

Zusammenfassung

Die Erforschung mikrobieller Naturstoffe hat bis heute den größten Beitrag zur Etablierung neuer Antibiotikaklassen geleistet, entweder durch ihren direkten Einsatz oder als Leitstruktur für die Entwicklung semisynthetischer Wirkstoffe. Diese sogenannten Sekundärmetabolite haben damit nicht nur entscheidend den Fortschritt bei der Therapie von Infektionskrankheiten vorangetrieben, sondern bilden auch das Fundament für heutige Behandlungsmethoden wie Organtransplantation oder Chemotherapie. Obwohl eine Vielzahl von Mikroorganismen bioaktive Substanzen produziert, ist bis heute nur der kleinste Teil des Mikrobioms auf neue Wirkstoffe hin untersucht worden. Dies liegt unter anderem daran, dass die meisten dieser Organismen nur sehr aufwendig im Labor kultiviert werden können, um ausreichende Mengen der Naturstoffe für eine Strukturaufklärung und Charakterisierung zu gewinnen. Das vermehrte Auftreten von resistenten Keimen und die immer geringere Anzahl von verfügbaren Reserveantibiotika, speziell gegen Gram-negative Stämme, hat in den letzten Jahren den Fokus auf diese bis dahin nur wenig erkundeten Quellen für neue Leitstrukturen gelenkt.

Ein eindruckliches Beispiel für das verborgene Potential dieser schwer zugänglichen Mikroorganismen ist die Entdeckung und Strukturaufklärung des nicht-ribosomal synthetisierten Peptids Albicidin, das vom pflanzenpathogenen Bakterium *Xanthomonas albilineans* produziert wird. Ähnlich zu den Fluoroquinolonen inhibiert Albicidin die bakterielle DNS-Gyrase. Fast 30 Jahre nach seiner ersten Erwähnung gelang es die bis dahin unbekannte und neuartige Struktur aufzuklären: Das Rückgrat bildet sich aus verschiedenen substituierten *para*-Aminobenzoessäure-Bausteinen. Zudem fällt die zentrale, nicht-proteinogene Aminosäure Cyanoalanin und das N-terminale Cumarsäurederivat auf. Die Identifizierung des für die Biosynthese verantwortlichen Gen-Clusters und die darauf folgende Entwicklung eines heterologen Produzenten für erhöhte Produktausbeuten bildeten dabei den Grundstein für die Strukturaufklärung. Während dieser Arbeiten wurde auch klar, dass eine ganze Reihe strukturell verwandter Albicidine in den Zellkulturen gefunden werden können.

Nach Abschluss der erste Totalsynthese des Hauptprodukts, behandelt diese Arbeit die Identifizierung, Synthese und Bioaktivitätsuntersuchung der Albicidine, welche in geringeren Mengen produziert werden. Dafür wurde ein neue Methode zur Generierung von *molecular-networks* basierend auf tandem-massenspektrometrischer Analyse von *X. albilineans* Zellkulturen verwendet. Die darauffolgende Totalsynthese der neu identifizierten Albicidin-Derivate erforderte im Folgenden eine neue konvergente Synthesestrategie und die Entwicklung einer Route für die Synthese der nicht-proteinogenen Aminosäure β -Methoxy-Asparagin. Diese Methoden ermöglichten daraufhin auch die Synthese einiger Cystobactamide, eine Klasse von strukturell ähnlichen Naturstoffen die von verschiedenen Myxobakterium-Stämmen produziert werden und ähnliche antibakterielle Aktivitäten wie die Albicidine aufweisen. Der erste direkte Vergleich der so hergestellten Albicidine und

Zusammenfassung

Cystobactamide ermöglichte wichtige Erkenntnisse für die Struktur-Aktivitätsbeziehung dieser vielversprechenden Antibiotika und könnte essentiell zur Entwicklung einer neuen Strukturklasse für die Behandlung von multiresistenten Keimen beitragen.

Abstract

Research on microbial natural products has rendered many of the most important antibacterial compound classes and also delivered the core structures of semisynthetic drugs. The discovery of these compounds did not only enable the wide-spread treatment of infectious diseases, but furthermore represents the foundation for many modern therapies, such as organ transplantation or chemotherapy. These secondary metabolites are produced by a wide range of microorganisms. Nevertheless, only a small part of the whole microbiome has been studied so far for the discovery of new bioactive molecules. This is often due to the limited knowledge on how to cultivate microorganisms in a laboratory setting in order to obtain sufficient amounts of the compound(s) of interest. With the increasing appearance of resistant bacteria and the declining arsenal of antibacterials especially against Gram-negative strains, researchers are paying increasing attention to less exploited natural sources.

One remarkable example for the potential of these difficultly accessible secondary metabolites is the discovery and structure elucidation of the non-ribosomal peptide albicidin that is produced by the plant pathogen *Xanthomonas albilineans* and is a potent inhibitor of the bacterial DNA gyrase. After nearly 30 years of its first report, the structure of albicidin could be solved exhibiting a so far unprecedented *para*-aminobenzoic acid-based peptide backbone with a central β -cyanoalanine residue and an N-terminal coumaric acid group. The identification of its biosynthetic gene cluster, the establishment of a heterologous producer and the use of state-of-the-art analytical techniques were crucial for its structure elucidation. During these studies it became apparent that albicidin is produced as a family of structurally related compounds.

Following the recently published first total synthesis of its most abundant member, the present work deals with the identification, synthesis and bioactivity assessment of the less abundant compounds in the albicidin family. Thereby, a new tandem-mass spectrometry-based molecular networking approach was exploited to identify compounds present only in trace amounts. The total synthesis of natural albicidin analogues afforded the establishment of a new convergent strategy and the enantioselective synthesis of the non-proteinogenic amino acid β -methoxy-asparagine. These synthetic protocols were then used to access the recently identified cystobactamids, a class of structurally related secondary metabolites produced by several myxobacterial strains that show similar antimicrobial activities as the albicidins. Finally, the biological evaluation of all synthesized albicidins and cystobactamids allowed for the first direct comparison of their bioactivities and gave important insight into their structure-activity-relationship. These findings will be crucial for the development of a new promising antibacterial candidate that could help closing the gap in the treatment of resistant Gram-negative bacteria.