trotzdem können sie natürlich andere Toxizitätsprobleme haben (Nephro- und Ototoxizität bei Aminoglycosiden; Verlängerung des QT-Intervalls durch veränderte Herzerregung und Phototoxizität bei bestimmten Chinolonen).

## 6.2. Sind Naturstoffe gute Arzneimittel?

Viele Naturstoffe sind hervorragende Ausgangspunkte für die medizinische Chemie, doch nur wenige Naturstoffe erfüllen in unveränderter Form das komplexe Anforderungsprofil eines Medikaments (Daptomycin, Erythromycin, Penicillin G, Tetracyclin, Vancomycin).<sup>[73,74]</sup> Obwohl der medizinische Chemiker und die „antibakterielle Mikrobe“ ein gemeinsames Ziel haben, nämlich das Wachstum bakterieller Erreger zu kontrollieren, muss ein Arzneimittel zusätzliche physikochemische, pharmakologische, toxikologische und technische Anforderungen erfüllen, die nicht zu den Selektoren der Evolution antibakterieller Sekundärmetaboliten zählen.

Begrenzte chemische Stabilität oder schlechte Löslichkeit sind typische Schwachpunkte von Naturstoff-Leitstrukturen, die besonders für die Entwicklung parenteraler Anwendungsformen kritisch sind. Außerdem ist die Patentlage bei unveränderten Naturstoffen oft weniger eindeutig als bei semisynthetischen Derivaten. Viele Naturstoffe haben eine komplexe Struktur und ein hohes Molekulargewicht. Große Strukturen verletzen die Lipinski-Regeln<sup>[149]</sup> und werden – bis auf wenige Ausnahmen – nicht aus dem Magen-Darm-Trakt ins Blut absorbiert. Orale Anwendungsformen sind dann nicht möglich. Komplexe Strukturen vermitteln schnell den Eindruck, ihre technische Entwicklung werde vergleichsweise teuer. Das schmale antibakterielle Spektrum verschiedener Naturstoff-Hits kann auf ihrer schlechten Affinität zum Target beruhen, viel häufiger jedoch sind dafür physikochemische Effekte verantwortlich. Enge Membranaffinitäts-

fenster oder Efflux-Phänomene begrenzen den Transport durch die unterschiedlichen Membranen verschiedener Erreger. Diese Pathogene werden dann nicht angegriffen (Spektrumsücke). Manche natürliche Antibiotika zeigen gerade in Standardtests (MHK) ungenügende In-vitro-Potenz, weil sie zu stark an Serumproteine binden (niedrige  $f_u$ ) oder Adhäsionsphänomenen im Testsystem unterliegen. Ungünstige pharmakokinetische Parameter in Tier oder Mensch, beispielsweise geringe Halbwertszeit im Körper ( $t_{1/2}$ ), hohe Ausscheidungsrate ( $C_L$ ), geringe metabolische Beständigkeit, niedrige Spiegel (AUC) oder ungenügende Verteilung in infiziertes Gewebe ( $V_{ss}$ ), können auch bei guter MHK allesamt einen kompletten Verlust der In-vivo-Wirksamkeit verursachen. Die Verträglichkeit ist einer der kritischen Parameter von natürlichen Antibiotika-Leitstrukturen. So haben viele Tetracycline und manche Chinolone phototoxische Nebenwirkungen und der Einsatz von Aminoglycosiden wird stets durch die ihnen eigene Nephro- und Ototoxizität kompliziert.

Ein ernsthaftes Chemie-Programm auf der Grundlage eines Naturstoff-Hits ist nur dann sinnvoll, wenn sich der Screening-Hit durch weitere SAR-Datenpunkte validieren lässt. Nur ein validierter Hit kann die nötigen Kriterien für eine neue Leitstruktur auch erfüllen. Im Unterschied zu kombinatorischen Substanzbibliotheken, die oft ganze Hitcluster mit vorläufigen SAR-Daten liefern, erhält man aus Naturstoff-Screenings meist nur Einzelhits (singletons) und keine weitere Information über das Strukturumfeld. An diesem Punkt wird die aufwändige Neusynthese verwandter Verbindungen eine Grundvoraussetzung zur Erstellung einer ersten SAR-Information. Bei der Entscheidung, ob ein Hitcluster (Synthetica) oder ein Einzelhit (Naturstoff) bearbeitet werden soll, ziehen die Naturstoffe oft den Kürzeren.

### 6.3. Natürliche Evolution und chemische Post-Evolution – Orthogonalität im Substrukturraum

Naturstoffe stammen aus natürlichen Evolutionsprozessen. In ähnlicher Weise unterwirft auch der medizinische Chemiker Naturstoffe einer evolutionären Optimierung (chemische Post-Evolution). In Lernzyklen entstehen verschiedene Generationen von Abkömmlingen der Naturstoff-Leitstruktur. Günstige Eigenschaften werden in die folgende Leitstrukturgeneration vererbt, schlechte werden verworfen. Individuelle Mutationen werden in jeder Generation neu gemischt und auf ihre Kompatibilität geprüft. Die Permutation von Eigenschaften männlicher und weiblicher Individuen (Sex) ist eine Grundstrategie der natürlichen Evolution, während die Kombination unterschiedlicher Leitstrukturgruppen (additive SAR) entscheidend für den Erfolg in der medizinischen Chemie ist.

Ersichtlich haben natürliche Selektion und chemische Post-Evolution nicht die exakt gleiche Zielsetzung. Dennoch spielen überraschend viele Stoffeigenschaften sowohl für die natürliche Evolution als auch für die medizinisch-chemische Optimierung eine wichtige Rolle. In beiden Prozessen tragen individuelle Parameter wie Wirkstärke am

Target, Löslichkeit, Membrangängigkeit oder Toxizität zur „Fitness“ einer bestimmten Substanz bei.

Nur die Natur konzipiert hochkomplexe Pharmakophore de novo im immerwährenden Zusammenspiel von Mutation und Selektion. Mit einer geradezu minimalistischen Palette an Ausgangsverbindungen – Acetat, Propionat, Mevalonat, Shikimi-Säure, Aminosäuren – kreiert sie erstaunlich vielfältige Strukturen. Evolutive Strukturveränderungen in Naturstoffen basieren auf Mutationen der Biosynthesemaschinerie. Die modulare Synthesestrategie der Natur zwingt zur Strukturvariation durch neue Kombinationen bekannter Synthesebausteine und Syntheseoperationen (Polyketidsynthese). Überdies werden mannigfaltige Verfeinerungen in den abschließenden Schritten der Biosynthese vorgenommen (Oxidation, Methylierung, Kondensation).

Die Einführung neuer Ausgangsmaterialien blieb während der Evolution ein seltenes Ereignis, da sie eine grundlegende Umstellung von Biosynthesewegen erforderte, die sich über Jahrmillionen entwickelt haben. Die strukturelle Co-Evolution von Proteinen und Naturstoffen war vermutlich ein weiterer Grund für die Beschränkung auf wenige Hauptwege zur Biosynthese natürlicher Primär- und Sekundärmetabolite. Ein bemerkenswerter Substruktur-Konservatismus war die Folge. Mit biosynthetisch geschultem Auge kann man in fast allen bekannten Naturstoffen immer wieder die gleichen Struktur motive entdecken. In der Tat setzen sich die vielfältigen makroskopischen Strukturen der Naturstoffe aus einem eng begrenzten Satz von Substrukturelementen zusammen.

Der Chemiker hingegen kann den eingefahrenen Strukturpfaden der evolutionär gewachsenen Biosynthesewege ohne großen Aufwand entfliehen. Alltägliche Strukturelemente der organischen Chemie sind für natürliche Produzenten so gut wie unerreichbar (*tert*-Butyloxy- oder Fluoraryl-Gruppen, die meisten bekannten Heterocyclen). Für den Chemiker hingegen ist die Verwendung eines anderen Ausgangsmaterials ein bequemer Weg zu struktureller Diversität. Ergänzend zur Natur, kann er diese Möglichkeit nutzen, um zusätzliche Substrukturräume zu erforschen. In gewisser Weise ist die chemische Post-Evolution von Naturstoffen daher strukturell orthogonal zur natürlichen Evolution. Innerhalb kurzer Zeit kann die medizinische Chemie weiße Flecken im Strukturraum (und in der biologischen Wirkung) erschließen, die durch Mikroorganismen, Pilze, Pflanzen und Tiere über den gesamten Evolutionszeitraum nicht angegangen wurden.

### 6.4. Chemische Post-Evolution von Naturstoffen

Die medizinische Chemie hat die anspruchsvolle Aufgabe eine Naturstoff-Leitstruktur gleichzeitig auf In-vitro-Potenz, In-vivo-Wirksamkeit, gute Verträglichkeit, arzneimittelähnliche physikochemische Eigenschaften und ein gutes pharmakokinetisches Profil zu optimieren (chemische Post-Evolution). Die Chemie arbeitet hierbei interdisziplinär mit der Mikrobiologie, der Pharmakologie und der Toxikologie zusammen. Struktur-Wirkungs-Beziehung (SAR), Struktur-Toxizitäts-Beziehung (STR) und die grundlegenden pharma-



kokinetischen Charakteristika einer Strukturklasse werden anhand von biologischen Daten aus einer – individuell für das Projekt konzipierten – „Screening-Kaskade“ in Lernzyklen erarbeitet (Testsequenz). Die meisten Naturstoff-Hits werden zunächst wegen ihrer In-vitro-Potenz (MHK) ausgewählt. Dann muss die medizinische Chemie dem Molekül zusätzliche Eigenschaften beibringen, beispielsweise Löslichkeit und Verträglichkeit, ohne dass jedoch die wesentliche antibakterielle Aktivität verlorengeht.

Für die industrielle Arzneimittelforschung sind Projektlaufzeiten maßgeblich. Daher bereiten Projekte mit komplexen Naturstoffen besondere Schwierigkeiten. Nur ein tiefes Vertrauen in die Naturstoff-Leitstruktur wird den Medizinalchemikern davon abhalten, auf „einfachere“ kleine Moleküle auszuweichen, die sich zur Parallelsynthese eignen und damit die Herstellung einer großen Zahl von Testverbindungen garantieren. Oft werden Naturstoff-Leitstrukturen vorschnell als unoptimierbar abqualifiziert, nur weil eine steile SAR vorliegt (wenige Strukturen sind potent) oder weil die SAR parallel zur STR verläuft (potente Derivate sind toxisch). In vielen Fällen hat dies weniger mit der Leitstruktur selbst zu tun als mit der begrenzten Diversität vorliegender Derivate. Oft gelingt es nicht, die Leitstruktur durch Synthesechemie wirklich zu durchdringen (Gerüstvariationen). Stattdessen werden die natürlichen Pharmakophore der Leitstruktur mit lipophilen Resten „zugekleistert“ (Grenzen des Templat-Konzepts).

Entgegen einem verbreiteten Vorurteil ist es möglich, die evolutionär entwickelte antibakterielle Aktivität eines Antibiotikums im chemischen Labor noch deutlich zu verbessern, und das obwohl der Naturstoff über Jahrtausende auf diese Aktivität hin optimiert wurde.<sup>[155]</sup>

### 6.5. Natürliches Ausgangsmaterial ist meistens knapp

Naturstoffchemiker müssen oft mit sehr kleinen Substanzmengen auskommen. Die Beschaffung von natürlichen Vergleichsproben ist eine der großen Herausforderungen für Naturstoffprojekte in der pharmazeutischen Industrie. Gerade zu Beginn eines Projekts sind Naturstoff-Hits aus dem Screening zumeist nur in Milligramm-Mengen verfügbar. Leider kann man es sich aber nur in wenigen Projekten leisten, weiteren Naturstoff durch eine Totalsynthese herzustellen, ohne dabei zuviel Zeit und Ressourcen zu riskieren. Alternativ können Kooperationen mit akademischen Arbeitsgruppen zeitgerecht weiteres Ausgangsmaterial liefern (durch De-novo-Synthese).

In der Regel ist die Fermentation die effizienteste Quelle für natürliches Ausgangsmaterial. Dennoch lässt sich nicht jeder Naturstoff-Hit biotechnologisch gewinnen. Viele Produzentenstämme sind entweder nicht verfügbar oder können nicht kultiviert werden (Mycorrhiza-Pilze). Andere Organismen hingegen wachsen zwar, produzieren aber unter Kulturbedingungen keine antibiotischen Sekundärmetabolite. Erfahrungsgemäß gelingt es nur wenigen Expertengruppen, Fermentationsverfahren derartig reproduzierbar zu gestalten, wie es für eine technische Entwicklung im Kubikmetermaßstab erforderlich ist.

### 6.6. In der Industrie ist die De-novo-Synthese komplexer Naturstoffe selten

Nur die De-novo-Synthese eröffnet so weitreichende Möglichkeiten zur Strukturvariation, wie sie für eine umfassende Leitstrukturbewertung erforderlich sind (Tabelle 7).

**Tabelle 7:** Unterschiedliche Wahrnehmung von De-novo-Synthese und Semisynthese antibakterieller Naturstoffe.

|   | De-novo-Synthese  | Semisynthese  |
|---|---|---|
| <b>Ansehen</b>                                  | Totalsynthese, Kunst in der organischen Chemie – „erschaffen“ | Derivatisierung, Hilfsmittel der organischen Chemie – „nachbessern“ |
| <b>Literatur</b>                                | unzählbar   | unterrepräsentiert (in Patenten verteilt)                           |
| <b>Dauer</b>                                    | langsam   | schnell   |
| <b>Bedarf an natürlichem Vergleichsmaterial</b> | kleine Mengen   | größere Mengen an Startmaterial (Fermentation und Isolierung)       |
| <b>SAR</b>                                      | global und umfassend  | lokal begrenzt  |
| <b>Aktivität der Produkte</b>                   | Bioaktivität „garantiert“                                     | meist inaktive Vertreter  |
| <b>Nachteile</b>                                | lange Syntheserouten  | Selektivitätsprobleme (viele ungeschützte Funktionalitäten)         |
| <b>Vorteile</b>                                 | Kontrollierte Selektivität (orthogonale Schutzgruppen)        | kurze Syntheserouten  |
| <b>Umgang mit funktionalisiertem Naturstoff</b> | im letzten Syntheseschritt                                    | die ganze Zeit  |
| <b>Technische Umsetzung</b>                     | Herstellungskosten sind kritisch                              | erwiesene wirtschaftliche Bedeutung                                 |

Zahlreiche Naturstoffe wurden durch De-novo-Synthesen erforscht. In der Industrie waren es vor allem peptidische Strukturen sowie Strukturen mittlerer Komplexität. Beispielsweise hat die De-novo-Synthese eine Schlüsselrolle für die chemische Optimierung und die technische Entwicklung der Carbapeneme gespielt. Hingegen ist die De-novo-Synthese komplexer Strukturen mit hohem Molekulargewicht zeitaufwändig und teuer. Die höchste Hürde für jeden De-novo-Syntheseansatz mit komplexen Molekülen ist die Phase der technischen Entwicklung. Ein „guter“ Wirkstoffkandidat mag zwar in der Forschungsphase durch Totalsynthese zugänglich sein, gibt es jedoch später keinen praktischen Einstieg in die Produktentwicklung über Fermentation und Semisynthese, so kann es passieren, dass diese – biologisch hervorragende – Verbindung im technischen Maßstab nie kostendeckend produziert werden kann. Deshalb können sich

nur wenige medizinisch-chemische Programme den Luxus leisten, die SAR komplexer Leitstrukturen in der exploratorischen Projektphase durch De-novo-Synthese zu etablieren. Tatsächlich wurde bislang das medizinische Potenzial vieler lange bekannter („alter“), komplexer Wirkstoffklassen nie grundlegend mithilfe von De-novo-Synthesen ausgeleuchtet. Nicht ein einziges vollsynthetisches Glycopeptid, Tetracyclin, Aminoglycosid oder Rifampicin-Derivat hat jemals die klinische Phase erreicht. Obwohl Totalsynthesen einzelner Vertreter dieser Strukturklassen beschrieben wurden, fehlt bis heute eine umfassende SAR oder STR. Aus der Perspektive des Chemikers sind diese Klassen also nicht „alt“! Ihre ernsthafte Erforschung durch De-novo-Synthese könnte neue klinische Kandidaten hervorbringen.

Auch für andere Therapiegebiete (z. B. Onkologie, virale Infektionskrankheiten) ist die De-novo-Synthese von Bedeutung. Ein äußerst beeindruckendes Beispiel bietet etwa die wirtschaftliche De-novo-Festphasensynthese des 36 Aminosäuren umfassenden Anti-HIV-Peptids Enfuvirtid.<sup>[156]</sup> Aktuelle Beispiele aus der Chemie der Epothilone,<sup>[157]</sup> von Ecteinascidin 743 und Discodermolid haben bewiesen, dass komplexe De-novo-Synthesen tatsächlich zu Erfolgen in der Arzneimittelforschung führen können, wenn industrielle und akademische Gruppen kooperieren.

### 6.7. An der Semisynthese kommt man in der Industrie nicht vorbei

Die Semisynthese kann nur einen begrenzten Bereich der Naturstoff-Leitstruktur adressieren, dafür zeichnet sie sich aber durch Schnelligkeit und Konvergenz aus. In der Industriepraxis ist sie oft die beste Methode für die Leitstruktur-optimierung, vor allem in der frühen, exploratorischen Projektphase. Langjährige Erfahrung und moderne Analysetechniken (HPLC, LC-ESI-MS, NMR) erlauben bei initialen SAR-Studien präparatives Arbeiten im 100- $\mu$ g-Maßstab, auch mit komplexen Molekülen (Mikroderivatisierung). Orientierende In-vitro-Tests sind schon mit weniger als 1 mg Substanz möglich (MHK, Cytotoxizität). Auch in späteren Stadien der Produktentwicklung (kg-Maßstab) ergibt sich die Semisynthese oft als logische Konsequenz aus der Komplexität der Molekülstruktur, den Zeitvorgaben und den geschätzten Herstellungskosten. Viele bereits am Markt etablierte antibakterielle Wirkstoffe sind semisynthetische Abkömmlinge von Naturstoffen. Fast alle stammen aus der Veredelung von Fermentationsprodukten durch chemische Synthese (Oritavancin, Tigecyclin,<sup>[21]</sup> Telithromycin, Rifampicin).<sup>[4]</sup>

### 6.8. An den Hochschulen interessiert man sich wenig für Semisynthesen

Trotz der konkurrenzlosen Bedeutung in der Wirkstoff-Forschung ist Derivatisierungschemie in der chemischen Fachliteratur deutlich unterrepräsentiert. Während Totalsynthesen dort ein hohes Ansehen genießen, widmen sich nur wenige Organiker aus akademischen Gruppen der semisyn-

thetischen Bearbeitung komplexer Naturstoffe. Das war nicht immer so: Im 20. Jahrhundert ertasteten sich Pioniere wie Willstätter und Robinson mithilfe von Derivatisierungs- und Abbaureaktionen den Weg durch komplexe Alkaloide.<sup>[158]</sup> Heute dagegen wird Derivatisierung als schlichtes Hilfsmittel angesehen, das unterstützend bei der Strukturaufklärung mitwirkt, wenn spektroskopische Methoden allein nicht ausreichen (Mosher-Ester für NMR-Spektroskopie, Persilylierung für GC-Analysen, Einführung von Schweratomen zur Röntgenstrukturanalyse).

Nur Totalsynthesen werden als „hohe Kunst“ gefeiert. Sie alleine erschaffen komplexe Strukturen von Grund auf. Bei dieser Betrachtung wird leicht übersehen, dass auch die Derivatisierung komplexer Naturstoffe eine schwierige wissenschaftliche Aufgabe ist, die nur durch die Anwendung modernster Methoden, sowohl in der Synthese als auch in der Analytik, bewältigt werden kann. Der Derivatisierungsschemiker nähert sich dem Zielmolekül über ein „Minenfeld“ von ungeschützten funktionellen Gruppen. Mangelnde Selektivität kann jeder geplanten chemischen Umwandlung zum Verhängnis werden. Dagegen werden störende Funktionalitäten bei der Totalsynthese schon im Zustand geringer Komplexität durch Schutzgruppen ruhig gestellt. Der Totalsynthetiker hält den eigentlichen Naturstoff erst nach dem – oft erlösenden – letzten Syntheseschritt in der Hand. Viele chemische Funktionalitäten, von denen die eigentliche biologische Aktivität ausgeht, sind während der Totalsynthese stets durch Schutzgruppen blockiert. Im Unterschied dazu gewinnt der Semisynthetiker weit mehr Erfahrung mit dem eigentlichen Naturstoff. Er arbeitet oft mit der vollständigen und damit funktionstüchtigen Struktur. Dem Medizinalchemiker bietet sich hierbei die Möglichkeit, die Architektur und die intrinsische Reaktivität der natürlichen Leitstruktur viel besser zu verstehen als durch reine Betrachtung von Lewis-Strukturen oder die Arbeit mit (geschützten) Molekülfragmenten.

Im Vorfeld einer Totalsynthese eines natürlichen Antibiotikums ist die in der Literatur beschriebene biologische Aktivität der Zielverbindung garantiert. Hingegen sind durch Derivatisierung erhältliche Naturstoff-Analoga nicht selten inaktiv und damit von geringerem Wert. Die Totalsynthese eines Naturstoffs wird oft an prominenter Stelle veröffentlicht; durch Semisynthese oder De-novo-Synthese gewonnene Analoga haben es erfahrungsgemäß oft schwerer bei den Gutachtern. Die Bearbeitung von Naturstoff-Analoga birgt ein hohes Risiko, Unpublizierbares zu erforschen.

### 6.9. Grundtypen der Strukturmodifikation – Welches ist die beste Strategie?

Naturstoffe werden durch chemische Derivatisierung verändert (Strukturmodifikation). Auch durch De-novo-Synthese lassen sich Naturstoffderivate – im Sinne einer formalen Strukturmodifikation – herstellen. Der Erfolg einer Naturstoffbearbeitung hängt entscheidend vom ausgewählten Modifikationskonzept ab. Drei Grundtypen der Strukturmodifikation lassen sich unterscheiden: 1) dekorierende Modifikation (attach), 2) abbauende Modifikation (cut out)

und 3) substituierende Modifikation (cut out & re-attach). Zahlreiche synthetische Naturstoffanaloga sind Kombinationen der genannten Modifikationstypen. So wurde beispielsweise Telithromycin durch abbauende Modifikation und dekorierende Modifikation von Erythromycin erhalten (Tabelle 8). Es gibt also keine feste Unterscheidung zwischen Modifikationsprodukten und Mimetika von Naturstoffleitstrukturen.

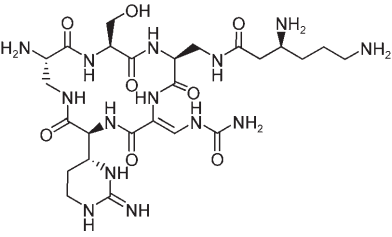
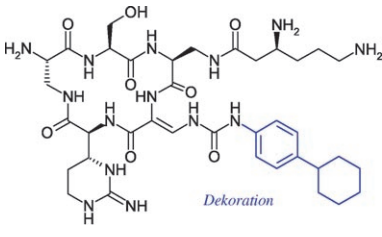
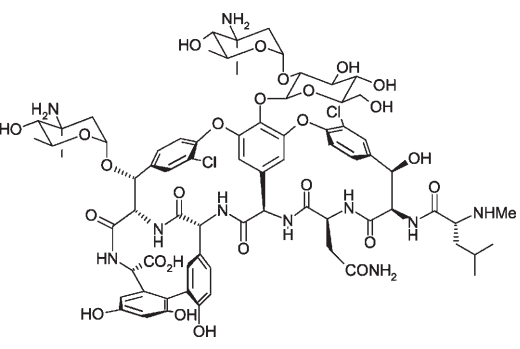
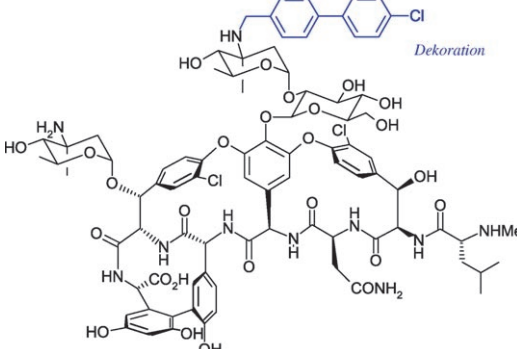
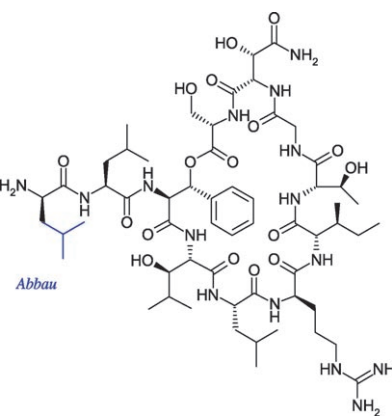
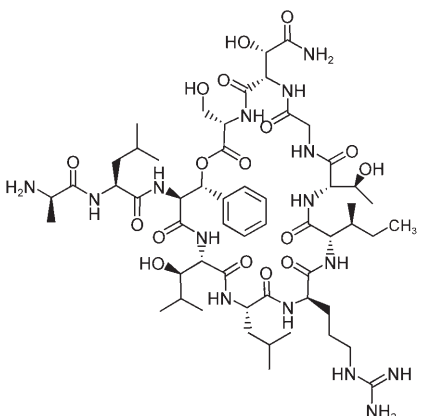
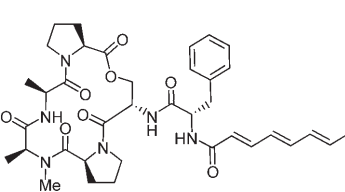
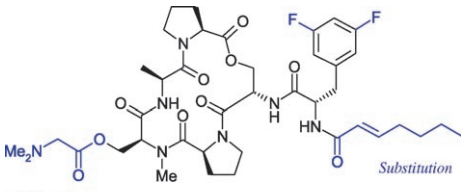
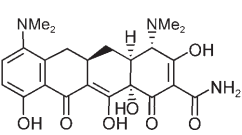
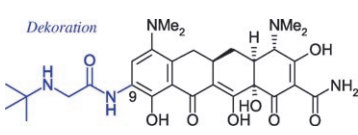
Die *dekorierende Modifikation* ist sehr beliebt in der medizinischen Chemie, speziell in der Semisynthese. Funktionelle Gruppen des Naturstoff-Templats dienen als Ankerpunkte für zusätzliche, nichtnatürliche Reste. Reduktive Al-

kylierungen, Acylierungen, PEGylierungen<sup>[159]</sup> und Hydrierungen sind „klassische“ dekorierende Derivatisierungsverfahren. Verschiedene Glycopeptide aus der Vancomycin-Serie wurden beispielsweise durch reduktive Alkylierung mit lipophilen Biphenyl-Einheiten versehen (Oritavancin). Geladene Reste werden eingeführt, um die Löslichkeit zu erhöhen. Mit leicht abspaltbaren Resten lassen sich Prodrugs herstellen. Bei der Dekoration komplexer Strukturen mit mehreren chemischen Funktionalitäten sind die Regio- und Chemo Selektivität fast immer problematisch, und nur arbeitsintensive Schutzgruppenoperationen können hier Abhilfe schaffen.

**Tabelle 8:** Modifikation natürlicher Leitstrukturen durch Semisynthese und De-novo-Synthese. Modifikationstyp, Modifikationsort (blau) und erzielter Fortschritt.

| Naturstoff-Leitstruktur    | Synthetisches Derivat     | Modifikationstyp   | Fortschritt   |
|----------------------------|---------------------------|--|---|
| <p>Penicillin G (2)</p>    | <p>Methicillin (14)</p>   | substituierende Modifikation durch Semisynthese, Mutasynthese und De-novo-Synthese | erhöhte Stabilität  |
| <p>Erythromycin A (6)</p>  | <p>Telithromycin (15)</p> | abbauende und dekorierende Modifikation; Abbau von Cladinose                       | neuer Bindungsmodus, geringere Kreuzresistenz zu 6, Stabilität in saurem Medium |
| <p>Lincomycin (16)</p>     | <p>VIC-105555 (17)</p>    | substituierende Modifikation durch Semisynthese                                    | geringere Resistenzinduktion  |
| <p>Moiramid B (18)</p>     | <p>19</p>                 | dekorierende Modifikation durch De-novo-Synthese                                   | erhöhte Potenz und Stabilität   |
| <p>TAN-1057A/B (20)</p>    | <p>13</p>                 | abbauende Modifikation des Toxophors durch De-novo-Synthese                        | verminderte Toxizität   |
| <p>Biphenomycin B (21)</p> | <p>22</p>                 | substituierende Modifikation durch Semisynthese und De-novo-Synthese               | verbessertes antibakterielles Spektrum  |

Tabelle 8: (Fortsetzung)

| Naturstoff-Leitstruktur  | Synthetisches Derivat   | Modifikationstyp   | Fortschritt  |
|--|---|--|--|
|  <p>Capreomycin 1 A (<b>23</b>)</p> |  <p><b>24</b> (<math>R^1 = OH</math>)</p> | dekorierte<br>Modifikation<br>durch Semisyn-<br>these  | erhöhte Potenz<br>und breiteres anti-<br>bakterielles Spek-<br>trum            |
|  <p>Chloreremomycin (<b>25</b>)</p> |  <p>Oritavancin (<b>26</b>)</p>           | dekorierte<br>Modifikation<br>durch Semisyn-<br>these  | zusätzlicher Wirk-<br>mechanismus,<br>breiteres antibak-<br>terielles Spektrum |
|  <p>Lysobactin (<b>27</b>)</p>     |  <p>[D-Ala¹]Lysobactin (<b>28</b>)</p>   | abbauende Mo-<br>difikation im li-<br>nearen Segment<br>durch Semisyn-<br>these, Edman-<br>Abbau | vorläufige SAR   |
|  <p>A 54556 B (<b>29</b>)</p>     |  <p><b>30</b></p>                       | dekorierte<br>und substituie-<br>rende Modifika-<br>tion durch De-<br>novo-Synthese              | erhöhte Potenz,<br>Löslichkeit und<br>Stabilität                               |
|  <p>Minocyclin (<b>31</b>)</p>    |  <p>Tigecyclin (<b>32</b>)</p>          | dekorierte<br>Modifikation<br>durch Semisyn-<br>these  | geringere Resis-<br>tenz durch bessere<br>Bindung an das<br>Ribosom            |



Ganz anders verhält sich die Situation bei kleineren Naturstoffen. Deren simple Dekorationsprodukte sind oftmals biologisch inaktiv.<sup>[160]</sup> Die wenigen vorhandenen funktionellen Gruppen sind häufig unverzichtbar für die Wechselwirkung mit dem Target. Hier maskiert die dekorierende Modifikation nur das Pharmakophor anstatt andere Eigenschaften zu modulieren. Diese Art der chemischen „Barockisierung“ hat verschiedene Naturstoffklassen zu unrecht als unoptimierbar abgestempelt.

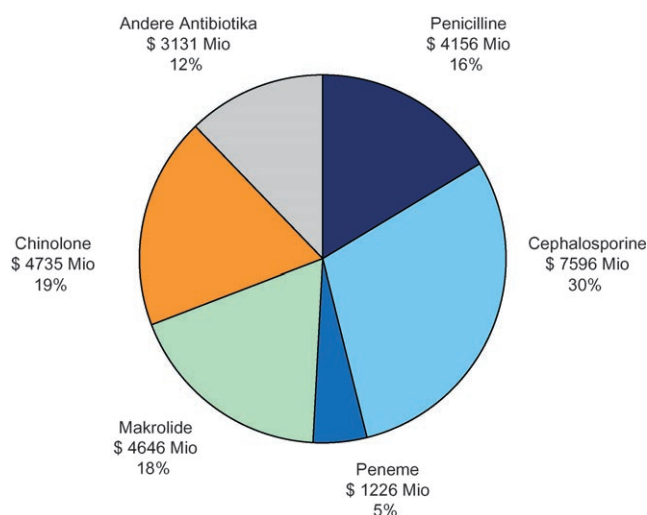
Die *substituierende Modifikation* ist ein besonders effizientes Konzept in der Semisynthese. Eine tiefergehende Erkundung der natürlichen Leitstruktur ist möglich. Zunächst werden dabei definierte Bereiche des Moleküls chemisch herausgeschnitten. Nachfolgend wird die Lücke durch bioisosteren Ersatz, Mimetika oder abiotische Konstrukte wieder geschlossen. Diese Strategie bietet mehrere Vorteile: Es können nicht nur Gruppen in der Peripherie der Leitstruktur adressiert werden, sondern es sind auch Modifizierungen des inneren Molekülgerüsts möglich. Die Veränderung biologischer Eigenschaften als Folge von Strukturänderungen wird anhand einer vollständigen, wenn auch lokal begrenzten, SAR ausgelotet. Die substituierende Derivatisierung ist methodisch anspruchsvoller als die dekorierende. Ein tiefgreifendes Verständnis der Reaktivität des Naturstoffs ist erforderlich. Stehen ausreichend selektive Abbaureaktionen nicht zur Verfügung, muss die De-novo-Synthese herangezogen werden. Arbeiten zu Penicillinen haben über Jahrzehnte das Potenzial der substituierenden Modifikation durch Semisynthese oder De-novo-Synthese unter Beweis gestellt.

Die *abbauende Modifikation* ist ein probates Mittel, wenn strukturell definierte Toxophore oder labile Gruppen, die nicht gleichzeitig Pharmakophore sind, mit chemischen Mitteln aus der Leitstruktur entfernt werden können. Bereiche des Naturstoffes, die für die Wechselwirkung mit dem biologischen Target nicht benötigt werden, können abgebaut werden, um beispielsweise die Stabilität zu erhöhen (Ramoplanin-Aglycon) oder die Komplexität der Struktur zu verringern. Allerdings vereiteln Chemo-selektivitätsprobleme oftmals den „direkten“ semisynthetischen Abbau. Nur die De-novo-Synthese liefert dann die gewünschten trunkierten Derivate, formale Abbauprodukte des Naturstoffs. Beispielsweise zeigt **13** als Resultat eines formalen Guanidin-Abbaus eine signifikant niedrigere Cytotoxizität als der Naturstoff TAN-1057 (**20**, Abschnitt 12).

## 7. $\beta$ -Lactam-Antibiotika

Die  $\beta$ -Lactam-Antibiotika wurden als erste Naturstoffklasse zur Therapie bakterieller Infektionen verwendet. Auch heute noch, mehr als 75 Jahre nach Flemings Entdeckung des Penicillins in Kulturen von *Penicillium notatum*,<sup>[161]</sup> gehört diese Substanzgruppe zu den klinisch meistverwendeten Antibiotika;  $\beta$ -Lactame machen etwa die Hälfte aller Verschreibungen aus (Abbildung 8).

Wegen ihres breiten antibakteriellen Spektrums, ihrer klinischen Wirksamkeit und ihrer ausgezeichneten Verträglichkeit sind die  $\beta$ -Lactam-Antibiotika zu einem der herausragenden Gebiete der pharmazeutischen Arzneimittelfor-

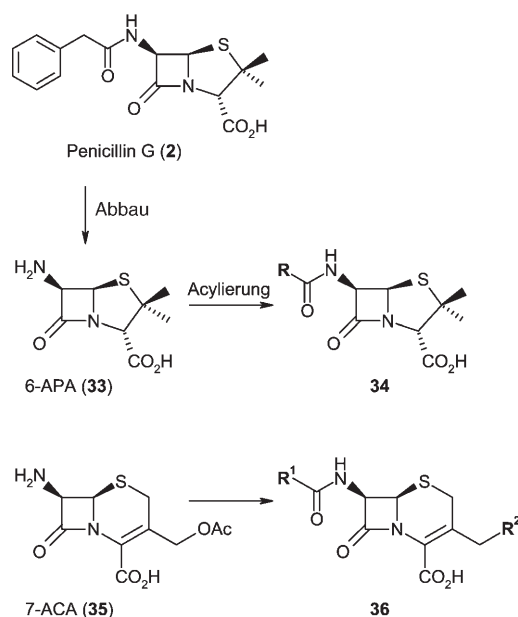


**Abbildung 8.** Globale Umsätze der wichtigsten antibakteriellen Substanzklassen im Jahr 2004 (Quelle: Wood Mackenzie<sup>[69]</sup>).

schung geworden. Ihre kompakte, hoch funktionalisierte Struktur war eine anspruchsvolle „Spielwiese“ für Generationen von medizinischen Chemikern, die bis heute ihre Attraktivität nicht verloren hat. Alle  $\beta$ -Lactam-Antibiotika haben ein gemeinsames Strukturmerkmal und Aktionszentrum: den viergliedrigen Azetidinon- oder  $\beta$ -Lactam-Ring. In den meisten Antibiotika ist dieser zentrale  $\beta$ -Lactam-Ring mit einem weiteren fünf- oder sechsgliedrigen Ring anelliert. Im vielstufigen Biosyntheseprozess zu Penicillinen und Cephalosporinen, verwendet die Natur L-Valin, L-Cystein und L- $\alpha$ -Aminoadipinsäure als Bausteine. Mit der Hilfe einer modularen nichtribosomalen Peptid-Synthetase wird ein intermediäres Tripeptid konstruiert, das von Isopenicillin-N-Synthetase oxidativ in das primäre Penicillin, Isopenicillin-N, umgewandelt wird.<sup>[162]</sup>

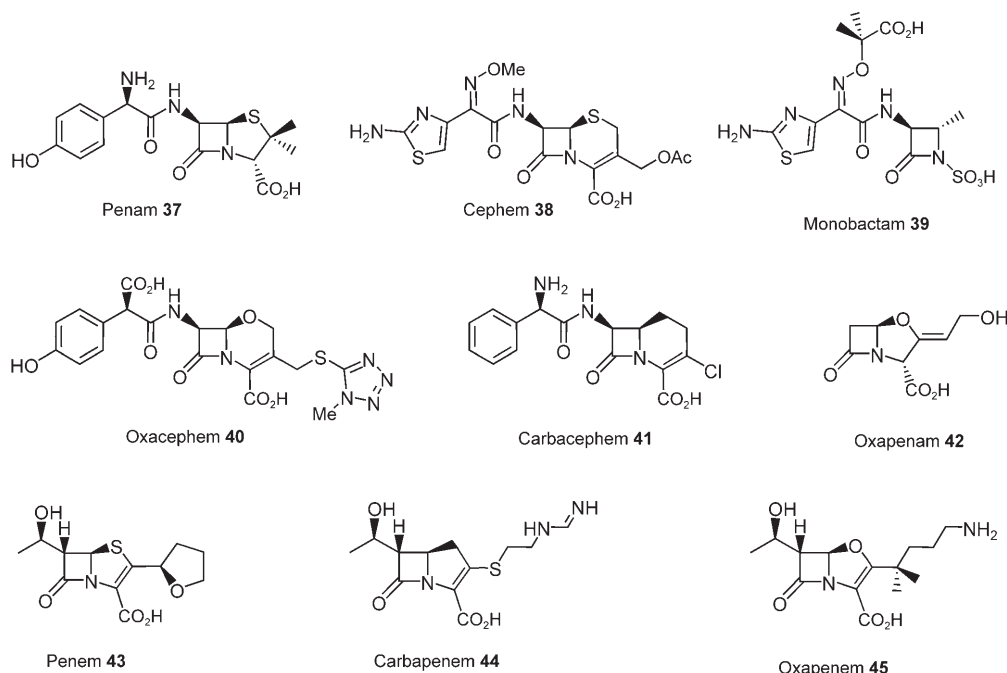
Natürliches Penicillin G (**2**), das erste therapeutische Antibiotikum und die Leitstruktur dieser Klasse, musste noch bezüglich etlicher kritischer Eigenschaften verbessert werden: schmales antibakterielles Spektrum, Instabilität in saurer (Magen) und basischer Umgebung (Darm), geringe Löslichkeit, ausgeprägte Hydrolyseempfindlichkeit gegenüber bakteriellen Penicillasen und rasche Ausscheidung aus dem Körper. Weitere Biosyntheseuntersuchungen führten zu Penicillin V,<sup>[163]</sup> dem ersten oral anwendbaren  $\beta$ -Lactam-Antibiotikum mit verbesserter Aktivität gegen Staphylokokken und erhöhter Säurestabilität. Doch erst als die Schlüsselbausteine 6-Aminopenicillansäure (6-APA, **33**)<sup>[164]</sup> und 7-Aminocephalosporansäure (7-ACA, **35**)<sup>[165]</sup> leicht verfügbar wurden – aus Hochproduzentenstämmen von *Penicillium chrysogenum*,<sup>[164]</sup> durch enzymatische Spaltung von Penicillin G (**2**) mit Penicillin-Acylase<sup>[166]</sup> oder durch chemische Synthese – begannen die medizinischen Chemiker mit dem unendlichen Spiel semisynthetischer Variationen (Schema 1).

Über fast dreißig Jahre blieben die Penicilline (Pename) **37**<sup>[167]</sup> und Cephalosporine (Cepheme) **38**<sup>[167–169]</sup> die einzigen  $\beta$ -Lactam-Antibiotika. Erst im Forschungsboom der 1970er und 1980er Jahre wurden, entweder in mikrobiellen Kulturen oder durch Synthesestudien, viele verwandte Untergruppen



**Schema 1.** Semisynthetische Modifikationen der Bausteine 6-APA (33) und 7-ACA (35) durch substituierende Derivatisierung.

entdeckt: Monobactame wie Aztreonam (39),<sup>[170]</sup> Oxacepheme wie Moxalactam (40),<sup>[167,171]</sup> Carbacepheme wie Lorcacarbef (41),<sup>[172]</sup> Oxapeneme wie Clavulansäure (42),<sup>[173]</sup> Peneme wie Faropenem (43),<sup>[173a,174]</sup> Carbapeneme wie Imipenem (44)<sup>[170,175]</sup> und Oxapeneme wie AM-112 (45).<sup>[176]</sup> Endlose Strukturvariationen dieser  $\beta$ -Lactam-Gerüste führten zu wirksameren Derivaten mit verbesserten physikochemischen und pharmakokinetischen Profilen.<sup>[168]</sup> Viele Aspekte und Untergruppen aus dieser wichtigen Forschungsarbeit sind ausgiebig besprochen worden.<sup>[177]</sup> Daher werden hier nur einige Beispiele, Sachverhalte und Literaturhinweise erwähnt.

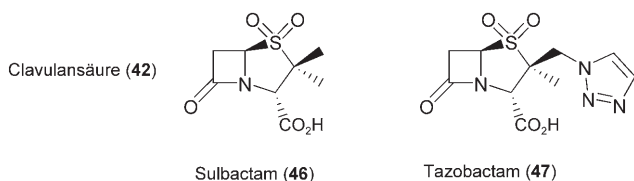


$\beta$ -Lactam-Antibiotika hemmen das Wachstum von Bakterien durch Wechselwirkung mit den Penicillin-Bindeproteinen (PBPs); diese Enzyme sind für die abschließenden Transpeptidierungsschritte (Vernetzung) der bakteriellen Zellwandbiosynthese zuständig.<sup>[178]</sup> Der historische Begriff PBP demonstriert anschaulich, wie eine Antibiotika-Klasse zum Aufspüren neuer Targets („target fishing“) und zur Aufklärung biologischer Prozesse verwendet werden kann. Die Enzyme verwechseln  $\beta$ -Lactam-Antibiotika mit den C-terminalen L-Lys-D-Ala-D-Ala-Enden der Murein-Peptidketten, die sie vernetzen sollen. Der Serinrest in ihrem aktiven Zentrum öffnet den  $\beta$ -Lactam-Ring unter Bildung eines inerten Acyl-Enzym-Intermediats, wodurch das PBP-Enzym blockiert wird.<sup>[179]</sup> Die daraus folgenden Vernetzungsschäden im Peptidoglycan sind todbringend für empfindliche Mikroben, da in den meisten Fällen darauf die komplette Zerstörung der Bakterienzelle durch Autolysine folgt.<sup>[180]</sup>

Der Peptidoglycan (oder Murein)-Sakkulus, ein flexibles und enorm stabiles makromolekulares Netzwerk, bestimmt die Form der Bakterienzelle und schützt den Mikroorganismus gegen seinen hohen inneren osmotischen Druck.<sup>[181]</sup> Die chemische Struktur von Peptidoglycan verschiedener Bakterien ist unterschiedlich. Bei den meisten Bakterien besteht es aus Ketten alternierend  $\beta$ -1,4-verknüpfter N-Acetyl-Glucosamine und N-Acetyl-Muraminsäuren, die durch kurze Peptidketten vernetzt sind (Abbildung 3).<sup>[182]</sup> Peptidoglycane und verwandte Biosynthesewege sind bei Säugern nicht zu finden. Deswegen sind  $\beta$ -Lactam-Antibiotika im Allgemeinen hervorragend verträglich und werden häufig in der Pädiatrie (bei Kindern) eingesetzt. Peptidoglycan-Fragmente warnen unseren Körper vor eindringenden Bakterien und lösen eine Immunantwort aus.

