

Zusammenfassung

Albicidin ist ein DNA-Topoisomerase-Inhibitor mit niedriger nanomolarer bakterizider Aktivität gegen gramnegative Krankheitserreger, die gegen Fluorchinolone resistent sind. Dennoch war sein Wirkmechanismus bis vor kurzem nur unzureichend verstanden. Es wurde die Struktur eines ternären Komplexes zwischen *Escherichia coli* Topoisomerase-DNA-Gyrase, einem 217 bp doppelsträngigen DNA-Fragment und Albicidin mittels Kryoelektronenmikroskopie mit einer Auflösung von 2.6 Å bestimmt. Albicidin verfügt über einen dualen Bindungsmechanismus, bei dem ein Ende des Moleküls die wichtige Gyrase-Dimer-Schnittstelle blockiert und das andere Ende zwischen den Fragmenten des gespaltenen DNA-Substrats interkaliert. Daher hemmt Albicidin die DNA-Gyrase wirksam daran, DNA zu spalten und ihren katalytischen Zyklus abzuschließen. Unter Verwendung synthetischer Analoga von Albicidin mit verbesserter Löslichkeit und Aktivität gegen eine Vielzahl von Gyrasevarianten und *E. coli* Topoisomerase IV wurden zwei weitere Strukturen dieses Zustands bestimmt. Die außergewöhnliche Promiskuität der DNA-interkalierenden Region der Albicidine und ihre Wirksamkeit gegen Fluorchinolon-resistente Bakterien sind ein gutes Vorzeichen für die Entwicklung von Reserveantibiotika.

Zudem wurde eine umfangreiche Bibliothek von N-terminalen Albicidin-Varianten synthetisiert, die Aufschluss über die Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der DNA-Bindungsregion von Albicidin geben. Die Ergebnisse dieser Untersuchung weisen auf eine große Vielfalt an strukturellen Motiven hin. Die meisten synthetisierten Verbindungen zeigten antibakterielle Aktivität im nanomolaren Bereich gegenüber gramnegativen Pathogenen (*E. coli*. und *S. typhimurium*). Einige dieser Verbindung wurden auf die Fähigkeit, den Resistenzmechanismus AlbA zu überwinden, getestet. Die Permutation des N-terminalen A-Bausteins zeigte einen deutlichen Einfluss auf den Resistenzfaktor AlbA. Diese Ergebnisse bringen unser Verständnis darüber voran, wie man verhindern kann, dass Resistenzfaktoren Albicidin deaktivieren, und ebnet den Weg für die künftige Entwicklung von Therapien, die von den bekannten Resistenzmechanismen unberührt bleiben.

Abstract

Albicidin is a DNA topoisomerase inhibitor with low nanomolar bactericidal activity against gramnegative pathogens resistant to fluoroquinolones. Nevertheless, its mechanism of action, until recently, was poorly understood. The structure of a ternary complex between *Escherichia coli* topoisomerase DNA gyrase, a 217 bp double-stranded DNA fragment and albicidin was determined using cryoelectron microscopy with a resolution of 2.6 Å. Albicidin has a dual binding mechanism in which one end of the molecule blocks the important gyrase-dimer interface and the other end intercalates between fragments of the cleaved DNA substrate. Therefore, albicidin effectively inhibits DNA gyrase from cleaving DNA and completing its catalytic cycle. Using synthetic analogues of albicidin with improved solubility and activity against a variety of gyrase variants and *E. coli* topoisomerase IV, two additional structures of this state were determined. The exceptional promiscuity of the DNA-intercalating region of albicidins and their activity against fluoroquinolone-resistant bacteria bodes well for the development of antibiotics of last resort.

In addition, an extensive library of N-terminal albicidin variants was synthesised, providing information on the SAR of the DNA-binding region of albicidin. The results of this study indicate a wide variety of recognised structural motifs. Most of the synthesised compounds showed antibacterial activity in the nanomolar range against gramnegative pathogens (*E. coli* and *S. typhimurium*). Some of these compound were tested for the ability to bypass the AlbA resistance mechanism. Permutation of the N-terminal A building block showed a clear impact on the AlbA resistance factor. These results advance our understanding of how to prevent binding proteins from deactivating albicidin and pave the way for the future development of therapies that are unaffected by known resistance mechanisms.