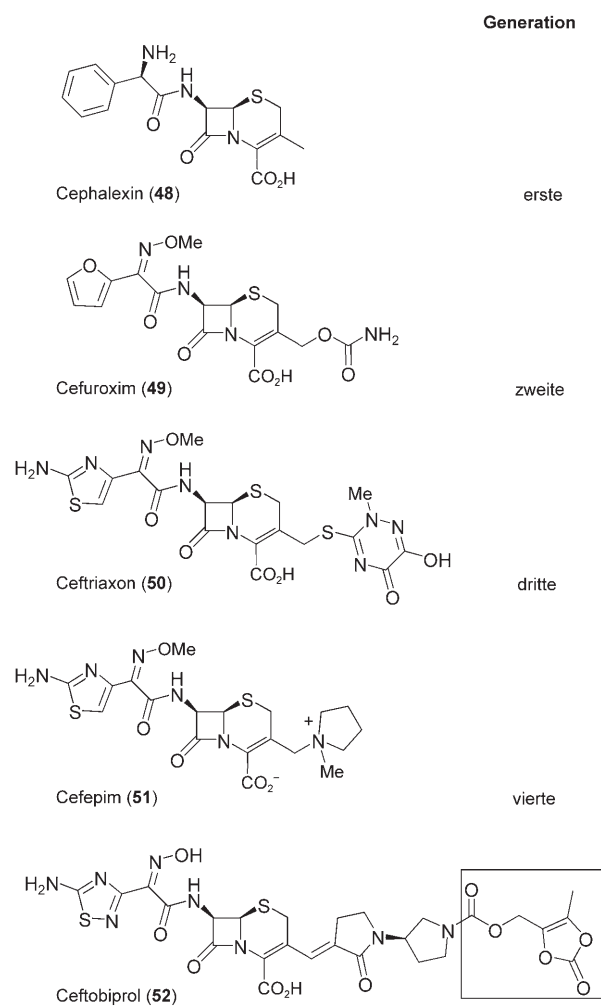
Die spezifische Wirkung verschiedener  $\beta$ -Lactam-Antibiotika resultiert aus einer Kombination ihrer unterschiedlichen Affinitäten zu PBPs, ihrer Stabilität gegenüber dem Abbau durch  $\beta$ -Lactamasen und Unterschieden in ihren physikochemischen Eigenschaften. Diese wichtigen Kenngrößen oder deren Kombinationen spielen auch eine Schlüsselrolle bei der Resistenzentwicklung. Resistenz gegen  $\beta$ -Lactam-Antibiotika kann verschiedene Ursachen haben: Ein verändertes PBP, beispielsweise beim Penicillin-resistenten *S. pneumoniae* (PRSP), ein zusätzliches PBP niedriger Affinität wie PBP2a im Methicillin-resistenten *S. aureus* (MRSA),<sup>[183]</sup> verminderte Durchdringung der bakteriellen Zellwand bei Stämmen von *P. aeruginosa* ohne äußeres Membranprotein OprD (D2

Porin),<sup>[184]</sup> Aktivierung verschiedener Efflux-Pumpen wie MexAB-OprM bei *P. aeruginosa*<sup>[185]</sup> und die Produktion von  $\beta$ -Lactamasen, die das Antibiotikum durch Hydrolyse seines  $\beta$ -Lactam-Rings inaktivieren.<sup>[186]</sup> Vor allem bei Gram-negativen Bakterien ist die Produktion von  $\beta$ -Lactamasen eine wichtige Ursache für die Resistenz gegen  $\beta$ -Lactam-Antibiotika. Bis heute wurden nahezu 500  $\beta$ -Lactamasen beschrieben und in vier Klassen A bis D eingeteilt.<sup>[187]</sup> Die Klassen A, C und D sind Serin-Proteasen, Enzyme der Klasse B sind Zink-Metallo- $\beta$ -lactamasen.<sup>[188]</sup> Resistenzen durch Enzyme der Klassen A und C sind heute von besonderer klinischer Bedeutung, doch die anderen Klassen holen auf. Als eine erfolgreiche therapeutische Strategie hat sich die Verabreichung eines  $\beta$ -Lactamase-Inhibitors zusammen mit einem  $\beta$ -Lactam-Antibiotikum erwiesen.<sup>[189]</sup> Augmentan, die Kombination des  $\beta$ -Lactamase-Inhibitors Clavulansäure (**42**) mit Amoxycillin (**37**), ist ein repräsentatives, kommerziell sehr erfolgreiches Beispiel dafür.<sup>[190]</sup> Clavulansäure (**42**), gewonnen aus *Streptomyces clavuligerus*, zählt zu den wenigen natürlichen  $\beta$ -Lactamen, die in unveränderter Form therapeutisch eingesetzt werden.<sup>[191]</sup> Dennoch wirken **42** und andere vermarktete  $\beta$ -Lactamase-Inhibitoren wie Sulbactam (**46**)<sup>[177d]</sup> und Tazobactam (**47**)<sup>[192]</sup> nicht gegen Enzyme der Klasse C. Die meisten  $\beta$ -Lactamase-Inhibitoren binden schlecht an PBPs und zeigen selbst fast keine antibakterielle Aktivität.



Die Stabilität der Cephalosporine gegen  $\beta$ -Lactamasen und die Breite ihres antibakteriellen Spektrums wurden während ihrer chemischen Post-Evolution schrittweise verbessert. Nach ihrer Wirksamkeit und ihrem Aktivitätsprofil, nicht nach Strukturkriterien, wurden sie in vier Generationen eingeteilt.<sup>[169]</sup> Cepheme der ersten Generation wirken gegen Gram-positive Staphylokokken und Streptokokken, sind aber nur mäßig wirksam gegen nicht  $\beta$ -Lactamase-bildende Gram-negative Bakterien. Diese Schwäche wurde in den folgenden Generationen verbessert, allerdings auf Kosten ihrer Wirkung gegen Gram-positive Pathogene. Besonders die leistungsstarken und sicheren Cepheme der dritten Generation wie Cefotaxim, Cefixim, Cefibuten und Ceftriaxon (**50**) wurden bei Patienten breit eingesetzt. Im Vergleich zu den frühen Generationen decken die Cepheme der vierten Generation, Cefepim (**51**) und Cefpirom ein breites Spektrum Gram-negativer Erreger ab (einschließlich mehrfach resistenter *Enterobacter*- und *Klebsiella*-Spezies).

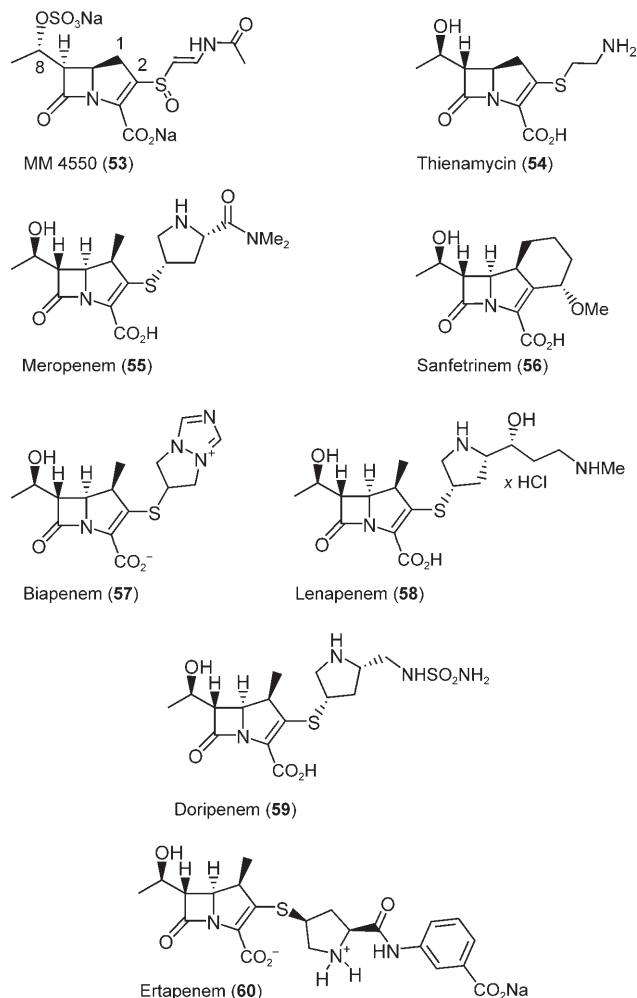
Unlängst kam eine weitere Gruppe dazu: Die Anti-MRSA-Cephalosporine<sup>[193]</sup> zeigen zusätzlich zu einem Gram-negativen Spektrum, vergleichbar mit demjenigen der dritten Generation, noch ein breites Gram-positives Spektrum. Auch gegen Methicillin-resistente Staphylokokken zeichneten sie sich erstmals durch eine brauchbare Wirksamkeit aus. Für



Ceftobiprol (BAL5788, **52**), den am weitesten fortgeschrittenen Vertreter, wurden kürzlich klinische Phase-II-Studien an Patienten mit komplizierten Hautinfektionen (cSSSI) abgeschlossen.<sup>[169]</sup> Von diesen Cephemen ist nur Cephalexin (**48**) klein und lipophil genug, um nach oraler Gabe bioverfügbar zu sein. Alle anderen Beispiele sind parenterale Medikamente. Eine geläufige Möglichkeit, große polare Cepheme bioverfügbar zu machen, besteht in der Anwendung von Ester-Prodrugs wie Cefuroxim-Axetil.<sup>[194]</sup> Nach der Absorption aus dem Gastrointestinaltrakt, wird die Esterfunktion rasch gespalten, und die aktive Stammverbindung wird freigesetzt. Im Prodrug **52** sollte die N-terminale Carbamat-Funktion (durch ein Kästchen markiert) dem aktiven Stamm-Cephem BAL-9141 eine ausreichende Löslichkeit für die parenterale Anwendung verleihen.<sup>[169]</sup>

Wegen ihrer hervorragenden antibakteriellen Wirkung, ihres sehr breiten Spektrums und ihrer Stabilität gegenüber den meisten klinisch relevanten Serin- $\beta$ -Lactamasen, haben sich die Carbapeneme<sup>[175,177e]</sup> als Ersttherapie für schwere Krankenhausinfektionen durchgesetzt. Olivansäuren wie MM 4550 (**53**)<sup>[195]</sup> und Thienamycin (**54**)<sup>[196]</sup> waren die ersten Verbindungen dieser Untergruppe. Die Olivansäuren wurden im Zuge eines Screenings bei der Suche nach  $\beta$ -Lactamase-Inhibitoren aus *Streptomyces olivaceus* entdeckt. Diese *cis*-

substituierten  $\beta$ -Lactame weisen zusätzlich zu ihrer Hemmwirkung gegen  $\beta$ -Lactamasen ein breites antibakterielles Spektrum auf,<sup>[197]</sup> für die klinische Anwendung waren sie jedoch zu instabil.



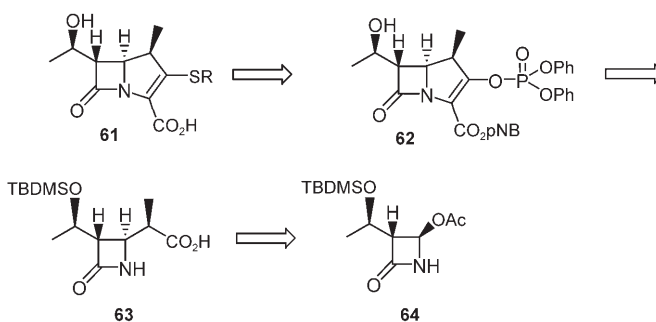
Das erste Carbapenem, das Eingang in die Klinik fand, war Imipenem (**44**), das *N*-Formimidoyl-Derivat von Thienamycin (**54**), einem weiteren äußerst instabilen natürlichen Antibiotikum mit freier terminaler Aminogruppe und *trans*-substituiertem  $\beta$ -Lactam-Ring. Das *trans*-Substitutionsmuster und die 8*R*- anstelle der 8*S*-Konfiguration verbesserte die antibakterielle Wirkung unter Erhalt der  $\beta$ -Lactamase-Stabilität. Thienamycin (**54**) wurde im Zuge eines Bodenproben-Screenings zur Identifizierung von Inhibitoren der Peptidoglycan-Synthese aus Kulturen von *Streptomyces cattleya* isoliert;<sup>[198]</sup> kurz danach wurde auch seine erste Totalsynthese beschrieben.<sup>[199]</sup> Die basische Amidinogruppe von Imipenem (**44**) liegt bei physiologischem pH-Wert protoniert vor, wodurch **44** deutlich beständiger wird als der Naturstoff **54**. Diesen bahnbrechenden Arbeiten folgten während der 1980er Jahre Carbapenem-Forschungsprogramme in zahlreichen Firmen. Im Unterschied zu anderen  $\beta$ -Lactamen sind Carbapeneme stabil gegen die meisten wichtigen  $\beta$ -Lactamasen,<sup>[200]</sup> und im Allgemeinen sind nur Enzyme der Klassen B

und D in der Lage, Carbapeneme zu inaktivieren.<sup>[201]</sup> Doch neben der Notwendigkeit, stabile und potente Derivate empfindlicher Naturstoffe zu entwerfen, mussten noch eine Reihe zusätzlicher Probleme gelöst werden. Weil **44** in vivo durch die Dehydropeptidase I in der menschlichen Niere hydrolytisch gespalten wurde, musste es, zum Schutz vor Inaktivierung, als 1:1-Kombination mit dem Dehydropeptidase-Inhibitor Cilastatin appliziert werden.<sup>[202]</sup>

Auch Panipenem, das nächste Carbapenem, das dann in Japan zugelassen wurde, hatte noch denselben Schwachpunkt und benötigte den Zusatz des Dehydropeptidase-Inhibitors Betamipron.<sup>[203]</sup> In der Folge ging es darum, hervorragende Breitspektrumaktivität mit Stabilität gegen chemischen und enzymatischen Abbau in einem einzigen Molekül zu vereinen. Dieses Ziel wurde mit Meropenem (**55**) erreicht, dem ersten vermarkteten Carbapenem mit einer  $\beta$ -Methyl-Gruppe in Position 1.<sup>[204]</sup> Derart substituierte Carbapeneme waren stabil gegen den hydrolytischen Abbau durch Dehydropeptidase I in der Niere. Diese Entdeckung wurde sofort aufgegriffen und durch Strukturvariationen ausgeleuchtet. So konnte beispielsweise in den neuen tricyclischen „Tribactamen“ oder „Trinemen“ wie Sanfetrinem (GV 104326, **56**), anstelle der 1- $\beta$ -Methyl-Gruppe auch eine dritter Ring anelliert sein.<sup>[205]</sup>

Trotzdem konzentrierte sich die Forschung überwiegend auf Strukturmodifikationen in Position 2. Weitere parenterale Carbapeneme wie Biapenem (L-627, **57**),<sup>[206]</sup> Lenapenem (BO-2727, **58**),<sup>[207]</sup> Doripenem (S-4661, **59**),<sup>[208]</sup> Ertapenem (MK-826, **60**)<sup>[209]</sup> und andere<sup>[175]</sup> folgten in einem faszinierenden Reigen chemischer Post-Evolution. Ertapenem (**60**), ein parenterales 1- $\beta$ -Methyl-Carbapenem mit längerer Serumhalbwertszeit (eine tägliche Dosis genügt) als **44** und **55**, soll als Beispiel für ein Antibiotikum mit deutlich verbessertem pharmakokinetischem Profil dienen.<sup>[209b]</sup>

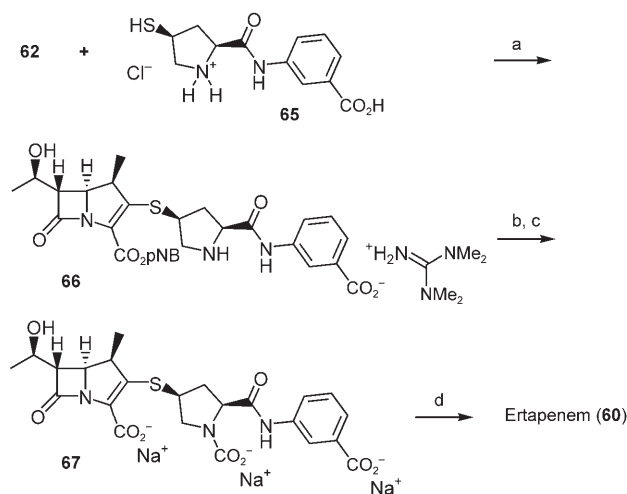
Die technische Produktion der Carbapenem-Antibiotika erfolgte durch De-novo-Synthese und nicht durch Fermentationsprozesse. Chemiker der Firma Merck waren, wie so oft auf diesem Gebiet, auch bei der Synthese der 1- $\beta$ -Methyl-Carbapeneme wegbereitend. In ihrem retrosynthetischen Konzept machten sie das 4-Nitrobenzyl-geschützte 1- $\beta$ -Methylcarbapenemenolphosphat **62**, das (Carboxyethyl)azetidinon **63** und das Acetoxyazetidinon **64** zu Schlüsselbausteinen (Schema 2).<sup>[210]</sup> Zahlreiche Syntheserouten zu diesen wichtigen Intermediaten sind seitdem ausgearbeitet worden,<sup>[211]</sup> die heute, namentlich von japanischen Firmen, in Großmengen kommerziell angeboten werden.



Schema 2. Retrosynthese der 1- $\beta$ -Methyl-carbapeneme.<sup>[210]</sup>



Die chirale Thiol-Seitenkette **65** von Ertapenem wurde durch ein effizientes Eintopfverfahren zugänglich, das auch für den Produktionsmaßstab geeignet war.<sup>[212]</sup> Die direkte Kupplung des Enolphosphats **62** mit dem ungeschützten Thiol **65** zum Ertapenem-Natriumsalz (**60**) erweckte einen ziemlich heiklen Eindruck, da saure und basische Gruppen nebeneinander vorlagen. Trotzdem gelang es den Merck-Chemikern, eine zuverlässige Reaktion mit Tetramethylguanidin als Base unter minimaler Verwendung von Schutzgruppen zu konzipieren.<sup>[213]</sup> Durch Verwendung von Kohlendioxid während der nachfolgenden Hydrogenolyse des 4-Nitrobenzylesters bei pH 8 wurde der Pyrrolidinring vorübergehend als Natriumcarbamat geschützt. Dann schlossen Ionenpaar-Extraktion und Kristallisation unter milden Bedingungen die anspruchsvolle Synthese ab (Schema 3).



**Schema 3.** Die Merck-Synthese von Ertapenem (MK-0826, **60**). Das neue Carbapenem wurde 2001 zugelassen.<sup>[213]</sup> Reagentien und Bedingungen: a) Tetramethylguanidin, *N*-Ethylpyrrolidon,  $-40^{\circ}\text{C}$ , 3 h; b)  $\text{H}_2$ , 5 % Pd/C,  $\text{CO}_2$ , pH 8, unter  $15^{\circ}\text{C}$ ; c)  $(\text{PhO})_2\text{P}(\text{O})\text{OH}$ , 50 % NaOH, Isoamylalkohol; d) 1-Propanol, unter  $-5^{\circ}\text{C}$ , pH 5.5.

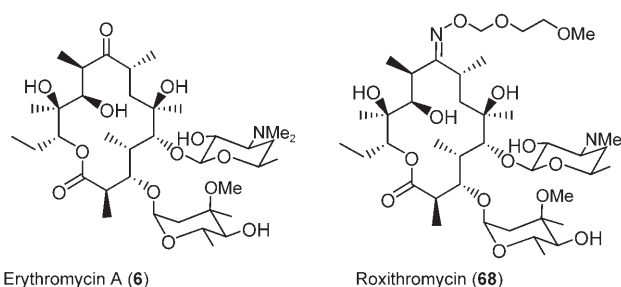
Die empfindlichen  $\beta$ -Lactam-Zwischenstufen und -Produkte erfordern häufig besonders milde Synthesemethoden.<sup>[214]</sup> Generell scheinen Reaktionen, die an  $\beta$ -Lactam-Systemen gelingen, auch an fast allen anderen Strukturen zu funktionieren, aber nicht umgekehrt! Letztlich haben die außerordentlich guten klinischen Erfahrungen mit den vermarkteten Carbapenemen für viele Schwierigkeiten während ihrer Entwicklung entschädigt.  $\beta$ -Lactam-Antibiotika sind weiterhin eine der wichtigsten Substanzklassen in der antibakteriellen Forschung und Entwicklung. Dank ihrer Wirksamkeit und Verträglichkeit eignen sie sich für eine breite Anwendung innerhalb und außerhalb des Krankenhausbetriebs, auch bei Kindern und älteren Patienten.

## 8. Makrolid- und Ketolid-Antibiotika

Die Makrolid-Antibiotika, eine Untergruppe der Polyketid-Naturstoffe, sind wichtige Medikamente gegen Atemwegsinfektionen. Besonders häufig werden sie eingesetzt bei

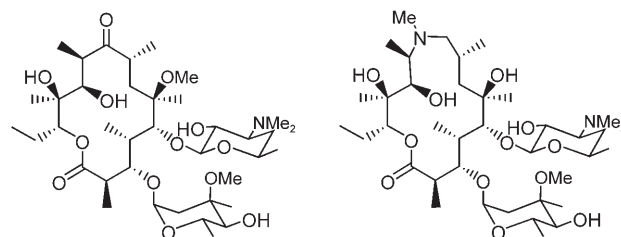
außerhalb vom Krankenhaus erworbener Lungenentzündung (CAP), akuter Verschlechterung einer chronischen Bronchitis, akuter bakterieller Nasennebenhöhlenentzündung, Mittelohrentzündung und bei Rachen- oder Mandelentzündung.<sup>[215,216]</sup> Die wichtigsten Erreger dieser Infektionskrankheiten sind *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae* und *Moraxella catarrhalis*. Obwohl sie nur bakteriostatisch wirken, haben Makrolide einen Anteil von etwa 20 % an allen Antibiotikaverschreibungen. Eine hohe lokale Konzentration im Lungengewebe ist typisch für Makrolide. Die Makrolid-Antibiotika wurden ausführlich untersucht und in zahlreichen Übersichten<sup>[217]</sup> und Monographien<sup>[215,218]</sup> kompetent zusammengefasst. Deshalb erwähnen wir nur einige ausgewählte medizinisch-chemische Beiträge.

Erythromycin A (**6**), der Prototyp aller Makrolide, wurde schon 1952 durch Wissenschaftler der Firma Lilly beschrie-



Erythromycin A (**6**)

Roxithromycin (**68**)



Clarithromycin (**69**)

Azithromycin (**70**)

ben. Der Produzent *Streptomyces erythreus* stammt aus Bodenproben vom philippinischen Archipel.<sup>[219]</sup> Kurze Zeit später erfolgte die Strukturaufklärung von **6**, das neben Erythromycin B und C als Hauptkomponente beim Fermentationsprozess anfällt.<sup>[220,221]</sup> Die Konstitution und die Absolutkonfiguration von **6** wurden durch NMR-spektroskopische Studien<sup>[222]</sup> und eine Kristallstrukturanalyse bestimmt.<sup>[223]</sup> Das Interesse der Syntheschemiker wurde umgehend geweckt durch die komplexe Struktur von **6** mit ihren 10 Stereozentren und den ungewöhnlichen – an den 14-gliedrigen Lactonring gebunden – Kohlenhydraten L-Cladinose und D-Desosamin. Die Totalsynthesen von Erythronolid A und Erythromycin durch die Gruppen um Corey (1979)<sup>[224]</sup> und Woodward (1981)<sup>[225]</sup> sind Meilensteine der Synthesechemie.

Trotz verschiedener Routen zur De-novo-Synthese von Makroliden erwies sich die Semisynthese als ökonomisch

überlegen. Bis heute ist sie der einzig gangbare Weg zur industriellen Herstellung aller Makrolid- und Ketolid-Antibiotika geblieben.

In vielerlei Hinsicht ähnelt die Polyketidbiosynthese<sup>[226]</sup> der Fettsäurebiosynthese, wie das am besten untersuchte Beispiel Erythromycin zeigt.<sup>[227]</sup> Makrolid-Antibiotika entstehen unter Einwirkung modularer Polyketid-Synthetasen durch aufeinander folgende Kondensation von Acetat-, Propionat- und Butyrat-Bausteinen.<sup>[226,228]</sup> Die Cyclisierung der resultierenden Acylkette und die anschließenden Modifizierungen des Kohlenstoffgerüsts erfolgen hochkontrolliert. Die modular aufgebauten Biosynthesegene sind die Grundlage für das rationale Design veränderter Polyketid-Metabolite durch kombinatorische Biosynthese und erhöhen so potenziell die Diversität dieser Klasse.<sup>[229,78]</sup>

Makrolid-Antibiotika blockieren die bakterielle Proteinbiosynthese durch Bindung an die 23S-ribosomale RNA der großen 50S-Untereinheit und unterbinden die Verlängerung der entstehenden Peptidkette während der Translation.<sup>[230]</sup> Einen genauen Einblick in die Wirkungsweise dieser Antibiotika ermöglichten die Kristallstrukturanalysen für die 50S-ribosomale Untereinheit aus *Deinococcus radiodurans* und deren Cokristallisate mit Erythromycin und anderen Makroliden.<sup>[231]</sup> Makrolide verstopfen einen Tunnel in der Domäne V, aus dem normalerweise die wachsende Peptidkette austritt. Trotz der Nähe der Bindungsstelle zur Peptidyl-Transferase wird deren Aktivität jedoch nicht beeinträchtigt.

Erythromycin A (**6**), das gegen viele Atemwegserreger hilft, gilt als sicheres und gut verträgliches Antibiotikum und wird häufig auch Kindern verschrieben. Trotzdem sind sein enges antibakterielles Spektrum, seine begrenzte Stabilität in saurem Medium und die resultierende geringe Bioverfügbarkeit sowie einige unerwünschte Nebenwirkungen wie die Stimulierung der Motilin-Rezeptoren des Gastrointestinaltrakts, seine proarrhythmogene Wirkung und die Hemmung des metabolischen Abbaus anderer Wirkstoffe deutliche Schwachpunkte dieses Antibiotikums.<sup>[232]</sup> Über Jahrzehnte wurde deshalb nach semisynthetischen Erythromycin-Derivaten gesucht. Eine zweite Generation der Makrolid-Antibiotika, zu der Roxithromycin (**68**),<sup>[233]</sup> Clarithromycin (**69**)<sup>[234]</sup> und Azithromycin (**70**)<sup>[235]</sup> gehören, hat mit der Zeit das Erythromycin (**6**) verdrängt. Diese Wirkstoffe haben ein breiteres Spektrum, eine deutlich stärkere Wirkung, verbesserte physikochemische und pharmakokinetische Eigenschaften und ein günstigeres Nebenwirkungsprofil.<sup>[236]</sup>

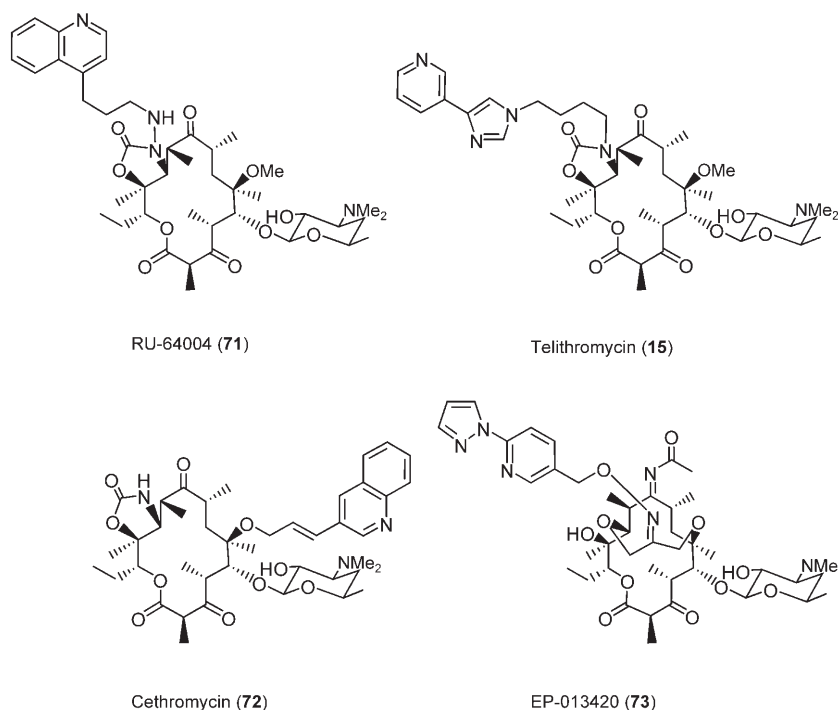
Doch selbst die verbesserten Varianten von **6** waren gegenüber Makrolid-resistenten Stämmen nur wenig aktiv. Bei Gram-positiven Bakterien<sup>[237]</sup> entsteht Makrolid-Resistenz durch verschiedene Mechanismen: 1) Verringerung der intrazellulären Makrolidkonzentration durch Efflux-Pumpen wie *msr(A)* in Staphylokokken<sup>[238]</sup> und *mef(A)* in Streptokokken;<sup>[239]</sup> 2) Methylierung der 23S-ribosomalen RNA an Position A2058 durch eine ribosomale Methylase (durch *erm*-Gene codiert), welche die Bindung von Makroliden, Lincosamiden und Streptogramin B schwächt und dadurch die MLS<sub>B</sub>-Kreuzresistenz erzeugt;<sup>[240]</sup> 3) Esterase-vermittelte Bindungsspaltung und Inaktivierung des Lacton-Rings;<sup>[241]</sup> und 4) sporadische Mutationen des Ribosoms.

Die aufkommende Makrolid-Resistenz trieb die Entwicklung potenter Makrolide mit neuen Strukturen voran, in deren Zug die Ketolid-Antibiotika wiederentdeckt wurden. Ketolide,<sup>[242]</sup> Abkömmlinge der 14-gliedrigen Makrolide, sind durch saure Abspaltung von L-Cladinose und selektive Oxidation der resultierenden 3-Hydroxy-Gruppe zugänglich. Obwohl das Strukturmotiv der 3-Keto-Gruppe schon lange aus schwach wirksamen Naturstoffen wie Picromycin<sup>[243]</sup> bekannt war, wurde die Anwesenheit der L-Cladinose irrtümlicherweise als entscheidend für die antibakterielle Aktivität angesehen. Diese Fehleinschätzung wurde jedoch erst mit der Herstellung des semisynthetischen Ketolids RU-64004 (HMR 3004, **71**) bei Roussel Uclaf offenbar.<sup>[244]</sup> Der Ketolid-Prototyp **71** war stabil in saurem Medium, gut zellgängig und wirksam gegen Erythromycin-A- und Penicillin-resistente Streptokokken und *H. influenzae*. Außerdem induzierte **71** keine MLS<sub>B</sub>-Resistenz.

Die systematische Erforschung der SAR des Ketolid-Gerüsts brachte verschiedene neue Ketolid-Serien mit potenter Aktivität und verbessertem pharmakokinetischem Profil hervor.<sup>[245–247]</sup> Der Austausch von L-Cladinose gegen eine C3-Carbonylgruppe erhöhte die Wirksamkeit gegenüber Stämmen, deren Resistenz auf Mef-vermitteltem Efflux oder auf Erm-Methyltransferase beruhte. Der Einbau eines Fluoratoms an C2 verbesserte sowohl die pharmakokinetischen Eigenschaften als auch die Wirkung. Die Stabilisierung der Ketolid-Konformation durch eine an C11/C12 anellierte cyclische Carbamatgruppe steigerte die Wirkung gegen empfindliche und resistente Stämme. Heteroarylgruppen waren – wegen zusätzlicher Wechselwirkung und erhöhter Affinität zu methylierten Ribosomen – maßgeblich für eine bessere Wirkung gegen Stämme mit Erm-Methylase-vermittelter Resistenz.<sup>[244]</sup> Die systematische Variation dieses heterocyclischen Molekülteils führte schließlich zu den wegweisenden Ketoliden Telithromycin (**15**, HMR 3647, Sanofi Aventis),<sup>[248]</sup> Cethromycin (**72**, ABT-773, Abbott)<sup>[249]</sup> und etwas später zum 6,11-O-verbrückten Oxim-Ketolid EP-013420 (**73**, Enanta<sup>[250]</sup>).

Als repräsentatives Beispiel soll die Synthese des Ketolids Telithromycin (**15**) dienen, das ausgehend von 6-O-Methylerythromycin (Clarithromycin, **69**) in acht Stufen erhalten wurde (Schema 4).<sup>[244b,248,251]</sup> Hydrolytische Abspaltung von L-Cladinose unter sauren Bedingungen und modifizierte Pfitzner-Moffat-Oxidation<sup>[252]</sup> der Hydroxygruppe an C3 ergab das Ketolid **75**. Selektive Mesylierung und Eliminierung führte zum Enon **76**, und die Reaktion des entsprechenden Acylimidazolyl-Derivats **77** mit dem primären Amin **78** und eine nachfolgende stereoselektive intramolekulare Michael-Addition ergaben das cyclische Carbamat **15**.

Telithromycin (**15**) kam nacheinander in Europa (2001), Japan (2003) und in den USA (2004) auf den Markt. Es wurde als erstes Ketolid für die einmal-tägliche Behandlung von Atemwegsinfektionen zugelassen (Indikationen: akute Verschlechterung einer chronischen Bronchitis durch *S. pneumoniae*, *H. influenzae* und *M. catarrhalis*, akute bakterielle Sinusitis, leichte bis mittelschwere ambulant erworbene Lungenentzündung). Eingeschlossen waren auch Infektionen durch multiresistente *S.-pneumoniae*-Stämme. Die Entwicklung von **72** wurde in der klinischen Phase III eingestellt,



während **73** gegenwärtig bis in die Phase II fortgeschritten ist. Allerdings wirkt kein Ketolid gegen *E. coli* und konstitutiv MLS<sub>B</sub>-resistente *S. aureus*-Stämme (Tabelle 9).

Die In-vivo-Wirksamkeit von **15** in einem Mausmodell mit akuter Infektion durch Erythromycin-empfindliche Gram-positive Kokken war vergleichbar zu **69**, bei Infektionen mit Erythromycin-resistenten Stämmen jedoch deutlich überlegen (Tabelle 10).

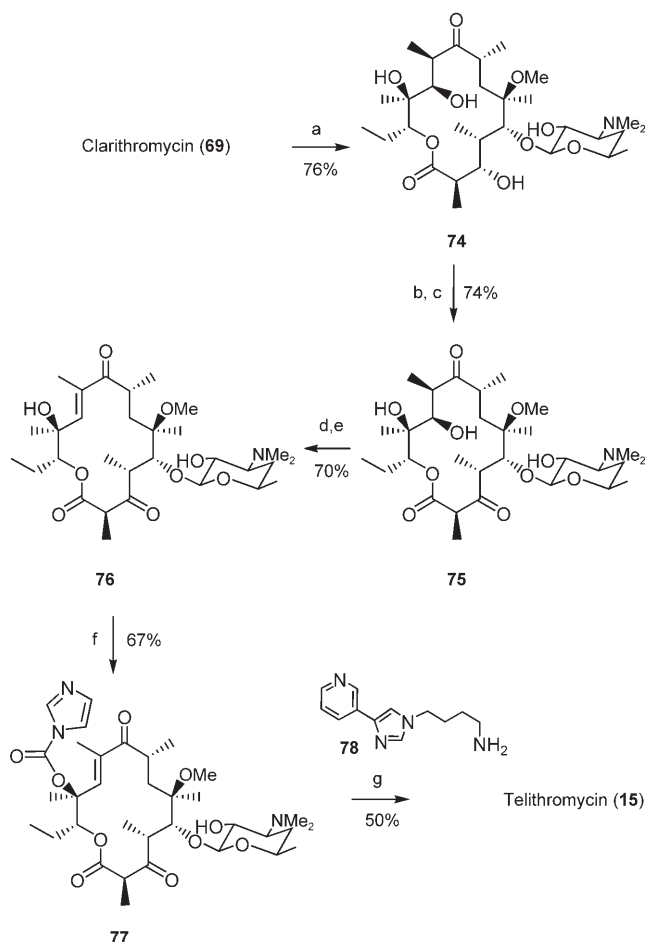
Entscheidend für die Akzeptanz der Ketolide wird sein, inwieweit sie sich von den etablierten Antibiotika-Klassen, die gegenwärtig das RTI-Segment beherrschen (Makrolide, Fluorchinolone,  $\beta$ -Lactame), abgrenzen lassen. Zulassungen für den pädiatrischen Bereich und die Entwicklung parenteraler Darreichungsformen könnten ihr vielversprechendes Marktpotenzial noch vergrößern.<sup>[248c]</sup>

Die Makrolid-Antibiotika sind ein hervorragendes Beispiel dafür, dass auch „alte“ Wirkstoffklassen nicht vollkommen erforscht sind und immer noch das Potenzial für neue Therapeutika in sich tragen. Im Fall der Makrolide führten die Betrachtung einer alten Klasse unter neuen Gesichtspunkten und die Bereitschaft, Lehrbuch-SAR infrage zu stellen (Abspaltung der Cladinose), zur Entdeckung der wichtigen Unterklasse der Ketolide.

## 9. Lincosamide

Lincomycin (**16**) und das verwandte semisynthetische Clindamycin (**79**) wurden 1960 und 1969 als orale Antibiotika in die klinische Praxis eingeführt.<sup>[253]</sup> Eine Zulassung für die parenterale Anwendung folgte kurze Zeit später. Diese niedermolekularen Antibiotika haben ein mit den Makroliden vergleichbares Spektrum: Sie sind aktiv gegen die meisten Gram-positiven Organismen und Anaerobier, nicht aber

gegen Gram-negative Bakterien und Enterokokken.<sup>[254]</sup> Die Verwendung von Lincomycin (**16**) und Clindamycin (**79**) hat nach einer Zeit intensiven Einsatzes bei schwerer Staphylokokken-Sepsis, Anaerobier-Infektionen und – in Kombination mit anderen Antibiotika – bei schwerer intraabdominaler oder opportunistischer Sepsis stark abgenommen.<sup>[255]</sup> Heute werden beide Medikamente fast nur noch topisch angewendet. Der Abstieg dieser ehemaligen Ersttherapie-Antibiotika zu Nischenprodukten lässt sich zurückführen auf ihr begrenztes antibakterielles Spektrum, Resistenzentwicklung und ganz besonders auf eine schwere Nebenwirkung dieser Klasse, den Ausbruch pseudomembraner Colitis.<sup>[256]</sup> Der Erreger dieser unangenehmen Nebenwirkung, *Clostridium difficile*, wird nicht vom antibakteriellen Spektrum der Lincosamide abgedeckt. Diese Lücke mit einem neuen Lincosamid zu schließen wäre ein enormer Fortschritt.



**Scheme 4.** Semisynthese von Telithromycin (**15**) aus Clarithromycin (**69**).<sup>[244b, 248, 251]</sup> Reagentien und Bedingungen: a) 1. 12 N HCl, H<sub>2</sub>O, 2 h, RT; 2. NH<sub>4</sub>OH, pH 8, 76%; b) Ac<sub>2</sub>O, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Aceton, 20 h, RT, 82%; c) EDC·HCl, DMSO, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Pyridiniumtrifluoracetat, 4 h, RT, 90%; d) Ms<sub>2</sub>O, Pyridin, 5 h, RT, 79%; e) DBU, Aceton, 20 h, RT, 88%; f) 1. NaH, DMF, CDI, –10 °C, 1 h; 2. H<sub>2</sub>O, 0 °C, 67%; g) **78**, CH<sub>3</sub>CN, H<sub>2</sub>O, 60 °C, 50%.

**Tabelle 9:** Antibakterielle In-vitro-Aktivitäten des Makrolids Clarithromycin (**69**) und des Ketolids Telithromycin (**15**), MHK [ $\mu\text{g mL}^{-1}$ ].<sup>[248]</sup>

|           | <i>S. aureus</i> <sup>[a]</sup> | <i>S. aureus</i> <sup>[b]</sup> | <i>S. aureus</i> <sup>[c]</sup> | <i>S. pneum.</i> <sup>[a]</sup> | <i>S. pneum.</i> <sup>[b]</sup> | <i>S. pneum.</i> <sup>[c]</sup> | <i>H. infl.</i> |
|-----------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------|
| <b>69</b> | 0.3                             | 40                              | 40                              | 0.04                            | 40                              | 40                              | 5               |
| <b>15</b> | 0.04                            | 0.08                            | 40                              | 0.02                            | 0.02                            | 0.15                            | 1.2             |

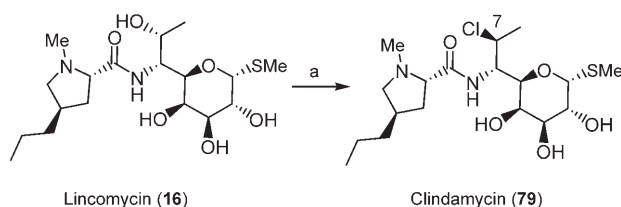
[a] Erythromycin-empfindlich. [b] Induzierbar Erythromycin-resistent. [c] Konstitutiv Erythromycin-resistent.

**Tabelle 10:** In-vivo-Wirksamkeit des Makrolids Clarithromycin (**69**) und des Ketolids Telithromycin (**15**), ED<sub>50</sub> [ $\text{mg kg}^{-1}$ ].<sup>[248]</sup>

|           | <i>S. aureus</i> <sup>[a]</sup> | <i>S. aureus</i> <sup>[b]</sup> | <i>S. aureus</i> <sup>[c]</sup> | <i>S. pneum.</i> <sup>[a]</sup> | <i>S. pneum.</i> <sup>[b]</sup> | <i>S. pneum.</i> <sup>[c]</sup> | <i>H. infl.</i> |
|-----------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------|
| <b>69</b> | 6                               | 55                              | n.b. <sup>[d]</sup>             | 7.5                             | > 50                            | > 50                            | 120             |
| <b>15</b> | 10                              | 4.5                             | n.b. <sup>[d]</sup>             | 1                               | 4                               | 0.15                            | 57              |

[a] Erythromycin-empfindlich. [b] Induzierbar Erythromycin-resistent. [c] Konstitutiv Erythromycin-resistent. [d] n.b. = nicht geprüft.

Clindamycin (**79**)<sup>[257,258]</sup> ist ein semisynthetisches Derivat des Naturstoffs Lincomycin (**16**), der durch Fermentation von *Streptomyces lincolnensis* erhalten wird (Schema 5).<sup>[259]</sup> Bei


**Schema 5:** Synthese von Clindamycin (**79**) aus natürlichem Lincomycin (**16**).<sup>[260]</sup> Reagentien und Bedingungen: a) *N*-Chlorsuccinimid, PPh<sub>3</sub>, THF, Rückfluss, 18 h, 84 %.

dieser bemerkenswerten Umwandlung wird ein sekundärer Alkohol selektiv in Gegenwart von drei weiteren Alkoholfunktionen umgesetzt. Die selektive Modifizierung polyfunktioneller Naturstoffe zur Generierung von SAR-Daten ist ein wichtiges Verfahren der chemischen Post-Evolution. Bei vergleichbarem, vorteilhaftem Nebenwirkungsprofil, wirkt **79** ungefähr zwei- bis vierfach wirkstärker als sein Vorläufer **16** (Tabelle 11).<sup>[261]</sup>

Beide Medikamente wiesen im Tierversuch und am Menschen günstige pharmakokinetische Eigenschaften auf.<sup>[262,263]</sup> Sie waren hervorragend bioverfügbar und gelangten gut in das Zielgewebe. Ihre Löslichkeit und Stabilität in Lösung ermöglichten sowohl orale als auch parenterale Anwendungen. Wegen der relativ kurzen Halbwertszeit (2–4 h)

**Tabelle 11:** Antibakterielle In-vitro-Aktivitäten von Lincomycin (**16**) und Clindamycin (**79**), MHK [ $\mu\text{g mL}^{-1}$ ].

| Organismus            | Lincomycin ( <b>16</b> ) | Clindamycin ( <b>79</b> ) |
|-----------------------|--------------------------|---------------------------|
| <i>S. aureus</i>      | 0.5                      | 0.125                     |
| <i>S. hemolyticus</i> | 0.25                     | 0.125                     |
| <i>S. viridans</i>    | 0.25                     | 0.064                     |
| <i>B. subtilis</i>    | 32                       | 1                         |
| <i>E. coli</i>        | 1000                     | 64                        |
| <i>K. pneumoniae</i>  | 125                      | 8                         |

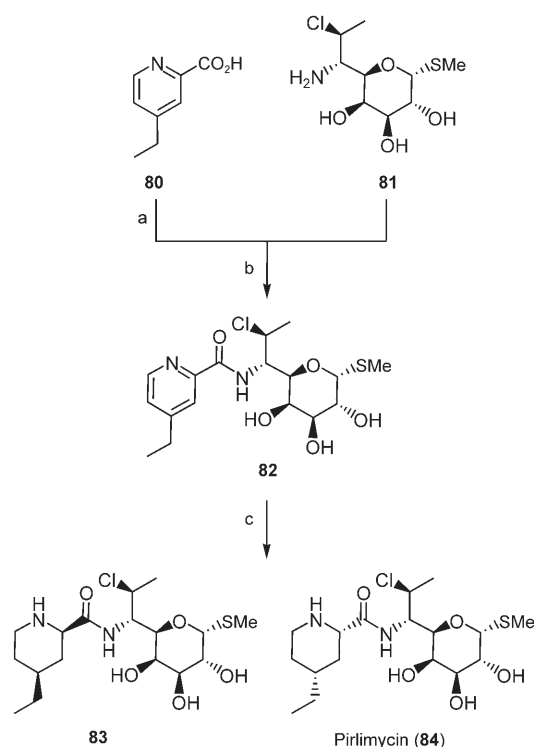
war jedoch eine zwei- (p.o.) bzw. dreimalige tägliche Dosierung (i.v.) nötig. Entsprechend wären neue Lincosamide äußerst wünschenswert, deren pharmakokinetische Eigenschaften eine Behandlung mit einer täglichen Dosis ermöglichen würden.

Lincosamide entfalten ihre antibiotische Wirkung, indem sie an bakterielle Ribosomen binden und die Proteinbiosynthese hemmen. Makrolide, Lincosamide und Streptogramin-B-artige Antibiotika binden an nahe beieinander liegende Stellen der 50S-Untereinheit der Ribosomen. Röntgenstrukturanalysen für Komplexe des bakteriellen Ribosoms mit Antibiotika dieser Klassen liegen vor.<sup>[264,265]</sup> Da **79** und die Makrolide ähnlich binden, ist es wenig überraschend, dass beide Klassen auch eine vergleichbare Resistenz verursachen. Allerdings erfolgt die Resistenzentwicklung für **79** langsamer als für Erythromycin. Resistenzen bilden sich hauptsächlich durch Methylierung der 23S-ribosomalen RNA an der Position A2058 durch die Erm-Methyltransferase, wodurch die Bindungsaffinität der Lincosamide und Makrolide zu ihrem ribosomalen Target deutlich reduziert wird. In Analogie zu den Ketoliden lässt sich spekulieren, dass eine Resistenzentwicklung durch Lincosamid-Derivate mit leicht verändertem Bindungsmodus ebenfalls überwunden werden könnte. Die Suche nach Lincosamiden der zweiten Generation mit erweitertem Spektrum (Enterokokken, MRSA, Clindamycin-resistente Stämme), verbessertem Nebenwirkungsprofil (Wirkung gegen *C. difficile*, um eine Colitis zu vermeiden) und verbesserter Pharmakokinetik (eine tägliche Dosis) bleibt ein lohnendes Ziel.

Das semisynthetische Pirlimycin (**84**, Schema 6) wurde bei Upjohn durch substituierende Derivatisierung hergestellt<sup>[266]</sup> und weist bereits einige der gewünschten Eigenschaften auf. Nach intraperitonealer Gabe war die letale Dosis LD<sub>50</sub> für **84** in Mäusen mit 600  $\text{mg kg}^{-1}$  deutlich höher als für Clindamycin (300  $\text{mg kg}^{-1}$ ). Zusätzlich konnte das pharmakokinetische Verhalten durch Strukturänderungen in **84**, nach Entfernen der metabolisch labilen *N*-Methyl-Gruppe in **79**, signifikant verbessert werden (höhere Plasmaspiegel und verlängerte Halbwertszeit). Obwohl **79** und **84** ein nahezu identisches antibakterielles Spektrum aufwiesen, wirkte **84** wegen seiner günstigeren pharmakokinetischen Eigenschaften 2- bis 20-fach stärker in verschiedenen präklinischen Infektionsmodellen.<sup>[266]</sup> Wie alle Lincosamide war jedoch auch Pirlimycin (**84**) inaktiv gegen Enterokokken. **84** zeigte weder verbesserte Resistenzentwicklung noch Aktivität gegen bereits resistente Stämme (Tabelle 12).<sup>[267]</sup> Wegen diesen Einschränkungen war ein Einsatz von Pirlimycin (**84**) am Menschen nicht zu rechtfertigen. Es wurde für die Veterinärmedizin zugelassen.

In der Literatur finden sich zahlreiche Methoden für die semisynthetische Modifikation von Lincomycin (**16**) und Clindamycin (**79**).<sup>[268]</sup> Sie werden ergänzt durch Verfahren, die





**Scheme 6.** Upjohns Synthese von Pirlimycin (**84**) durch substituierende Derivatisierung. Reagentien und Bedingungen: a) Chlorameisensäureisobutylester, Et<sub>3</sub>N, CH<sub>3</sub>CN, 10 °C, 1 h; b) **81**, Aceton, H<sub>2</sub>O, 25 °C, 18 h; c) MeOH, H<sub>2</sub>O, 1 N HCl, PtO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> (50 psi), 25 °C, 18 h; Trennung der Diastereomere, 40% **84**.

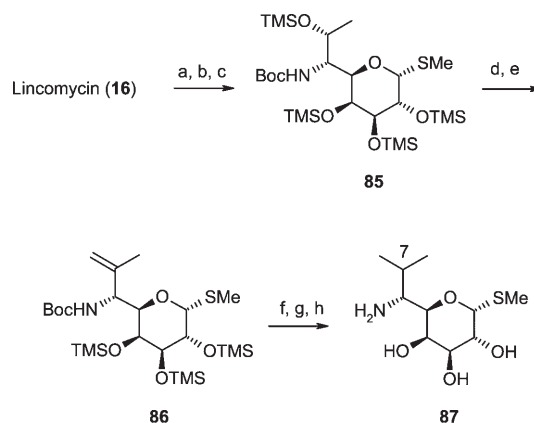
**Tabelle 12:** Antibakterielle In-vitro-Aktivitäten von Clindamycin (**79**) und Pirlimycin (**84**), MHK<sub>90</sub> [μg mL<sup>-1</sup>].

| Organismus                          | Clindamycin ( <b>79</b> ) | Pirlimycin ( <b>84</b> ) |
|-------------------------------------|---------------------------|--------------------------|
| <i>S. aureus</i> <sup>[a]</sup>     | 0.125                     | 0.5                      |
| <i>S. aureus</i> <sup>[b]</sup>     | > 16                      | > 16                     |
| <i>S. pyogenes</i>                  | 0.06                      | 0.5                      |
| <i>S. pneumoniae</i> <sup>[c]</sup> | 0.25                      | 0.5                      |
| <i>S. pneumoniae</i> <sup>[d]</sup> | 16                        | > 16                     |
| <i>S. viridans</i>                  | 0.06                      | 0.5                      |

[a] MSSA, Methicillin-empfindlich. [b] MRSA, Methicillin-resistent. [c] PSP, Penicillin-empfindlich. [d] PRSP, Penicillin-resistent.

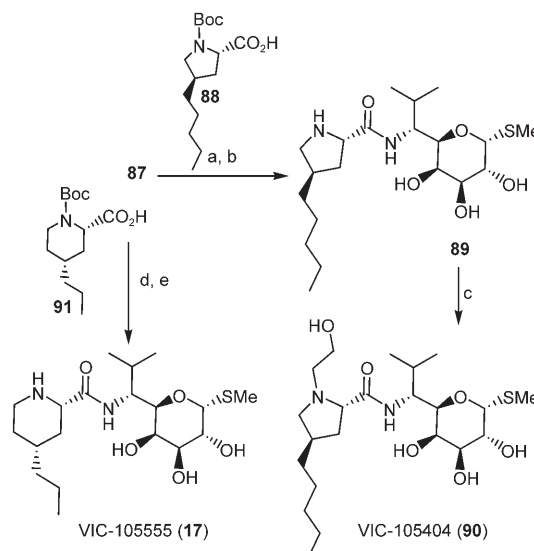
während der Totalsynthese der Naturstoffe entwickelt wurden.<sup>[269]</sup> Doch erst ein Forschungsprogramm von Vicuron zur Suche nach Lincosamiden der zweiten Generation führte zu deutlich verbesserten Derivaten. Die Substitution der Hydroxyfunktion an C7 durch eine Methylgruppe in Verbindung mit neuen Amidgruppen lieferte VIC-105404 (**90**)<sup>[270]</sup> und VIC-105555 (**17**)<sup>[271]</sup> das schnell bis in die präklinische Entwicklung vorangetrieben wurde.

7-Methylthiolincosamin (**87**) wurde ausgehend von **16** in acht Stufen hergestellt (Schema 7). Hydrazinolyse der Amidbindung, Swern-Oxidation, Wittig-Olefinierung und katalytische Reduktion der Methyleneinheit waren die Schlüsselschritte dieser Reaktionssequenz. Die Kupplung von **87** mit dem Prolin-Derivat **88**, gefolgt von Boc-Abspaltung



**Scheme 7.** Synthese von 7-Methylthiolincosamin (**87**). Reagentien und Bedingungen: a) N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O; b) (Boc)<sub>2</sub>O, Et<sub>3</sub>N, MeOH; c) BSTFA, Et<sub>3</sub>N, DMF; d) DMSO, (COCl)<sub>2</sub>, Et<sub>3</sub>N, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -70 → -40 °C; e) PPh<sub>3</sub>Me<sup>+</sup>Br<sup>-</sup>, tBuOK; f) Dowex H<sup>+</sup>, MeOH; g) H<sub>2</sub> (65 psi), Pd/C; h) TFA/H<sub>2</sub>O (9:1).

und N-Alkylierung von **89** mit Oxiran ergab VIC-105404 (**90**). Eine ähnliche Reaktionssequenz führte zu VIC-105555 (**17**, Schema 8).



**Scheme 8.** Vicurons Synthese von VIC-105555 (**17**) und VIC-105404 (**90**) aus 7-Methylthiolincosamin (**87**). Reagentien und Bedingungen: a) **88**, HBTU, Et<sub>3</sub>N; b) TFA/H<sub>2</sub>O (9:1); c) Oxiran, Et<sub>3</sub>N; d) **91**, HBTU, Et<sub>3</sub>N; e) TFA/H<sub>2</sub>O (9:1).

Verbindung **17** war in vitro aktiver als Clindamycin (**79**) gegen Enterokokken und ausgewählte Anaerobier, insbesondere *C. difficile* (Tabelle 13),<sup>[271,272]</sup> und zeigte in systemischen Infektionsmodellen eine überlegene Wirksamkeit.<sup>[273–275]</sup>

VIC-105555 (**17**) hatte in Ratten eine längere Halbwertszeit (3.72 bzw. 1.10 h), ein größeres Verteilungsvolumen (10.7 bzw. 4.54 L kg<sup>-1</sup>) und eine geringere Ausscheidungsrate (2.39 bzw. 4.46 L h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>) als **79**. In den Lebermikrosomen verschiedener Spezies war **17** stabil und wies eine geringere

**Tabelle 13:** Antibakterielle In-vitro-Aktivitäten von Clindamycin (**79**) und VIC-105555 (**17**), MHK [ $\mu\text{g mL}^{-1}$ ].<sup>[272]</sup>

| Organismus           | Clindamycin ( <b>79</b> ) | VIC-105555 ( <b>17</b> )  |
|----------------------|---------------------------|---------------------------|
| <i>S. pneumoniae</i> | $\leq 0.25$               | $\leq 0.016\text{--}0.03$ |
| <i>S. aureus</i>     | $\leq 0.06\text{--}0.12$  | $0.12\text{--}0.5$        |
| <i>E. faecium</i>    | $0.12$ bis $> 8$          | $0.12$ bis $> 32$         |
| <i>E. faecalis</i>   | $8$ bis $> 8$             | $0.5\text{--}1$           |
| <i>B. fragilis</i>   | $0.5\text{--}2$           | $0.25\text{--}2$          |
| <i>C. difficile</i>  | $2\text{--}16$            | $0.12\text{--}1$          |

Serumbindung als **79** auf. Daten aus Tierversuchen und allo-metrische Hochrechnungen sagten für den Menschen ein vorteilhaftes pharmakokinetisches Profil voraus, das eventuell sogar eine Anwendung mit einer täglichen Dosis erlauben würde.<sup>[276]</sup> Trotz ähnlicher Struktur, vergleichbarem In-vitro-Profil und identischem Bindungsmodus wie Clindamycin (**79**)<sup>[277]</sup> schien es nicht möglich, gegen **17** resistente Mutanten von *E. faecalis* zu erzeugen. Mutanten mit einer A2058-Mutation durch Methylierung der 23S-rRNA (Erm-Methyltransferase) waren jedoch weiterhin resistent gegen **17** (MHK  $> 256 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).<sup>[278]</sup>

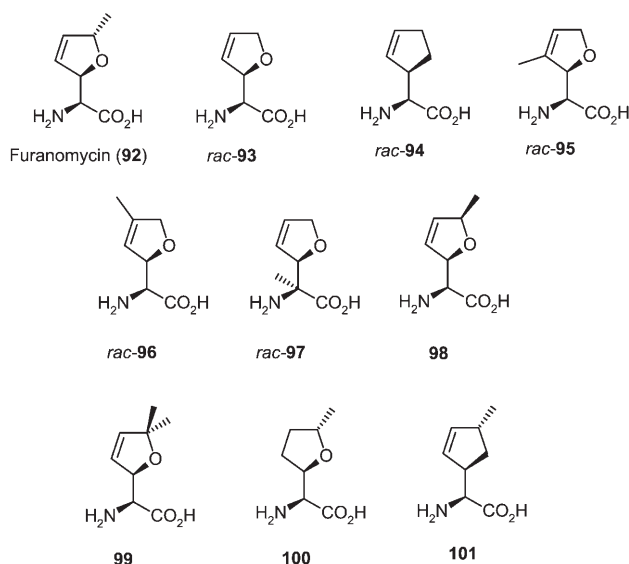
Es wird spannend werden, ob sich die mit VIC-105555 (**17**) in vitro und in vivo erzielten Verbesserungen in einen klinischen Vorteil übersetzen lassen. In jedem Fall sollten Lincosamide der zweiten Generation eine erfolgreiche Behandlung von Enterokokken-Infektionen ermöglichen und ein verbessertes Nebenwirkungsprofil aufweisen.

### 10. Furanomycin, eine Leitstruktur mit ungenügendem Potenzial

Mit einem Molekulargewicht von  $157 \text{ g mol}^{-1}$  zählt L-(+)-Furanomycin (**92**) zu den kleinsten antibakteriellen Naturstoffen. Diese ungewöhnliche  $\alpha$ -Aminosäure, die in mikromolarer Konzentration antibakteriell gegen *M. tuberculosis*, *E. coli*, *B. subtilis* und einige *Shigella*- und *Salmonella*-Spezies wirkt, wurde 1967 von Katagiri et al. aus der Kulturbrohe von *Streptomyces threomyceticus* L-803 (ATCC 15795) isoliert.<sup>[279]</sup> Die ihr zunächst zugewiesene Absolutkonfiguration wurde später mithilfe von Synthesen (ausgehend von D-Glucose)<sup>[280]</sup> und durch eine Röntgenstrukturanalyse des N-Acetyl-Derivats<sup>[281]</sup> revidiert und eindeutig auf (+)-( $\alpha$ S,2R,5S) festgelegt.

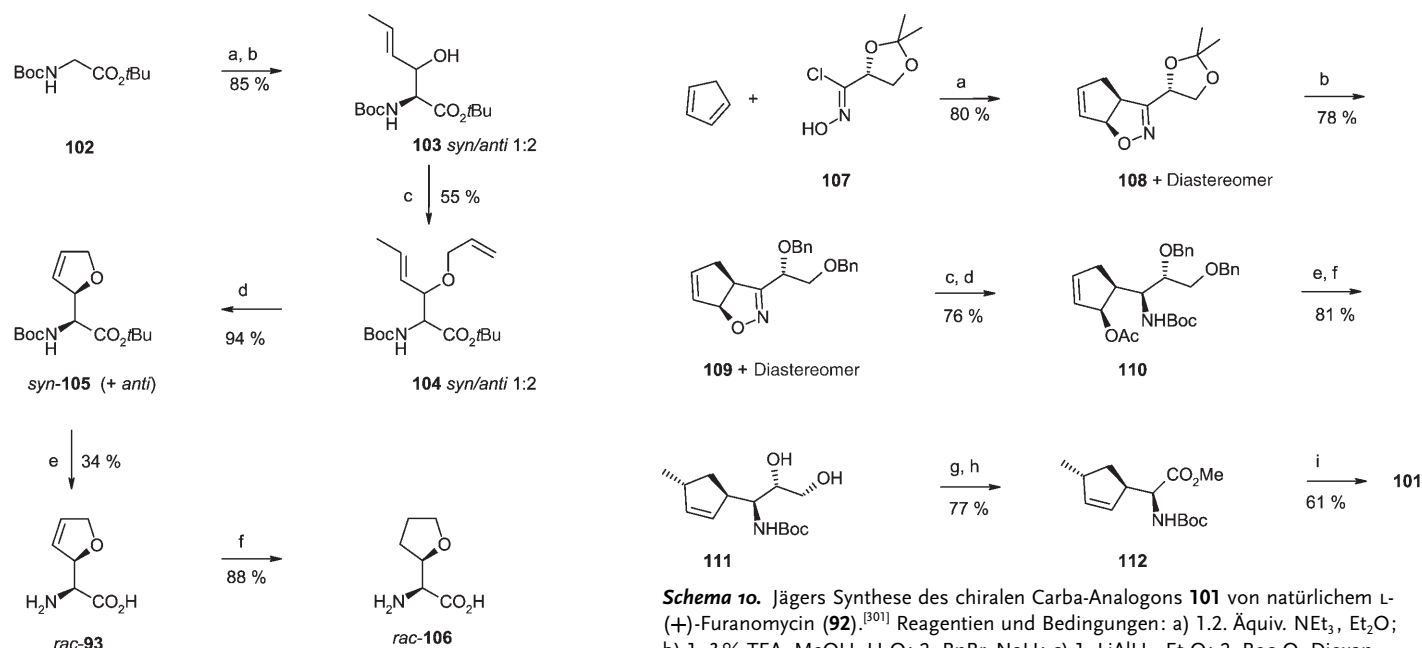
Markierungsexperimente ließen erkennen, dass die Biosynthese von Furanomycin über einen Polyketidpfad erfolgt und von zwei Acetat-Einheiten und einer Propionat-Einheit ausgeht.<sup>[282]</sup> Wie bei den Polyether-Antibiotika stammt das Sauerstoffatom des cyclischen Ethers auch hier aus molekularem Sauerstoff, der über Epoxidierung und intramolekulare Epoxidöffnung eingeführt wird.<sup>[283]</sup> Furanomycin wird von Isoleucyl-Aminoacyl-tRNA-Synthetase als Substrat akzeptiert. Da seine Aktivität auf einer Verwechslung mit Isoleucin während der bakteriellen Proteinsynthese (Translation) beruht,<sup>[284]</sup> wird die antibakterielle Wirkung von **92** von Isoleucin antagonisiert.<sup>[279]</sup> Zwar behindert Furanomycin die Bildung von Isoleucyl-tRNA in *E. coli*, doch es hat keinen Einfluss auf andere Aminoacyl-tRNAs.<sup>[285]</sup> Aminoacyl-tRNA-Synthetasen werden von allen lebenden Organismen

benötigt<sup>[286]</sup> und haben erhebliches Interesse als neue Targets in der bakteriellen Proteinsynthese hervorgerufen.<sup>[287]</sup> In der Literatur gab es für **92** keinerlei Hinweise auf In-vivo-Wirk-samkeit, doch Pseudomonsäure,<sup>[288]</sup> ein vermarktetes Anti-biotikum mit einem ähnlichen Wirkmechanismus, ließ ver-muten, dass eine In-vivo-Wirkung prinzipiell möglich sein sollte. Zusätzlich zu antibakterieller Wirkung in vitro und in vivo<sup>[289]</sup> war **92** auch durch arzneimittelähnliche Eigenschaf-ten<sup>[290]</sup> wie Polarität, ausreichende Löslichkeit und eine mäßig komplexe Struktur interessant. Mehrere Synthesen für **92** sind ausgearbeitet worden, einige davon umfassen bis zu 20 Stufen. Bei vielen dienten Zucker wie D-Glucose,<sup>[280]</sup> D-Ribose,<sup>[291]</sup> D-Glucosamin,<sup>[292]</sup> L-Xylose<sup>[293]</sup> oder D-Mannitol<sup>[294]</sup> als chirale Ausgangsverbindungen, andere setzten Di-methyl-L-tartrat,<sup>[295]</sup> Serin<sup>[296]</sup> Glycin<sup>[297]</sup> oder Fura-ne<sup>[280b, 285b, 298]</sup> ein. Synthesen aus Aminosäuren waren hin-sichtlich einer raschen Auswertung der SAR besonders vor-teilhaft, da sie mit nur sechs bis sieben Stufen kurz und fle-xibel genug waren, verschiedene Isomere von **92** und nahe verwandte Verbindungen schnell in die Hand zu bekommen.



Zuerst war es wichtig herauszufinden, welche Struktur-elemente entscheidend für die Wirkung von Furanomycin waren und welche weggelassen oder modifiziert werden konnten. Da auch für Norfuranomycin über eine antibakte-rielle Wirkung (MHK) gegen einige Gram-negative Bakteri-en berichtet wurde,<sup>[298]</sup> wurden einfache Zugänge zu Deriva-ten von **92** entworfen. Um möglichst rasch einen Einblick in die SAR zu gewinnen, wurde der Diastereoselektivität höhere Priorität eingeräumt als der Kontrolle der Absolut-konfiguration. Zur Konstruktion des Dihydrofuranrings wurde eine Ringschlussmetathese ins Auge gefasst. Die er-forderliche Vorstufe **104** war durch Aldoladdition eines  $\alpha$ , $\beta$ -ungesättigten Aldehyds an den Glycinester **102** zur  $\beta$ -Hy-droxyaminosäure **103** und anschließende O-Allylierung zu-gänglich (Schema 9).<sup>[297]</sup>

Danach wurden die Auswirkungen einer Methylsubstitu-tion an verschiedenen Positionen des Grundgerüsts unter-



**Scheme 9.** Kazmaiers Synthese von Norfuranomycin durch Ring-schlussmetathese.<sup>[297]</sup> Reagentien und Bedingungen: a) 1. 2.5 Äquiv. LDA, THF, -78°C; 2. 1.5 Äquiv. TiCl(OiPr)<sub>3</sub>; b) 3 Äquiv. Methacrolein, THF, -78°C, 3 h, 85%; c) 1.5 Äquiv. Allyl(ethyl)carbonat, 2.5 Mol-% [(Allyl)PdCl]<sub>2</sub>, 11 Mol-% PPh<sub>3</sub>, THF, 50°C, 3 d, 55%; d) 2.5 Mol-% [(Cy<sub>3</sub>P)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>Ru=CHPh], CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 40°C, 16 h, 94%; e) 4 M HCl/Dioxan, 4 h, 0°C, 34%; f) H<sub>2</sub>, Pd/C, CH<sub>3</sub>OH, 12 h, RT, 88%.

**Scheme 10.** Jägers Synthese des chiralen Carba-Analogs **101** von natürlichem L-(+)-Furanomycin (**92**).<sup>[301]</sup> Reagentien und Bedingungen: a) 1. 2. Äquiv. NEt<sub>3</sub>, Et<sub>2</sub>O; b) 1. 3% TFA, MeOH, H<sub>2</sub>O; 2. BnBr, NaH; c) 1. LiAlH<sub>4</sub>, Et<sub>2</sub>O; 2. Boc<sub>2</sub>O, Dioxan, H<sub>2</sub>O; d) Ac<sub>2</sub>O, DMAP, Pyridin; e) MeMgBr, CuCN, Et<sub>2</sub>O, -20°C; f) Na, NH<sub>3</sub>(fl.), THF -78°C; g) Pb(OAc)<sub>4</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -20°C; h) 1. NaClO<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>CN, tBuOH, H<sub>2</sub>O, 2-Methyl-2-buten, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, -20°C; 2. CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, Et<sub>2</sub>O; i) 1. 90% TFA; 2. NaOH, NaHCO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O, THF.

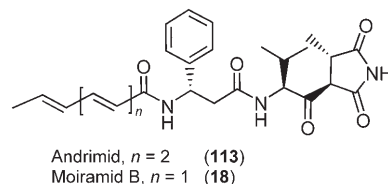
sucht. Der Basissatz von Strukturen zur Untersuchung der SAR wurde noch ergänzt durch das  $\alpha$ S,2R,5R-Diastereomer 5'-*epi*-Furanomycin (**98**), 5'-Methylfuranomycin (**99**), L-(+)-Dihydrofuranomycin (**100**) und **101**, das Carba-Analogon des natürlichen Antibiotikums. Diese Derivate wurden durch 1,3-dipolare Cycloaddition des chiralen Glycin-Äquivalents Glyceronitriloxid<sup>[299]</sup> an 2-Methylfuran<sup>[294,300]</sup> oder Cyclopentadien erhalten (Schema 10).<sup>[301]</sup>

Leider waren die Anforderungen von Isoleucyl-Aminoacyl-tRNA-Synthetase an die Struktur Furanomycin-ähnlicher Substrate relativ strikt. Daraus ergab sich eine sehr enge SAR, und alle synthetischen Isomere des natürlichen Antibiotikums und alle nahe verwandten Verbindungen zeigten entweder keine oder deutlich schlechtere MHK gegen ausgewählte Gram-positive und Gram-negative Wildtyp-Bakterien (einschließlich *S. aureus* und *E. coli*). Nur L-(+)-Dihydrofuranomycin (**100**) war grenzwertig aktiv gegen *S. aureus* (MHK 32–64  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), und das chirale Carba-Analogon **101** wirkte schwach gegen einen Effluxpumpen-defizienten *E. coli* (MHK 4  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Insgesamt war Furanomycin daher keine brauchbare Leitstruktur für ein antibakterielles Forschungsprogramm.

## 11. Pyrrolidindion-Antibiotika

Das natürliche Peptidantibiotikum Andrimid (**113**) wurde erstmals 1987 durch Komura und Mitarbeiter aus Kulturen eines Symbionten der Braunen Zwergzikade (*Nilaparvata lugens*) isoliert.<sup>[302]</sup> Einige Jahre später folgte die Entdeckung

von **113** und verwandter Metabolite, der Moiramide A–C in Isolaten des marinen *Pseudomonas fluorescens* aus einer Tunikate (Moirra Sound, Prince of Wales Island, Alaska).<sup>[303]</sup>



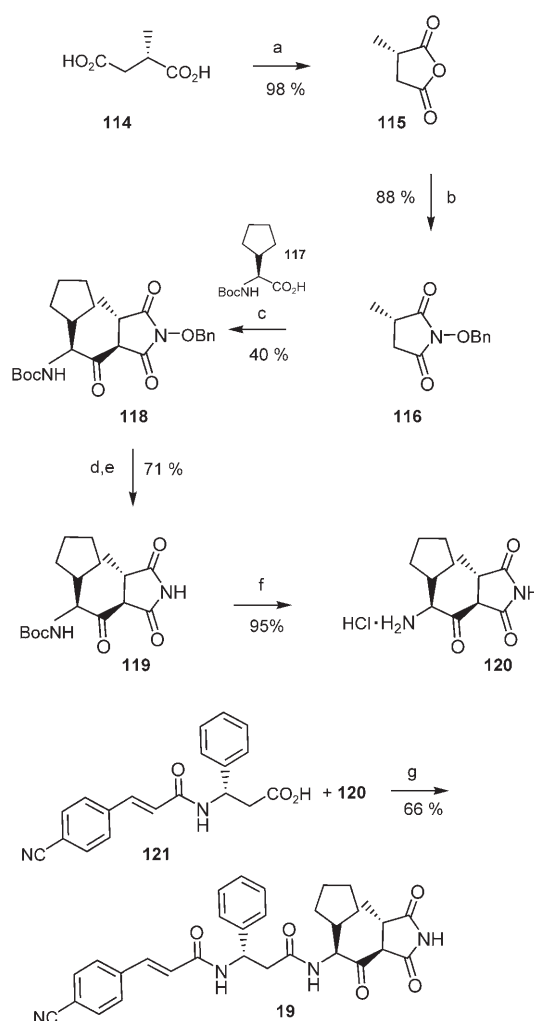
Die Struktur dieser Metabolite wurde spektroskopisch aufgeklärt.<sup>[302,303]</sup> Sie besteht aus einer linearen Anordnung von vier charakteristischen Elementen: einer Pyrrolidindion-Kopfgruppe, einem von Valin abgeleiteten  $\beta$ -Ketoamid, einer S- $\beta$ -Phenylalanin-Einheit und einer N-terminal angeknüpften, mehrfach ungesättigten Fettsäure. Experimente mit isotoptenmarkierten Substraten belegten, dass die Biosynthese des wichtigen rechten Teils der Naturstoffe von Valin, Glycin und einer Acetateinheit ausgeht.<sup>[303,304]</sup> Die Metaboliten **113** und **18** zeigten in vitro eine gute antibakterielle Aktivität gegen MRSA-Stämme. Verschiedene diastereoselektive und asymmetrische Totalsynthesen ermöglichten einen raschen Zugang zu **113** und **18**.<sup>[304,305]</sup> Diese Synthesemethoden wurden auch von uns für Strukturmodifikationen herangezogen, um die Eignung dieser Antibiotika als Leitstrukturen zu bewerten.<sup>[306,307]</sup>

Vor dem Beginn einer medizinisch-chemischen Optimierung stand jedoch die Frage, ob die Wirkung der Pyrrolidin-

dion-Antibiotika durch einen für Bakterien essenziellen Mechanismus zustande kam. Erste Experimente reproduzierten zwar die antibakterielle Wirkung von **113** und **18**, ein beschriebener Effekt auf die RNA-Synthese<sup>[308]</sup> konnte hingegen durch Metaboliten-Einbaustudien nicht bestätigt werden.<sup>[309,310]</sup> Die Anwendung verschiedener Reversed-Genomics-Techniken (Abschnitt 5.4) führte schließlich zur Identifizierung des molekularen Targets.<sup>[144,309,311]</sup> Pyrrolidindion-Antibiotika hemmen den ersten Schritt der bakteriellen Fettsäurebiosynthese, der durch die Carboxyltransferase-Untereinheit des multimeren bakteriellen Enzyms Acetyl-CoA-Carboxylase katalysiert wird.<sup>[309]</sup>

Für die meisten Organismen ist die Fettsäurebiosynthese ein lebenswichtiger Stoffwechselprozess, doch die Biosynthesewege von Bakterien<sup>[312]</sup> und Säugern<sup>[313]</sup> unterscheiden sich erheblich. Acetyl-CoA-Carboxylase ist unerlässlich für das mikrobielle Wachstum und daher zwischen verschiedenen Bakterienstämmen stark konserviert.<sup>[310]</sup> Potente Inhibitoren der bakteriellen Acetyl-CoA-Carboxylase waren nicht bekannt, und das Enzym schien wegen seiner essenziellen Funktion und seiner Konserviertheit in Gram-positiven und Gram-negativen Bakterien ein vielversprechendes Target für ein Breitspektrum-Antibiotikum zu sein. Außerdem wurde für die Pyrrolidindion-Antibiotika **113** und **18** eine geringe Resistenzinduktion und eine niedrige spontane Resistenzrate beobachtet, was sie als Leitstrukturen noch interessanter machte. Dennoch waren beide Naturstoffe noch weit davon entfernt, selbst als Medikamente in Betracht zu kommen. Eine ganze Reihe von Parametern wie Wirkstärke, chemische und metabolische Stabilität, Löslichkeit und die Wechselwirkung mit anderen Medikamenten musste durch eine medizinisch-chemische Optimierung verbessert werden.

Die neuen Pyrrolidindione wurden in Anlehnung an beschriebene Synthesen hergestellt (Schema 11).<sup>[304,305]</sup> Methylbernsteinsäureanhydrid (**115**) wurde durch Dehydratisierung von (*S*)-(-)-Methylbernsteinsäure (**114**) mit Acetylchlorid erhalten und dann mit *O*-Benzylhydroxylamin in Gegenwart von *N,N*-Carbonyldiimidazol (CDI) zu (*S*)-2-Methyl-(*N*-benzyloxy)succinimid (**116**) umgesetzt. *N*-Boc-geschütztes (2*S*)-Cyclopentylglycin, hergestellt nach der Methode von Andersson et al.,<sup>[314]</sup> wurde mit CDI in THF aktiviert, das entstandene Zwischenprodukt wurde mit **116** versetzt und bei tiefer Temperatur langsam in eine THF-Lösung von Lithiumhexamethyldisilazid (LiHMDS) getropft, um das  $\beta$ -Ketoamid **118** zu erhalten. Unter den Bedingungen entstand aus einer Mischung der *cis*-, *trans*- und Enolform bevorzugt *trans*-**118**. Hydrogenolyse der *N*-Benzyloxy-Schutzgruppe und Behandlung des *N*-Hydroxy-Intermediats mit 2'-Bromacetophenon und Triethylamin ergab das Acylsuccinimid **119**.<sup>[315]</sup> Die Abspaltung der Boc-Schutzgruppe unter sauren Bedingungen führte zum primären Amin **120**, das dann durch Standard-Amidkupplung mit *N*-Acyl-(*S*)- $\beta$ -phenylalanin (**121**) in das Pyrrolidindion-Antibiotikum **19** überführt wurde. Alternativ ließen sich **19** und seine Derivate ausgehend von **120** auch schrittweise herstellen (Gesamtausbeute etwa 60%), und zwar durch Kupplung von **120** mit *N*-Boc-(*S*)- $\beta$ -Phenylalanin, Abspaltung der Boc-Schutzgruppe und Kupplung des freien primärenamins mit dem entsprechenden Zimtsäure-Derivat nach einem Standardverfahren.<sup>[306]</sup>



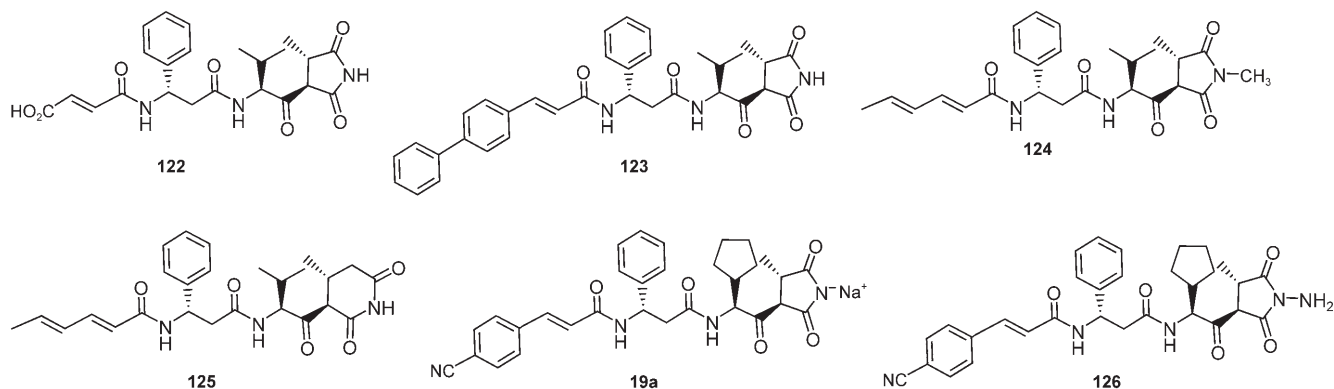
**Schema 11.** Synthesemethoden zur Einführung von Strukturvariationen und Etablierung der SAR der Pyrrolidindion-Antibiotika.<sup>[306]</sup> Reagentien und Bedingungen: a)  $\text{CH}_3\text{COCl}$ , 4 h, 60 °C, 98%; b) *O*-Benzylhydroxylamin, CDI,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 12 h, RT, 88%; c) 1. *N*-Boc-(2*S*)-Cyclopentylglycin (**117**), CDI, THF; 2. LiHMDS, THF, 15 Min., –65 °C; 3. konz. wässr.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , –65 °C  $\rightarrow$  RT, 40%; d)  $\text{H}_2$ , Pd/C (10%), EtOH, 1 h, RT; e) 2'-Bromacetophenon,  $\text{Et}_3\text{N}$ , kat. DMAP,  $\text{CH}_3\text{CN}$ , 20 h, RT; f) 4 *N* HCl in 1,4-Dioxan, 2 h, RT, 95%; g) HATU, *i*Pr<sub>2</sub>EtN,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , DMF, 10 h, 0 °C  $\rightarrow$  RT, 66%.

Formal kann **19** als ein zweifach dekoriertes Produkt des Naturstoffs **18** betrachtet werden.

Über diese Route und auch durch Festphasensynthese ausgehend von polymergebundenem (*S*)- $\beta$ -Phenylalanin wurde eine Vielzahl von Pyrrolidindion-Antibiotika hergestellt.<sup>[306,307]</sup> Breite Strukturvariationen im Fettsäureteil beeinträchtigen die Aktivität am molekularen Target nicht zu sehr. Sowohl mit lipophilen als auch mit polaren Seitenketten blieben die inhibitorischen Konzentrationen ( $\text{IC}_{50}$ ) gegenüber Acetyl-CoA-Carboxylase aus *E. coli* und *S. aureus* in der Regel im nanomolaren Bereich (Tabelle 14).

Folglich war die Seitenkette nicht an entscheidenden Wechselwirkungen mit dem Target beteiligt, sodass sie für die Feineinstellung des physikochemischen Substanzprofils genutzt werden konnte. Andererseits hatte sie einen signifi-





**Tabelle 14:** Inhibition ( $IC_{50}$  [nM]) von Carboxytransferase (AccAD-Untereinheiten) und antibakterielle In-vitro-Aktivität (MHK [ $\mu\text{g mL}^{-1}$ ]) verschiedener Pyrrolidindion-Antibiotika.

|            | $IC_{50}$      |                  | MHK                           |                               |                  |                  |
|------------|----------------|------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------|------------------|
|            | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> | <i>E. coli</i> <sup>[a]</sup> | <i>E. coli</i> <sup>[b]</sup> | <i>S. aureus</i> | <i>S. pneum.</i> |
| <b>113</b> | 13             | 305              | 32                            | > 64                          | 8                | 8                |
| <b>18</b>  | 6              | 96               | 4                             | 32                            | 8                | 32               |
| <b>19</b>  | 4              | 44               | 1                             | 32                            | 0.03             | 1                |
| <b>122</b> | 2              | 317              | > 64                          | > 64                          | > 64             | > 64             |
| <b>123</b> | 37             | 540              | > 64                          | > 64                          | 2                | 16               |
| <b>124</b> | 25             | 211              | 16                            | > 64                          | 16               | > 64             |
| <b>126</b> | 2              | 33               | 0.5                           | 16                            | 0.01             | 0.25             |

[a] Effluxpumpen-Deletionsmutante. [b] Wildtyp.

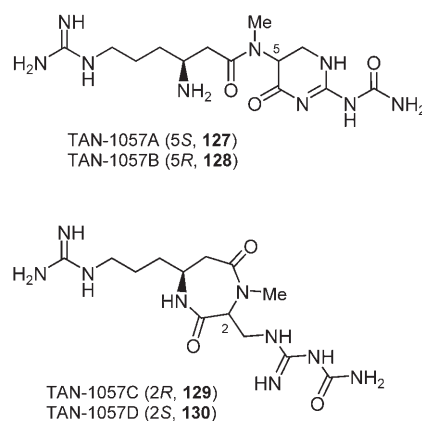
kanten Einfluss auf die antibakterielle Aktivität (MHK). Der Vergleich der Derivate **122** und **123** zeigte, dass **122** zwar über eine hervorragende Targetaktivität und eine für die Löslichkeit vorteilhafte polare Seitenketten verfügte, offensichtlich war aber eine hinreichende Lipophilie entscheidend für das Durchdringen der bakteriellen Zellwand, und damit für einen guten MHK-Wert. Substitution des (*S*)- $\beta$ -Phenylalaninrests durch nichtaromatische  $\beta$ -Aminosäuren führte zum Verlust der Aktivität. Andererseits konnte die antibakterielle Aktivität durch Variationen im  $\beta$ -Ketoamid-Motiv deutlich verbessert werden (Austausch von (*S*)-Valin gegen (2*S*)-Cyclopentylglycin). Aromatische Aminosäuren an dieser Stelle führten hingegen zum vollständigen Wirkverlust.

Da die Pyrrolidindion-Kopfgruppe sehr empfindlich auf Strukturvariationen reagierte, vermuteten wir, dass dieser Molekülteil den Übergangszustand der Carboxyltransferase-Reaktion nachahmte. So war das *N*-Methyl-Derivat **124** bereits zwei- bis vierfach wirkschwächer als Moiramid B (**18**), während mit dem entsprechenden Hydrazid das Wirkniveau des Naturstoffs gehalten werden konnte. Das Piperidon **125** erwies sich als völlig inaktiv. Diese Studien belegten die Bedeutung des 4-*S*-Methylsubstituenten in der Kopfgruppe für eine effiziente Wechselwirkung mit dem Target.<sup>[306]</sup> Hinreichende Wasserlöslichkeit ( $> 5 \text{ g L}^{-1}$ ), eine Grundvoraussetzung für die parenterale Anwendung, wurde mit dem entsprechenden Pyrrolidindion-Natriumsalz **19a** erzielt, das dann in Infektionsmodellen an Mäusen zum Einsatz kam. Alle Mäuse ( $ED_{100}$ ) überlebten eine letale *S. aureus*-Infektion nach parenteraler Gabe einer einzigen Dosis von  $50 \text{ mg kg}^{-1}$

**19a** oder  $25 \text{ mg kg}^{-1}$  **126**.<sup>[316]</sup> So gelang mit den Pyrrolidindion-Derivaten **19** und **126**, die beide ohne besonderen Aufwand im Multigramm-Maßstab herzustellen waren, die Verbesserung von mehreren kritischen Eigenschaften der Naturstoffe **113** und **18**. Systematische SAR-Untersuchungen sollten eine weitere Verbesserung der antibakteriellen Aktivität und eine vollständige Bewertung des Potenzials dieser vielversprechenden Leitstrukturklasse ermöglichen.

## 12. Tetrahydropyrimidinon-Antibiotika

Eine strukturell einzigartige Gruppe neuer Antibiotika wurde aus mehreren *Flexibacter*-Spezies isoliert, die in Bodenproben aus der Bergregion Nachi (Präfektur Wakayama, Japan) gefunden wurden. Die chemische Struktur dieser neuen Antibiotika wurde von Wissenschaftlern der Firma Takeda in einer Patentanmeldung beschrieben<sup>[317]</sup> und im Jahre 1993 als TAN-1057A–D (**127–130**) bezeichnet.<sup>[318]</sup> Die epimeren Tetrahydropyrimidinon-Antibiotika TAN-1057 A/B (**127/128**) wurden aus *Flexibacter* sp. PK-74 isoliert, wohingegen die epimeren Dioxidiazepane TAN-1057C/D (**129/130**) aus *Flexibacter* sp. PK-176 erhalten wurden.



Die Strukturaufklärung von **127/128** erfolgte durch eine Kombination von Spektroskopiestudien und Abbaureaktionen, die als Produkte vornehmlich (*S*)- $\beta$ -Homoarginin und  $\alpha$ -*N*-Methyl-2,3-diaminopropionsäure lieferten. Die Konstitu-

tion von TAN-1057C/D (**129/130**) wurde aus spektroskopischen Daten abgeleitet sowie der Beobachtung, dass sich **129** unter basischen Bedingungen schnell in ein Gemisch von **127** und **128** umwandelt. Aufgrund der Instabilität von **129** und **130** konzentrierten sich Totalsynthese-Ansätze und medizinisch-chemische Optimierungsversuche auf die Derivate **127** und **128**.

Die antibakterielle Aktivität von TAN-1057A (**127**) wurde genau untersucht.<sup>[319]</sup> Trotz mittelmäßiger MHK gegen Gram-positive Bakterien wie *S. aureus* und *S. pneumoniae* ( $6.25\text{--}12.5\ \mu\text{g mL}^{-1}$  unter Standardbedingungen) zeigte **127** eine In-vivo-Wirksamkeit in einem *S.-aureus*-Sepsis-Mausmodell, die derjenigen von Vancomycin und Imipenem deutlich überlegen war.

Markierungsstudien mit [ $^{14}\text{C}$ ]Leucin ließen vermutet, dass TAN-1057A/B (**127/128**) die bakterielle Proteinbiosynthese inhibiert.<sup>[319]</sup> In genaueren Untersuchungen zeigte sich dann, dass der antibakterielle Effekt durch die Bindung von **127/128** an die 50S-Untereinheit bakterieller Ribosomen zustande kam,<sup>[320]</sup> und zwar durch eine spezifische Hemmung des Enzyms Peptidyl-Transferase.<sup>[321]</sup> Zum gleichen Ergebnis kam auch eine Proteomik-Studie unter Verwendung von **13**, einem formalen Abbauprodukt von TAN-1057A,B (**127/128**) mit deutlich besserer Verträglichkeit.<sup>[136]</sup>

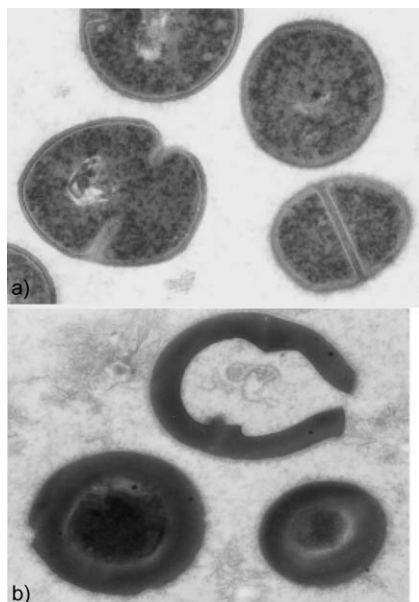
Makroskopisch zeigte sich der Effekt des Antibiotikums **13** auf das Wachstum von *S. aureus* an einer Verdickung und Schädigung der bakteriellen Zellwand (Abbildung 9). Konkurrenzexperimente mit anderen Antibiotika, die ebenfalls die Peptidyltransferase hemmen, ergaben für **127/128** den Hinweis auf eine bislang nicht bekannte Bindungsstelle am Target.<sup>[321]</sup> Entsprechend konnte für TAN-1057-resistente *S.-aureus*-Isolate keine Kreuzresistenz zu anderen Inhibitoren der bakteriellen Translation nachgewiesen werden.<sup>[322]</sup> Die Naturstoffe **127/128** wiesen in zellfreien prokaryotischen und

eukaryotischen Translationsassays eine vergleichbare, unspezifische Inhibitionswirkung auf,<sup>[321]</sup> was wahrscheinlich auch die Ursache für ihre ausgeprägte Toxizität in Mäusen war ( $\text{LD}_{50}\ 50\ \text{mg kg}^{-1}\ \text{i.v.}$ ).<sup>[318]</sup> Daher kamen die Naturstoffe **127/128** auf keinen Fall als Kandidaten für klinische Studien in Betracht. Doch ihre hervorragende In-vivo-Wirksamkeit gegen *S. aureus* und ihre enorme Wasserlöslichkeit, eine wichtige Voraussetzung für die parenterale Anwendung, ließen TAN-1057A,B (**127/128**) als eine geeignete Leitstruktur erscheinen.

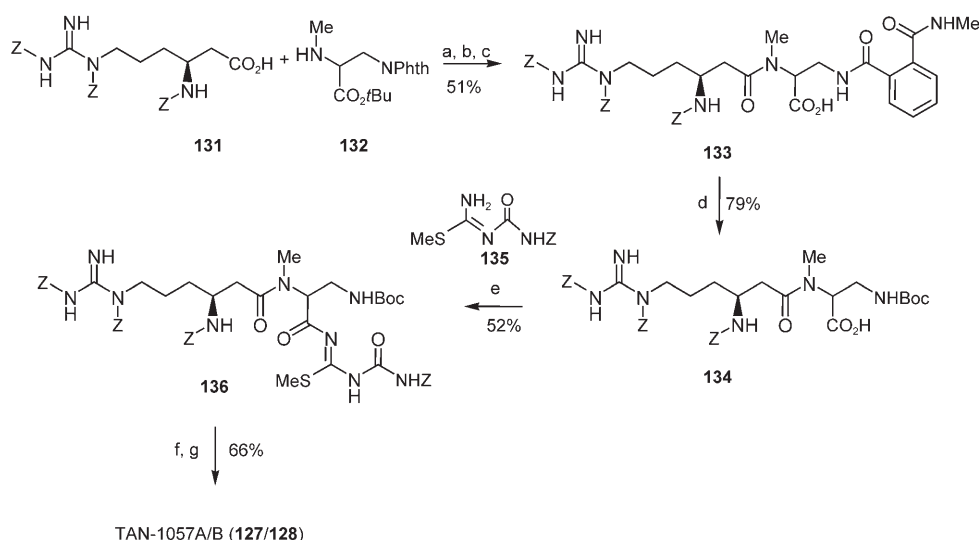
Die Totalsynthese von TAN-1057A/B (**127/128**) schuf einen flexiblen Zugang zu Derivaten mit verbesserten Eigenschaften. Trotz überschaubarer Komplexität waren bei der Synthese des Naturstoffs einige Herausforderungen zu meistern: So war die Peptidbindung zwischen  $\beta$ -Homoarginin-Seitenkette und Pyrimidinon-Heterocyclus wegen geringer Nucleophilie und sterischer Abschirmung der Aminogruppe des Bausteins **139** nicht einfach zu knüpfen. Der Heterocyclus konnte zwar ausgehend von 2,3-Diaminopropionsäure aufgebaut werden, doch die hohe Funktionalisierungsdichte verlangte eine durchdachte Schutzgruppenstrategie und eine sorgfältige Wahl der reaktiven Zentren. Außerdem war das Stereozentrum an C5 des Heterocyclus besonders epimerisierungsanfällig. Bereits die Forscher von Takeda hatten beobachtet, wie empfindlich die heterocyclische Komponente auf stark basische und saure Bedingungen reagierte. Deshalb waren besonders während der letzten Syntheseschritte harsche Bedingungen zu vermeiden. Bislang wurden drei Totalsynthesen<sup>[323–325]</sup> der Diastereomerenmischung TAN-1057A/B (**127/128**) und eine stereoselektive Synthese<sup>[326]</sup> des Diastereomers **127** erfolgreich abgeschlossen.

Die weitgehend lineare Synthese von Williams und Yuan zu **127/128**<sup>[323]</sup> wurde zuerst veröffentlicht (Schema 12). Um die kritische Peptidbindungsknüpfung zu vereinfachen, wurde hierbei der dreifach geschützte  $\beta$ -Homoarginin-Baustein **131** mit dem 2,3-Diaminopropionsäure-Derivat **132** als offenkettiger Vorstufe des Pyrimidinon-Heterocyclus verknüpft. Nach drei Schutzgruppenmanipulationen folgte die Anbindung des Isothiuronium-Bausteins **135** an die Carboxy-Einheit in **134**, dann wurde mit der Abspaltung der Boc-Schutzgruppe der Ringschluss vorbereitet. Im letzten Syntheseschritt wurden die vier verbleibenden Z-Schutzgruppen hydrogenolytisch unter milden Bedingungen abgespalten. Die längste lineare Sequenz umfasste zwölf Schritte, einschließlich der fünfstufigen Synthese von **132** aus L-N-Z-Asparagin. Ursprünglich war **132** als homochiraler Baustein für eine enantioselektive Synthese eingeplant, was jedoch an seiner ausgeprägten Epimerisierungstendenz unter verschiedenen Bedingungen scheiterte. Die bislang einzige Totalsynthese von TAN-1057C/D (**129/130**) gelang ebenfalls Williams und Yuan.<sup>[323]</sup>

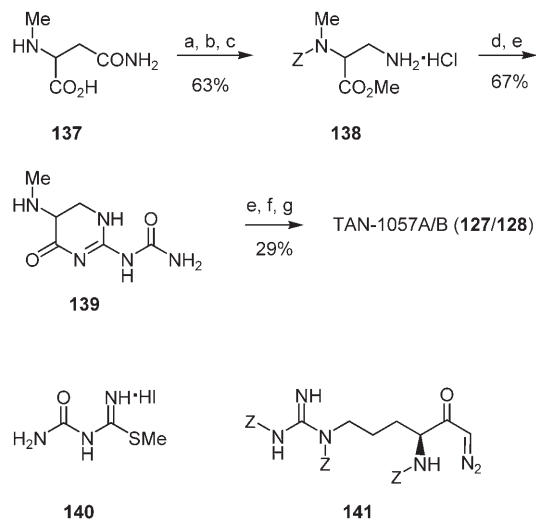
Wenig später wurde eine konvergentere Synthese von de Meijere und Belov veröffentlicht (Schema 13).<sup>[324]</sup> Das racemische Asparagin-Derivat **137** war durch Michael-Addition von Methylamin an Maleinimid zugänglich. Nach Schützen der Aminogruppe wurde das 2,3-Diaminopropionsäure-Motiv über eine Hofmann-Umlagerung eingeführt. Der Heterocyclus wurde anschließend in einem einzigen Syntheseschritt unter Verwendung des Isothiuronium-Bausteins **140**



**Abbildung 9.** Wirkungsweise von **13** auf *S. aureus*: Anschwellen und Beeinträchtigung der bakteriellen Zellwand. Elektronenmikroskopische Aufnahme a) vor und b) 4 h nach der Behandlung mit  $2\ \mu\text{g mL}^{-1}$  **13**.



**Schema 12.** Synthese von TAN-1057A/B (127/128) nach Williams.<sup>[323]</sup> Reagentien und Bedingungen: a) BOPCl, 16 h, 55%; b) CH<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>, MeOH, 5 Min.; c) TFA/Anisol 25:1, 0°C→RT, 1 h, 93 % (zwei Stufen); d) Boc<sub>2</sub>O, Et<sub>3</sub>N, Wasser/Dioxan 1:1, 16 h; e) EDC, DMAP, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 16 h, 52%; f) TFA/Anisol 10:1, 15 min, Eindampfen; dann NEt<sub>3</sub>, THF, 10 min, 67%; g) PdCl<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 2:1, 99%.



**Schema 13.** De Meijeres Synthese von TAN-1057A/B (127/128).<sup>[324]</sup> Reagentien und Bedingungen: a) PhCH<sub>2</sub>OCOCl, wässr. NaOH, 3 h, 88%; b) PhI(OCOCl)<sub>2</sub>, Pyridin, DMF/Wasser 1:1, 4 h, 74%; c) MeOH, SOCl<sub>2</sub>, -20°C→RT, 24 h, 97%; d) 140, NaOAc, MeCN, 55°C, 70%;<sup>[326]</sup> e) H<sub>2</sub>, 10% Pd/C, DMA, 24 h, 96%; f) 141, hν, DMA, 2 h, 30%; g) PdCl<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, MeOH, 99%.

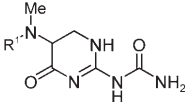
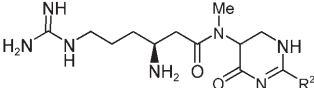
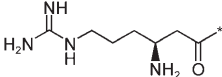
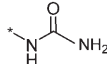
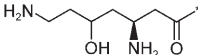

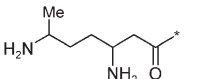

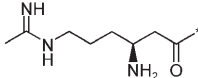

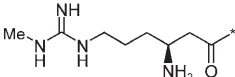

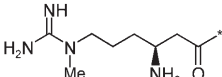
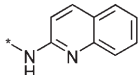
gebildet. Die ursprünglich moderate Ausbeute von 35 % konnte durch Optimierung der Bedingungen (Wechsel des Lösungsmittels von 2-Propanol zu Acetonitril, längere Reaktionszeit bei niedrigerer Temperatur) etwa verdoppelt werden.<sup>[326]</sup> Die Knüpfung der kritischen Peptidbindung erfolgte durch Bestrahlung der β-Homoarginin-Vorstufe **141** in Gegenwart des entschützten Aminopyrimidinons **139**, das direkt mit dem Keten aus der Wolff-Umlagerung reagierte. Abschließendes dreifaches Entschützen ergab TAN-1057A/B (127/128).

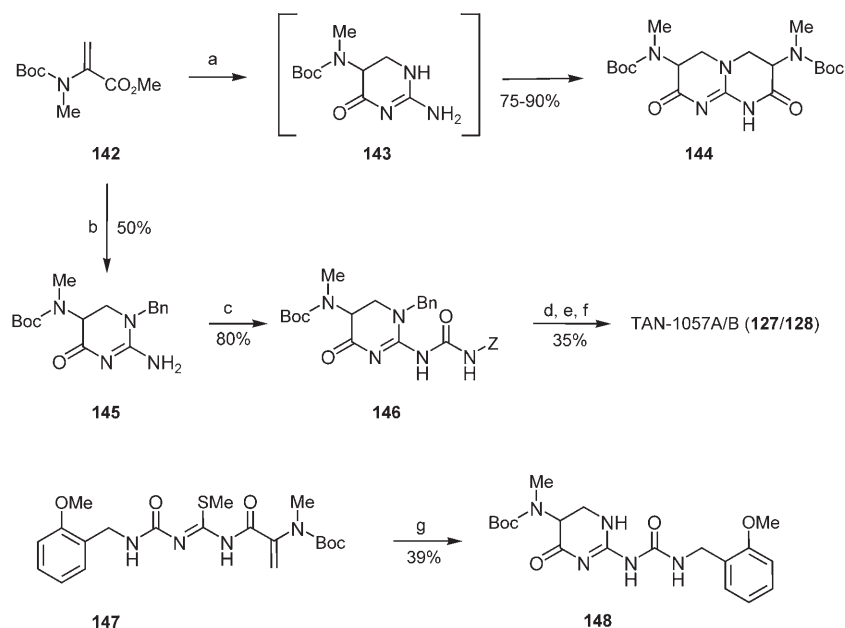
Die achtschufige Synthese von de Meijere bot einen kurzen und praktikablen Zugang zu **127/128**. Der Schlüsselbaustein **139** wurde in großer Menge und in nur sechs Synthesestufen mit einem Minimum an Schutzgruppenmanipulationen zugänglich, da sich die freie Aminogruppe in **140** nicht nachteilig auf den Cyclisierungsschritt auswirkte. Diese Syntheseroute wurde erfolgreich zur Herstellung einer Vielzahl verschiedener Derivate verwendet (Tabelle 15). Darüber hinaus konnte durch sorgfältige Optimierung der Reaktionsbedingungen ein erster enantioselektiver Zugang zu homochiralem TAN-1057A (**127**) gefunden werden.<sup>[326]</sup>

Ursprünglich planten de Meijere und Belov die Synthese von **127/128** durch Addition des als Ureidopyrimidinon maskierten Guanidins an das Dehydroalanin-Derivat **142** (Schema 14).<sup>[324]</sup> Diese Reaktion hielt jedoch nicht nach der ersten Michael-Addition/Ringschluss-Sequenz an, sondern führte direkt zum Bicyclus **144**. Die zweite Michael-Addition kann durch Verwendung eines *N*-geschützten Guanidins unterdrückt werden: So bauten Ganesan und Lin<sup>[327]</sup> die Guanidino-Funktion in situ aus der entsprechenden Dehydroalanin-Vorstufe **147** auf. Mit einem *N*-Benzyl-geschützten Guanidin gelang Wissenschaftlern bei Gilead die Synthese des Intermediats **145** über die Additions-Cyclisierungs-Route.<sup>[325]</sup> Der Einbau der Harnstoff-Einheit lieferte Intermediat **146**, das dann unter Modifizierung der Bedingungen von de Meijere<sup>[324]</sup> in den Naturstoff **127/128** überführt werden konnte. Bei insgesamt sieben Stufen betrug die Gesamtausbeute 12 %.

Die verschiedenen Syntheserouten zu **127/128** ermöglichten Strukturvariationen in allen Bereichen des Naturstoffs. An der University of Colorado, bei Gilead und bei Bayer versuchte man unabhängig voneinander, die akute Toxizität des Naturstoffes zu senken, ohne seine ausgezeichnete antibakterielle Aktivität einzubüßen. Das optimierte Zielmolekül sollte ein Antibiotikum mit schmalen Spektrum sein, mit dem die Lücken im Spektrum etablierter Wirkstoffe wie Imipenem geschlossen werden konnten. Es zeigte sich, dass sowohl die ω-Guanidinogruppe als auch die β-Aminofunktion unverzichtbar für die Wirkung gegen Staphylokokken waren.<sup>[328]</sup> Eine Verschiebung der β-Aminogruppe in die α-Position wurde selbst bei unveränderter Kettenlänge nicht toleriert.<sup>[329]</sup> In einer systematischen Untersuchung wirkte sich die Verringerung des Abstands zwischen der Amino- und Guanidinogruppe (**149**) nachteilig auf die antibakterielle Aktivität aus, wohingegen die Verlängerung durch eine zusätzliche Methylengruppe (in **150**) möglich war.<sup>[330]</sup> Der Austausch der ω-Guanidinofunktion gegen eine Aminogruppe, wie in **13** und **151**, führte zu einer deutlichen Verbesserung der Verträglichkeit. *S*-Konfiguration und β-Positi-

**Tabelle 15:** Antibakterielle In-vitro-Aktivität von Derivaten mit neuen  $\beta$ -Aminosäure-Seitenketten<sup>[330, 334, 336]</sup> (links) und Harnstoffvariationen (rechts),<sup>[325, 328, 334]</sup> MHK *S. aureus* [ $\mu\text{g mL}^{-1}$ ].

|                |  | MHK   |                |  | MHK  |
|----------------|---|-------|----------------|---|------|
| <b>127/128</b> |  | 0.25  | <b>127/128</b> |  | 0.25 |
| <b>152</b>     |  | 0.4   | <b>157</b>     |  | 64   |
| <b>153</b>     |  | 0.4   | <b>158</b>     |  | 8    |
| <b>154</b>     |  | 0.2   | <b>159</b>     |  | 0.4  |
| <b>155</b>     |  | 0.8   | <b>160</b>     |  | 0.05 |
| <b>156</b>     |  | 0.025 | <b>161</b>     |  | 0.1  |



**Scheme 14.** Synthesen der Intermediate **144**<sup>[324]</sup> und **148**<sup>[327]</sup> sowie des Naturstoffs TAN-1057A/B (**127/128**)<sup>[327]</sup> aus Dehydroalanin-Vorstufen. Reagentien und Bedingungen: a) Guanidin, *i*PrOH, 48 h; b) *N*-Benzylguanidin (TFA Salz),  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , *i*PrOH, RT, 16 h, dann 50°C, 4 h; c) Z-NCO, THF, 16 h; d) TFA,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; e) **131**,  $\text{AgClO}_4$ ,  $\text{NEt}_3$ , DMF; f)  $\text{PdCl}_2$ , Pd/C,  $\text{H}_2$ , MeOH; g) 2 M  $\text{NH}_3$  in MeOH, 20 h.

on der Aminogruppe erwiesen sich in dieser Verbindungsreihe als Optimum (Tabelle 17).<sup>[330, 331]</sup>

Die Aminosäurekomponenten für das Optimierungsprogramm waren zum Beispiel durch Arndt-Eistert-Kettenverlängerung bequem zugänglich. Zur umfassenden Erforschung

der Seitenketten-SAR, insbesondere zur Herstellung von Derivaten von **13** und **151**, wurde die Synthese neuer  $\beta$ -Lysin- oder  $\beta$ -Homolysin-Bausteine erforderlich.<sup>[332]</sup> Überraschenderweise erwies sich die Chemie der  $\beta$ -Aminosäuren in diesem Bereich jedoch als wenig erforscht.<sup>[333]</sup> Ein Grund für den Mangel an allgemeinen Methoden zur De-novo-Synthese von  $\beta$ -Lysin- und  $\beta$ -Homolysin-Derivaten mag im kritischen 1,4- bzw. 1,5-Abstand zwischen  $\omega$ - und  $\beta$ -Aminogruppe liegen, der immer wieder zur Bildung von Pyrrolidin- und Piperidin-Nebenprodukten Anlass gibt.

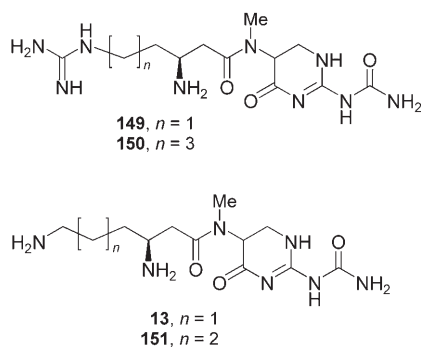
Mit verschiedenen de novo synthetisierten  $\beta$ -Aminosäuren<sup>[330, 334, 335]</sup> ließen sich weitere SAR-Trends aufdecken (Tabelle 15). Der Einbau von Isoxazol- oder Thiazol-Heterocyclen führte zum vollständigen Verlust der Wirkung gegen Staphylokokken.<sup>[334]</sup> Dagegen wurden kleine Gruppen wie Carbonyl, Hydroxy (in **152**) oder Methyl (in **153**) zwar toleriert, die entsprechenden Derivate waren jedoch nicht wirksamer als **127/128**. Der Austausch der Guanidin-Einheit des Naturstoffs gegen eine Amidin-Gruppe (in **154**) oder verschiedene Methylguanidin-Einheiten (in **155** und **156**) ergab Verbindungen mit hervorragender Aktivität gegen Staphylokokken, die, speziell bei **156**, mit einer zusätzlichen Wirkung gegen Pneumokokken einherging (Tabelle 16).

Für den Tetrahydropyrimidinon-Heterocyclen selbst wurde bislang nur eine Strukturvariation beschrieben: Die *N*-Methylierung in Position 1 ergab eine unwirksame Verbindung.<sup>[325]</sup> Gleichmaßen führte die Methylierung der proximalen NH-Funktion der benachbarten Harnstoff-Gruppe zu vollständigem Aktivitätsverlust (**157**, Tabelle 15).<sup>[325]</sup> Die Harnstoff-Einheit ist offensichtlich durch eine Wasserstoffbrücke mit der NH-Gruppe des Rings konformativ fixiert.

Interessanterweise ließ sich das Harnstoff-Motiv durch verschiedene Heterocyclen ersetzen, beispielsweise Pyrimidin (in **159**), Pyridin (in **160**) oder Chinolin (in **161**).<sup>[334]</sup>

Diese Optimierung ergab Verbindungen, die dem natürlichen Antibiotikum **127/128** überlegen waren (Tabelle 16,





**Tabelle 16:** Antibakterielle In-vitro-Aktivität von TAN-1057A/B-Analoga, MHK [ $\mu\text{g mL}^{-1}$ ].

|                | <i>S. aureus</i> | <i>S. epidermidis</i> | <i>E. faecium</i> | <i>E. faecalis</i> | <i>S. pneumoniae</i> |
|----------------|------------------|-----------------------|-------------------|--------------------|----------------------|
| <b>127/128</b> | 0.25             | 0.25                  | 2                 | > 16               | 16                   |
| <b>151</b>     | 0.25             | 0.125                 | 0.25              | 64                 | 32                   |
| <b>156</b>     | 0.025            | 0.125                 | 2                 | 64                 | 4                    |
| <b>160</b>     | 0.05             | 0.25                  | 2                 | > 64               | 2                    |

**Tabelle 17:** Biologische Eigenschaften von TAN-1057A/B-Analoga.

|                | <i>S.-aureus</i> -<br>Sepsis<br>ED <sub>100</sub> [ $\text{mg kg}^{-1}$ ] <sup>[a]</sup> | Prokaryotische<br>Translation<br>IC <sub>50</sub> [ $\mu\text{M}$ ] | Eukaryotische<br>Translation<br>IC <sub>50</sub> [ $\mu\text{M}$ ] | Cytotoxizität<br>EC <sub>50</sub> [ $\mu\text{g mL}^{-1}$ ] |
|----------------|--|---|--|---|
| <b>127/128</b> | 0.25   | 0.3   | 0.17   | 0.25  |
| <b>151</b>     | 0.25   | 0.5   | 2.8  | 6   |
| <b>156</b>     | ≤ 0.5  | 0.06  | n.b. <sup>[b]</sup>  | n.b. <sup>[b]</sup>   |
| <b>160</b>     | 1  | n.b. <sup>[b]</sup>   | 0.07   | n.b. <sup>[b]</sup>   |

[a] 100% Überlebensrate nach parenteraler Gabe der angegebenen Dosis im Mausmodell. [b] n.b. = nicht geprüft.

Tabelle 17). So zeigte **151** eine dem Naturstoff vergleichbare antibakterielle In-vitro- und In-vivo-Wirksamkeit und gleichzeitig eine bevorzugte Hemmung der prokaryotischen Proteinbiosynthese (Tabelle 17). Dieser Selektivitätsanstieg spiegelte sich in einem deutlich verbesserten cytotoxischen Profil und in einer besseren Verträglichkeit wider. Das  $\beta$ -Homolysin **151** wurde in parenteralen Dosen bis zu  $150 \text{ mg kg}^{-1}$  gut vertragen und erfüllte somit die Anforderungen für ein klinisches Spezialpräparat mit schmalen Spektrum; das  $\beta$ -Lysin-Derivat **13** zeigte ein ähnliches Substanzprofil. **156** und **160** hatten in vitro eine deutlich breitere antibakterielle Wirkung (zusätzliche Wirkung auf Pneumokokken), jedoch auf Kosten der Verträglichkeit und des therapeutischen Index. Beide Verbindungen kamen für eine klinische Entwicklung nicht in Betracht.

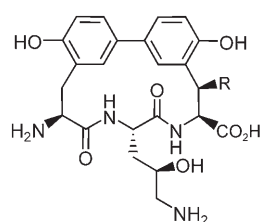
Die vielversprechenden Eigenschaften und die Struktur des Antibiotikums TAN-1057A/B (**127/128**) haben das Interesse verschiedener Forschungsgruppen geweckt. Eine systematische Erforschung der SAR erforderte neue Zugänge zu  $\beta$ -Lysin- und  $\beta$ -Homolysin-Derivaten. Die im großen Maßstab herstellbaren Pyrimidinon-Antibiotika **13** und **151** zeichnen sich im Vergleich zum Naturstoff durch verbesserte Cytotoxizität und Verträglichkeit aus, während die hervorragende antibakterielle Wirkung erhalten blieb. Formal führte hier der Abbau eines Naturstoffs – praktisch umgesetzt über eine De-novo-Synthese – zu besser verträglichen Derivaten.

### 13. Biphenomycine

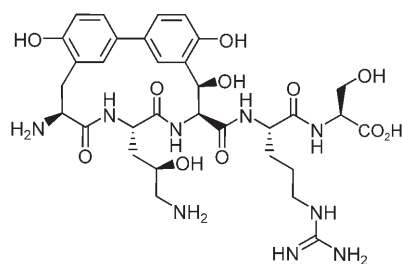
Im Jahr 1967 berichtete eine Gruppe von Lederle über die Isolierung des ungewöhnlichen Antibiotikums LL-AF283 $\alpha$  aus der Fermentation von *S. filipinensis*.<sup>[337,338]</sup> Borders und Mitarbeiter erkannten 1991,<sup>[339]</sup> dass LL-AF283 $\alpha$  identisch mit dem peptidischen Antibiotikum Biphenomycin A war (WS-43708A), das 1984 von Fujisawa vorgestellt worden war.<sup>[340–342]</sup> In der einzigartigen Architektur der Biphenomycine sind ein Tripeptid und eine Biphenyleinheit zu einem 15-gliedrigen Ring verbunden. Die Absolutkonfiguration der Biphenomycine A (**162**), B (**21**) und C (**163**)<sup>[343]</sup> wurde aufgeklärt.<sup>[344,345]</sup>

Die In-vitro-Aktivität von Biphenomycin A (**162**) beschränkte sich fast ausschließlich auf *Corynebacterium xerosis*. Das Wachstum anderer Bakterien wie *S. aureus*, *E. coli* oder *S. pyogenes* wurde in Agarplatten-Diffusionstests oder in Agar-Verdünnungstests bis zu  $200 \mu\text{g mL}^{-1}$  nicht beeinflusst. Trotzdem war **162** in vivo in einem Sepsis-Mausmodell äußerst effizient. Nach subkutaner Gabe schützte **162** Mäuse gegen eine ansonsten tödliche Infektion durch *S. aureus* Smith (ED<sub>90</sub>  $1 \text{ mg kg}^{-1}$ ) und war damit 5-fach wirksamer als Vancomycin im gleichen Experiment.<sup>[337]</sup> Der Grund für diese Diskrepanz zwischen In-vitro- und In-vivo-Aktivität blieb zunächst unklar. Die MHK-Werte schienen durch die Testbedingungen stark beeinflusst zu werden.<sup>[337,341]</sup> In komplexen Medien (z. B. Mueller-Hinton-Agar) wurde jegliche Aktivität komplett

unterdrückt. Hingegen konnten in semisynthetischen Medien MHKs gegen Gram-positive Bakterien erhalten werden, nicht aber gegen Gram-negative Bakterien.<sup>[341]</sup> Zusätzlich schien es, als ob hochresistente Mutanten bereits nach dem ersten Kontakt mit **162** selektiert werden könnten. Dies



Biphenomycin A, R = OH (**162**)  
Biphenomycin B, R = H (**21**)



Biphenomycin C (**163**)

deutete auf ein ungünstiges Resistenzprofil hin.<sup>[339]</sup> Andererseits zeigten die so erzeugten Mutanten keinerlei Kreuzresistenzen gegenüber etablierten Antibiotika wie Vancomycin, den Tetracyclinen, Ampicillin oder Erythromycin. Außerdem war Biphenomycin A (**162**) nach oraler Gabe von Dosen bis 640 mg kg<sup>-1</sup> in Mäusen gut verträglich.<sup>[337]</sup>

Ihre interessante In-vivo-Wirksamkeit, gute Verträglichkeit und fehlende Kreuzresistenz zu vermarkteten Antibiotika machten die Biphenomycine zum aussichtsreichen Ausgangspunkt für eine medizinisch-chemische Optimierung. Auf der anderen Seite führten die fehlende In-vitro-Aktivität, das ungewisse Resistenzverhalten und das bis dato unbekannte molekulare Target zu Problemen, die nur mithilfe einer Totalsynthese gelöst werden könnten, die schnelle Strukturvariationen ausgewählter Molekülteile zulässt.

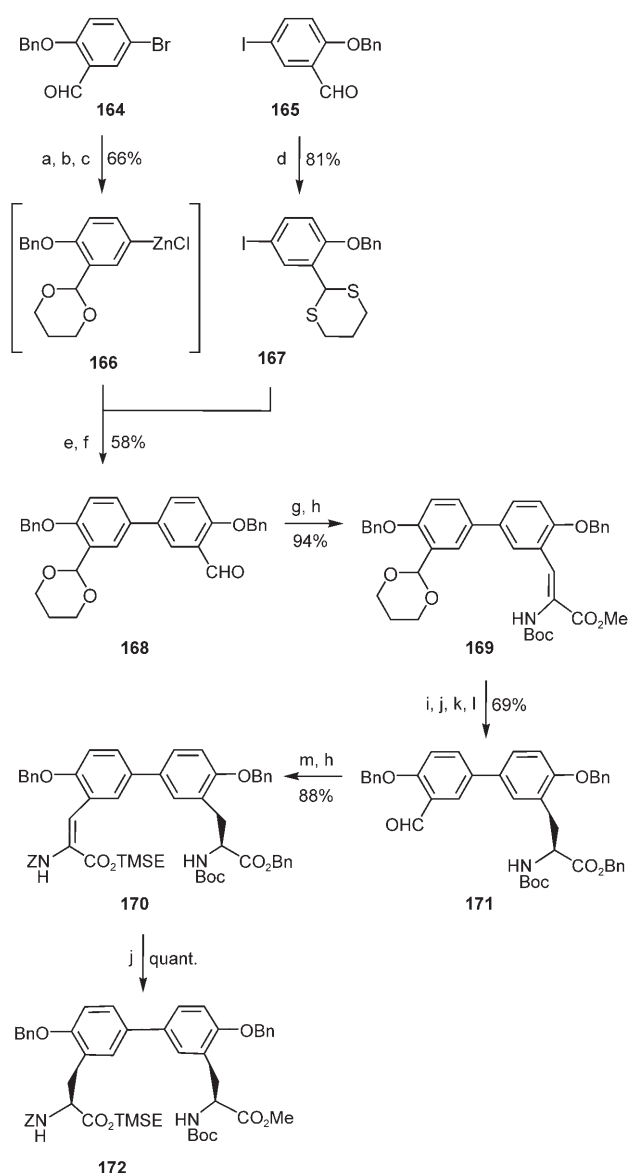
Die erste Totalsynthese von Biphenomycin B (**21**) wurde von Schmidt et al.<sup>[346]</sup> im Jahr 1991 beschrieben (Schema 15). Diese Sequenz bestand aus 1) der Synthese von (*S,S*)-Isotyrosin (**172**), 2) der Bildung des *ansa*-Tripeptids (**174**), 3) einer Makrocyclisierung und 4) dem Entfernen der Schutzgruppen.

Schlüsselschritte der Synthese des orthogonal geschützten (*S,S*)-Isotyrosins waren die palladiumkatalysierte Kupplung der Zinkverbindung **166** mit dem Aryliodid **167**, gefolgt von der sequenziellen Einführung der Dehydroaminosäuren **169** und **170**. Das zunächst gebildete *E/Z*-Gemisch von **169** und **170** wurde mit Triethylamin auf Kohle zum *Z*-Alken isomerisiert, dessen enantioselective Hydrierung mit über 99 % *ee* zu **171** und **172** führte.

Nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppe wurde **172** mit (2*S*,4*R*)-Hydroxyornithin (**173**) gekuppelt, das seinerseits aus D-Mannit gewonnen worden war.<sup>[347]</sup> Über alternative Ansätze zu unterschiedlich geschützten Hydroxyornithin-Derivaten wurde bereits andernorts berichtet.<sup>[348]</sup> Die Schutzgruppenmanipulation und Aktivierung der Säureeinheit als Pentafluorphenylester **175** (für die Makrocyclisierung) gelang in ausgezeichneten Ausbeuten in einem Zweiphasensystem unter Hochverdünnungsbedingungen. Nach gleichzeitigem Entfernen von fünf Schutzgruppen wurde schließlich **21** erhalten (Schema 16).

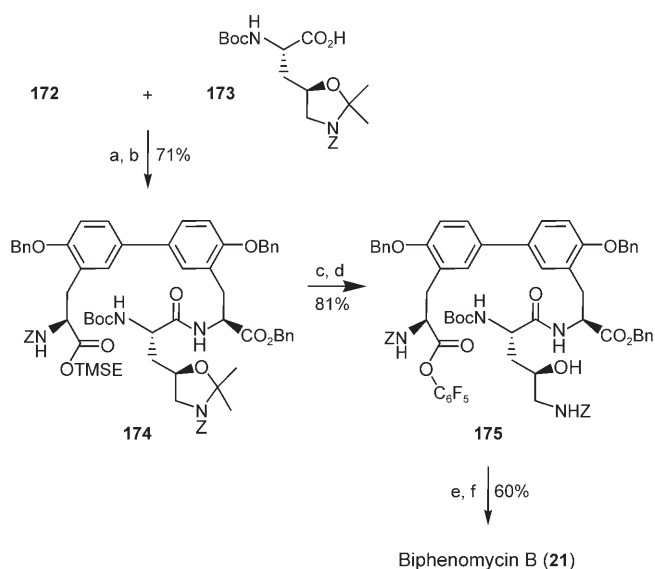
Diese Route lieferte den gewünschten Naturstoff in 22 Stufen mit ausgezeichneter Enantiomerenreinheit ausgehend von den entsprechend substituierten Benzaldehyd-Derivaten (9 % Gesamtausbeute, Schema 15). Analog zur Biphenomycin-B-Synthese erhielten Schmidt und Mitarbeiter auch Biphenomycin A (**162**) nach einigen Modifikationen bei der Herstellung des Isotyrosins.<sup>[349,350]</sup> Auch jüngere Ergebnisse der Gruppe von Paintner<sup>[351]</sup> und anderen<sup>[352–354]</sup> beruhen auf den Vorarbeiten von Schmidt, wobei meist der Aufbau des enantiomerenreinen Isotyrosins modifiziert wurde. Entsprechend wurden bereits einige Methoden erfolgreich zum Aufbau des Biaryl-Motivs verwendet: Die Kreuzkupplungen nach Stille und Suzuki sowie oxidative Varianten unter Verwendung von VOCl<sub>3</sub>.

Obwohl Totalsynthesen für Biphenomycin A und B bekannt waren, fehlten bis vor kurzem sowohl Derivate als auch Analoga der Naturstoffe. Eine erste Serie vereinfachter Amid- und Esterderivate mit zusätzlichen Derivatisierungen im Peptidgerüst wurde jüngst beschrieben.<sup>[355,356]</sup> Die Synthesen dieser Naturstoff-Analoga umfassten weniger Stufen

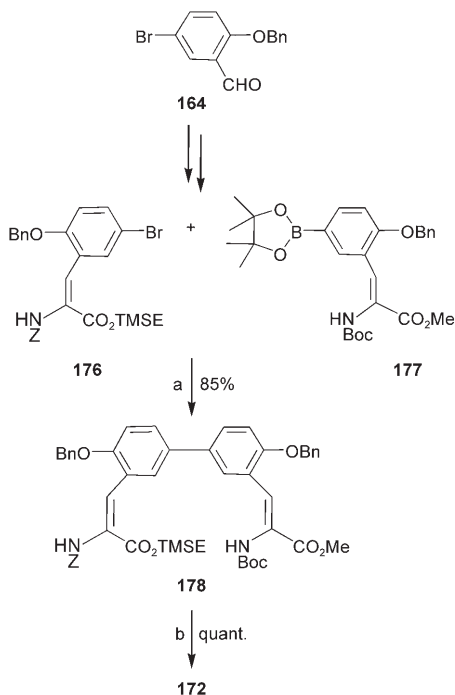


**Schema 15.** Schmidts Synthese von (*S,S*)-Isotyrosin (**172**).<sup>[346]</sup> Reagenzien und Bedingungen: a) Propan-1,3-diol, BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O, Toluol, Rückfluss, 4 h; b) Mg, THF, Rückfluss, 3 h; c) ZnCl<sub>2</sub>, THF, Rückfluss, 1 h; d) Propan-1,3-dithiol, BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O, Toluol, Rückfluss, 4 h; e) [PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], iBu<sub>2</sub>AlH, RT, 3 h; f) NBS, 2,6-Lutidin, CH<sub>3</sub>CN, H<sub>2</sub>O, 0 °C, 5 min; g) Methyl-*N-tert*-butoxycarbonyl(dimethoxyphosphoryl)glycinat, LiCl, DBU, CH<sub>3</sub>CN, RT, 1 h; h) NEt<sub>3</sub>, C, EtOH/CHCl<sub>3</sub> (1:1), RT, 2 d; i) LiOH, H<sub>2</sub>O, Dioxan, RT, 12 h; j) [Rh(cod)dipamp)]BF<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>, MeOH, RT, 72 h; k) BnOH, DCC, DMAP, Ethylacetat, –15 → 20 °C, 12 h; l) PPTS, Aceton, H<sub>2</sub>O, Rückfluss, 6 h; m) *N*-Benzyloxycarbonyl(dimethoxyphosphoryl)glycin-trimethylsilylester, LiCl, DBU, CH<sub>3</sub>CN, RT, 2 h.

als die ursprüngliche Sequenz. Biphenomycin-B-Analoga wurden in 16 Stufen ausgehend von Benzaldehyd **164** erhalten; die Synthese schloss eine Suzuki-Miyaura-Kupplung<sup>[357]</sup> mit nachfolgender doppelter asymmetrischer Hydrierung ein (Schema 17).<sup>[358,359]</sup> Die gezeigte Route lieferte das gleiche Intermediat wie Schmidts Synthese, **172**, als einziges Diastereomer mit kompletter Stereokontrolle (> 99 % *ee*). Zusätzlich konnte die Gesamtausbeute der Synthese durch Opti-



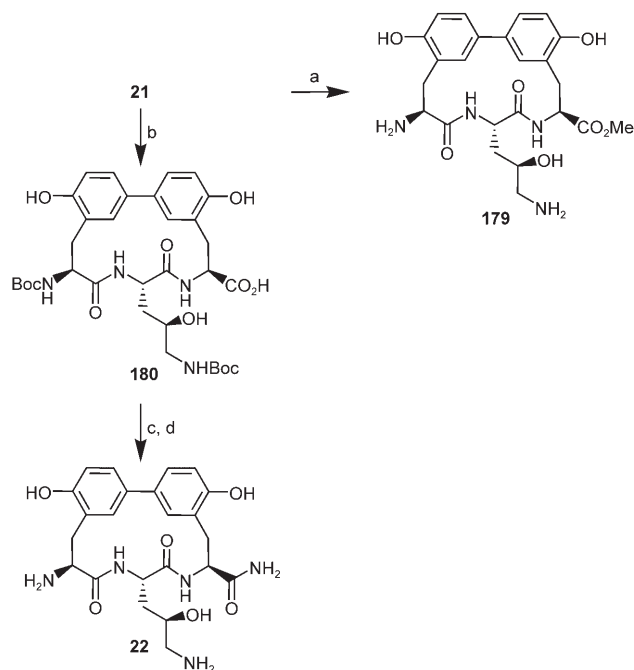
**Scheme 16.** Schmidts Totalsynthese von Biphinomycin B (**21**).<sup>[346]</sup> Reagentien und Bedingungen: a) HCl, Dioxan, 20 °C, 2 h; b) EDC, HOBT, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -15 → 20 °C, 14 h; c) AcOH/H<sub>2</sub>O (9:1), 50 °C, 7 h; d) Bu<sub>4</sub>NF, DMF, RT, 1 h, C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>OH, EDC, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -15 → 20 °C, 14 h; e) HCl, Dioxan/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1), 0 °C, Eindampfen zur Trockene; CHCl<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, 20 °C, 5 min; f) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat, Thioanisol, TFA, RT, 30 min.



**Scheme 17.** Bayer-Synthese von Hydroxydiisotyrosin-Derivat **172** im großen Maßstab.<sup>[358]</sup> Reagentien und Bedingungen: a) Bis(diphenylphosphanyl)ferrocen-palladium(II)-chlorid, Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1-Methyl-2-pyrrolidon, H<sub>2</sub>O, 50 °C, 10 h, 85%; b) H<sub>2</sub> (3 bar), (S,S)-Et-DuPhos-Rh (1.5%), EtOH/Dioxan (1:1), RT, 3 d, quant., > 99% *de*, > 99% *ee*.

mierung der Makrocyclisierung und der Schutzgruppen-Abspaltung im abschließenden Schritt verbessert werden.

Biphenomycin-Analoga, die nach dieser Methode erhalten wurden, konnten entweder durch direkte Veresterung oder durch eine dreistufige Amidbildung derivatisiert werden (Boc-Schützen, Amidbildung mit der C-terminalen Säuregruppe, säurekatalysierte Boc-Abspaltung; Schema 18). Dieser Ansatz öffnete einen Zugang zu neuen Derivaten von Biphenomycin B (**21**) mit höherer In-vitro-Aktivität als die Naturstoff-Leitstruktur (Tabelle 18).<sup>[355,356,360]</sup>



**Scheme 18.** Derivatisierung von Biphenomycin B (**21**). Reagentien und Bedingungen: a) 4 M HCl in Dioxan, MeOH, RT, 24 h, 97%; b) Di-*tert*-butyldicarbonat, H<sub>2</sub>O, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeOH, 0 °C → RT, 12 h, 83%; c) Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, *i*Pr<sub>2</sub>NEt, NH<sub>4</sub>Cl, HATU, DMF, 4 h, RT, 52%; d) 4 M HCl in Dioxan, RT, 30 min, 97%.

**Tabelle 18:** Antibakterielle In-vitro-Aktivität von **179** und **22** gegen Gram-positive Pathogene, MHK [ $\mu\text{g mL}^{-1}$ ].

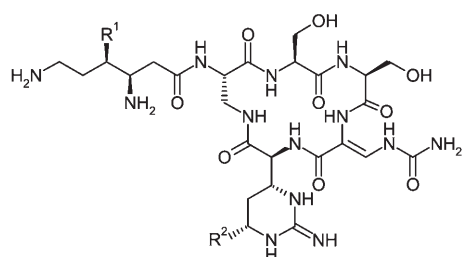
|            | <i>S. aureus</i> | <i>S. aureus</i> | <i>E. faecalis</i> | <i>B. catarrhalis</i> |
|------------|------------------|------------------|--------------------|-----------------------|
| <b>22</b>  | 1.5              | 0.2              | 1                  | 1                     |
| <b>179</b> | 0.1              | 0.05             | 3                  | 1                     |

Obwohl die Biphenomycine wie die Vancomycine eine Biphenyl-Einheit tragen, gibt es keine Hinweise darauf, dass diese ebenfalls an die Zellwand-Analoga von *N*-Ac-D-Ala-D-Ala binden.<sup>[344]</sup> Statt dessen ist der molekulare Angriffspunkt dieser neuen Naturstoffklasse in der bakteriellen Proteinbiosynthese zu suchen.<sup>[356]</sup>

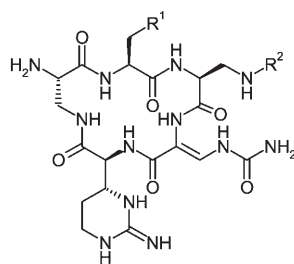
Zusammenfassend ist es gelungen, mit der effizienten De-novo-Synthese einen Weg zu neuen Biphenomycin-Derivaten (durch substituierende Derivatisierung) mit besserer In-vitro-Wirkung zu etablieren und weitere Erkenntnisse über das Target dieser Antibiotika zu sammeln.

# 14. Tuberactinomycine und Capreomycine

Die Familie der Tuberactinomycin-Antibiotika besteht aus den eng verwandten cyclischen Homopentapeptiden Tuberactinomycin und Capreomycin. Viomycin (Tuberactinomycin B, **182**) wurde im Jahr 1951 entdeckt<sup>[361,362]</sup> und von Ciba und Pfizer in den 1960er Jahren als Tuberkulostatikum vermarktet. Die Capreomycine wurden aus der Fermentation von *Streptomyces capreolus* als eine Vierkomponentenmischung mit **23** und **185** als Haupt- und **186** und **187** als Nebenkomponenten isoliert.<sup>[363]</sup> Beide Unterklassen zeigten gute Wirkung gegen Mycobakterien (einschließlich multiresistenter Stämme), aber nur eingeschränkte Wirkung gegen andere Spezies.<sup>[364]</sup>

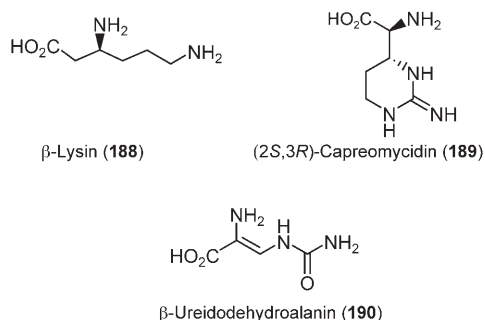


Tuberactinomycin A, R<sup>1</sup> = OH, R<sup>2</sup> = OH (**181**)  
Tuberactinomycin B, R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = OH (**182**, Viomycin)  
Tuberactinomycin N, R<sup>1</sup> = OH, R<sup>2</sup> = H (**183**)  
Tuberactinomycin O, R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = H (**184**)



Capreomycin IA, R<sup>1</sup> = OH, R<sup>2</sup> =  $\beta$ -Lysyl (**23**)  
Capreomycin IB, R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> =  $\beta$ -Lysyl (**185**)  
Capreomycin IIA, R<sup>1</sup> = OH, R<sup>2</sup> = H (**186**)  
Capreomycin IIB, R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = H (**187**)

Das Vorliegen der nichtproteinogenen Aminosäuren  $\beta$ -Lysin (**188**), (2*S*,3*R*)-Capreomycinidin (**189**) und  $\beta$ -Ureidodehydroalanin (**190**) in den Peptidgerüsten dieser Verbindungsklasse erschwerte ihre Strukturaufklärung. Ein erster Strukturvorschlag<sup>[365]</sup> für Capreomycin IB (**185**) wurde später

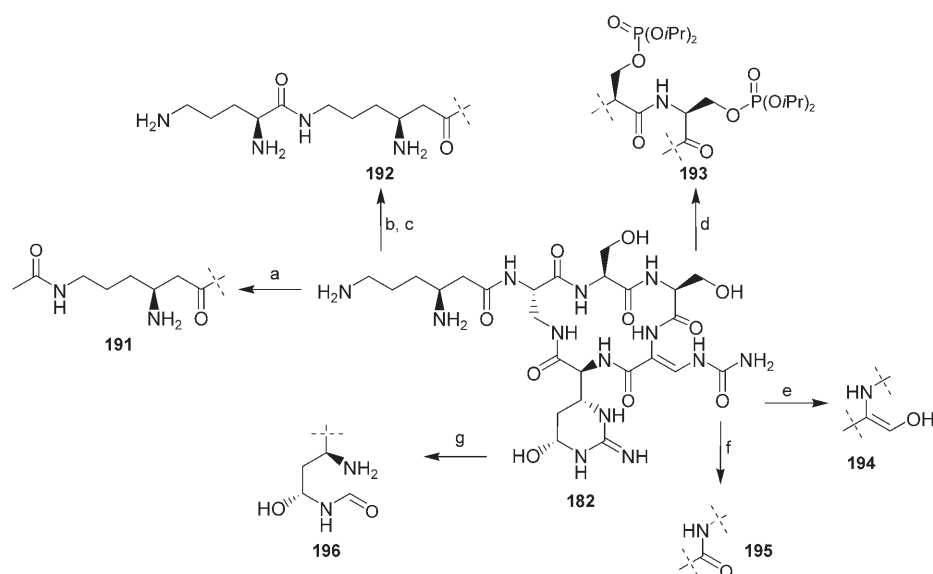


von Shiba revidiert.<sup>[366]</sup> Mehrere Arbeiten beschäftigten sich in der Folgezeit mit der Aufklärung der partiellen<sup>[367]</sup> oder der kompletten Konstitution der Tuberactinomycine (vor allem mit Viomycin).<sup>[368–370]</sup> Trotzdem konnte die Konstitution erst nach einer erfolgreichen Röntgenstrukturanalyse für Tuberactinomycin O (**184**)<sup>[371]</sup> und der darauf folgenden Zuordnung der Struktur von Viomycin (**182**)<sup>[372]</sup> zugewiesen werden.

Die Tuberactinomycine wirken vorrangig auf Mycobakterien wie *Mycobacterium tuberculosis* oder *Mycobacterium kansasii* (MHK 2–20  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ).<sup>[373,374]</sup> Ihre antibiotische Aktivität beruht auf einer potenten Hemmung des Translationschrittes der prokaryotischen Proteinbiosynthese, bei der zugleich die Initiation und die Verlängerung inhibiert werden. Eine genaue Untersuchung zeigte, wie die Tuberactinomycine auf molekularer Ebene mit der RNA wechselwirken.<sup>[375]</sup> Die Capreomycine übertrumpften Streptomycin, Cycloserin und Kanamycin im In-vitro-Test gegen ausgewählte Stämme von *M. tuberculosis*.<sup>[376]</sup> Eine Kreuzresistenz der Tuberactinomycine mit Kanamycin, Lividomycin oder Paronomycin war nicht zu beobachten,<sup>[377]</sup> und die Resistenzentwicklung in vitro schien im Vergleich zu Kanamycin langsam zu verlaufen.<sup>[373]</sup> Die In-vivo-Wirksamkeit dieser Verbindungen in Tuberkulose-Mausmodellen war gering nach oraler, jedoch gut nach subkutaner Gabe.<sup>[373]</sup> Obwohl die Tuberactinomycine nicht frei von toxikologischen Problemen waren, zeigten sie nach parenteraler und oraler Anwendung ein aussichtsreiches Verträglichkeitsprofil.<sup>[378]</sup> Insgesamt rechtfertigten diese biologischen Eigenschaften eine vertiefte Evaluierung der Substanzklasse hinsichtlich des klinischen Einsatzes als Antituberkulosemittel.

Die frühe Kommerzialisierung von Viomycin (**182**) löste intensive Forschungsaktivitäten an Hochschulen und im industriellen Umfeld aus. Erste biologische Studien wurden oftmals mit Gemischen der Tuberactinomycine (**181–184**) oder Capreomycine (**23**, **185–187**) ausgeführt. Auf der Grundlage der Untersuchungen von Gould und Mitarbeitern<sup>[379,380]</sup> zur Biosynthese der Capreomycine gelang dann auch die Entwicklung selektiver Fermentationsprozesse.<sup>[381,382]</sup> Zusätzlich öffneten verschiedene Totalsynthesen selektive Wege zu Viomycin (**182**),<sup>[383]</sup> Tuberactinomycin N (**183**),<sup>[384]</sup> Tuberactinomycin O (**184**)<sup>[385]</sup> und Capreomycin.<sup>[366d]</sup> Obwohl Methoden zur SAR-Aufklärung der Tuberactinomycine durch Totalsynthese zur Verfügung standen, wurden die meisten Derivate für biologische Tests durch Fermentation oder Semisynthese erzeugt. Erste Hinweise auf die notwendigen strukturellen Voraussetzungen für eine Aktivität gegen Mycobakterien lieferte das Blockieren bestimmter funktioneller Gruppen in Viomycin (**182**; Schema 19).<sup>[386]</sup> Die Acetylierung der endständigen Aminogruppe (**191**)<sup>[387]</sup> oder beider Aminogruppen des  $\beta$ -Lysinrests führte zum kompletten Aktivitätsverlust (MHK *Mycobacterium* sp. 607: 1.6  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (**182**) und > 400  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (**191**)).<sup>[388]</sup> Die Acylierung der gleichen Position mit ungeladenen oder sauren Aminosäuren lieferte ebenfalls unwirksame Verbindungen, während beim Einbau basischer Aminosäuren (**192**) die ursprünglichen MHK-Werte erhalten blieben.<sup>[389]</sup> Auch die Dekoration der Hydroxyfunktion im Serin (beispielsweise in **193**) hatte keinen Einfluss auf die Aktivität.<sup>[386]</sup> Überraschenderweise führte die hydrolytische Abspaltung der





**Schema 19.** Semisynthetische Modifikation von Viomycin (**182**). Reagentien und Bedingungen: a) *N*-Acetoxy succinimid, Et<sub>3</sub>N, Carbonatpuffer, Dioxan, 1 h; b) *Z*-D-Orn(*Z*)-OSuc, Et<sub>3</sub>N, Carbonatpuffer, THF, 0°C, 12 h; c) H<sub>2</sub>, Pd, DMF; e) Hydrolyse; f) KMnO<sub>4</sub> (Oxidation); g) NaBH<sub>4</sub> (Reduktion).

Harnstoff-Einheit, die zunächst als einer der Pharmakophore dieser Verbindungsklasse angesehen wurde, zu **194** mit vergleichbarer In-vitro-Aktivität wie Viomycin (**182**; MHK *Mycobacterium* sp. 607: 1.6 µg mL<sup>-1</sup> bzw. 3.1 µg mL<sup>-1</sup>).<sup>[386]</sup> Die oxidative Spaltung von **182** ergab dagegen das unwirksame Bisamid **195**.<sup>[390]</sup> Schließlich resultierte die reduktive Öffnung des Capreomycin-Rings von **182** in komplettem Aktivitätsverlust (**196**).<sup>[391]</sup>

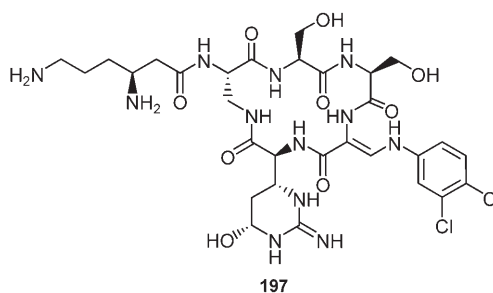
Ähnliche Modifikationen wurden auch an den Tubercinomycinen N (**183**)<sup>[392–394]</sup> und O (**184**)<sup>[395]</sup> sowie den Capreomycinen vorgenommen.<sup>[396]</sup> Doch keiner dieser Versuche führte zu einer signifikanten Verbesserung der Aktivität gegenüber Mykobakterien oder gar zu einer Erweiterung des antibakteriellen Spektrums.

Wegen der immer häufiger auftretenden Resistenzbildung durch Bakterien initiierte Pfizer ein Hochdurchsatz-Screening gegen *Pasteurella haemolytica*, um neue Leitstrukturen zur Behandlung von Infektionen in Tier und Mensch aufzuspüren.<sup>[397]</sup> Dabei wurde das 3,4-Dichlorphenylamino-Derivat **197** von Viomycin (**182**) gefunden, das zwar gute MHK-Werte gegen die Tierpathogene *P. multocida* und *P. haemolytica*, aber nur mäßige Aktivität gegen andere Bakterien zeigte (Tabelle 19). Doch weitere Variationen der Harnstoffstruktur von Capreomycin IA/IB (Gemisch von **23** und **185**) lieferten neue Verbindungen

mit guter Aktivität gegen mehrere multiresistente Gram-positive Erreger sowie Gram-negative *E. coli* (Schema 20).<sup>[398]</sup>

Zusätzlich zu ihrer In-vitro-Potenz zeigten diese Verbindungen auch eine hohe Wirksamkeit in Infektionsmodellen an Mäusen. So hatte **201** eine ED<sub>50</sub> von 3 mg kg<sup>-1</sup> (s.c.) gegen MRSA und VRE. Aus dem substituierten Harnstoff **24** konnte das Guanidin-Derivat **202** mit 36 % Ausbeute erhalten werden (Schema 21).<sup>[399]</sup> Ungeachtet der deutlich veränderten Basizität der endständigen Aminogruppen in **202** und **24** war das antibakterielle Spektrum beider Verbindungen bezüglich aller getesteten Gram-positiven Stämme identisch.

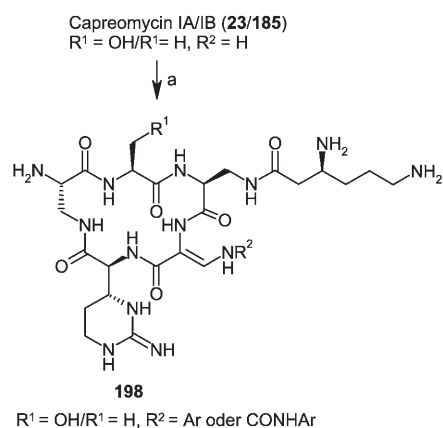
Die Behandlung von Viomycin (**182**) mit Nucleophilen in Trifluoressigsäure lieferte Pictet-Spengler-artige Variationen an der Hydroxygruppe von Viomycin mit unbestimmter Konfiguration (Schema



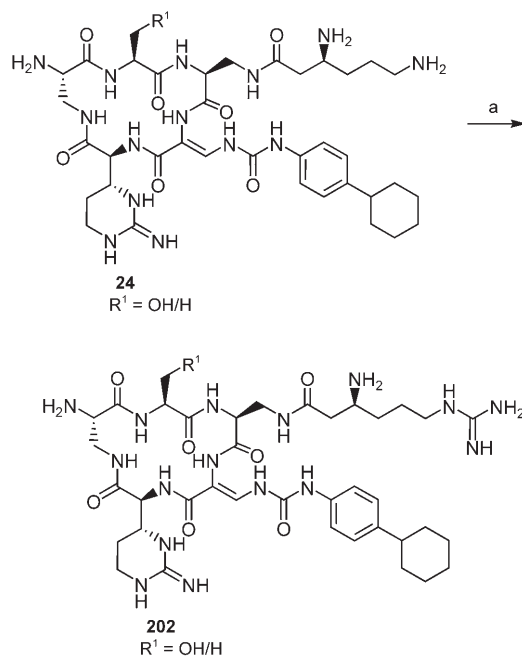
**Tabelle 19:** Antibakterielle In-vitro-Aktivität von Harnstoffderivaten des Capreomycins IA/IB (**23/185**), MHK [µg mL<sup>-1</sup>].

|               | R <sup>2</sup> (in <b>198</b> ) | <i>P. multocida</i> | <i>E. coli</i>      | MRSA | <i>E. faecium</i> | <i>E. faecalis</i> |
|---------------|---------------------------------|---------------------|---------------------|------|-------------------|--------------------|
| <b>23/185</b> | CONH <sub>2</sub>               | 50                  | 200                 | 100  | > 1000            | > 1000             |
| <b>197</b>    | [a]                             | 0.78                | 12.5                | 12.5 | 50                | 25                 |
| <b>199</b>    |                                 | 0.39                | 6.25                | 0.78 | 25                | 12.5               |
| <b>200</b>    |                                 | 0.39                | 12.5                | 3.12 | 3.12              | 3.12               |
| <b>201</b>    |                                 | 0.2                 | 6.25                | 0.78 | 3.12              | 1.56               |
| <b>24</b>     |                                 | n.b. <sup>[b]</sup> | n.b. <sup>[b]</sup> | 1.56 | 3.12              | 3.12               |

[a] Struktur siehe Text. [b] n.b. = nicht geprüft.



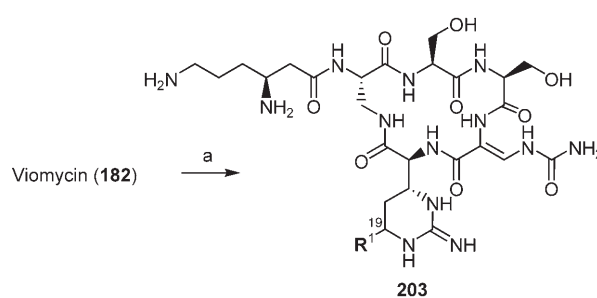
**Schema 20.** Synthese von Capreomycin-IA/IB-Harnstoffderivaten (**23/185**). Reagentien und Bedingungen: a) Anilin oder Phenylharnstoff, 2 n HCl, Dioxan, 65 °C, 4 h–12 h.



**Schema 21.** N-terminale Modifikation von Capreomycin-Derivat **24**. Reagentien und Bedingungen: a) Methylimidothiocarbamat,  $\text{H}_2\text{O}$ , pH 10.7, RT, 7 d, 36%.

22).<sup>[400]</sup> Arylierungen oder die Einführung einer Sulfonamidgruppe an C19 verbesserten die Aktivität nicht, während Verbindungen mit Carbamat- und Harnstoffsubstitution an dieser Position deutlich stärker wirkten als die natürlichen Antibiotika (Tabelle 20).

Mithilfe der De-novo-Synthese erweiterte man das antibakterielle Spektrum der natürlichen Tuberactinomycine, die nur gegen Mykobakterien wirkten, auf (multiresistente) Gram-positive Erreger. Doch trotz der nachgewiesenen In-vitro- und In-vivo-Potenz ist bisher keine Verbindung dieser Klasse in klinische Studien vorgedrungen.



**Schema 22.** Modifikation von Viomycin (**182**) an C19. Reagentien und Bedingungen: a) Nucleophil (1,2-Dihydroxybenzol, 4-Methylsulfonamid, 3,4-Dichlorphenylcarbamate oder 3,4-Dichlorphenylharnstoff), TFA, RT, 15 h.

**Tabelle 20:** Antibakterielle In-vitro-Aktivität einiger C19-Derivate von Viomycin (**182**), MHK [ $\mu\text{g mL}^{-1}$ ].

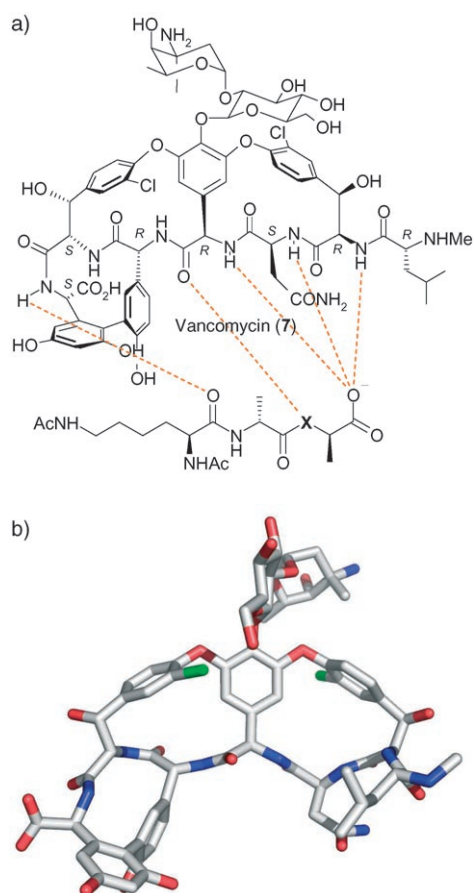
|            | $R^1$ | <i>P. multocida</i> | <i>E. coli</i> | MRSA                |
|------------|-------|---------------------|----------------|---------------------|
| <b>182</b> | HO    | 200                 | 200            | n.b. <sup>[a]</sup> |
| <b>204</b> |       | 200                 | 200            | n.b. <sup>[a]</sup> |
| <b>205</b> |       | 200                 | 200            | n.b. <sup>[a]</sup> |
| <b>206</b> |       | 6.25                | 25             | 3.12                |
| <b>207</b> |       | 1.56                | 6.25           | 25                  |

[a] n.b. = nicht geprüft.

## 15. Glycopeptid-Antibiotika

Da sie keine Kreuzresistenz zu anderen antibakteriellen Arzneimitteln zeigen, werden die Glycopeptid-Antibiotika<sup>[401]</sup> in vielen Kliniken als parenterale Ersttherapie für lebensbedrohliche Infektionen durch multiresistente Gram-positive Bakterien eingesetzt. Das erste Glycopeptid-Antibiotikum, Vancomycin (**7**, Abbildung 10), wurde bereits 1959 in die klinische Anwendung eingeführt.<sup>[402]</sup> Wissenschaftler bei Lilly hatten die Verbindung Mitte der 1950er Jahre aus *Streptomyces orientalis* (heute *Amycolatopsis orientalis*) isoliert, den sie in Bodenproben entdeckt hatten.<sup>[403]</sup> Die Aufklärung der komplexen Struktur von **7** dauerte Jahre, und mehrere Anläufe und Korrekturen wurden benötigt, bis sie in den frühen 1980er Jahren eindeutig feststand.<sup>[404,405]</sup>

Zwar wurden verwandte Strukturen als Wachstumsbeschleuniger in der Tierzucht eingesetzt, doch blieb Teicoplanin (**208**) bis heute die einzige weitere Verbindung dieser Klasse, die für die Anwendung am Menschen zugelassen wurde (allerdings nicht in den USA). Beide Medikamente sind unveränderte natürliche Antibiotika der großen Dalbaeptid-Gruppe, die von verschiedenen Actinomyceten produziert wird.<sup>[406]</sup> Ihr gemeinsames Strukturelement ist ein lineares Heptapeptid-Rückgrat (Konfiguration



**Abbildung 10.** a) Wasserstoffbrücken zwischen Vancomycin (7) und L-Lys-D-Ala-D-Ala (X = NH), dem Modellpeptid für das Ende eines Peptidoglycan-Vorläuferstrangs.<sup>[416b]</sup> In den Resistenzphänotypen VanA und VanB, ist die molekulare Erkennungsstelle, das D-Ala-D-Ala-Ende (X = NH) der Peptidoglycan-Vorläuferketten, durch einen D-Ala-D-Lactat-Terminus (X = O) ersetzt b) Eine Röntgenstrukturanalyse veranschaulicht die starre konkave Form von Vancomycin.<sup>[417a]</sup>

*R,R,S,R,R,S,S*), in dem einige aromatische Aminosäuren vernetzt sind (Biphenyl- und Diphenylether-Motive), sodass eine starre konkave Molekülform entsteht. Jahrelang stellte die Totalsynthese der komplexen Struktur von Vancomycin eine enorme Herausforderung dar.<sup>[407]</sup> Besonders informativ ist es, die erfolgreichen Synthesestrategien der Arbeitsgruppen von Evans,<sup>[408]</sup> Nicolaou<sup>[409]</sup> und Boger<sup>[410]</sup> mit den Biosynthesewegen zu vergleichen, welche die Natur zur Herstellung der Glycopeptide nutzt.<sup>[411,412]</sup> Anders als Chemiker vollenden die Mikroorganismen das komplette lineare Heptapeptid (durch nichtribosomale Peptid-Synthetasen) vor der oxidativen Vernetzung der Seitenketten (enzymatisch). Mit etwa 35 Schritten ist die Biosyntheseroute zu **7** deutlich kürzer als jede De-novo-Synthese.

Glycopeptid-Antibiotika blockieren die bakterielle Zellwandbiosynthese, indem sie die L-Lys-D-Ala-D-Ala-Enden von Peptidoglycan-Vorläufersträngen an der Außenseite der Membran erkennen, fest daran binden und so die Transpeptidasen an deren Vernetzung hindern.<sup>[413,414,415]</sup> Sowohl NMR-spektroskopische Untersuchungen<sup>[416]</sup> als auch Röntgenstrukturanalysen<sup>[417]</sup> zeigten, dass die Evolution den starren

Hohlraum der Antibiotika präzise so geformt hat, dass in einem stöchiometrischen Komplex über fünf spezifische Wasserstoffbrücken eine möglichst feste Targetbindung erzielt wird (Abbildung 10). Eine Hemmung der Transpeptidasen beeinträchtigt indirekt auch die Transglycosylasen.

Glycopeptid-Antibiotika können ausschließlich zur Behandlung Gram-positiver Infektionen eingesetzt werden, da sie die äußere Membran von Gram-negativen Bakterien nicht durchdringen. Mit dem Anwachsen von MRSA-Infektionen in Kliniken wurde Vancomycin (**7**) zur „ultima ratio“ unter den Antibiotika, doch durch seine häufige Verwendung haben sich inzwischen resistente Gram-positive Pathogene, insbesondere Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE), beängstigend verbreitet.<sup>[418]</sup> Im Jahr 2003 waren bereits über die Hälfte der klinischen VRE-Isolate in den USA resistent gegen Glycopeptide.<sup>[35]</sup> In den häufigsten Resistenz-Phänotypen (VanA und VanB), ist die molekulare Erkennungsstelle, das D-Ala-D-Ala-Ende (X = NH) der Peptidoglycan-Vorläuferketten, durch einen D-Ala-D-Lactat-Terminus (X = O) ersetzt.<sup>[419]</sup> Dieser simple Austausch von Amid gegen Ester, d. h. der Verlust einer einzigen Wasserstoffbrücke (C<sup>1,4</sup>-Carbonyl zu X = O) und die damit verbundene destabilisierende Elektronenpaar-Elektronenpaar-Wechselwirkung zwischen Ligand und Antibiotikum, senkt die Bindungsaffinität um das 1000-fache und verringert die antibakterielle Aktivität (MHK) drastisch.<sup>[420]</sup>

In einem spektakulären Beispiel chemischer Post-Evolution haben Boger und Mitarbeiter die „störende“ C<sup>1,4</sup>-Carbonyl-Funktion selektiv weggelassen (Abbildung 10). Ihr vollsynthetisches C<sup>1,4</sup>-Desoxovancomycin-Aglycon zeigte wieder eine höhere Affinität zum D-Ala-D-Lactat-Terminus (da keine Abstoßung mehr vorlag) und war aktiv gegen resistente Erreger.<sup>[421]</sup> Einige Glycopeptid-Antibiotika neigen zur Bildung von Homodimeren, die weitaus fester als die entsprechenden Monomere an die Peptidoglycan-Termini binden.<sup>[413]</sup> Das Auftreten Vancomycin-resistenter Enterokokken und Staphylokokken<sup>[422]</sup> hat die Suche nach neuen (Lipo-)Glycopeptiden mit besseren pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Eigenschaften sowie Aktivität gegen resistente Stämme beflügelt.<sup>[414,423,424]</sup>

Trotz erfolgreicher Totalsynthesen und innovativer Synthesemethoden blieb die Fermentation mit nachfolgender semisynthetischer Variation der natürlichen Glycopeptid-Gerüste das bevorzugte Verfahren zur Erforschung der SAR<sup>[423]</sup> und der einzig praktikable Weg zur Herstellung größerer Mengen von Kandidaten für klinische Studien. Neue resistenzbrechende Glycopeptide enthalten Strukturelemente, welche die Dimerisierung und die Membranverankerung fördern. Dimerisierung verstärkt die Bindung der D-Ala-D-Lactat-Liganden,<sup>[425]</sup> während lipophile Seitenketten die Verankerung in der Cytoplasmamembran begünstigen, wodurch sie das Antibiotikum nahe an sein Target positionieren und zusätzlich die Integrität der bakteriellen Membran aufbrechen. Solche Effekte haben zur Synthese kovalent verknüpfter Vancomycin-Dimere geführt.<sup>[426]</sup> Durch lipophile Seitenketten wird die Aktivität gegen VRE wiederhergestellt, und die Wirksamkeit gegen MRSA bleibt erhalten.<sup>[427]</sup>

Die Gegenwart spezifischer Zuckerreste ist von entscheidender Bedeutung für die Aktivität der Glycopeptide;

Aglycone sind durchgängig weniger wirksam. Ein zusätzlicher Aminosucker an Rest 6 und die Chloraryl-Substituenten fördern die günstige Dimerisierung, und der Wechsel von der freien Carboxylat-Funktion zu einem basischen Carboxamid verstärkt die Aktivität gegen Staphylokokken. Dagegen endeten die meisten Versuche, das natürliche Heptapeptid-Rückgrat abzuwandeln, in weniger aktiven oder unwirksamen Verbindungen.<sup>[406]</sup>

Drei semisynthetische Glycopeptide der zweiten Generation, Oritavancin (LY-333328, **26**),<sup>[428,415]</sup> Dalbavancin (BI-397, **209**)<sup>[429]</sup> und Telavancin (TD-6424, **210**)<sup>[430]</sup> befinden sich in fortgeschrittener klinischer Entwicklung.<sup>[431]</sup> Diese Beispiele zeigen anschaulich, wie die medizinische Chemie dazu beigetragen hat: Oritavancin (**26**) ist das 4'-Chlorbiphenyl-methyl-Derivat des natürlichen Vancomycin-Analogons Chloreremomycin (**25**). Das Spektrum von **26** deckt Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE), Methicillin-resistenten *S. aureus* (MRSA) und, bis zu einem gewissen Grad, auch Glycopeptid-intermediäre Stämme von *S. aureus* (GISA) ab. Seine bakterizide Wirkungsweise und seine Serumhalbwertszeit ermöglichen die Anwendung mit nur einer täglichen Dosis. Dalbavancin (**209**) hat ein ähnliches Spektrum, zeigt aber keine Aktivität gegen VRE des VanA-Resistenz-Genotyps (Tabelle 21). Wegen seiner enormen Verweildauer im Körper (Halbwertszeit 174 h) scheint eine Dosis pro Woche auszureichen.

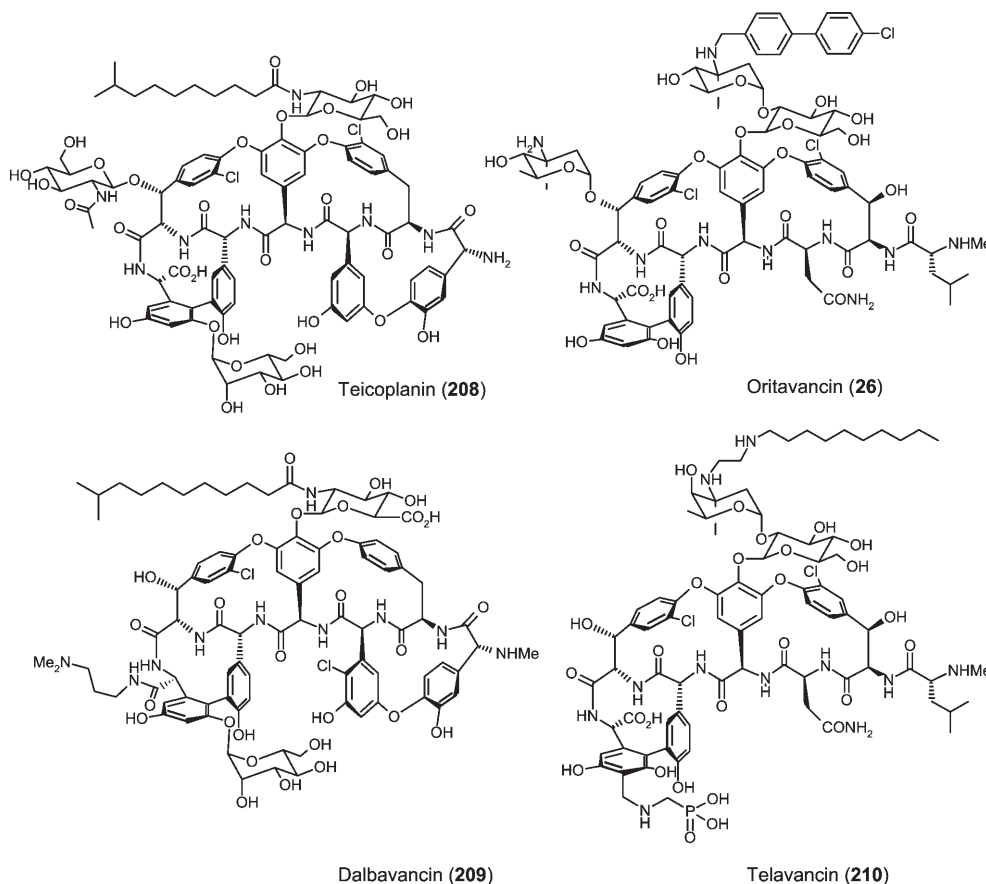
Die Entdeckung von Telavancin (**210**),<sup>[432]</sup> der jüngsten, vielversprechenden Verbindung, fasst instruktiv die wesentlichen Aspekte einer erfolgreichen Glycopeptid-Optimierung

**Tabelle 21:** Antibakterielle In-vitro-Aktivität der Glycopeptide Vancomycin (**7**), Oritavancin (**26**), Dalbavancin (**209**) und Telavancin (**210**), MHK<sub>90</sub> [ $\mu\text{g mL}^{-1}$ ].<sup>[430a]</sup>

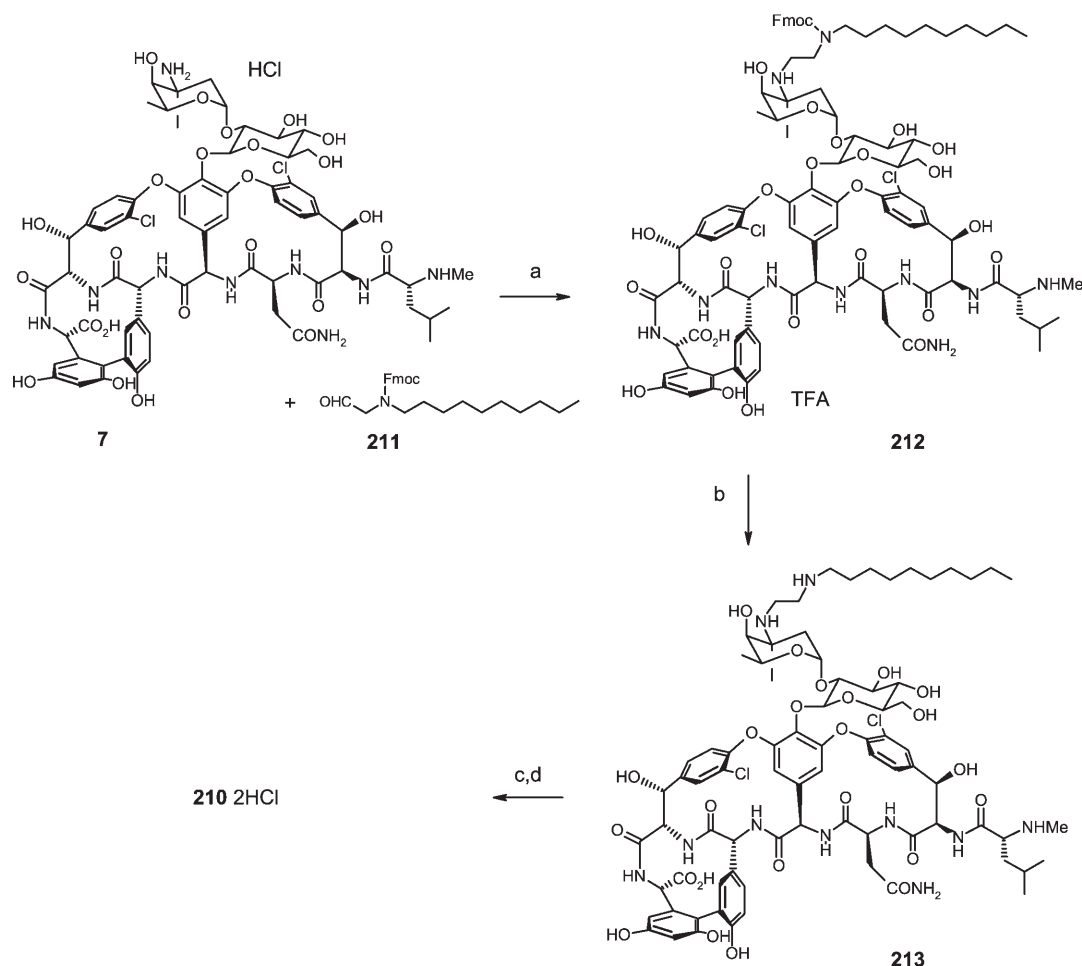
| Organismus                    | <b>7</b> | <b>26</b> | <b>209</b> | <b>210</b> |
|-------------------------------|----------|-----------|------------|------------|
| MSSA <sup>[a]</sup>           | 1        | 1         | 0.25       | 1          |
| MRSA <sup>[b]</sup>           | 4        | 1         | 0.25       | 1          |
| VRSA <sup>[c]</sup>           | 32       | 0.25      | 1          | 0.5        |
| <i>S. pneumoniae</i>          | 0.5      | 0.008     | 0.06       | 0.008      |
| <i>Enterococcus</i> spp. VanB | 128      | 1         | 1          | 2          |
| <i>Enterococcus</i> spp. VanA | > 128    | 4         | 128        | 8          |

[a] Methicillin-empfindlicher *S. aureus*. [b] Methicillin-resistenter *S. aureus*. [c] Vancomycin-resistenter *S. aureus*.

zusammen: Auf der Suche nach Glycopeptiden mit besserer In-vitro-Aktivität wurde bei Theravance *N*-Decylaminovancomycin (**213**, Schema 23) synthetisiert, dessen MHK-Wert ähnlich gut oder besser war als derjenige von **7**. Erwartungsgemäß stellte der Einbau des lipophilen Substituenten die Aktivität gegen Enterokokken jeden Empfindlichkeitstyps wieder her, während die Wirkung gegen MRSA und VISA beibehalten wurde. Zwar verstärkte die erhöhte Lipophilie die In-vitro-Aktivität von **213**, doch im Gegenzug wurden dadurch seine physikochemischen und ADME-Eigenschaften negativ beeinflusst: Im Unterschied zu **7** wurde **213** nur schlecht mit dem Urin ausgeschieden und zeigte zudem eine ungünstige Gewebeverteilung in Ratten. Um der Lipophilie und den widrigen Verteilungseigenschaften entgegenzuwirken, wurden zusätzlich verschiedene hydrophile Gruppen eingebaut. Tatsächlich wurden Verbindungen mit negativ geladenen polaren Gruppen vermehrt mit dem Harn ausgeschieden und weniger in Leber und Niere angereichert, während das verbesserte In-vitro-Profil erhalten blieb. Am Ende dieser Studien wurde das Lipoglycopeptid-Antibiotikum **210** als Entwicklungskandidat ausgewählt.<sup>[430]</sup> Es zeigte potente In-vitro-Wirksamkeit gegen wichtige aerobe<sup>[433]</sup> und anaerobe<sup>[434]</sup> Gram-positive Bakterien ohne Kreuzresistenz zu Vergleichsmedikamenten, eine rasche bakterizide Wirkung und mehrere Wirkmechanismen (Inhibition der Peptidoglycan-Synthese und Störung des bakteriellen Zellmembranpotentials sowie der Permeabilität).<sup>[435]</sup> Pharmakodynamische Studien in verschiedenen Tiermodel-







**Schema 23.** Theravance-Semisynthese von Telavancin-Hydrochlorid (**210**) aus Vancomycin-Hydrochlorid.<sup>[430]</sup> Reagentien und Bedingungen:

a)  $i\text{Pr}_2\text{NEt}$ , DMF, 6–8 h, RT, MeOH, TFA, 15 min RT, Boran-*tert*-butylamin-Komplex, 2 h, RT; b) *tert*-Butylamin, 40 °C, 7 h; c) (Aminomethyl)phosphonsäure,  $\text{CH}_3\text{CN}$ , 20–30 °C, 15 min;  $i\text{Pr}_2\text{NEt}$ , 1 h, RT; wässr.  $\text{CH}_2\text{O}$ , –7 °C, 12 h; 3 N HCl, pH 2.59, –5 °C; EtOH, 5 °C, 3 h; d) Amberlit-XAD-Chromatographie,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , HCl.

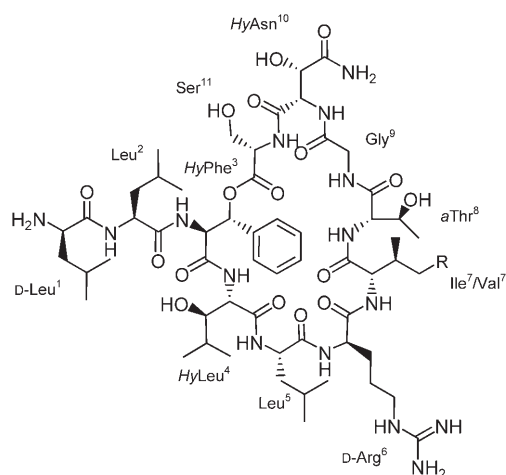
len<sup>[436]</sup> sowie pharmakokinetische Untersuchungen und Verträglichkeitstest an gesunden Probanden ließen eine effektive Therapie mit einer täglichen Dosis erwarten.<sup>[437]</sup>

Telavancin (**210**) wurde aus Vancomycin-Hydrochlorid und weiteren kommerziell verfügbaren Startmaterialien in drei Stufen hergestellt (Schema 23):<sup>[438, 439]</sup> Selektive reduktive Alkylierung von **7** mit *N*-Fmoc-*N*-decylaminoacetaldehyd (**211**) in Gegenwart von Boran-*tert*-Butylamin-Komplex, gefolgt von einer Behandlung mit Methanol und Trifluoressigsäure führte zur Fmoc-geschützten Zwischenstufe **212**, die nach Entfernen der Schutzgruppe mit *tert*-Butylamin in DMF *N*-Decylaminovancomycin (**213**) ergab. Massenspektrometrische Studien bestätigten, dass die reduktive Alkylierung selektiv am Vancosamin-Stickstoffatom und nicht am N-Terminus des Peptidrückgrats stattgefunden hatte. Nach einer Mannich-Kondensation mit (Aminomethyl)phosphonsäure und Formaldehyd erhielt man **210** als Rohprodukt, das durch Amberlit-XAD-Chromatographie zu Telavancin-Hydrochlorid aufgereinigt wurde. Zur Produktion wurde die ursprüngliche Vorschrift<sup>[432]</sup> kontinuierlich modifiziert und optimiert.<sup>[430]</sup>

Durch chemische Post-Evolution ist mit den neuen, semisynthetischen Glycopeptid-Antibiotika, besonders mit Oritavancin (**26**) und Telavancin (**210**), im Hinblick auf Wirksamkeit gegen resistente Stämme, Pharmakokinetik und Pharmakodynamik, ein bemerkenswerter Fortschritt gegenüber den etablierten natürlichen Verbindungen gelungen. Es wird interessant sein, inwieweit sich diese vorteilhaften Eigenschaften in klinischen Studien auch in Heilungsraten umsetzen lassen. Nach ihrer Zulassung könnten diese Verbindungen wichtige Medikamente zur Behandlung schwerer Infektionen mit multiresistenten Erregern werden.

## 16. Lysobactine

Die Lysobactine sind ein gutes Beispiel dafür, dass sich außergewöhnliche Strukturen nicht nur in verborgenen tropischen Habitaten finden lassen. Wissenschaftler der Fima Squibb gewannen Lysobactin (**27**) aus der Fermentationsbrühe von *Lysobacter* sp. SC-14076 (ATCC 53042).

Lysobactin, R = CH<sub>3</sub> (**27**, ≡ Katanosin B)Katanosin A, R = H (**214**)

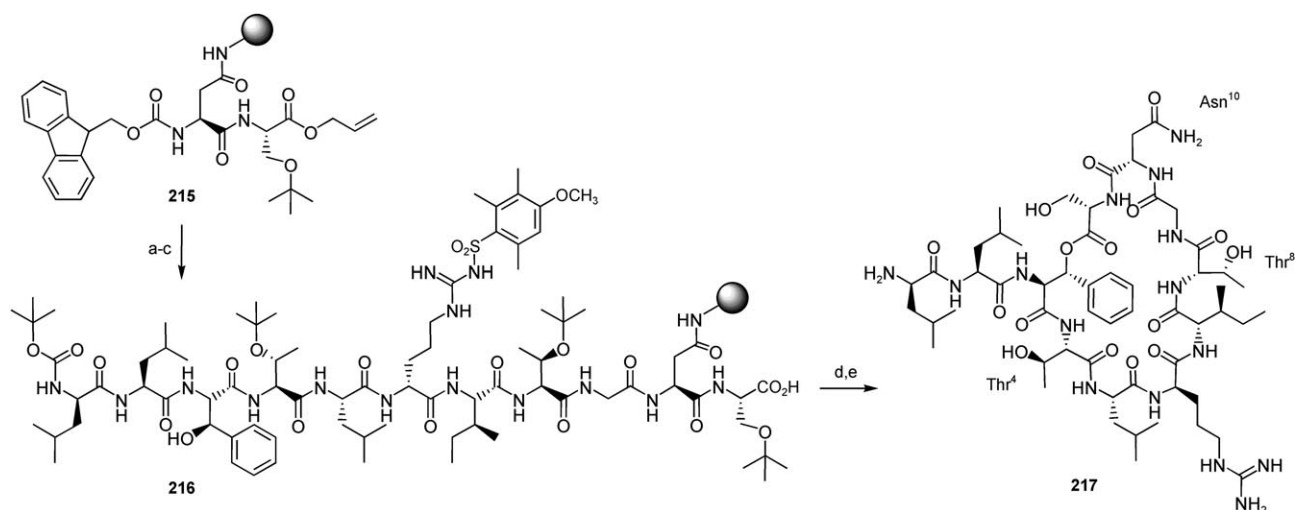
Dieser Organismus entstammte einer Laubtonne im Washington Crossing State Park.<sup>[440,441]</sup> Unabhängig davon berichteten Wissenschaftler von Shionogi über die beiden neuen Naturstoffe Katanosin A und B aus Bodenbakterien.<sup>[442]</sup> Dieser in Katano, Japan, entdeckte Produzentstamm PBJ-5356 wurde als nahe verwandt zur Gattung *Cytophaga* – aber nicht als *Lysobacter* sp. – beschrieben. Überraschenderweise stellte sich später heraus, dass Katanosin B mit Lysobactin (**27**) identisch war.<sup>[443]</sup> Im Zuge dieser Entdeckung wurde das japanische Katanosin A (**214**) dann auch als Nebenmetabolit im amerikanischen *Lysobacter*-Stamm ATCC 53042 nachgewiesen.<sup>[444]</sup> Es ist überraschend, dass die außergewöhnlichen Sekundärmetabolite Lysobactin (**27**) und Katanosin A (**214**) in zwei unterschiedlichen Phyla, Proteobacteria (*Lysobacter*) und Bacterioidetes (*Cytophaga*), gefunden wurden. Vermutlich gehören sowohl **27** als auch **214** zum chemischen Waffenarsenal ihrer bakteriellen Produzenten. Ganz in diesem Sinne ist der lytische Angriff gegen andere Mikroorganismen

das namensgebende Prinzip für die gesamte Gattung *Lysobacter*.<sup>[445]</sup>

Die bakterielle Zellwand-Biosynthese ist offenbar das Primärziel der Lysobactin-Antibiotika.<sup>[441,442]</sup> Sowohl **27** als auch **214** hemmen den Einbau der Biosynthesestufe [<sup>14</sup>C]GlcNAc im Vorstufen-Einbautest. Dies ist ein typischer Befund bei Target-Wechselwirkungen innerhalb der Peptidoglycan-Biosynthesewege (Abbildung 3). Das Peptidoglycan-Wachstum wird wahrscheinlich durch die Bindung von **27** an Lipid-Biosynthesestufen gehemmt – und nicht durch die Bindung an Biosynthesenzyme. Die Lysobactin-Antibiotika haben offenbar einen Wirkmechanismus, der sich von dem der Vancomycine unterscheidet.<sup>[446]</sup>

Lysobactin (**27**) und Katanosin A (**214**) sind sehr aktiv gegen Gram-positive Bakterien, unter anderem gegen Staphylokokken und Enterokokken. Gegen diese Pathogene wurden submikromolare MHK-Werte beobachtet, die oft sogar noch besser waren als die entsprechenden Hemmwerte von Vancomycin.<sup>[440,442,447]</sup> Auch bei Vancomycin-resistenten Enterokokken blieb die hervorragende In-vitro-Wirkung von **27** und **214** erhalten. Eine vielversprechende therapeutische In-vivo-Wirkung wurde in einem systemischen *S.-aureus*-Infektionsmodell an Mäusen gezeigt (ED<sub>50</sub> 1.8 mg kg<sup>-1</sup> i.v., CFU ≈ 10<sup>5</sup>).<sup>[442]</sup>

Die Primärstruktur von Lysobactin (**27**) wurde im Zusammenspiel eleganter enzymatischer Abbaureaktionen und spektroskopischer Untersuchungen aufgeklärt.<sup>[448]</sup> Lysobactin hat eine „Lasso“-Struktur, die aus einem dipeptidischen „linearen Segment“ (D-Leu<sup>1</sup>-Leu<sup>2</sup>) und einem nonadepeptidischen „cyclischen Segment“ (HyPhe<sup>3</sup>-HyLeu<sup>4</sup>-Leu<sup>5</sup>-D-Arg<sup>6</sup>-Ile<sup>7</sup>-aThr<sup>8</sup>-Gly<sup>9</sup>-HyAsn<sup>10</sup>-Ser<sup>11</sup>) aufgebaut ist. Bisher konnte die Sekundärstruktur von **27** in Lösung nicht abschließend geklärt werden.<sup>[449]</sup> Der hohe Gehalt an nichtproteinogenen Aminosäuren<sup>[450]</sup> deutet klar auf eine nichtribosomale Biosynthese.<sup>[451]</sup> Die bemerkenswert hohe Hydrolysestabilität aller Amidbindungen gegenüber Proteasen und Peptidasen kann als das Ergebnis evolutionärer Optimierung angesehen werden, die letztlich zu einer cyclischen Struktur



**Schema 24.** Bradleys Festphasensynthese des Lysobactin-Derivats **217** durch Makrolactonisierung.<sup>[459]</sup> Reagentien und Bedingungen: a) Fmoc-Peptidsynthese, 6 DIC/HOBt-Kupplungen, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; b) Fmoc-Peptidsynthese, 3 EEDQ-Kupplungen, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; c) Pd<sup>0</sup>; d) DIC, HOBt, DMAP, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 37°C, 12 h; e) TFA/iPr<sub>3</sub>SiH/H<sub>2</sub>O (95:2.5:2.5), 4 h (Gesamtausbeute 15.6%).

mit einem hohen Anteil  $\beta$ -hydroxylierter und D-konfigurierter, nichtproteinogener Aminosäuren führte. Beide Struktur-motive – die  $\beta$ -Hydroxylierung und die D-Konfiguration – findet man oft in depsipeptidischen und peptidischen Sekundärmetaboliten, die oft das Vorurteil widerlegen, peptidische Strukturen seien als Arzneimittel generell ungeeignet, da ihre Proteolysestabilität zu gering ist. Tatsächlich ist nur die Lactonbrücke in Lysobactin hydrolyseempfindlich.<sup>[448]</sup>

Eine Totalsynthese von Lysobactin (**27**) steht bisher noch aus. Für ein solches Unterfangen zeichnen sich als Hauptschwierigkeiten schon jetzt die Synthese von *threo*- $\beta$ -Hydroxyasparagin, die Erzeugung und weitere Erhaltung des zentralen Lactonrings und natürlich die entscheidende Makrocyclisierung ab. Die Arbeitsgruppen von Cardillo,<sup>[452, 453]</sup> Lectka,<sup>[454]</sup> VanNieuwenhze<sup>[455]</sup> und Palomo<sup>[456–458]</sup> haben diese Herausforderungen offenbar angenommen. Die Festphasensynthese der nahe verwandten Verbindung **217** wurde bereits von Egner und Bradley<sup>[459]</sup> beschrieben (Schema 24), es wurden aber keine biologischen Daten für **217** berichtet.

Auch bei den komplexen Lysobactinen war die Semisynthese der schnellste Weg zu einer ersten Struktur-Wirkungs-Beziehung. Der Edman-Abbau des Naturstoffs erlaubte – durch substituierende Derivatisierung – die selektive Modifikation der Aminosäureposition 1 („cut out and re-attach“; Schema 25).<sup>[444, 447]</sup> Durch erneute Acylierung des Abbauprodukts konnte gezeigt werden, dass die N-terminale Aminosäure D-Leu<sup>1</sup> für die biologische Aktivität sehr wichtig ist. Fehlt die N-terminale Aminosäure ganz – wie beim Edman-Abbauprodukt **218** – so verschwindet die antibakterielle Aktivität. Allgemein scheinen an dieser Position D-konfigurierte Aminosäuren, wie man sie auch im Naturstoff antrifft, günstig für die antibakterielle Wirkung zu sein (vergleiche **28** mit **221**, Tabelle 22).<sup>[447]</sup>

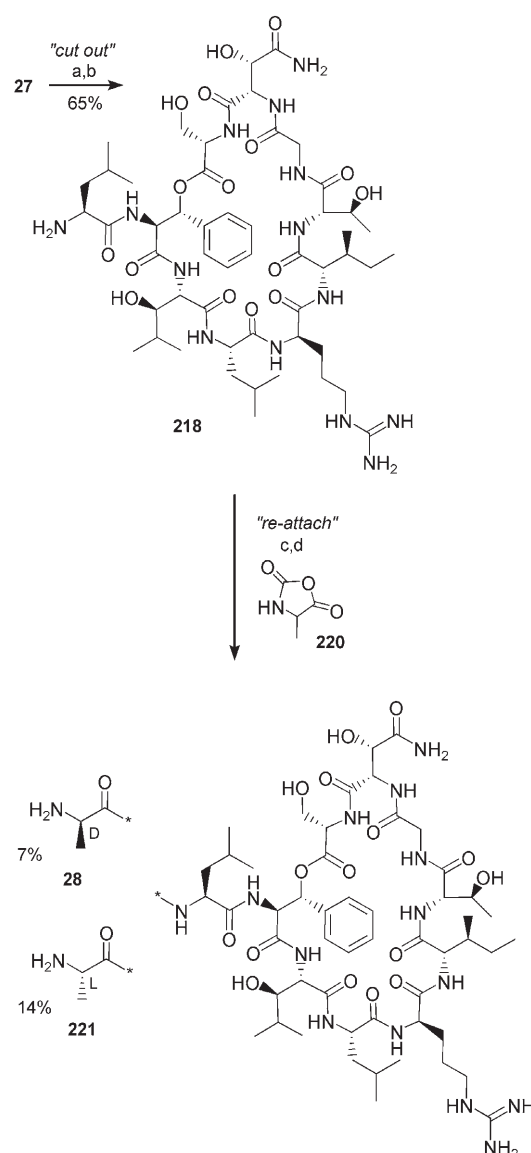
**Tabelle 22:** Antibakterielle In-vitro-Aktivität von Lysobactin-Antibiotika gegen Gram-positive Pathogene, MHK [ $\mu\text{g mL}^{-1}$ ].<sup>[447]</sup>

|            | <i>S. aureus</i> | <i>E. faecalis</i> |
|------------|------------------|--------------------|
| <b>27</b>  | 0.2              | 0.8                |
| <b>218</b> | 100              | 50                 |
| <b>28</b>  | 0.4              | 1.6                |
| <b>221</b> | 3.1              | 6.3                |

Die Lysobactine sind aussichtsreiche Leitstrukturen mit vielversprechender Wirkung in vitro und in vivo. Bisher beruht das Wissen über diese Klasse auf den Naturstoffen **27** und **214** und einigen semisynthetischen Derivaten, die mithilfe von Edman-Chemie erhalten wurden. Eine erste Struktur-Wirkungs-Beziehung konnte so für die Aminosäureposition 1 im linearen Segment aufgestellt werden. Weitere Arbeiten sind nötig für eine aussagekräftige Bewertung dieser bisher wenig beachteten Klasse.

## 17. Enopeptine

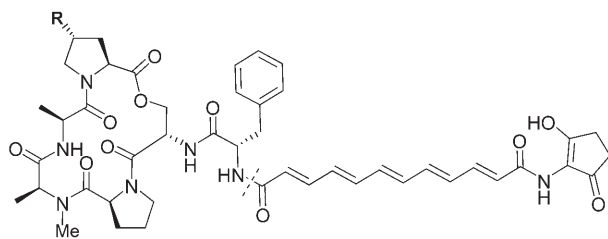
Depsipeptid-Naturstoffe der Enopeptin-Klasse haben als Antibiotika ein eindeutiges therapeutisches Potenzial.<sup>[460]</sup>



**Schema 25.** Squibbs einfacher Edman-Abbau (substituierende Modifikation).<sup>[444, 447]</sup> Reagentien und Bedingungen: a) Überschuss PhNCS, Pyridin/ $\text{H}_2\text{O}$ , 37 °C, 1 h; b) TFA, RT, 30 min (aus **27**: 18 %);<sup>[447]</sup> NCA-Methodik:<sup>[447]</sup> c) **220**,  $\text{NEt}_3$ , DMF, THF, –65 °C; d) AcOH.

Enopeptin A (**222**) und Enopeptin B (**223**), die dieser Gruppe den Namen gaben, wurden 1991 aus Kulturen von *Streptomyces* sp. RK-1051 isoliert, die aus Bodenproben der japanischen Stadt Tsuruoka stammten.<sup>[461]</sup> Ihre chemische Struktur wurde NMR-spektroskopisch und durch eine Synthese aufgeklärt. Sie besteht aus einem 16-gliedrigen Lactonring aus fünf S-konfigurierten Aminosäuren und einer lipophilen Polyen-Seitenkette, die über eine Amidbindung an den N-Terminus des Serins geknüpft ist.<sup>[462, 463]</sup> Diese bemerkenswerte Struktur und ihre antibakterielle Wirkung sowohl gegen Gram-positive Bakterien als auch gegen einige membrangeschädigte Gram-negative Keime machten diese Naturstoffe zu interessanten Zielverbindungen für die Totalsynthese.<sup>[464]</sup> Fast zehn Jahre zuvor hatten Wissenschaftler der Firma Eli Lilly die Isolierung eines strukturell ähnlichen

Depsipeptid-Antibiotikums A54556 als Gemisch der Faktoren A–H durch aerobe Fermentation von *Streptomyces hawaiiensis* (NRRL 15010) beschrieben.<sup>[465]</sup>

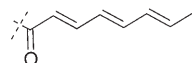


Enopeptin A, R = CH<sub>3</sub> (**222**)

Enopeptin B, R = H (**223**)

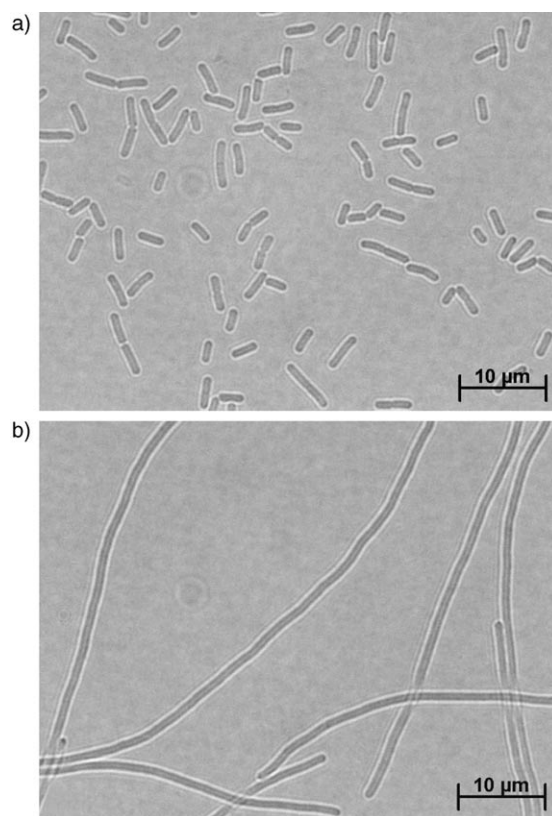
A54556 A, R = CH<sub>3</sub> (**224**)

A54556 B, R = H (**29**)



Sowohl A54556 als auch seine einzelnen Bestandteile waren bemerkenswert aktiv gegen Penicillin-resistente Staphylokokken und Streptokokken. Dieses Profil veranlasste uns, die Substanzgruppe genauer zu studieren, zumal das Originalpatent aufgegeben worden war und der Produzentstamm und die Naturstoffe frei zugänglich waren. Unsere erneute Analyse der isolierten Acyldepsipeptide offenbarte, dass abweichend von der ursprünglichen Strukturzuordnung<sup>[465]</sup> dem Faktor A die Enopeptin-Konstitution **224** zukam. Weiterhin wurde der Wirkmechanismus aufgeklärt, der auf einer Störung der Zellteilung und einer daraus resultierenden unkontrollierten Filamentierung beruht (Abbildung 11). Durch Anwendung von Reversed-Genomics-Techniken konnte gezeigt werden, dass die antibakterielle Wirkung der Leitstrukturen **224** und **29** durch ihre Bindung an ClpP (casein lytic protease), den Kernbestandteil eines bakteriellen Proteasekomplexes, zustande kam.<sup>[466,467]</sup> Zum Schutz der Zelle vor der Zerstörung durch diese universelle Protease ist ClpP stark reguliert, und ihre Aktivierung ist nur mithilfe einer Clp-ATPase und weiterer Helferproteine möglich. Eine Bindung von **224** oder **29** an ClpP schaltet diese Sicherung aus und aktiviert ClpP, die nun auch ohne die regulatorische Clp-ATPase proteolytische Abbaureaktionen in der Zelle ausführt. Diese unkontrollierte Proteolyse hemmt die bakterielle Zellteilung und führt letztlich zum Tod der Bakterien. Wegen dieses neuartigen Mechanismus war keinerlei Kreuzresistenz zu vermarkteten Antibiotika oder Kandidaten für die klinische Entwicklung zu beobachten.<sup>[467]</sup>

Dieser vielversprechende Anfang wurde jedoch von einer Reihe verschiedener Mängel überschattet. Um das volle Potenzial der Strukturklasse zu erschließen, wurde daher eine medizinisch-chemische Optimierung begonnen. Trotz ihrer bemerkenswerten In-vitro-Aktivität gegen Enterokokken und Streptokokken zeigten die natürlichen Enopeptin-Antibiotika **224** und **29** nur begrenzte In-vitro-Wirkung gegen Staphylokokken und waren vollkommen unwirksam gegen Gram-negative Bakterien (Tabelle 23). Beide Leitstrukturen wirkten nicht in Standardmodellen für letale Infektionen in Mäusen, und ihr ADME-Profil war unbefriedigend. Ihre chemische Stabilität war begrenzt, ihre Löslichkeit war nicht ausreichend für eine parenterale Verabreichung, und sie



**Abbildung 11.** Wirkungsweise von **224** in *B. subtilis*: Beeinträchtigung der bakteriellen Zellteilung und Auslösung von Filamentierung. Elektronenmikroskopische Aufnahmen a) vor und b) 5 h nach der Behandlung mit 0.4 µg mL<sup>-1</sup> **224**.<sup>[467]</sup>

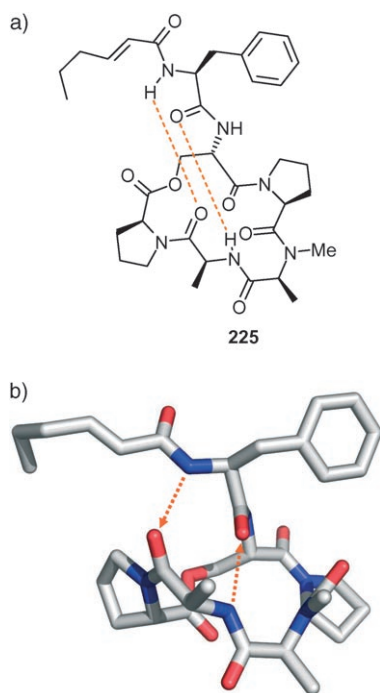
**Tabelle 23:** Antibakterielle In-vitro-Aktivität natürlicher und synthetischer Enopeptine gegen Gram-positive Pathogene, MHK [µg mL<sup>-1</sup>].

|            | <i>S. aureus</i> | <i>S. pneumoniae</i> | <i>E. faecium</i> | <i>E. faecalis</i> |
|------------|------------------|----------------------|-------------------|--------------------|
| <b>224</b> | 8                | 0.5                  | 1                 | 1                  |
| <b>29</b>  | 16               | 1                    | 2                 | 2                  |
| <b>231</b> | > 64             | > 64                 | > 64              | > 64               |
| <b>232</b> | 1                | 0.25                 | ≤ 0.125           | 0.125              |
| <b>233</b> | 0.5              | ≤ 0.125              | ≤ 0.125           | 0.125              |
| <b>234</b> | 8                | 2                    | 2                 | 1                  |
| <b>235</b> | 1                | ≤ 0.125              | ≤ 0.125           | ≤ 0.125            |
| <b>236</b> | < 0.125          | ≤ 0.125              | ≤ 0.125           | ≤ 0.125            |
| <b>237</b> | 0.25             | ≤ 0.125              | ≤ 0.125           | ≤ 0.125            |
| <b>30</b>  | 0.5              | ≤ 0.125              | ≤ 0.125           | ≤ 0.125            |

wurden zu rasch aus dem Körper ausgeschieden. Vor der Leitstrukturoptimierung sollten die Gründe für diese Beschränkungen mithilfe einer Kristallstrukturanalyse von **225** genau verstanden werden (Abbildung 12).<sup>[468]</sup>

Die Kristallisation von **225** aus wasserhaltigem Acetonitril ergab lösungsmittelfreie Kristalle. Das Acyldepsipeptid **225** nahm eine Konformation ein, in der die lipophile Seitenkette durch zwei Wasserstoffbrücken oberhalb des Lactonrings fixiert ist. Eine NH...OC-Wasserstoffbrücke (2.1 Å) befand sich zwischen der NH-Gruppe des Phenylalanins und der Carbonylfunktion des Alanins, die zweite (2.0 Å) lag zwischen der NH-Gruppe des Alanins und der Carbonylfunktion des Phenylalanins. Diese Konformation wurde als



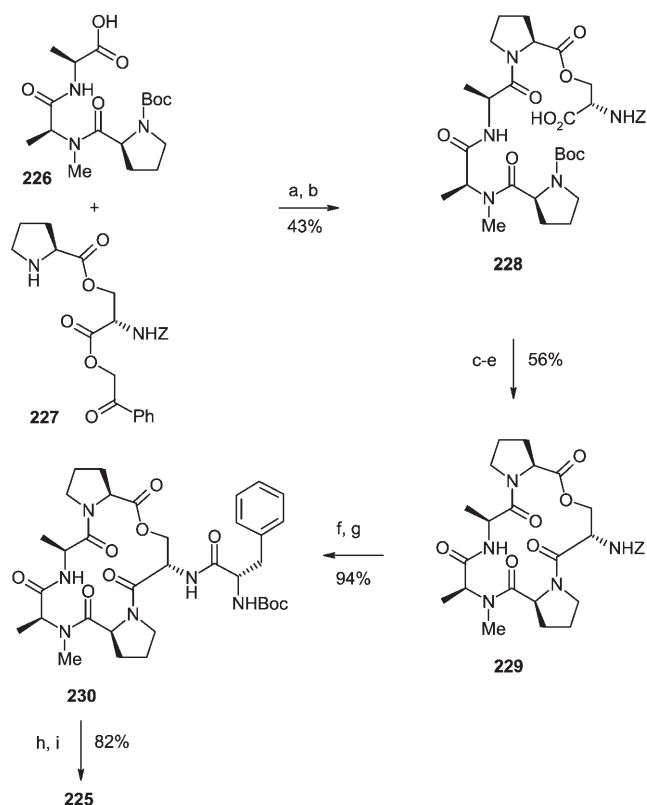


**Abbildung 12.** Röntgenstrukturanalyse des synthetischen Enopeptins **225**. Die lipophile Seitenkette wird von zwei Wasserstoffbrücken über dem makrocyclischen Ring festgehalten.<sup>[468]</sup>

essenziell für die biologische Wirkung erachtet, und die chemische Optimierung konzentrierte sich auf Bereiche, die nicht in dieses Wasserstoffbrückennetzwerk eingebunden waren: das *N*-Methylalanin, das Prolin im oberen Strukturteil in Schema 26 sowie die Aryl- und Alkylreste der Seitenkette. Für die Synthese der ersten Derivate und die Ausarbeitung der SAR wurde die leicht modifizierte Enopeptin-B-Total-synthese von Schmidt und Mitarbeitern<sup>[464]</sup> verwendet.<sup>[469]</sup>

Ausgangspunkte der Synthese waren das mit herkömmlichen Methoden hergestellte Tripeptid **226** und das Dipeptid **227**. Das lineare Pentapeptolid **228** wurde nach der Pentafluorphenylester-Methode von Schmidt zum Lacton **229** cyclisiert,<sup>[470]</sup> wobei der Ringschluss offensichtlich durch eine – über Wasserstoffbrücken vorgebildete – Vorzugskonformation der offenkettigen Vorstufe begünstigt wurde. Abspaltung der *Z*-Schutzgruppe und Anknüpfen der Phenylalanin-Seitenkette ergaben das Zwischenprodukt **230**, das dann durch Boc-Abspaltung und Kupplung mit 2-Hexensäure in das Enopeptin **225** überführt wurde.

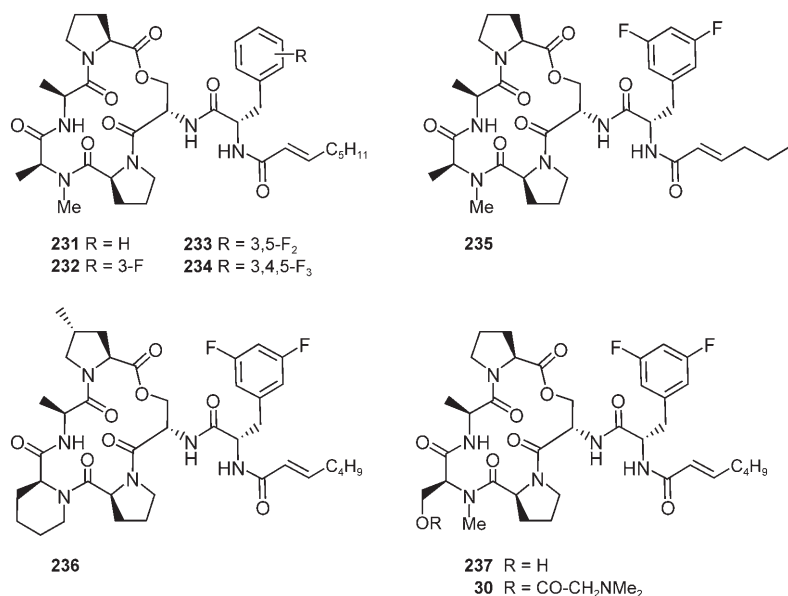
Ausgehend vom Zwischenprodukt **230** ließ sich die SAR (Tabelle 23) durch substituierende Modifikation der natürlichen Seitenkette an C8 bequem untersuchen. Dabei stellte sich heraus, dass nur die C-C-Doppelbindung in  $\alpha$ -Stellung zur Carbonylgruppe für die biologische Wirksamkeit relevant war und auf die anderen Doppelbindungen zugunsten einer deutlich verbesserten chemischen Stabilität verzichtet werden konnte. In Bezug auf Länge und Lipophilie der Seitenkette waren Heptensäurederivate optimal. Zur Erhöhung der Wasserlöslichkeit wurden auch polare Substituenten in die Seitenkette eingebaut, was jedoch zu unwirksamen Verbindungen führte. Fluorsubstitution in den Positionen 3 und 5 des Phenylalanins steigerte die In-vitro-Aktivität gegen *S. aureus*



**Schema 26.** Synthese neuer Enopeptin-Derivate.<sup>[469]</sup> Reagentien und Bedingungen: a)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , HOBT, TBTU,  $i\text{Pr}_2\text{EtN}$ ,  $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$ , 79%; b)  $\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$  (9:1), Zn, 2 h, RT, 54%; c)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , Pentafluorphenol, EDC,  $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$ , 18 h; d) 4 *N* HCl in Dioxan, 1 h, RT; e)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaHCO}_3$ , RT, 56%; f) MeOH, verdünnte HCl,  $\text{H}_2$  (1 bar), Pd/C, 97%; g) *N*-Boc-Phenylalanin, DMF, HATU,  $i\text{Pr}_2\text{EtN}$ , RT, 97%; h)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , TFA/ $\text{H}_2\text{O}$  (9:1), 45 min, RT, quant.; i) 2-Hexencarbonsäure, DMF, HATU,  $i\text{Pr}_2\text{EtN}$ , 82%.

deutlich, wohingegen sich ein weiteres Fluoratom in Position 4 als ungünstig herausstellte (**231–234**). Der Austausch des Phenylringes gegen einen Pyridyl- oder einen Cyclohexylrest führte zu vollständigem Aktivitätsverlust.

Die substituierende Modifikation am oberen Prolinrest war syntheses technisch nicht einfach. Die natürliche 4-*R*-Methylgruppe schien optimal zu sein, denn größere Substituenten (Ethyl, Methoxy) oder ein Positionswechsel (4- nach 3-) verringerten die antibakterielle Aktivität. Für das natürliche *N*-Methylalanin war ein Alkylsubstituent am Stickstoffatom unverzichtbar (Entfernen der *N*-Methylgruppe ergab unwirksame Depsipeptide). Der Austausch von *N*-Methylalanin gegen *N*-Methylglycin wurde nicht toleriert, doch der Einbau starrer cyclischer Aminosäuren ergab hochwirksame Vertreter: Das vollsynthetische Acyldepsipeptid **236** zeigte in vitro und in vivo ein eindrucksvolles biologisches Profil. Seine MHK-Werte gegen Gram-positive Erreger lagen in der Größenordnung etablierter Antibiotika (Tabelle 23), und weder ein Wirkverlust gegen multiresistente klinische Isolate noch Kreuzresistenzen gegen andere Antibiotika waren zu beobachten. Bei intraperitonealer Behandlung letaler *E. faecalis*-Infektionen von Mäusen mit einer Einmalgabe von  $0.5 \text{ mg kg}^{-1}$  **236** stieg die Überlebensrate auf 100%.<sup>[467]</sup> Um das Problem geringer Löslichkeit anzugehen, wurde schließ-



lich das *N*-Methylalanin im variablen unteren Teil des Rings durch ein *N*-Methylserin ersetzt (in **237**). Sein exocyclischer *N,N*-Dimethylglycinester **30** war nach wie vor hochwirksam und durch seine Wasserlöslichkeit für parenterale Anwendungen geeignet. So konnten auf medizinisch-chemischem Wege inhärente Schwachstellen der natürlichen Enopeptin-Depsipeptidantibiotika (Stabilität, Löslichkeit, Potenz) deutlich verbessert werden (chemische Post-Evolution). Im Fall der Enopeptine haben wir den effizienten Zugang über die De-novo-Synthese dem fermentativ-semisynthetischen Ansatz vorgezogen, um das Potenzial der natürlichen Leitstrukturen **224** und **29** systematisch auszuloten.

## 18. Zusammenfassung und Ausblick

*Das neue sozio-ökonomische Umfeld für die antibakterielle Forschung definieren und akzeptieren:* Die Multiresistenz gegen Antibiotika breitet sich weltweit aus, und bakterielle Infektionen reagieren oft nicht mehr auf Standard-Therapiemethoden. Die Zahl der Berichte über Therapieversagen und steigende Behandlungskosten nimmt zu, besonders in Krankenhäusern. Die Behandlung resistenter Keime erfordert längere Krankenhausaufenthalte und teurere Medikamente und treibt dadurch die Kosten in die Höhe. Jede Verwendung von Antibiotika führt unweigerlich zu Resistenzentwicklung und begrenzt damit die Effizienz und die Lebenszeit eines jeden Antibiotikums. Dadurch entsteht ein anhaltender Bedarf an neuen, wirksamen und sicheren antibakteriellen Arzneimitteln ohne Kreuzresistenz zu momentan verwendeten Antibiotika. Trotzdem werden derzeit die Investitionen in die antibakterielle Forschung und Entwicklung zurückgefahren: Die meisten großen Pharmaunternehmen haben dieses Gebiet verlassen. Die Konkurrenz durch billige Generika, die Resistenzentwicklung und zunehmende Auflagen seitens des Gesetzgebers haben den Druck auf die Gewinnspannen deutlich erhöht. Effiziente Antibiotika heilen Infektionskrankheiten rasch und gefährden so aktiv

den weiteren Bedarf (Auto-Obsoleszenz). Dieser große medizinische Erfolg bleibt ökonomisch leider nicht ohne Folgen. Aktionärsinteressen bestimmen zunehmend den Rahmen für Investitionsstrategien in Forschung und Entwicklung. Der kommerzielle Erfolg von Medikamenten gegen chronische Erkrankungen hat viele Firmen veranlasst, eher in „chronische Arzneimittel“ als in „Kurzzeit-Medikamente“ – wie Antibiotika – zu investieren. Zudem hat die Industrie in jüngster Zeit kaum verwertbare antibakterielle Arzneimittel hervorgebracht. Die Versuche neue bakterielle Targets auszuheben, waren enttäuschend und der „Ein-Target-eine-Krankheit“-Ansatz blieb gerade auf diesem Gebiet ohne Erfolg. Für die Entdeckung neuer antibakterieller Arzneimittel hat der HTS-Ansatz versagt; um die entstandene Produktivitätslücke wieder zu schließen, muss er ersetzt oder modifiziert werden. Allein die kontinuierliche Entwicklung neuer resis-

tenzbrechender Antibiotika kann eine therapeutische Versorgung für die Zukunft garantieren. Neue Ideen, die dieses Unterfangen ermutigen, erleichtern und unterstützen, sind jetzt gefragt.

*Die Forschungsstrategie umgestalten und neue Finanzierungsmöglichkeiten erschließen:* Die Neugestaltung etablierter wissenschaftlicher Vorgehensweisen sollte helfen, „prä-antibiotische“ Szenarien zu vermeiden. Dies kann aber nur mit dem pharmapolitischen Willen gelingen, die ökonomischen Chancen und den kommerziellen Erfolg neuer antibakterieller Medikamente endlich zu verbessern. Die Möglichkeiten öffentlich-privater Partnerschaften in antibakterieller Forschung und Entwicklung (wie für HIV, Tuberkulose und Malaria) sollten ausgelotet werden. Die etablierten Abläufe müssen durch eine engere Zusammenarbeit von Meinungsbildnern aus Hochschulen, Kliniken, Behörden und der Industrie verbessert werden. Visionäre Biotech-Firmen haben die antibakterielle Forschung und die Erforschung von Naturstoffen wiederbelebt (AnalytiCon, Basilea, Cubist, Kosan, Replidyne, Vicuron etc.). Spezielle Anreize für Antibiotika – im Vergleich zu „chronischen“ und Lifestyle-Arzneimitteln – könnten es Entscheidungsträgern erleichtern, erneut in antibakterielle Forschung zu investieren. Verschiedene Punkte sollten in diesem Zusammenhang diskutiert werden: die Ausweitung des Patentschutzes (wild-card) für neue Klassen von Antibiotika (first-in-class), die „Rückerstattung“ von Patentlaufzeit (die während der Prüfungsverfahren verloren ging), die Vereinfachung klinischer Studien durch schnellere Begutachtung (fast-track review) und durch die Verwendung von Surrogat-Parametern. Eine bessere Abstimmung zwischen den Zulassungsbehörden einzelner Länder ist erforderlich; globale Zulassungskriterien sind Zukunftswünsche. Bessere Maßnahmen zur Infektionskontrolle, die Überwachung der Resistenzentwicklung und Initiativen zum verantwortlichen und fachgemäßen Gebrauch werden helfen, die Lebensspanne etablierter Antibiotika zu verlängern und die Akzeptanz für die Antibiotikatherapie zu erhalten.

*Zeitgemäße wissenschaftliche Methoden für die Naturstoff-Forschung nutzen:* Die Semisynthese und die De-novo-Synthese sind Verfahren zur iterativen Optimierung von Naturstoffen und ermöglichen den Zugang zu patentierbaren Arzneimittelstoffen mit verbesserten pharmakokinetischen, physikochemischen und toxikologischen Eigenschaften (chemische Post-Evolution). Die sorgfältige Auswahl von Naturstoff-Leitstrukturen für medizinisch-chemische Programme oder als Wegweiser zu validen Targets (Reversed Genomics) kann Wege zu zukünftigen Therapien aufzeigen. Die In-silico-Modellierung der Bindungsweise „privilegierter Strukturen“ an ihre Targets, erlaubt die Konzeption von weniger komplexen Molekülen mit verbesserten Eigenschaften, die als Basisstrukturen für medizinisch-chemische Programme und kombinatorische Chemie dienen können. Mit Ausnahme einiger  $\beta$ -Lactam-Antibiotika hat bis heute ausschließlich die Semisynthese abgewandelter antibakterieller Naturstoffe wirtschaftliche Bedeutung erlangt.

*„Alte“ antibakterielle Substanzklassen und klinisch bewährte Targets erneut angehen:* Selbst innerhalb bekannter Naturstoff-Antibiotika ruht ein verborgener Schatz an bioaktiver Strukturdiversität. Viele „alte“ Substanzklassen wurden nie systematisch mit den Methoden der De-novo-Synthese bewertet, und umfassende SAR zu ihren Grundgerüsten liegen nicht vor. Selbst durch eine bessere Nutzung der verfügbaren antibakteriellen Wirkstoffe können wir noch viel erreichen. Gerade klinisch bewährte Wirkmechanismen etablierter Substanzklassen sollten nicht vernachlässigt werden. Neue Technologien wie die kombinatorische Biosynthese können attraktive neue Verbindungen oder (verbesserte) Vertreter bekannter Antibiotika hervorbringen. Allerdings ist der Wert dieser Technologien für die antibakterielle Forschung in der industriellen Praxis noch nicht bewiesen. Momentan ist nicht abzusehen, ob die kombinatorische Biochemie eine gesteuerte und ausreichend strukturell diverse chemische Post-Evolution ermöglicht, wie sie zur Umwandlung von Naturstoffen in Medikamente notwendig ist.

*Naturstoff-Forschung im Interesse der Patienten:* Der zunehmende Druck auf pharmazeutische Firmen, in einem sehr dynamischen Umfeld wirtschaftliche Kennzahlen zu erreichen und kontinuierlich Kosten zu sparen, hat in der Industrie einen harten Wettbewerb um Forschungsmittel ausgelöst. Diesen hat die Naturstoff-Forschung in vielen Fällen verloren. Auch wenn heute die Ansicht weit verbreitet ist, antibakterielle Forschung sei ohne Naturstoffe möglich: Die Vergangenheit hat uns das Gegenteil gelehrt. Da nun das Pendel der Resistenz zurückschlägt, bleibt nur die Alternative antibakterieller Forschung mit Naturstoffen. Auf das universelle Wissen der Natur ganz zu verzichten wäre Selbstüberschätzung. Die Architektur natürlicher Antibiotika ist der Schlüssel zur Verwundbarkeit von Bakterien.

## 19. Abkürzungen

|         |   |
|---------|---|
| ADME(T) | Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, (Toxicity) |
| AUC     | Fläche unter der Kurve (pharmakokinetischer Parameter)      |

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| Boc                         | <i>tert</i> -Butoxycarbonyl   |
| BOPCl                       | [(1-Benzotriazolyl)oxy]tris(dimethylamino)phosphonium-chlorid   |
| BSTFA                       | <i>N,O</i> -Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid  |
| CAP                         | Außerhalb vom Krankenhaus erworbene Lungenentzündung  |
| CDI                         | <i>N,N'</i> -Carbonyldiimidazol   |
| CFU                         | Koloniebildende Einheiten   |
| ClpP                        | Caseine Lytic Protease  |
| CNS                         | Zentralnervensystem   |
| COD                         | 1,5-Cyclooctadien   |
| cSSSI                       | Komplizierte Hautinfektionen  |
| cSSTI                       | Komplizierte Haut- und Weichteilinfektionen   |
| cUTI                        | Komplizierte Harnwegsinfektionen  |
| DBU                         | 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en   |
| DCC                         | Dicyclohexylcarbodiimid   |
| DIC                         | <i>N,N</i> -Diisopropylcarbodiimid  |
| Dipamp                      | 1,2-Ethylenbis[(2-methoxyphenyl)-phenylphosphan]  |
| DMA                         | <i>N,N</i> -Dimethylacetamid  |
| DMAP                        | 4-Dimethylaminopyridin  |
| DMF                         | <i>N,N</i> -Dimethylformamid  |
| DMSO                        | Dimethylsulfoxid  |
| ED                          | effektive Dosis   |
| EDC                         | 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid  |
| EEDQ                        | 2-Ethoxy- <i>N</i> -ethoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin  |
| ( <i>S,S</i> )-Et-DuPhos-Rh | (+)-1,2-Bis[(2 <i>S,5S</i> )-2,5-diethylphospholano] benzol(cyclooctadien)rhodium(I)-trifluormethansulfonat |
| FCS                         | Fötales Kälberserum   |
| FDA                         | US Food and Drug Administration; US-Gesundheitsbehörde  |
| $f_U$                       | Freie Fraktion (pharmakokinetischer Parameter)  |
| GISA                        | Glycopeptide-intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>  |
| HAP                         | Im Krankenhaus erworbene Pneumonie  |
| HATU                        | <i>O</i> -(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-hexafluorophosphat                 |
| HBTU                        | Benzotriazol-1-yl- <i>N</i> -tetramethyluronium-hexafluorophosphat  |
| HOBt                        | 1-Hydroxy-1 <i>H</i> -benzotriazol  |
| HTS                         | Hochdurchsatz-Screening   |
| IAI                         | Intraabdominalinfektion   |
| ICAAC                       | Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy  |
| ICU                         | Intensivstation   |
| IC <sub>50</sub>            | Inhibitorische Konzentration 50 %   |
| IDSA                        | Infectious Disease Society of America   |
| i.v.                        | intravenös (parenteral)   |
| LDA                         | Lithiumdiisopropylamid  |
| MA                          | Membranaffinität (Deskriptor für Lipophilie)  |
| MHK                         | Minimale Hemmkonzentration  |
| MLS <sub>B</sub> -Resistenz | Resistenz gegen Makrolide, Lincosamide und Streptogramin B  |

|           |   |
|-----------|---|
| MRSA      | Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>      |
| MRSE      | Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| MDRSP     | Multiresistenter <i>Streptococcus pneumoniae</i>          |
| NBS       | N-Bromsuccinimid  |
| NCE       | Neue chemische Struktur                                   |
| PBP       | Penicillin-Bindeprotein                                   |
| Phth      | Phthaloyl   |
| PK        | Pharmakokinetik   |
| pNB       | p-Nitrobenzyl   |
| p.o.      | peroral (Anwendung)                                       |
| PPTS      | Pyridinium-p-toluolsulfonat                               |
| PRSP      | Penicillin-resistenter <i>Streptococcus pneumoniae</i>    |
| QT        | elektrophysiologischer Parameter (Herzerregung)           |
| RG        | Reversed Genomics   |
| RTI       | Atemwegserkrankung  |
| SAR       | Struktur-Wirkungs-Beziehung                               |
| s.c.      | subkutan (Anwendung)                                      |
| SSTI      | Haut- und Weichteilinfektionen                            |
| STR       | Struktur-Toxizitäts-Beziehung                             |
| TBDMS     | tert-Butyldimethylsilyl                                   |
| TBTU      | Benzotriazol-1-yl-N-tetramethyluronium-tetrafluoroborat   |
| TFA       | Trifluoressigsäure  |
| THF       | Tetrahydrofuran   |
| $t_{1/2}$ | Serumhalbwertszeit (pharmakokinetischer Parameter)        |
| UTI       | Harnwegsinfektion   |
| VISA      | vancomycin-intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>      |
| VRSA      | Vancomycin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>       |
| VRE       | Vancomycin-resistenter <i>Enterococcus faecium</i>        |
| $V_{ss}$  | Verteilungsvolumen (pharmakokinetischer Parameter)        |
| Z         | Benzyloxycarbonyl (Schutzgruppe)                          |

Im Lauf der vergangenen Jahre waren Hochschulkoooperationen mit zahlreichen synthetisch arbeitenden Gruppen eine äußerst fruchtbare Grundlage unserer antibakteriellen Forschung. Ganz besonders danken wir in diesem Zusammenhang T. Bach, V. N. Belov, S. Bräse, R. Brückner, A. Fürstner, G. Helmchen, V. Jäger, U. Kazmaier, A. Kirschning, A. de Meijere, K. C. Nicolaou und J. Pietruszka für ihre wertvollen Beiträge. Desweiteren geht unser Dank an E. Redpath (Wood Mackenzie) und H. G. Rohbeck für die Bereitstellung von Antibiotika-Verkaufszahlen und Konkurrenzanalysen. Wir danken N. Griebenow für die stimulierenden Diskussionen über das Konzept der chemischen Post-Evolution und A. Hillisch für seinen professionellen Rat in Fragen der Computerchemie. Dieser Aufsatz wäre niemals zustande gekommen ohne das Engagement und den wissenschaftlichen Sachverstand unserer geschätzten Kolleginnen und Kollegen H. Brötz-Oesterheldt, N. Brunner, S. Bartel, Y. Cancho-Grande, R. En-

dermann, K. Ehlert, M. Es-Sayed, C. Freiberg, C. Fürstner, R. Gahlmann, M. Gehling, R. Grosser, T. Henkel, I. Knezevic, J. Krüger, H. Labischinski, T. Lampe, H.-G. Lerchen, H. Meier, M. Michels, B. Newton, H. Paulsen, J. Pohlmann, S. Raddatz, J. Ragot, G. Schiffer, A. Schumacher, S. Seip, M. Stadler, N. Svenstrup, J. Telser und K. Ziegelbauer. Für Ratschläge zur Erstellung des Manuskripts danken wir A. Mullen, R. Süsmuth und S. Wegener. Die Gutachter haben mit ihrer großen Erfahrung, vielen wertvollen Kommentaren und Gedanken zur Abrundung dieses Aufsatzes beigetragen. Zu besonderem Dank sind wir H. Rübsamen-Waigmann, H. Haning und H. Wild verpflichtet. Sie haben unsere Ideen und Konzepte immer konstruktiv unterstützt. H. Reichel ([www.daxo.de](http://www.daxo.de)) hat die Vortitelseite „Die Evolution des Daxophons“ und die Schrift „FF Daxline ProRegular“ gestaltet.

Eingegangen am 26. Januar 2006

- [1] Historisch wurde der Begriff „Antibiotika“ für Naturstoffe und ihre Derivate verwendet, während „antibakterielle Wirkstoffe“ (antibacterials) für synthetische Verbindungen stand; siehe z.B.: L. Silver, K. Bostian, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **1990**, 9, 455–461.
- [2] S. Rachakonda, L. Cartee, *Curr. Med. Chem.* **2004**, 11, 775–793.
- [3] C. Walsh, *Antibiotics: Actions, Origins, Resistance*, 1. Aufl., ASM, Washington, DC, **2003**.
- [4] D. J. Newman, G. M. Cragg, K. M. Snader, *J. Nat. Prod.* **2003**, 66, 1022–1037.
- [5] H. Labischinski, *J. Med. Microbiol.* **2001**, 291, 317–318.
- [6] C. Walsh, *Nat. Rev. Microbiol.* **2003**, 1, 65–70.
- [7] I. Chopra, L. Hesse, A. J. O’Neil, *J. Appl. Microbiol.* **2002**, 92, 4S-15S.
- [8] Der Kommentar des US Surgeon General W. H. Stewart, das Buch der Infektionskrankheiten könne nun endlich geschlossen werden, wird in diesem Zusammenhang häufig zitiert.<sup>[2]</sup>
- [9] M. R. Barbachyn, C. W. Ford, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 2056–2144; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 2010–2023.
- [10] A. Raja, J. LaBonte, J. Lebbos, P. Kirkpatrick, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2003**, 2, 943–944.
- [11] J. D. Alder, *Drugs Today* **2005**, 41, 81–90.
- [12] a) World Health Organisation (WHO) Geneva, *World Health Report-2002*, **2002**; b) C. Nathan, *Nature* **2004**, 431, 899–902.
- [13] R. W. Pinner, S. M. Teutsch, L. Simonsen, *J. Am. Med. Assoc.* **1996**, 275, 189–193.
- [14] R. P. Wenzel, M. B. Edmont, *N. Engl. J. Med.* **2000**, 343, 1961–1963.
- [15] M. Leeb, *Nature* **2004**, 431, 892–893.
- [16] N. M. Clark, E. Hershberger, M. J. Zervose, J. P. Lynch, *Curr. Opin. Crit. Care* **2003**, 9, 403–412.
- [17] Infectious Disease Society of America (IDSA): <http://www.idsociety.org>. „About two million people acquire bacterial infections in U.S. hospitals each year, and 90,000 die as a result. About 70 % of those infections are resistant to at least one drug. The trends toward increasing numbers of infections and increasing drug resistance show no sign of abating. Resistant pathogens lead to higher health care costs because they often require more expensive drugs and extended hospital stays. The total cost to U.S. society is nearly \$ 5 billion annually.“
- [18] a) S. J. Projan, *Curr. Opin. Microbiol.* **2003**, 6, 427–430; b) K. M. Overbye, J. F. Barrett, *Drug Discovery Today* **2005**, 10, 45–52; c) A. F. Boggs, *Expert Opin. Ther. Pat.* **2003**, 13, 1107–1112.
- [19] J. Drews, *Drug Discovery Today* **2003**, 8, 411–420.



- [20] a) I. Chopra, M. Roberts, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2001**, 65, 232–260; b) M. G. Charest, C. D. Lerner, J. D. Brubaker, D. R. Siegel, A. G. Myers, *Science* **2005**, 308, 367–368.
- [21] a) G. A. Pankey, *J. Antimicrob. Chemother.* **2005**, 56, 470–480; b) E. Rubinstein, D. Vaughan, *Drugs* **2005**, 65, 1317–1336.
- [22] D. Chen, Z. Yuan, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2005**, 14, 1107–1116.
- [23] a) F. M. Walsh, S. G. Amyes, *Curr. Opin. Microbiol.* **2004**, 7, 439–444; b) D. M. Livermore, *Clin. Infect. Dis.* **2003**, 36 (Suppl. 1), S11–S23.
- [24] a) S. Solomon, T. Horant, M. Andrus, J. Edwards, S. Fridkin, J. Koganti, G. Peavy, J. Tolson, *Am. J. Infect. Control* **2003**, 31, 481–498; b) „Kreative Keime im Krankenhaus“: J. Müller-Jung, *Frankfurter Allgemeine Zeitung*, 11. 4. 2006, S. 10.
- [25] C. Walsh, *Nature* **2000**, 406, 775–781.
- [26] G. D. Wright, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2003**, 7, 563–569.
- [27] R. Hakenbeck, T. Grebe, D. Zahner, J. B. Stock, *Mol. Microbiol.* **1999**, 33, 673–678.
- [28] G. D. Wright, *Curr. Opin. Microbiol.* **1999**, 2, 499–503.
- [29] P. A. Lambert, *J. Appl. Microbiol. Symp. Suppl.* **2002**, 92, 46S–54S.
- [30] a) X. Z. Li, H. Nikaido, *Drugs* **2004**, 64, 159–204; b) K. S. McKeegan, M. I. Borges-Walmsley, A. R. Walmsley, *Curr. Opin. Pharmacol.* **2004**, 4, 479–486; c) M. L. Nelson, *Curr. Med. Chem. Anti-Cancer Agents* **2002**, 1, 35–54; d) G. W. Kaatz, *Expert Opin. Emerging Drugs* **2002**, 7, 223–233; e) P. Wiggins, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2004**, 13, 889–902.
- [31] B. Gonz  les-Zorn, T. Teshager, M. Casas, M. C. Porrero, M. A. Moreno, P. Courvalin, L. Domínguez, *Emerging Infect. Dis.* **2005**, 11, 954–956.
- [32] E. A. Eady, J. H. Cove, *Curr. Opin. Infect. Dis.* **2003**, 16, 103–124.
- [33] J. F. Barrett, *Expert Opin. Ther. Targets* **2004**, 8, 515–519.
- [34] C. D. Salgado, B. M. Farr, D. P. Calfee, *Clin. Infect. Dis.* **2003**, 36, 131–139.
- [35] L. M. Deshpande, G. J. Moet, D. J. Biedenbach, R. N. Jones, *44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, DC, USA, **2004**, Abstract C2-1360 (SENTRY antimicrobial surveillance program).
- [36] C. G. Whitney, M. M. Farley, J. Hadler, L. H. Harrison, C. Lexau, A. Reingold, L. Lefkowitz, P. R. Cieslak, M. Cetron, E. R. Zell, J. H. Jorgensen, A. Schuchat, *N. Engl. J. Med.* **2000**, 343, 1917–1924.
- [37] K. A. Gordon, D. J. Biedenbach, R. N. Jones, *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **2003**, 46, 285–289.
- [38] R. Reinert, S. Jenkins, D. Farrell, M. Patel, *44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, DC, USA, **2004**, Abstract C2-833 (PROTEKT antimicrobial surveillance program).
- [39] S. K. Bouchillon, D. J. Hoban, J. L. Johnson, *Int. J. Antimicrob. Agents* **2004**, 23, 181–196.
- [40] a) J. Davies, *Science* **1994**, 264, 375–382; b) T. M. File, Jr., *Chest* **1999**, 115 (Suppl. 3), 3S–8S; c) O. Cars, *Drugs* **1997**, 54 (Suppl. 6), 4–10.
- [41] G. L. Archer, M. W. Climo, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1994**, 38, 2231–2237.
- [42] National Nosocomial Infections Surveillance System, CDC: [http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/nnis\\_pubs.html](http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/nnis_pubs.html).
- [43] K. Hiramatsu, H. Hanaki, T. Ino, *J. Antimicrob. Chemother.* **1997**, 40, 135–146.
- [44] a) K. Hiramatsu, K. Okuma, X. X. Ma, M. Yamamoto, S. Hori, M. Kapi, *Curr. Opin. Infect. Dis.* **2002**, 15, 407–413; b) L. M. Weigel, D. B. Clewell, S. R. Gill, N. C. Clark, L. K. McDougal, S. E. Flannagan, J. F. Kolonay, J. Shetty, G. E. Killgore, F. C. Tenover, *Science* **2003**, 302, 1569–1571.
- [45] A. M. Bal, I. M. Gould, *Expert Opin. Pharmacother.* **2005**, 6, 2257–2269.
- [46] M. Baysallar, A. Kilic, H. Aydogan, F. Cilly, L. Doganci, *Int. J. Antimicrob. Agents* **2004**, 23, 510–512.
- [47] C. A. DeRyke, D. Maglio, D. P. Nicolau, *Expert Opin. Pharmacother.* **2005**, 6, 873–889.
- [48] K. Hiramatsu, N. Aritaka, H. Hanaki, S. Kawasaki, Y. Hosoda, S. Hori, Y. Fukuchi, I. Kobayashi, *Lancet* **1997**, 350, 1670–1673.
- [49] G. J. Moet, M. G. Stilwell, D. J. Biedenbach, R. N. Jones, *44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, DC, **2004**, USA, Abstract C2-1707 (SENTRY antimicrobial surveillance program).
- [50] a) European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS): <http://www.earss.rivm.nl/>; b) Resistenz  berwachungsprojekt der British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC): <http://www.bsacsurv.org/>; c) D. J. Hoban, D. J. Biedenbach, A. H. Mutnick, R. N. Jones, *Microbiol. Infect. Dis.* **2003**, 45, 279–285.
- [51] D. M. Morens, G. K. Folkers, A. S. Fauci, *Nature* **2004**, 430, 242–249.
- [52] D. A. Mitchison, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2005**, 171, 699–706.
- [53] J. K. Borchardt, *Drug News & Perspect.* **2002**, 15, 535–542.
- [54] S. Kumari, V. J. Ram, *Drugs Today* **2004**, 40, 487–500.
- [55] J. B. Nachega, R. E. Chaisson, *Clin. Infect. Dis.* **2003**, 36 (Suppl. 1), S24–S30.
- [56] Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy: <http://www.icaac.org>.
- [57] M. N. Alekshun, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2005**, 14, 93–99.
- [58] a) LIBRA-F  rderinitiative der Bayer HealthCare AG zum weltweiten verantwortlichen und fachgemäßen Gebrauch von Antibiotika: <http://www.librainitiative.com/life/en/index.html>; b) Alliance for the Prudent Use of Antibiotics: <http://www.tufts.edu/med/apua/index.html>.
- [59] C. W. Stratton, *Emerging Infect. Dis.* **2003**, 9, 10–16.
- [60] G. L. Drusano, *Nat. Rev. Microbiol.* **2004**, 2, 289–300.
- [61] a) J. A. DiMasi, R. W. Hansen, H. G. Grabowski, *J. Health. Econ.* **2003**, 22, 151–185; b) J. E. Calfee, *Nature* **2004**, 429, 807; M. Goozner, *The \$800 Million Pill: The Truth Behind the Cost of New Drugs*, University of California Press, **2004**; c) J. M. Reichert, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2003**, 2, 695–702.
- [62] B. Spellberg, J. H. Powers, E. P. Brass, L. G. Miller, J. E. Edwards, *Clin. Infect. Dis.* **2004**, 38, 1279–1286.
- [63] R. F. Service, *Science* **2004**, 303, 1796–1799.
- [64] D. M. Shlaes, R. C. Moellering, Jr., *Clin. Infect. Dis.* **2000**, 34, 420–422.
- [65] a) C. J. Thomson, *Curr. Opin. Microbiol.* **2004**, 7, 445–450; b) R. P. Wenzel, *N. Engl. J. Med.* **2004**, 351, 523–526; c) D. N. Gilbert, J. E. Edwards, Jr., *Clin. Infect. Dis.* **2002**, 35, 215–216.
- [66] J. H. Powers, *Curr. Opin. Infect. Dis.* **2003**, 16, 547–551.
- [67] I. Kola, J. Landis, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2004**, 3, 711–715.
- [68] D. J. Hoban, *Clin. Cornerstone* **2003**, (Suppl. 3), S12–S20.
- [69] Wood Mackenzie's Productview: <http://www.woodmac.com/pharmabiotech>.
- [70] L. Harris, Analyst Datamonitor, *Superbugs and Superdrugs—6th Annual SMI Conference*, London, 1.–2. March 2004; Datamonitor: <http://www.datamonitor.com>.
- [71] Generelle Aspekte der Naturstoffchemie wie Isolierung, Reinigung und Strukturaufklärung werden hier nicht angesprochen. Diese Themenbereiche wurden an anderer Stelle zusammengefasst, z.B.: J. A. Leeds, E. K. Schmitt, P. Krastel, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2006**, 15, 211–226.
- [72] a) A. M. Rouhi, *Chem. Eng. News* **2003**, 81, 77–91; b) L. F. Tietze, S. Chandrasekhar, H. P. Bell, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 4128–4160; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 3996–4028.
- [73] M. S. Butler, *J. Nat. Prod.* **2004**, 67, 2141–2153.
- [74] M. S. Butler, *Nat. Prod. Rep.* **2005**, 22, 162–195.
- [75] F. E. Koehn, G. T. Carter, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2005**, 4, 206–220.

- [76] R. D. Firn, C. G. Jones, *Nat. Prod. Rep.* **2003**, *20*, 382–391.
- [77] H. Nikaido, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2003**, *67*, 593–656.
- [78] H. B. Bode, R. Müller, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 6988–7007; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6828–6846.
- [79] S. Weist, R. D. Süssmuth, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2005**, *68*, 141–150.
- [80] In bestimmten Fällen kann die Struktur von Polyketiden aus dem genetischen Code der Biosynthesemodule vorausgesagt werden.
- [81] N. Perić-Concha, P. F. Long, *Drug Discovery Today* **2003**, *8*, 1078–1084.
- [82] R. Breinbauer, I. R. Vetter, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3002–3015; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2878–2890.
- [83] M. A. Koch, A. Schuffenhauer, M. Scheck, S. Wetzel, M. Casaulta, A. Odermatt, P. Ertl, H. Waldmann, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 17272–17277.
- [84] T. Henkel, R. M. Brunne, H. Müller, F. Reichel, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 688–691; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 643–647.
- [85] M. Feher, J. M. Schmidt, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2003**, *43*, 218–227.
- [86] A. J. O'Neill, I. Chopra, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2004**, *7*, 1237–1244.
- [87] L. Silver, K. Bostian, *Eur. J. Clin. Microbiol.* **1990**, *13*, 1045–1063.
- [88] H. Breithaupt, *Nat. Biotechnol.* **1999**, *17*, 1165–1169.
- [89] *Handbook of Animal Models of Infection* (Hrsg.: O. Zak, M. A. Sande), Academic Press, San Diego, USA, **1999**.
- [90] J. D. Alder, *Current Pharm. Design* **1997**, *3*, 143–158.
- [91] F. Parenti, G. Lancini in *Antibiotics and Chemotherapy*, 7. Aufl. (Hrsg.: F. O'Grady, H. P. Lambert, R. G. Finch, D. Greenwood), Churchill Livingstone, New York, **1997**, S. 453–459.
- [92] D. N. Wilson, K. H. Nierhaus, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 3586–3610; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3464–3468.
- [93] V. Ramakrishnan, *Cell* **2002**, *108*, 557–572.
- [94] I. Chopra, *Expert Opin. Invest. Drugs* **1998**, *7*, 1237–1244.
- [95] D. J. C. Knowles, N. Foloppe, N. B. Matassova, A. I. H. Murchie, *Curr. Opin. Pharmacol.* **2002**, *2*, 501–506.
- [96] E. Bacqué, J.-C. Barrière, N. Berthaud, *Curr. Med. Chem. Anti-Cancer Agents* **2005**, *4*, 185–217.
- [97] A. Coates, Y.-M. Hu, R. Bax, C. Page, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, *1*, 895–910.
- [98] A. P. Carter, W. M. Clemons, D. E. Brodersen, R. J. Morgan-Warren, B. T. Wimberly, V. Ramakrishnan, *Nature* **2000**, *407*, 340–348.
- [99] B. G. Spratt, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1975**, *72*, 2999–3003.
- [100] L. Miesel, J. Greene, T. A. Black, *Nat. Rev. Genet.* **2003**, *4*, 442–456.
- [101] R. D. Fleischmann et al., *Science* **1995**, *269*, 496–512.
- [102] M. Chee, R. Yang, E. Hubbell, A. Berno, X. C. Huang, D. Stern, J. Winkler, D. J. Lockhart, M. S. Morris, S. P. A. Fodor, *Science* **1996**, *274*, 610–614.
- [103] a) A. Shevchenko, O. N. Jensen, A. V. Podtelejnikov, F. Sagliocco, M. Wilm, O. Vorm, P. Mortensen, A. Shevchenko, H. Boucherie, M. Mann, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 14440–14445; b) W. W. Zhang, *Pharmacogenomics* **2005**, *6*, 555–562.
- [104] S. R. Waterman, *Am. J. Pharmacoeconomics* **2001**, *1*, 263–269.
- [105] D. McDevitt, M. Rosenberg, *Trends Microbiol.* **2001**, *9*, 611–617.
- [106] Bis Mai 2006 waren 279 Genome entschlüsselt: The Institute for Genomic Research (TIGR); <http://www.tigr.org>.
- [107] S. J. Projan, *Curr. Opin. Pharmacol.* **2002**, *2*, 513–522.
- [108] A. D. Roses, D. K. Burns, S. Chissio, L. Middleton, P. St. Jean, *Drug Discovery Today* **2005**, *10*, 177–189.
- [109] C. J. Zheng, L. Y. Han, C. W. Yap, B. Xie, Y. Z. Chen, *Drug News & Perspect.* **2005**, *18*, 109–127.
- [110] P. D. Jackson, J. J. Harrington, *Drug Discovery Today* **2005**, *10*, 53–60.
- [111] U. A. K. Betz, *Drug Discovery Today* **2005**, *10*, 1057–1063.
- [112] S. A. Haney, L. E. Alksne, P. M. Dunman, E. Murphy, S. J. Projan, *Curr. Pharm. Des.* **2002**, *8*, 1099–1118.
- [113] Einige valide antibakterielle Targets existieren auch im Menschen, aber sie sind für ihn nicht lebenswichtig (mitochondriale Peptid-Deformylase, PDF).
- [114] Ein Target, das für Wachstum und Überleben eines Mikroorganismus absolut notwendig ist.
- [115] F. Arigoni, F. Talabot, M. Peisch, M. D. Edgerton, E. Meldrum, E. Allet, R. Fish, T. Jamotte, M.-L. Curchod, H. Lofrer, *Nat. Biotechnol.* **1998**, *16*, 851–856.
- [116] Es gibt Literaturhinweise auf oder positive Erfahrungen mit diesem HTS-Format für ein eng verwandtes Target.
- [117] Es gibt Literaturhinweise oder positive Erfahrungen mit einer Targetklasse oder Leitstruktur für ein eng verwandtes Target. Bevorzugt sollte es sich hierbei um ein Target mit einer einzigen Wechselwirkungsstelle handeln, damit eine hohe Wahrscheinlichkeit besteht, einen potenten, niedermolekularen Inhibitor zu identifizieren.
- [118] Y. Sugiyama, *Drug Discovery Today* **2005**, *10*, 1577–1579.
- [119] C. J. Tomson, E. Power, H. Ruebsamen-Waigmann, H. Labischinski, *Curr. Opin. Microbiol.* **2004**, *7*, 445–450.
- [120] A. F. Chalker, R. D. Lunsford, *Pharmacol. Ther.* **2002**, *95*, 1–20.
- [121] D. J. Payne, *Drug News & Perspect.* **2004**, *17*, 187–194.
- [122] J. R. Broach, J. Thorner, *Nature* **1996**, *384*, 14–18.
- [123] P. Gribbon, A. Sewing, *Drug Discovery Today* **2005**, *10*, 17–22.
- [124] G. J. R. Zaman, *Drug Discovery Today* **2004**, *9*, 828–830.
- [125] a) Die Kenntnis der dreidimensionalen Struktur eines Targetproteins ist hilfreich für dessen Validierung und für chemische Optimierungsstrategien. Ist das aktive Zentrum über eine ganze Reihe von Erregern konserviert, so besteht eine bessere Chance, einen Inhibitor mit breitem antibakteriellem Spektrum zu finden; b) J. J. Barker, *Drug Discovery Today* **2006**, *11*, 391–404; c) L. O. Haustedt, C. Mang, K. Siems, H. Schiewe, *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **2006**, *9*, im Druck.
- [126] M. B. Schmid, *Trends Microbiol.* **2002**, *10*, 27–31.
- [127] C. P. Gray, W. Keck in *Microbial Genomics and Drug Discovery* (Hrsg.: T. J. Dougherty, S. J. Projan), Dekker, New York, USA, **2003**.
- [128] C. G. Wermuth, *Drug Discovery Today* **2004**, *9*, 826–827.
- [129] A. S. Waller, J. M. Clements, *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **2002**, *5*, 785–792.
- [130] Die Peptid-Deformylase-Inhibitoren werden manchmal als Vertreter der ersten Substanzklasse angesehen, die ausgehend von einem Genomikprojekt die klinische Prüfung erreicht hat. Nach unserer Auffassung handelt es sich hierbei eher um einen Reversed-Genomics-Ansatz auf der Grundlage des natürlichen Antibiotikums Actinonin.
- [131] P. Ma, R. Zimmel, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, *1*, 571–572.
- [132] a) F. Sams-Dodd, *Drug Discovery Today* **2005**, *10*, 139–147; b) E. F. Schmid, D. A. Smith, *Drug Discovery Today* **2005**, *10*, 1031–1039.
- [133] S. Carney, *Drug Discovery Today* **2005**, *10*, 1011–1013.
- [134] G. H. Cassel, J. Mekalanos, *J. Am. Med. Assoc.* **2001**, *285*, 601–605.
- [135] C. Freiberg, H. Brötz, H. Labischinski, *Curr. Opin. Microbiol.* **2004**, *7*, 451–459.
- [136] J. E. Bandow, H. Brötz, L. I. O. Leichert, H. Labischinski, M. Hecker, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, *47*, 948–955.
- [137] K. Büttner, J. Bernhardt, C. Scharf, R. Schmid, U. Mader, C. Eymann, H. Antelmann, A. Völker, U. Völker, M. Hecker, *Electrophoresis* **2001**, *22*, 2908–2935.

- [138] B. Hutter, C. Schaab, S. Albrecht, M. Borgmann, N. A. Brunner, C. Freiberg, K. Ziegelbauer, C. O. Rock, I. Ivanov, H. Loferer, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 2838–2844.
- [139] H. P. Fischer, N. A. Brunner, B. Wieland, J. Paquette, L. Macko, K. Ziegelbauer, C. Freiberg, *Genome Res.* **2004**, *14*, 90–98.
- [140] M. Gebauer, *Drug Discovery Today* **2004**, *9*, 915–917.
- [141] G. Schiffer, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [142] D. J. Payne et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46*, 3118–3124.
- [143] C. Freiberg, N. A. Brunner, G. Schiffer, T. Lampe, J. Pohlmann, M. Brands, M. Raabe, D. Häbich, K. Ziegelbauer, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 26066–26073.
- [144] C. Freiberg, H. P. Fischer, N. A. Brunner, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49*, 749–759.
- [145] D. Beyer, H.-P. Kroll, R. Endermann, G. Schiffer, S. Siegel, M. Bauser, J. Pohlmann, M. Brands, K. Ziegelbauer, D. Häbich, C. Eymann, H. Brötz-Oesterheld, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 525–532.
- [146] N. N. Kaderbhai, D. I. Broadhurst, D. I. Ellis, R. Goodacre, D. B. Kell, *Comp. Funct. Genomics* **2003**, *4*, 376–391.
- [147] H. Labischinski, G. Schiffer, J. Schmitt, T. Udelhoven (Synthon KG), *WO 03042406*, **2003** [*Chem. Abstr.* **2003**, *138*, 381718].
- [148] Skelettreste des Neanderthalers wurden im Jahr 1856 in der Feldhofer Grotte – etwa 15 km entfernt vom Bayer Pharma-Forschungszentrum Wuppertal – entdeckt.
- [149] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1997**, *23*, 3–25.
- [150] H. Nikaido, *Semin. Cell Dev. Biol.* **2001**, *12*, 215–223.
- [151] R. S. DeWitte, *Curr. Drug Discovery* **2002**, *19*–22: „It is much easier for greasy compounds to have high binding affinity in vitro than for their more soluble analogs.“
- [152] a) E. L. Schuck, H. Derendorf, *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.* **2005**, *3*, 361–373; b) manche komplexen, hochwirksamen Antibiotika haben allerdings eine erstaunlich hohe Proteinbindung in Blutplasma (Daptomycin,  $f_u$  8%).
- [153] D. Andes, W. A. Craig, *Int. J. Antimicrob. Agents* **2002**, *19*, 261–268.
- [154] a) B. R. Meyers, *Antimicrobial Therapy Guide*, 16. Aufl., Antimicrobial Prescribing, Newtown, USA, **2004**; b) H. A. Dieterich, E. Mutschler, *Antinfektiva*, WVG, Stuttgart, **1998**.
- [155] Antibakterielle Aktivität, Stabilität, Selbstverträglichkeit, Biosyntheseaufwand und die Resistenzinduktion im Targetorganismus sind wichtige Parameter, die den Selektionsvorteil eines Sekundärmetaboliten für seinen Produzenten bestimmen.
- [156] B. L. Bray, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2003**, *2*, 587–593.
- [157] a) A. Rivkin, T.-C. Chou, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 2898–2910; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2838–2850; b) K. C. Nicolaou, B. A. Pratt, S. Arseniyadis, M. Wartmann, A. O’Brate, P. Giannakakou, *ChemMedChem* **2006**, *1*, 41–44; c) F. Cachoux, T. Isarno, M. Wartmann, K.-H. Altmann, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 7636–7640; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7469–7473.
- [158] E. Winterstein, G. Trier, *Die Alkaloide*, **1910**, Gebr. Bornträger, Berlin.
- [159] J. Li, W. J. Kao, *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 1055–1067.
- [160] F. von Nussbaum, R. Hanke, T. Fahrig, J. Benet Buchholz, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 2783–2790.
- [161] a) A. Fleming, *Br. J. Exp. Pathol.* **1929**, *10*, 226–236; b) P. I. Lerner, *N. Engl. J. Med.* **2004**, *351*, 524.
- [162] a) M. Habeck, *Drug Discovery Today* **2002**, *7*, 1109–1110; b) C. J. Schofield, J. E. Baldwin, M. F. Byford, I. Clifton, J. Hajdu, C. Hensgens, P. Roach, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1997**, *7*, 857–864.
- [163] a) G. A. Glistler, A. Grainger, *Analyst* **1950**, *75*, 310; b) K. Bauer, W. Kaufmann, *Naturwissenschaften* **1960**, *47*, 469.
- [164] F. R. Batchelor, F. P. Doyle, J. W. C. Nayler, G. N. Rolinson, *Nature* **1959**, *183*, 256–258.
- [165] R. B. Morin, B. G. Jackson, E. G. Flynn, R. W. Roeske, *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 3400–3401.
- [166] W. Kaufmann, K. Bauer, *Naturwissenschaften* **1960**, *47*, 474.
- [167] G. S. Singh, *Mini-Rev. Med. Chem.* **2004**, *4*, 93–109.
- [168] A. Bryskier, *J. Antibiot.* **2000**, *53*, 1028–1037.
- [169] M. G. P. Page, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2004**, *13*, 973–985.
- [170] a) A. Imada, K. Kitano, K. Kintaka, M. Muroi, M. Asai, *Nature* **1981**, *289*, 590–591; b) G. S. Singh, *Mini-Rev. Med. Chem.* **2004**, *4*, 69–92.
- [171] L. D. Cama, B. G. Christensen, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 7582–7584.
- [172] a) D. A. Evans, E. B. Sjogren, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 3787–3790; b) J. W. Misner, J. W. Fisher, J. P. Gardner, S. W. Pedersen, K. L. Trinkle, B. G. Jackson, T. Y. Zhang, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 5991–5993.
- [173] a) T. T. Howarth, A. G. Brown, T. J. King, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1976**, 266–267; b) D. Häbich, P. Naab, K. Metzger, *Tetrahedron Lett.* **1983**, 2559–2562; c) A. Dalhoff, C. J. Thomson, *Chemotherapy* **2003**, *49*, 105–120.
- [174] J. M. T. Hamilton-Miller, *Pharmacotherapy* **2003**, *23*, 1497–1507.
- [175] G. Bonfiglio, G. Russo, G. Nicoletti, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2002**, *11*, 529–544.
- [176] a) A. J. Eglinton, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1977**, 720; b) H. Wild, W. Hartwig, *Synthesis* **1999**, 1099–1103; c) I. N. Simpson, C. J. Urch, G. Hagen, R. Albrecht, B. Sprinkart, H. R. Pfaendler, *J. Antibiot.* **2003**, *56*, 838–847.
- [177] a) O. K. Kim, J. Fung-Tomc, *Expert Opin. Ther. Pat.* **2001**, *11*, 1267–1276; b) J. R. Hwu, K. S. Ethiraj, G. H. Hakimelahi, *Mini-Rev. Med. Chem.* **2003**, *3*, 305–313; c) A. R. White, C. Kaye, J. Poupard, R. Pypstra, G. Woodnutt, B. Wynne, *J. Antimicrob. Chemother.* **2004**, *53* (Suppl. 1) I3–I20; d) C. Acuna, X. Rabasseda, *Drugs Today* **2001**, *37*, 193–210; e) D. Andreotti, S. Biondi, *Curr. Opin. Anti-Infect. Invest. Drugs* **2000**, *2*, 133–139; f) G. Cornaglia, *Clin. Microbiol. Infect.* **2000**, *6* (Suppl. 3), 41–45; g) J. Q. Del Rosso, *Cutis* **2003**, *71*, 153–157; h) A. Novelli, S. Conti, M. I. Cassetta, S. Fallani, *Clin. Microbiol. Infect.* **2000**, *6* (Suppl. 3), 50–52.
- [178] a) H. Labischinski, *Med. Microbiol. Immunol.* **1992**, *181*, 241–265; b) J. M. Ghuysen, *Trends Microbiol.* **1994**, *2*, 372–380.
- [179] J. V. Høltje, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1998**, *62*, 181–203.
- [180] K. Lewis, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2000**, *64*, 503–524.
- [181] W. Vollmer, J. V. Høltje, *J. Bacteriol.* **2004**, *186*, 5978–5987.
- [182] a) P. Welzel, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 4610–4660; b) T. D. H. Bugg, C. T. Walsh, *Nat. Prod. Rep.* **1992**, *9*, 199–215; c) K. H. Schleifer, O. Kandler, *Bacteriol. Rev.* **1972**, *36*, 407–477; d) M. J. Spencelayh, Y. Cheng, R. J. Bushby, T. D. H. Bugg, J. Li, P. J. F. Henderson, J. O’Reilly, S. D. Evans, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 2165–2170; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2111–2116.
- [183] D. Lim, N. C. J. Strynadka, *Nat. Struct. Biol.* **2002**, *9*, 870–876.
- [184] a) J. Trias, J. Dufresne, R. C. Levesque, H. Nikaido, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1989**, *33*, 1201–1206; b) J. Trias, H. Nikaido, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1990**, *34*, 52–57.
- [185] a) R. Srikumar, C. J. Paul, K. Poole, *J. Bacteriol.* **2000**, *182*, 1410–1414; b) X. S. Li, L. Zhang, K. Poole, *J. Antimicrob. Chemother.* **2000**, *45*, 433–436.
- [186] a) J. F. Fisher, S. O. Meroueh, S. Mobashery, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 395–424; b) T. D. Gootz, *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.* **2004**, *2*, 317–327.
- [187] a) <http://www.lahey.org/studies>; b) K. Bush, *Clin. Infect. Dis.* **2001**, *32*, 1085–1089.
- [188] J. Spencer, T. R. Walsh, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 1038–1042; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1022–1026.
- [189] a) R. G. Micetich, S. M. Salama, S. N. Maiti, A. V. N. Reddy, R. Singh, *Curr. Med. Chem. Anti-Infect. Agents* **2002**, *1*, 193–213;



- b) V. P. Sandanayaka, A. S. Prashad, *Curr. Med. Chem.* **2002**, *9*, 1145–1165.
- [190] A. R. White, C. Kaye, J. Poupard, R. Pypstra, G. Woodnutt, B. Wynne, *J. Antimicrob. Chemother.* **2004**, *53* (Suppl. 1), I3–I20.
- [191] A. G. Brown, D. F. Corbett, J. Goodacre, J. B. Harbridge, T. T. Howarth, R. J. Ponsford, I. Stirling, T. J. King, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1984**, 635–650.
- [192] C. M. Perry, A. Markham, *Drugs* **1999**, *57*, 805–843.
- [193] D. M. Springer, *Curr. Med. Chem. Anti-Infect. Agents* **2002**, *1*, 269–279.
- [194] M. Miauchi, T. Hirota, K. Fujimoto, J. Ide, *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 3272–3276.
- [195] a) A. G. Brown, D. Butterworth, M. Cole, G. Hanscomb, J. D. Hood, C. Reading, *J. Antibiot.* **1976**, *29*, 295–304; b) J. D. Hood, S. J. Box, M. S. Verall, *J. Antibiot.* **1979**, *32*, 295–304; c) M. J. Basker, *J. Antimicrob. Chemother.* **1982**, *10*, 4–7.
- [196] a) J. S. Kahan, F. M. Kahan, E. O. Stapley, R. T. Goegelman, S. Hernandez (Merck & Co., Inc., USA), US 3950357, **1976** [*Chem. Abstr.* **1976**, *85*, 92190]; b) G. Albers-Schoenberg, B. H. Arison, O. D. Hensens, J. Hirshfield, K. Hoogsteen, E. A. Kaczka, R. E. Rhodes, J. S. Kahan, F. M. Kahan, R. W. Ratcliffe, E. Walton, L. J. Ruswinkle, R. B. Morin, B. G. Christensen, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 6491–6499; c) J. S. Kahan, H. Kropp, J. G. Sundelof, J. Birnbaum, *J. Antimicrob. Chemother.* **1983**, *12* (Suppl. D), 1–35.
- [197] M. J. Basker, R. J. Boon, P. A. Hunter, *J. Antibiot.* **1980**, *33*, 878–884.
- [198] J. S. Kahan, F. M. Kahan, R. Goegelman, S. A. Currie, M. Jackson, E. O. Stapley, T. W. Miller, A. K. Miller, D. Hendlin, S. Mochales, S. Hernandez, H. D. Woodruff, J. Birnbaum, *J. Antibiot.* **1979**, *32*, 1–12.
- [199] D. B. R. Johnston, S. M. Schmitt, F. A. Bouffard, B. G. Christensen, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 313–315.
- [200] B. M. Beadle, B. K. Shoichert, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46*, 3978–3980.
- [201] D. M. Livermore, N. Woodford, *Curr. Opin. Microbiol.* **2000**, *3*, 489–495.
- [202] H. Kropp, J. G. Sundelof, R. Hajdu, F. M. Kahan, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1982**, *22*, 62–70.
- [203] H. Takahagi, T. Hirota, Y. Matsushita, S. Muramatsu, M. Tanaka, E. Matsuo, *Chemotherapy* **1991**, *39* (Suppl. 3), 236–241.
- [204] M. Fukusawa, Y. Sumita, E. T. Harabe, T. Tanio, H. Nouda, T. Kohzaki, T. Okuda, H. Matsumura, M. Sunagawa, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, *36*, 1577–1579.
- [205] a) R. Wise, J. M. Andrews, N. Brenwald, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, *40*, 1248–1253; b) F. Sifaoui, E. Varon, M.-D. Kitzis, L. Gutmann, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, *42*, 173–175.
- [206] P. J. Petersen, N. V. Jacobus, W. J. Weiss, R. T. Testa, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1991**, *35*, 203–207.
- [207] S. Nakagawa, T. Hashizume, K. Matsuda, M. Sanada, O. Okamoto, H. Fukatsu, N. Tanaka, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, *37*, 2756–2759.
- [208] Y. Iso, T. Irie, Y. Nishino, K. Motokawa, Y. Nishitani, *J. Antibiot.* **1996**, *49*, 199–209.
- [209] a) C. J. Gill, J. J. Jackson, L. S. Gerckens, B. A. Pelak, R. K. Thompson, J. G. Sundelof, H. Kropp, H. Rosen, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, *42*, 1996–2001; b) H. M. Wexler, *J. Antimicrob. Chemother.* **2004**, *53* (Suppl. 2), ii11–ii21.
- [210] D. H. Shih, F. Baker, L. Cama, B. G. Christensen, *Heterocycles* **1984**, *21*, 29–40.
- [211] A. H. Berks, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 331–375.
- [212] K. M. J. Brands, R. B. Jobson, K. M. Conrad, J. M. Williams, B. Pipik, M. Cameron, A. J. Davies, P. G. Houghton, M. S. Ashwood, I. F. Cottrell, R. A. Reamer, D. J. Kennedy, U.-H. Dolling, P. J. Reider, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4771–4776.
- [213] a) J. M. Williams, K. M. J. Brands, K. M. Conrad, B. Pipik, K. A. Savary, F.-R. Tsay, P. G. Houghton, R. T. Skerlj, R. B. Jobson, G. Marchesini, *226th ACS National Meeting*, New York, 7–11. September 2003, Abstract orgn. 73; b) K. M. J. Brands, R. Cvetovich, L. S. Crocker, M. D. Ward, A. J. Mahajan, R. M. Wenslow, J. M. Williams, D. R. Sidler, E. S. Fisher, R. B. Jobson, C. Orella (Merck & Co., Inc., USA), WO 03026572, **2003** [*Chem. Abstr.* **2003**, *138*, 261606].
- [214] H. Wild in *The Organic Chemistry of  $\beta$ -Lactams*, (Hrsg.: G. I. Georg), 1. Aufl., VCH, New York, **1993**, S. 1–119.
- [215] *Macrolides: Chemistry, Pharmacology and Clinical Uses* (Hrsg.: A. J. Bryskier, J.-P. Butzler, H. C. Neu, P. M. Tulkens), Arnette Blackwell, Paris, **1993**.
- [216] A. K. Wierzbowski, D. J. Hoban, T. Hisanaga, M. Decorby, G. G. Zhanel, *Curr. Infect. Dis. Rep.* **2005**, *7*, 175–184.
- [217] a) Y. J. Wu, *Curr. Pharm. Des.* **2000**, *6*, 181–223; b) D. T. Chu, *Med. Res. Rev.* **1999**, *19*, 497–520; c) A. Bryskier, *Expert Opin. Invest. Drugs* **1999**, *8*, 1171–1194; d) A. Bryskier, *Expert Opin. Invest. Drugs* **1997**, *6*, 1697–1709.
- [218] *New Macrolides, Azalides and Streptogramins in Clinical Practice* (Hrsg.: H. C. Neu, L. S. Young, S. H. Zinner, J. F. Acar), Dekker, New York, NY, **1995**.
- [219] J. M. McGuire, R. L. Bunch, R. C. Andersen, H. E. Boaz, E. H. Flynn, H. M. Powell, J. W. Smith, *Antibiot. Chemother.* **1952**, *2*, 281–283.
- [220] E. H. Flynn, M. V. Sigal, Jr., P. F. Wiley, K. Gerzon, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 3121–3131.
- [221] P. F. Wiley, K. Gerzon, E. H. Flynn, M. V. Sigal, Jr., O. Weaver, U. C. Quarck, R. R. Chauvette, R. Monahan, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 6062–6070.
- [222] W. Hofheinz, H. Grisebach, *Chem. Ber.* **1963**, *96*, 2867–2869.
- [223] D. R. Harris, S. G. McGeachin, H. H. Mills, *Tetrahedron Lett.* **1965**, 679–685.
- [224] E. J. Corey, P. B. Hopkins, S. K. S. Yoo, K. P. Nambiar, J. R. Falck, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 7131–7134.
- [225] R. B. Woodward et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 3215–3217.
- [226] L. Katz, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2557–2575.
- [227] J. S. Tuan, J. M. Weber, M. J. Staver, J. O. Leung, S. Donadio, L. Katz, *Gene* **1990**, *90*, 21–29.
- [228] A. J. Birch, *Science* **1967**, *156*, 202–206.
- [229] D. E. Cane, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2463–2464.
- [230] L. H. Hansen, P. Mauvais, S. Douthwaite, *Mol. Microbiol.* **1999**, *31*, 623–631.
- [231] a) J. Harms, F. Schlutzen, R. Zarivach, A. Bashan, S. Gat, I. Agmon, H. Bartels, F. Fransceschi, A. Yonath, *Cell* **2001**, *107*, 679–688; b) F. Schlutzen, R. Zarivach, J. Harms, A. Bashan, A. Tocilj, R. Albrecht, A. Yonath, F. Fransceschi, *Nature* **2001**, *413*, 814–821.
- [232] E. Abu-Gharbieh, V. Vasina, E. Poluzzi, F. De Ponti, *Pharmacol. Res.* **2004**, *50*, 211–222.
- [233] J.-F. Chantot, A. J. Bryskier, J.-C. Gasc, *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 660–668.
- [234] a) S. Morimoto, Y. Takahashi, Y. Watanabe, S. Omura, *J. Antibiot.* **1984**, *37*, 187–189; b) S. Morimoto, Y. Takahashi, T. Adachi, T. Nagate, Y. Watanabe, *J. Antibiot.* **1990**, *43*, 286–294.
- [235] a) J. A. Retsema, A. E. Girard, W. Schekly, M. Manousos, M. R. Anderson, G. M. Bright, R. J. Borovoy, L. A. Brennan, R. Mason, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1987**, *31*, 1939–1947; b) S. Djokic, G. Kobrehel, G. Lazavreski, *J. Antibiot.* **1987**, *40*, 1006–1015.
- [236] J. M. Blondeau, *Expert Opin. Pharmacother.* **2002**, *3*, 1131–1151.
- [237] a) F. J. Baquero, *J. Chemother.* **1999**, *11*, 35–43; b) G. W. Amsden, *J. Antimicrob. Chemother.* **1999**, *44*, 1–6.
- [238] E. D. Milton, C. L. Hewitt, C. R. Harwood, *FEMS Microbiol. Lett.* **1992**, *76*, 141–147.



- [239] a) A. Tait-Kamrath, J. Clancy, M. Cronan, F. Dib-Hajj, L. Wondrack, W. Yuan, J. Sutcliffe, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1997**, *41*, 2251–2255; b) G. V. Doern, K. P. Heilmann, H. K. Huynh, P. R. Rhomberg, S. L. Coffman, A. B. Brueggemann, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, *45*, 1721–1729.
- [240] M. C. Roberts, J. Sutcliffe, P. Courvalin, L. B. Jensen, J. Rood, H. Seppala, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1999**, *43*, 2823–2830.
- [241] L. Wondrack, M. Massa, B. V. Yang, J. Sutcliffe, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, *40*, 992–998.
- [242] G. G. Zhanel, M. Walters, A. Noreddin, L. M. Vercaigne, A. Wierzbowski, J. M. Embil, A. S. Gin, S. Douthwaite, D. J. Hoban, *Drugs* **2002**, *62*, 1771–1804.
- [243] H. Muxfeldt, S. Shrader, P. Hansen, H. Brockmann, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 4748–4749.
- [244] a) C. Agouridas, Y. Benedetti, A. Denis, O. Le Martret, J.-F. Chantot, *35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, San Francisco, USA, **1995**, Abstract F-157; b) C. Agouridas, A. Denis, J. M. Auger, Y. Benedetti, A. Bonnefoy, F. Bretin, J.-F. Chantot, A. Dussarat, C. Fromentin, S. G. D'Ambrières, S. Lachaud, P. Laurin, O. Le Martret, V. Loyau, N. Tessot, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 4080–4100.
- [245] Y.-J. Wu, W.-G. Su, *Curr. Med. Chem.* **2001**, *8*, 1727–1758.
- [246] A. M. Nilius, Z. Ma, *Curr. Opin. Pharmacol.* **2002**, *2*, 1–8.
- [247] R. F. Keyes, J. J. Carter, E. E. Englund, M. M. Daly, G. G. Stone, A. M. Nilius, Z. Ma, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 1795–1798.
- [248] a) A. Denis, C. Agouridas, J.-M. Auger, Y. Benedetti, A. Bonnefoy, F. Bretin, J.-F. Chantot, A. Dussarat, C. Fromentin, S. G. D'Ambrières, S. Lachaud, P. Laurin, O. Le Martret, V. Loyau, N. Tessot, J.-M. Pejac, S. Perron, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 3075–3080; b) Y.-Q. Xiong, T. P. Le, *Drugs Today* **2001**, *37*, 617–628; c) A. Raja, J. Lebbos, P. Kirkpatrick, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2004**, *3*, 733–734.
- [249] a) Y. S. Or, R. F. Clark, S. Wang, D. T. Chu, A. M. Nilius, R. K. Flamm, M. Mitten, P. Ewing, J. Alder, Z. Ma, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1045–1049; b) Z. Ma, R. F. Clark, A. Brazzale, S. Wang, M. J. Rupp, L. Li, G. Griesgraber, S. Zhang, H. Yong, L. T. Phan, P. A. Nemoto, D. T. Chu, J. J. Plattner, X. Zhang, P. Zhong, Z. Cao, A. M. Nilius, V. D. Shortridge, R. Flamm, M. Mitten, J. Meulbroek, P. Ewing, J. Alder, Y. S. Or, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4137–4156; c) D. J. Plata, M. R. Leanna, M. Rasmussen, M. A. McLaughlin, S. L. Condon, F. A. J. Kerdesky, S. A. King, M. J. Peterson, E. J. Stoner, S. J. Wittenberger, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 10171–10180.
- [250] a) B. Scoreaux, A. Arya, A. Polemeropoulos, L. F. Han, K. Amsler, A. Sonderfan, G. Wang, Y. Wang, Y. Peng, G. Xu, H. Kim, T. Lien, L. Phan, Y. S. Or, *43rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Chicago, Illinois, USA, **2003**, Abstract F-1191; b) G. Wang, D. Niu, Y.-L. Qiu, L. T. Phan, Z. Chen, A. Polemeropoulos, Y. S. Or, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4455–4458.
- [251] A. Graul, J. Castaner, *Drugs Future* **1998**, *23*, 591–597.
- [252] K. E. Pfützner, J. G. Moffatt, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 5661–5670.
- [253] I. Phillips, *J. Antimicrob. Chemother.* **1981**, *7* (Suppl. A), 11–18.
- [254] D. A. Leigh, *J. Antimicrob. Chemother.* **1981**, *7* (Suppl. A), 3–9.
- [255] A. P. Ball, *J. Antimicrob. Chemother.* **1981**, *7* (Suppl. A), 81–84.
- [256] a) L. E. Cohen, C. J. McNeil, R. F. Wells, *J. Am. Med. Assoc.* **1973**, *223*, 1379–1380; b) S. P. Borriello, H. E. Larsen, *J. Antimicrob. Chemother.* **1981**, *7* (Suppl. A), 53–62.
- [257] R. D. Birkenmeyer (Upjohn), US 3435025, **1969** [Chem. Abstr. **1969**, *71*, 81696x].
- [258] R. D. Birkenmeyer, F. Kagan, *J. Med. Chem.* **1970**, *13*, 616–619.
- [259] D. J. Mason, A. Dietz, C. Deboer, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1962**, 554–559.
- [260] K. Bowden, G. P. Stevens, *J. Serb. Chem. Soc.* **2000**, *65*, 691–694.
- [261] B. J. Magerlein, R. D. Birkenmeyer, F. Kagan, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1966**, 727–736.
- [262] C. Lewis, H. W. Clapp, J. E. Grady, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1962**, 570–582.
- [263] C. Lewis, K. F. Stern, J. E. Grady, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1964**, 13–17.
- [264] J. Poehlsgaard, S. Douthwaite, *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2003**, *4*, 140–148.
- [265] F. Schlünzen, R. Zarviach, J. Harms, A. Bashan, A. Tocilj, R. Albrecht, A. Yonath, F. Franceschi, *Nature* **2001**, *413*, 814–821.
- [266] R. D. Birkenmeyer, S. J. Kroll, C. Lewis, K. F. Stern, G. E. Zurenko, *J. Med. Chem.* **1984**, *27*, 216–223.
- [267] a) V. I. Ahonkhai, C. E. Cherubin, M. A. Shulman, M. Jhargoo, U. Bancroft, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1982**, *21*, 902–905; b) M. E. Evans, L. S. Patterson, C. W. Stratton, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1982**, *22*, 334–335; c) S. M. Hussain Qadri, M. R. Karim, D. J. Flournoy, *J. Antibiot.* **1983**, *36*, 42–46.
- [268] a) A. A. Sinkula, W. Morozowich, E. L. Rowe, *J. Pharm. Sci.* **1973**, *62*, 1107–1111; b) F. LeGoffic, *J. Antimicrob. Chemother.* **1985**, *16* (Suppl. A), 13–21; c) F. Sztaricskai, Z. Dinya, G. Batta, A. Macsara, M. Hollosi, Z. Majer, R. Masuma, S. Omura, *J. Antibiot.* **1973**, *50*, 866–873; d) J. Gonda, E. Zavačka, M. Budesinsky, I. Cisarova, J. Podlaha, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 525–529.
- [269] a) B. J. Maegerlein, *Tetrahedron Lett.* **1970**, 33–36; b) B. J. Maegerlein, *J. Med. Chem.* **1972**, *15*, 1255–1259; c) E. R. Larson, S. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 6715–6716; d) S. Knapp, P. J. Kukkola, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 1632–1636.
- [270] J. G. Lewis, A. E. Atuegbu, T. Chen, S. A. Kumar, D. V. Patel, C. J. Hackbarth, R. Asano, C. Wu, W. Wang, Z. Yuan, J. Trias, R. J. White, M. F. Gordeev, *44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, DC, USA, **2004**, Abstract F-1388.
- [271] J. G. Lewis, S. Gu, S. A. Kumar, T. Chen, H. O'Dowd, D. V. Patel, C. J. Hackbarth, R. Asano, C. Park, L. Blais, C. Wu, Z. Yuan, J. Trias, R. J. White, M. F. Gordeev, *44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, DC, USA, **2004**, Abstract F-1389.
- [272] R. N. Jones, H. S. Sader, T. R. Fritsche, *45th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, DC, USA, **2005**, Abstract F-2040.
- [273] C. Park, J. Blais, S. Lopez, M. Gomez, R. Rossi, G. Candiani, D. Jabs, A. Kubo, M. Maniar, P. Margolis, C. Hackbarth, J. Lewis, M. Gorgeev, R. White, J. Trias, *44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, DC, USA, **2004**, Abstract F-1392.
- [274] J. Blais, C. Hackbarth, J. Lewis, R. White, J. Trias, *44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, DC, USA, **2004**, Abstract F-1393.
- [275] D. Jabs, G. Candiani, R. Rossi, S. Riva, M. Feroggio, L. Colombo, F. Garofalo, J. Lewis, J. Trias, *44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, DC, USA, **2004**, Abstract F-1394.
- [276] a) V. Tembe, D. Chen, L. Scott, S. Mukadam, G. Withers, Z. Yuan, J. Lewis, M. Gordeev, M. Buckwalter, J. Dowell, R. White, J. Trias, *44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, DC, USA, **2004**, Abstract F-1395; b) V. Tembe, D. Chen, L. Scott, P. Bani-Hashemi, P. Vadiveloo, J. Lewis, M. Gordeev, Z. Yuan, R. White, J. Trias, *44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, DC, USA, **2004**, Abstract F-1396.
- [277] P. S. Margolis, M. M. Maniar, C. Wu, W. Wang, J. Lewis, M. Gordeev, Z. Yuan, R. White, J. Trias, *44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, DC, USA, **2004**, Abstract F-1390.

- [278] J. Blais, C. Park, M. Maniar, P. Margolis, N. Rafanan, A. Kubo, S. Lopez, M. M. Gomez, C. Hackbarth, J. Lewis, M. Gordeev, R. White, J. Trias, *44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, DC, USA, **2004**, Abstract F-1391.
- [279] K. Katagiri, K. Tori, Y. Kimura, T. Yoshida, T. Nagasaki, H. Minato, *J. Med. Chem.* **1967**, *10*, 1149–1154.
- [280] a) M. M. Joullie, P. C. Wang, J. E. Semple, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 887–889; b) J. E. Semple, P. C. Wang, Z. Lysenko, M. M. Joullie, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7505–7510.
- [281] M. Shiro, H. Nakai, K. Tori, J. Nishikawa, Y. Yashimura, K. Katagiri, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1980**, 375.
- [282] R. J. Parry, H. P. Buu, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 7446–7447.
- [283] R. J. Parry, R. Turakhia, H. P. Buu, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 4035–4036.
- [284] T. Kohno, D. Kohda, M. Haruki, S. Yokoyama, *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 6931–6935.
- [285] a) K. Tanaka, M. Tomaki, S. Watanabe, *Biochim. Biophys. Acta* **1969**, *195*, 244–245; b) T. Masamune, M. Ono, *Chem. Lett.* **1975**, 625–626.
- [286] J. R. Brown, W. F. Doolittle, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 2441–2445.
- [287] a) J. Pohlmann, *Drugs Future* **2004**, *29*, 243–251; b) S. Kim, S. W. Lee, E. C. Choi, S. Y. Choi, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2003**, *61*, 278–288; c) J. Tao, P. Schimmel, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2000**, *9*, 1767–1775.
- [288] a) A. T. Fuller, G. Mellows, M. Woolford, G. T. Banks, K. D. Barrow, E. B. Chain, *Nature* **1971**, *234*, 416–417; b) P. Brown, D. J. Best, N. J. Broon, R. Cassels, P. J. O'Hanlon, T. J. Mitchel, N. F. Osborne, J. M. Wilson, *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3563–3570.
- [289] Totalsynthetisch hergestelltes L-(+)-Furanomycin<sup>[294]</sup> zeigte eine MHK von 2–4 µg mL<sup>-1</sup> gegen *S. aureus* und *E. coli* und eine Überlebensrate von 100% (ED<sub>100</sub> < 50 mg kg<sup>-1</sup> i.p.) in einem Mausmodell mit *S.-aureus*-Infektion: R. Endermann, Bayer HealthCare AG, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [290] a) J. R. Proudfoot, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 1647–1650; b) I. Muegge, *Med. Res. Reviews*, **2003**, *23*, 302–321; c) T. Wunberg, M. Hendrix, A. Hillisch, M. Lobell, H. Meier, C. Schmeck, H. Wild, B. Hinzen, *Drug Discovery Today* **2006**, *11*, 175–180.
- [291] M. J. Robins, J. M. R. Parker, *Can. J. Chem.* **1983**, *61*, 317–322.
- [292] S. Y. Chen, M. M. Joullie, *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 1769–1772.
- [293] J. Zhang, D. L. J. Clive, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 1754–1757.
- [294] P. J. Zimmermann, I. Blanarikova, V. Jäger, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 936–938; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 910–912.
- [295] S. H. Kang, S. B. Lee, *Chem. Commun.* **1998**, 761–762.
- [296] M. P. Van Brunt, R. F. Standaert, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 705–708.
- [297] U. Kazmaier, S. Pähler, R. Endermann, D. Häbich, H.-P. Kroll, B. Riedl, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 3905–3913.
- [298] H. R. Divanford, Z. Lysenko, J. E. Semple, P.-C. Wang, M. M. Joullie, *Heterocycles* **1981**, *16*, 1975–1985.
- [299] R. Müller, T. Leibold, M. Pätz, V. Jäger, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1305–1308; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1295–1298.
- [300] P. J. Zimmermann, J.-Y. Lee, I. Hlobilova (née Blanarikova), R. Endermann, D. Häbich, V. Jäger, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *16*, 3450–3460.
- [301] J.-Y. Lee, G. Schiffer, V. Jäger, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2317–2320.
- [302] A. Fredenhagen, S. Y. Tamura, P. T. M. Kenny, H. Komura, Y. Naya, K. Nakanishi, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 4409–4411.
- [303] J. Needham, M. T. Kelly, M. Ishige, R. A. Andersen, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2058–2063.
- [304] W. McWorther, A. Fredenhagen, K. Nakanishi, H. Komura, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 299–301.
- [305] a) A. V. Rama Rao, A. K. Singh, C. V. N. S. Varaprasad, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 4393–4396; b) D. J. Dixon, S. G. Davies, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1996**, 1797–1798; c) S. G. Davies, D. J. Dixon, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1998**, 2635–2643.
- [306] J. Pohlmann, T. Lampe, M. Shimada, P. G. Nell, J. Pernerstorfer, N. Svenstrup, N. A. Brunner, G. Schiffer, C. Freiberg, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 1189–1192.
- [307] a) N. Brunner, C. Freiberg, T. Lampe, B. Newton, M. Otteneder, J. Pernerstorfer, J. Pohlmann, G. Schiffer, M. Shimada, N. Svenstrup, R. Endermann, P. G. Nell (Bayer HealthCare AG), WO 04113290, **2004** [*Chem. Abstr.* **2004**, *142*, 56673]; b) N. Brunner, C. Freiberg, T. Lampe, B. Newton, M. Otteneder, J. Pernerstorfer, J. Pohlmann, G. Schiffer, M. Shimada, N. Svenstrup, R. Endermann, P. G. Nell (Bayer HealthCare AG), WO 03091212, **2003** [*Chem. Abstr.* **2003**, *139*, 350943].
- [308] M. P. Singh, M. J. Mroczenski-Wildey, D. A. Steinberg, R. J. Andersen, W. M. Maiese, M. Greenstein, *J. Antibiot.* **1997**, *50*, 270–273.
- [309] C. Freiberg, N. A. Brunner, G. Schiffer, T. Lampe, J. Pohlmann, M. Brands, M. Raabe, D. Häbich, K. Ziegelbauer, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 26066–26073.
- [310] M. S. Davis, J. Solbiati, J. E. Cronan, Jr., *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 28593–28598.
- [311] C. Freiberg, *BIOspektrum* **2005**, *11*, 180–182.
- [312] C. O. Rock, J. E. Cronan, *Biochim. Biophys. Acta* **1996**, *1302*, 1–16.
- [313] S. S. Chirala, W. Y. Huang, A. Jayakumar, K. Sakai, S. J. Wakil, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 5588–5593.
- [314] D. A. Alonso, S. K. Bertilsson, S. Y. Johnsson, S. J. M. Nordin, M. J. Södergren, P. G. Andersson, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2276–2280.
- [315] a) P. Consonni, D. Favara, A. Omodei-Salé, G. Bartolini, A. Ricci, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1983**, 967–973; b) S. Robin, J. Zhu, H. Galons, C. Pham-Huy, J. R. Claude, A. Tomas, B. Voissant, *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, *6*, 1249–1252.
- [316] C. Freiberg, J. Pohlmann, P. G. Nell, R. Endermann, J. Schuhmacher, B. Newton, M. Otteneder, T. Lampe, D. Häbich, K. Ziegelbauer, *Antimicrob. Agents Chemother.*, eingereicht.
- [317] H. Ono, Y. Funabashi, S. Harada, EP 339596, **1989** [*Chem. Abstr.* **1990**, *113*, 38896].
- [318] Y. Funabashi, S. Tsubotani, K. Koyama, N. Katayama, S. Harada, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 13–28.
- [319] N. Katayama, S. Fukusumi, Y. Funabashi, T. Iwahi, H. Ono, *J. Antibiot.* **1993**, *46*, 606–613.
- [320] W. S. Champney, J. Pelt, C. L. Tober, *Curr. Microbiol.* **2001**, *43*, 340–345.
- [321] N. Bøddeker, G. Bahador, C. Gibbs, E. Mabery, J. Wolf, L. Xu, J. Watson, *RNA* **2002**, *8*, 1120–1128.
- [322] E. Limburg, R. Gahlmann, H. P. Kroll, D. Beyer, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 619–622.
- [323] C. Yuan, R. M. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11777–11784.
- [324] V. V. Sokolov, S. I. Kozhushkov, V. N. Belov, M. Es-Sayed, A. de Meijere, *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 777–783.
- [325] L. Zhang, L. Xu, C. U. Kim, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 5871–5873.
- [326] V. N. Belov, M. Brands, S. Raddatz, J. Krüger, S. Nikolskaya, V. Sokolov, A. de Meijere, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7579–7589.
- [327] P. Lin, A. Ganesan, *Synthesis* **2000**, 2127–2130.
- [328] R. M. Williams, C. Yuan, V. J. Lee, S. Chamberland, *J. Antibiot.* **1998**, *51*, 189–201.
- [329] Y. Cancho Grande, R. Endermann, R. Gahlmann, J. Krüger, S. Raddatz, M. Brands, *Drugs Future* **2002**, *27* (Suppl. A: XVIIth Int. Symp. on Medicinal Chemistry Barcelona/Spain), C79.
- [330] M. Brands, R. Endermann, R. Gahlmann, J. Krüger, S. Raddatz, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 241–245.
- [331] M. Brands, M. Es-Sayed, D. Häbich, S. Raddatz, J. Krüger, R. Endermann, R. Gahlmann, H. P. Kroll, H. U. Geschke, A.

- de Meijere, V. N. Belov, V. Sokolov, S. Kozhushkov, M. Kordes, WO 00/012484, **2000** [*Chem. Abstr.* **2000**, 137, 47208].
- [332] a) P. Spiteller, F. von Nussbaum,  *$\beta$ -Amino Acids in Natural Products in Enantioselective Synthesis of  $\beta$ -Amino Acids* (Hrsg.: V. Soloshonok, E. Juaristi), 2. Aufl., Wiley, New Jersey, **2005**, S. 19–91; b) F. von Nussbaum, P. Spiteller,  *$\beta$ -Amino Acids in Nature in Highlights in Bioorganic Chemistry—Methods and Applications* (Hrsg.: C. Schmuck, H. Wennemers), Wiley-VCH, Weinheim, **2004**, S. 63–89.
- [333] Synthese von  $\beta$ -Aminosäuren: a) S. Abele, D. Seebach, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 1–15; b) E. Juaristi, *Enantioselective Synthesis of  $\beta$ -Amino Acids*, Wiley-VCH, Weinheim, **1997**; c) A. Kuhl, M. G. Hahn, M. Dumić, J. Mittendorf, *Amino Acids* **2005**, 29, 89–100.
- [334] M. Brands, Y. Cancho Grande, R. Endermann, R. Gahlmann, J. Krüger, S. Raddatz, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 2641–2645.
- [335] N. Aguilar, J. Krüger, *Molecules* **2002**, 7, 469–474.
- [336] M. Brands, R. Endermann, R. Gahlmann, J. Krüger, S. Raddatz, J. Stoltefuß, V. N. Belov, S. Nizamov, V. N. Sokolov, A. de Meijere, *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 4246–4253.
- [337] J. H. Martin, L. A. Mitscher, P. Shu, J. N. Porter, N. Bohonos, S. E. DeVoe, E. L. Patterson, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1967**, 422–425.
- [338] J. H. Martin, J. N. Porter, L. A. Mitscher (Lederle Pharm.), US 3,452,136, **1969** [*Chem. Abstr.* **1969**, 71, 59640].
- [339] C. C. Chang, G. O. Morton, J. C. James, M. M. Siegel, N. A. Kuck, R. T. Testa, D. B. Borders, *J. Antibiot.* **1991**, 44, 674–677.
- [340] K. Umehara, M. Ezaki, M. Iwami, M. Yameshita, S. Hashimoto, T. Komori, I. Uchida, M. Hashimoto, Y. Mine, M. Khosaka, H. Aoki, H. Imanaka, *24th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1984**, Abstract 1141 und 292.
- [341] M. Ezaki, M. Iwami, M. Yameshita, S. Hashimoto, T. Komori, K. Umehara, Y. Mine, M. Khosaka, H. Aoki, H. Imanaka, *J. Antibiot.* **1985**, 38, 1453–1461.
- [342] I. Uchida, N. Shigematsu, M. Ezaki, M. Hashimoto, H. Aoki, H. Imanaka, *J. Antibiot.* **1985**, 38, 1462–1468.
- [343] M. Ezaki, N. Shigematsu, M. Yamashita, T. Komori, K. Umehara, H. Imanaka, *J. Antibiot.* **1993**, 46, 135–140.
- [344] R. Kannan, D. H. Williams, *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 5435–5437.
- [345] a) F. K. Brown, J. C. Hempel, J. S. Dixon, S. Amato, L. Mueller, P. W. Jeffs, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 7328–7333; b) L. Feliu, M. Planas, *Int. J. Pept. Res. Ther.* **2005**, 11, 53–97.
- [346] U. Schmidt, R. Meyer, V. Leitenberger, A. Lieberknecht, H. Griesser, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 275–277; frühere Arbeiten: U. Schmidt, R. Meyer, V. Leitenberger, A. Lieberknecht, *Angew. Chem.* **1989**, 101, 946–948; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, 28, 929–931.
- [347] U. Schmidt, R. Meyer, V. Leitenberger, F. Stäbler, A. Lieberknecht, *Synthesis* **1991**, 409–413.
- [348] a) J. Rudolph, F. Hannig, H. Theis, R. Wischnat, *Org. Lett.* **2001**, 3, 3153–3155; b) J. Rudolph, F. Hannig (Bayer AG), WO 02102764, **2002** [*Chem. Abstr.* **2002**, 138, 39541]; c) R. Lepine, A.-C. Carbonelle, J. Zhu, *Synlett* **2003**, 1455–1458; d) F. F. Paintner, L. Allmendinger, G. Bauschke, P. Klemann, *Org. Lett.* **2005**, 7, 1423–1426.
- [349] U. Schmidt, V. Leitenberger, R. Meyer, H. Griesser, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 951–953.
- [350] U. Schmidt, V. Leitenberger, H. Griesser, J. Schmidt, R. Meyer, *Synthesis* **1992**, 1248–1254.
- [351] F. F. Paintner, K. Görler, W. Voelter, *Synlett* **2003**, 522–526.
- [352] A. G. Brown, M. J. Crimmin, P. D. Edwards, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1992**, 123–130.
- [353] A. G. Brown, P. D. Edwards, *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 6581–6584.
- [354] R. Lepine, J. Zhu, *Org. Lett.* **2005**, 7, 2981–2984.
- [355] T. Lampe, I. Adelt, D. Beyer, N. Brunner, R. Endermann, K. Ehlert, H.-P. Kroll, F. von Nussbaum, S. Raddatz, J. Rudolph, G. Schiffer, A. Schumacher, Y. Cancho-Grande, M. Michels, S. Weigand (Bayer HealthCare AG), WO 106480, **2003** [*Chem. Abstr.* **2003**, 140, 59934].
- [356] T. Lampe, I. Adelt, D. Beyer, N. Brunner, R. Endermann, K. Ehlert, H.-P. Kroll, F. von Nussbaum, S. Raddatz, J. Rudolph, G. Schiffer, A. Schumacher, Y. Cancho-Grande, M. Michels, S. Weigand (Bayer HealthCare AG), WO 012816, **2004** [*Chem. Abstr.* **2004**, 140, 164239].
- [357] N. Miyaura, A. Suzuki, *Chem. Rev.* **1995**, 95, 2457–2483.
- [358] T. Lampe, I. Adelt, D. Beyer, N. Brunner, R. Endermann, K. Ehlert, H.-P. Kroll, F. von Nussbaum, S. Raddatz, J. Rudolph, G. Schiffer, A. Schumacher, Y. Cancho-Grande, M. Michels, S. Weigand (Bayer HealthCare AG), WO 033129, **2005** [*Chem. Abstr.* **2005**, 142, 411656].
- [359] In einem ähnlichen Ansatz wurde ebenfalls eine doppelte asymmetrische Hydrierung verwendet: A.-S. Carlström, T. Frejd, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 1216–1217.
- [360] T. J. Dougherty, T. V. Magee, *Expert Opin. Ther. Pat.* **2005**, 15, 1409–1421.
- [361] A. C. Finlay, G. L. Hobby, F. A. Hochstein, T. M. Lees, T. F. Lenert, J. A. Means, S. Y. Pan, P. P. Regna, J. B. Routein, B. A. Sobin, K. B. Tate, J. H. Kane, *Am. Rev. Tuberc.* **1951**, 63, 1–3.
- [362] W. S. Marsh, R. L. Mayer, R. P. Mull, C. R. Scholz, R. W. Townley (Ciba), US Patent 2,633,445, **1953** [*Chem. Abstr.* **1953**, 47, 8974c].
- [363] E. B. Herr, Jr., M. E. Henry, G. E. Pittenger, C. E. Higgins, *Proc. Indian Acad. Sci.* **1960**, 69, 134.
- [364] E. B. Herr, Jr., M. O. Redstone, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1966**, 135, 940–946.
- [365] B. W. Bycroft, D. Cameron, L. R. Croft, A. Hassanali-Walji, A. W. Johnson, T. Webb, *Nature* **1971**, 231, 301–302.
- [366] a) T. Shiba, S. Nomoto, T. Teshima, T. Wakamiya, *Tetrahedron Lett.* **1976**, 17, 3907–3910; b) T. Shiba, S. Nomoto, T. Wakamiya, *Experientia* **1976**, 26, 1109–1111; c) S. Nomoto, T. Teshima, T. Wakamiya, T. Shiba, *J. Antibiot.* **1977**, 30, 955–959; d) S. Nomoto, T. Teshima, T. Wakamiya, T. Shiba, *Tetrahedron* **1978**, 34, 921–927.
- [367] a) J. H. Bowie, D. A. Cox, A. W. Johnson, G. Thomas, *Tetrahedron Lett.* **1964**, 3305–3308; b) J. R. Dyer, C. K. Kellogg, R. F. Nassar, W. E. Streetman, *Tetrahedron Lett.* **1965**, 585–592; c) B. W. Bycroft, D. Cameron, L. R. Croft, A. W. Johnson, T. Webb, P. Coggon, *Tetrahedron Lett.* **1968**, 2925–2930; d) B. W. Bycroft, L. R. Croft, A. W. Johnson, T. Webb, *J. Antibiot.* **1969**, 22, 133–134; e) B. W. Bycroft, D. Cameron, A. Hassanali-Walji, A. W. Johnson, *Tetrahedron Lett.* **1969**, 2539–2541; f) B. W. Bycroft, D. Cameron, A. W. Johnson, T. Webb, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1972**, 820–827; g) B. W. Bycroft, D. Cameron, L. R. Croft, A. Hassanali-Walji, A. W. Johnson, T. Webb, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1972**, 827–834.
- [368] T. Kitagawa, Y. Sawada, T. Miuea, T. Ozasa, H. Taniyama, *Tetrahedron Lett.* **1968**, 109–113.
- [369] T. Lechowski, *Tetrahedron Lett.* **1969**, 479–482.
- [370] B. W. Bycroft, D. Cameron, L. R. Croft, A. Hassanali-Walji, A. W. Johnson, T. Webb, *Experientia* **1971**, 27, 501–503.
- [371] H. Yoshioka, T. Aoki, H. Goko, K. Nakatsu, T. Noda, H. Sakakibara, T. Take, A. Nagata, J. Abe, T. Wakamiya, T. Shiba, T. Kaneko, *Tetrahedron Lett.* **1971**, 2043–2046.
- [372] T. Noda, T. Take, A. Nagata, T. Wakamiya, T. Shiba, *J. Antibiot.* **1972**, 25, 427–428.
- [373] W. B. Sutton, R. S. Gordey, W. E. Wick, L. V. Stanfield, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1966**, 135, 947–959.
- [374] A. Nagata, T. Ando, R. Izumi, H. Sakakibara, T. Take, K. Hayano, J.-N. Abe, *J. Antibiot.* **1968**, 21, 681–786.
- [375] H. Wank, J. Rogers, J. Davies, R. Schroeder, *J. Mol. Biol.* **1994**, 236, 1001–1010.



- [376] H. R. Black, R. S. Griffith, J. F. Brickler, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1963**, 161, 522–529.
- [377] M. Tsukamura, S. Mizuno, *J. Gen. Microbiol.* **1975**, 88, 269–274.
- [378] J. S. Welles, P. N. Harris, R. M. Small, H. M. Worth, R. C. Anderson, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1966**, 135, 960–973.
- [379] M. Wang, S. J. Gould, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 5176–5180.
- [380] S. J. Gould, D. A. Minott, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 5214–5217.
- [381] M. S. Brown, A. E. Doro, H. A. I. McArthur, B. K. Morse, T. K. Murphy, R. G. Wax, *J. Antibiot.* **1997**, 50, 696–700.
- [382] B. K. Morse, M. S. Bown, J. W. Gagne, H. A. I. McArthur, E. L. McCormick, T. K. Murphy, M. T. Narrol, D. A. Perry, A. A. Smogowicz, R. G. Wax, J. W. Wong, *J. Antibiot.* **1997**, 50, 698–700.
- [383] T. Teshima, S. Nomoto, T. Wakamiya, T. Shiba, *Tetrahedron Lett.* **1976**, 2343–2346.
- [384] T. Shiba, T. Ando, T. Teshima, *J. Antibiot.* **1979**, 32, 1078–1079.
- [385] T. Teshima, S. Nomoto, T. Wakamiya, T. Shiba, *J. Antibiot.* **1977**, 30, 1073–1079.
- [386] T. Kitagawa, T. Miura, S. Tanaka, H. Taniyama, *J. Antibiot.* **1972**, 25, 429–431.
- [387] T. Kitagawa, T. Miura, M. Takaishi, H. Taniyama, *Chem. Pharm. Bull.* **1975**, 23, 2123–2127.
- [388] T. Kitagawa, T. Miura, H. Taniyama, *Chem. Pharm. Bull.* **1972**, 20, 2176–2184.
- [389] T. Kitagawa, T. Miura, C. Takaishi, H. Taniyama, *Chem. Pharm. Bull.* **1976**, 24, 1324–1330.
- [390] T. Kitagawa, T. Miura, Y. Sawade, K. Fujiwara, R. Ito, H. Taniyama, *Chem. Pharm. Bull.* **1974**, 22, 1827–1834.
- [391] T. Kitagawa, T. Miura, S. Tanaka, H. Taniyama, *J. Antibiot.* **1973**, 26, 528–531.
- [392] T. Yamada, T. Teshima, T. Shiba, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1981**, 20, 834–836.
- [393] S. Nomoto, T. Shiba, *J. Antibiot.* **1977**, 30, 1008–1011.
- [394] T. Wakamiya, T. Teshima, H. Sakakibara, K. Fukukawa, T. Shiba, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1977**, 50, 1984–1989.
- [395] T. Teshima, S. Nomoto, T. Wakamiya, T. Shiba, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1977**, 50, 3372–3380.
- [396] S. Nomoto, T. Shiba, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1979**, 52, 1709–1715.
- [397] J. P. Dirlam et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 1139–1144.
- [398] L. J. L. Norcia, A. M. Silvia, J. P. Dirlam, R. C. Schnur, J. M. Bergeron, J. A. Retsema, S. F. Hayashi, *J. Antibiot.* **1999**, 52, 1007–1016.
- [399] R. G. Linde II, N. C. Birsner, R. Y. Chandrasekaran, J. Clancy, R. J. Howe, J. P. Lyssikatos, C. P. MacLelland, T. V. Magee, J. W. Petitpas, J. P. Rainville, W.-G. Su, C. B. Vu, D. A. Whipple, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 1149–1152.
- [400] J. P. Lyssikatos, S.-P. Chang, J. P. Dirlam, S. M. Finegan, A. E. Girard, S. F. Hayashi, D. P. Larson, A. S. Lee, R. G. Linde II, C. P. MacLelland, J. W. Petitpas, S. B. Seibel, C. B. Vu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 1145–1148.
- [401] K. C. Nicolaou, C. N. C. Boddy, S. Bräse, N. Winssinger, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 2230–2287; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 2097–2152.
- [402] A. A. Dutton, P. C. Elmes, *Br. Med. J.* **1959**, 1, 1144–1149.
- [403] M. H. McCormick, J. M. McGuire, G. E. Pittenger, R. C. Pittenger, W. M. Stark, *Antibiot. Annu.* **1955–1956**, 3, 606–611.
- [404] M. P. Williamson, D. H. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 6580–6585.
- [405] C. M. Harris, T. M. Harris, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 4293–4295.
- [406] A. Malabarba, T. I. Nicas, R. C. Thompson, *Med. Res. Rev.* **1997**, 17, 69–137.
- [407] a) A. J. Zhang, K. Burgess, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 666–669; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 634–636; b) L. H. Thoresen, K. Burgess in *Organic Syntheses Highlights V* (Hrsg.: H.-G. Schmalz, T. Wirth), Wiley-VCH, Weinheim, **2003**, S. 297–306.
- [408] a) D. A. Evans, M. R. Wood, B. W. Trotter, T. I. Richardson, J. C. Barrow, J. L. Katz, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 2864–2868; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2700–2704; b) D. A. Evans, C. J. Dinsmore, P. S. Watson, M. R. Wood, T. I. Richardson, B. W. Trotter, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 2868–2872; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2704–2708.
- [409] a) K. C. Nicolaou, M. Takayanagi, N. F. Jain, S. Natajara, A. E. Koumbis, T. Bando, J. M. Ramanjulu, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 2881–2883; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2717–2719; b) K. C. Nicolaou, H. J. Mitchell, N. F. Jain, N. Winssinger, R. Hughes, T. Bando, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 253–255; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 240–244.
- [410] a) D. L. Boger, S. Miyazaki, S. H. Kim, J. H. Wu, O. Loiseleur, S. L. Castle, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 3226–3227; b) D. L. Boger, S. Miyazaki, S. H. Kim, J. H. Wu, S. L. Castle, O. Loiseleur, Q. Jin, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 10004–10011.
- [411] B. K. Hubbard, C. T. Walsh, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 752–789; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 730–765.
- [412] R. D. Süßmuth, W. Wohlleben, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2004**, 63, 344–350.
- [413] a) G. M. Sheldrick, P. G. Jones, O. Kennard, D. H. Williams, G. A. Smith, *Nature*, **1978**, 271, 223–225; b) D. H. Williams, B. Bardsley, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 1264–1286; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1172–1193.
- [414] D. Kahne, C. Leimkuhler, W. Lu, C. Walsh, *Chem. Rev.* **2005**, 105, 425–448.
- [415] N. E. Allen, T. I. Nicas, *FEMS Microbiol. Rev.* **2003**, 26, 511–532.
- [416] a) J. R. Kalman, D. H. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 906–912; b) D. H. Williams, M. P. Williamson, D. W. Butcher, S. J. Hammond, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 1332–1339.
- [417] a) M. Schäfer, T. R. Schneider, G. M. Sheldrick, *Structure* **1996**, 4, 1509–1515; b) P. J. Loll, R. Miller, C. M. Weeks, P. H. Axelsen, *Chem. Biol.* **1998**, 5, 293–298.
- [418] a) M. J. Bonten, R. Willems, R. A. Weinstein, *Lancet Infect. Dis.* **2001**, 1, 314–325; b) R. Patel, *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, 51 (Suppl. S3), iii13–iii21.
- [419] C. T. Walsh, S. L. Fisher, I. S. Park, M. Prahad, Z. Wu, *Chem. Biol.* **1996**, 3, 21–28.
- [420] a) T. D. Bugg, G. D. Wright, S. Dukta-Mahlen, M. Arthur, P. Courvalin, C. T. Walsh, *Biochemistry* **1991**, 30, 10408–10415; b) C. C. McComas, B. M. Crowley, D. L. Boger, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 9314–9315.
- [421] B. M. Crowley, D. L. Boger, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 2885–2892.
- [422] I. G. Boneca, G. Chiosis, *Expert Opin. Ther. Targets* **2003**, 7, 311–328.
- [423] F. Van Bambeke, Y. Van Laethem, P. Courvalin, P. M. Tulkens, *Drugs* **2004**, 64, 913–936.
- [424] M. N. Preobrazhenskaya, E. N. Olsufyeva, *Expert Opin. Ther. Pat.* **2004**, 14, 141–173.
- [425] J. P. Mackay, U. Gerhard, D. A. Beauregard, M. S. Westwell, M. S. Searle, D. H. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 4581–4590.
- [426] a) U. N. Sundram, J. H. Griffin, T. I. Nicas, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 13107–13108; b) K. C. Nicolaou, R. Hughes, S. Y. Cho, N. Winssinger, C. Smethurst, H. Labischinski, R. Endermann, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 3981–3986; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 3823–3828.
- [427] R. Nagarajan, *J. Antibiot.* **1993**, 46, 1181–1195.
- [428] a) R. D. G. Cooper, N. J. Snider, M. J. Zweifel, M. A. Staszak, S. C. Wilkie, T. I. Nicas, D. L. Mullen, T. F. Butler, M. J. Rodriguez, B. E. Huff, R. C. Thompson, *J. Antibiot.* **1996**, 49, 575–581; b) J. F. Barrett, *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2001**, 2, 1039–



- 1044; c) S. M. Bhavnani, J. S. Owen, J. S. Loutit, S. B. Porter, P. G. Ambrose, *Pharmacology* **2004**, *50*, 95–102.
- [429] a) A. Malabarba, S. Donadio, *Drugs Future* **1999**, *24*, 839–846; b) G. Candiani, M. Abbondi, M. Borgonovi, G. Romanò, F. Parenti, *J. Antimicrob. Chemother.* **1999**, *44*, 179–192; c) A. Malabarba, A. Ciabatti, *Curr. Med. Chem.* **2001**, *8*, 1759–1773; d) M. Steiert, F.-J. Schmitz, *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2002**, *3*, 229–233.
- [430] a) J. L. Pace, J. K. Judice, *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2005**, *6*, 216–225; b) L. A. Sorbera, J. Castaner, *Drugs Future* **2004**, *29*, 1211–1219; c) J. K. Judice, J. L. Pace, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 4165–4168.
- [431] F. Van Bambeke, *Curr. Opin. Pharmacol.* **2004**, *4*, 471–478.
- [432] M. R. Leadbetter, S. M. Adams, B. Bazzini, P. R. Fatheree, D. E. Karr, K. M. Krause, B. M. Lam, M. S. Linsell, M. B. Nodwell, J. L. Pace, K. Quast, J. P. Shaw, E. Soriano, S. G. Trapp, J. D. Villena, T. X. Wu, B. G. Christensen, J. K. Judice, *J. Antibiot.* **2004**, *57*, 326–336.
- [433] A. King, I. Phillips, K. Kaniga, *J. Antimicrob. Chemother.* **2004**, *53*, 797–803.
- [434] E. J. C. Goldstein, D. M. Citron, C. V. Merriam, Y. A. Warren, K. L. Tyrrell, H. T. Fernandez, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 2149–2152.
- [435] D. L. Higgins, R. Chang, D. V. Debarov, J. Leung, T. Wu, K. M. Krause, E. Sandvik, J. M. Hubbard, K. Kaniga, D. E. Schmidt, Jr., Q. Gao, R. T. Cass, D. E. Karr, B. M. Benton, P. P. Humphrey, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49*, 1127–1134.
- [436] S. S. Hedge, N. Reyes, T. Wiens, N. Vanasse, R. Skinner, J. McCullough, K. Kaniga, J. Pace, R. Thomas, J.-P. Shaw, G. Obedencio, J. K. Judice, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 3043–3050.
- [437] J. P. Shaw, J. Seroogy, K. Kaniga, D. L. Higgins, M. Kitt, S. Barriere, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49*, 195–201.
- [438] M. Leadbetter, M. Linsell, J. Lee, J. Liu (Theravance Inc.), WO 03029270, **2003** [*Chem. Abstr.* **2003**, *138*, 287982].
- [439] D. Schmidt, Jr., J. D. Sganga (Theravance Inc.), WO 03018608, **2003** [*Chem. Abstr.* **2003**, *138*, 221851].
- [440] J. O'Sullivan, J. E. McCullough, A. A. Tymiak, D. R. Kirsch, W. H. Trejo, P. A. Principe, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 1740–1744.
- [441] D. P. Bonner, J. O'Sullivan, S. K. Tanaka, J. M. Clark, R. R. Whitney, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 1745–1751.
- [442] J. I. Shoji, H. Hinoo, K. Matsumoto, T. Hattori, T. Yoshida, S. Matsuura, E. Kondo, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 713–718.
- [443] T. Kato, H. Hinoo, Y. Terui, J. Kikuchi, J. I. Shoji, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 719–725; Erratum: T. Kato, H. Hinoo, Y. Terui, J. Kikuchi, J. I. Shoji, *J. Antibiot.* **1989**, *42*, C-2.
- [444] a) F. von Nussbaum, N. Brunner, S. Anlauf, R. Endermann, C. Fürstner, E. Hartmann, J. Koebberling, J. Ragot, G. Schiffer, J. Schuhmacher, N. Svenstrup, J. Telser, M.-A. Brüning (Bayer HealthCare AG), WO 04099239, **2004** [*Chem. Abstr.* **2004**, *141*, 423388]; b) F. von Nussbaum, N. Brunner, R. Endermann, C. Fürstner, E. Hartmann, J. Ragot, G. Schiffer, J. Schuhmacher, N. Svenstrup, J. Telser, S. Anlauf, M.-A. Brüning (Bayer HealthCare AG), WO 06042653, **2006** [*Chem. Abstr.* **2006**, *388744*]; c) F. von Nussbaum, N. Brunner, R. Endermann, C. Fürstner, E. Hartmann, J. Ragot, G. Schiffer, J. Schuhmacher, N. Svenstrup, J. Telser, S. Anlauf, M.-A. Brüning (Bayer HealthCare AG), WO 06042654, **2006** [*Chem. Abstr.* **2006**, *388745*].
- [445] P. Christensen, F. D. Cook, *Int. J. Syst. Bacteriol.* **1978**, *28*, 367–393.
- [446] a) H. Maki, K. Miura, Y. Yamano, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, *45*, 1823–1827; b) E. Breukink, B. de Kruijff, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2006**, *5*, 321–333.
- [447] A. A. Tymiak, D. R. Kirsch, J. O'Sullivan, J. E. McCullough (E. R. Squibb & Sons, Inc.), US 4754018, **1988** [*Chem. Abstr.* **1990**, *112*, 75294].
- [448] A. A. Tymiak, T. J. McCormick, S. E. Unger, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 1149–1157.
- [449] a) N. H. Andersen, X. Lai, P. K. Hammen, T. M. Marschner, *NMR Applications in Biopolymers* (Hrsg.: J. W. Finley), Plenum, New York, **1990**, S. 95–134; b) die erste Röntgenstruktur von Lysobactin liegt vor: Bayer HealthCare AG, unveröffentlicht Ergebnisse.
- [450] „Nichtnatürliche Aminosäuren“ treten nicht in der Natur auf. „Nichtproteinogene Aminosäuren“ findet man nicht in Peptiden, die aus der ribosomalen Proteinbiosynthese stammen. Sie können jedoch Bausteine oder Substrukturen von Sekundärmetaboliten sein (z.B. von nichtribosomalen Peptiden oder Alkaloiden).
- [451] F. Bernhard, G. Demel, K. Soltani, H. V. Döhren, V. Blinov, *DNA Sequence* **1996**, *6*, 319–330.
- [452] S. Armaroli, G. Cardillo, L. Gentilucci, M. Gianotti, A. Tolomelli, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1105–1107.
- [453] G. Cardillo, S. Fabbri, L. Gentilucci, R. Perciaccante, A. Tolomelli, *Komppa Centenary Symposium – 100 Years of Natural Product Synthesis*, Helsinki, Finland, **2003**, Poster ORGN843.
- [454] A. M. Hafez, T. Dudding, T. R. Wagerle, M. H. Shah, A. E. Taggi, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 5819–5825.
- [455] A. Guzman-Martinez, R. B. Lamer, M. S. VanNieuwenhze, *229th ACS National Meeting, San Diego, CA*, March 13–17, **2005**.
- [456] C. Palomo, M. Oiarbide, I. Ganboa, J. I. Miranda, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 8955–8957.
- [457] C. Palomo, J. M. Aizpurua, I. Ganboa, M. Oiarbide, *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72*, 1763–1768.
- [458] C. Palomo, J. M. Aizpurua, I. Ganboa, B. Odriozola, E. Maneiro, J. I. Miranda, R. Urchegui, *Chem. Commun.* **1996**, 161–162.
- [459] B. J. Egner, M. Bradley, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 14021–14030.
- [460] Übersicht: C. E. Ballard, H. Yu, B. Wang, *Curr. Med. Chem.* **2002**, *9*, 471–498.
- [461] H. Osada, T. Yano, H. Koshino, K. Isono, *J. Antibiot.* **1991**, *44*, 1463–1466.
- [462] H. Koshino, H. Osada, T. Yano, J. Uzawa, K. Isono, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 7707–7710.
- [463] J.-J. Young, L.-J. Jung, W.-T. Liu, S.-N. Ho, L.-R. Chang, Y.-C. Tsai, R. Bhaskaran, C. Yu, *J. Antibiot.* **1994**, *47*, 922–931.
- [464] U. Schmidt, K. Neumann, A. Schumacher, S. Weinbrenner, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1152–1154; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1110–1112.
- [465] K. H. Michel, R. E. Kastner (Eli Lilly and Company), US 4492650, **1985**, [*Chem. Abstr.* **1985**, *102*, 130459].
- [466] a) M. R. Maurizi, M. W. Thompson, S. K. Singh, S. H. Kim, *Methods Enzymol.* **1994**, *244*, 314–331; b) J. Wang, J. A. Hartling, J. M. Flanagan, *Cell* **1997**, *91*, 447–457.
- [467] a) H. Brötz-Oesterheld, D. Beyer, H.-P. Kroll, R. Endermann, C. Ladel, W. Schroeder, B. Hinzen, S. Raddatz, H. Paulsen, K. Henninger, J. E. Bandow, H. G. Sahl, H. Labischinski, *Nat. Med.* **2005**, *11*, 1082–1087; b) B. Hinzen, S. Raddatz, H. Paulsen, T. Lampe, A. Schumacher, D. Häbich, V. Hellwig, J. Benet-Buchholz, R. Endermann, H. Labischinski, H. Brötz-Oesterheld, *ChemMedChem* **2006**, *1*, 689–693.
- [468] J. Benet-Buchholz, Bayer AG, unveröffentlicht.
- [469] B. Hinzen, H. Brötz, R. Endermann, K. Henninger, H. Paulsen, S. Raddatz, T. Lampe, V. Hellwig, A. Schumacher (Bayer AG), WO 03024996, **2003**, [*Chem. Abstr.* **2003**, *138*, 271978].
- [470] U. Schmidt, A. Lieberknecht, H. Griesser, J. Talbiersky, *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 3261–3264.