

Projekt 07: Charakterisierung der Rolle von Hydrolasen in der Resistenz von *Mycobacterium tuberculosis* gegen Hydroxamsäure-Derivate (Projektleiter: Prof. Dr. Rainer Kalscheuer)

Stand der Forschung: *Mycobacterium tuberculosis*, der Erreger der Tuberkulose beim Menschen, ist mit jährlich etwa 1,5 Millionen Todesfällen in globaler Hinsicht der bedeutsamste bakterielle Krankheitserreger. Ein besonderes klinisches Problem bei der Bekämpfung der Tuberkulose-Epidemie stellt das Auftreten von mehrfach Antibiotika-resistenten (multi drug resistant, MDR) oder gar panresistenten (extensively drug resistant, XDR) Erreger dar, weil sie mit dem vorhandenen Spektrum an Antibiotika nur noch schwer therapierbar sind (1). Es werden daher dringend neuartige antituberkulöse Chemotherapeutika benötigt, die sich in ihren Wirkorten und -mechanismen von den vorhandenen Antibiotika unterscheiden, so dass eine wirksame Bekämpfung von resistenten Stämmen möglich ist. In den letzten Jahren wurden von unserer Arbeitsgruppe im Rahmen von Screeningverfahren bereits erste interessante Leitstrukturen identifiziert und die zugrundeliegenden Wirk- und Resistenzmechanismen entschlüsselt (2-6).

Eigene Vorarbeiten: Beim Screening einer strukturell diversen Bibliothek von synthetischen Substanzen wurden in Kooperation mehrere Hydroxamsäure-Derivate identifiziert, die eine sehr starke Aktivität bei gleichzeitiger geringer Zytotoxizität gegen verschiedene humane Zellen aufweisen (Selektivitätsindex IC₅₀ Zytotoxizität/MHK >100). Interessanterweise sind diese Verbindungen auch gegen klinische XDR-TB-Isolate im niedrigen mikromolaren Bereich aktiv, was darauf hinweist, dass diese Moleküle eine andere Wirkungsweise als die derzeit verwendeten Anti-TB Antibiotika aufweisen müssen. In Kombinationen mit klinisch eingesetzten Anti-TB-Medikamenten ergeben sich additive Effekte, die in einer langanhaltenden Hemmung des mykobakteriellen Wachstums bei gleichzeitiger effektiver Unterdrückung der Resistenzbildung resultierten. Spontan resistente *M. tuberculosis* Mutanten treten mit einer Resistenzrate von lediglich 1×10^{-10} auf. Genomsequenzierung von unabhängigen resistenten Mutanten deuten darauf hin, dass zwei verschiedene Hydrolasen mit bislang unbekannter Funktion am Wirk- und Resistenzmechanismus beteiligt sind, möglicherweise durch Hydrolyse der inaktiven Prodrugs nach Aufnahme in die Zellen und intrazellulären Freisetzung der eigentlichen aktiven Wirkformen.

Ziel des Projektes: Im Rahmen dieses Projekts soll die Rolle der mutierten Hydrolasen in der Resistenz von *M. tuberculosis* gegen Hydroxamsäure-Derivate eingehend untersucht werden. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse sind ein wichtiger Schritt im Hinblick auf die Abwägung der klinischen Eignung der Substanzen bei der Entwicklung neuer chemotherapeutischer Behandlungsmöglichkeiten bei der Tuberkulose und könnten wichtige Informationen für die gerichtete medizinisch-chemische Optimierung der Substanzen liefern.

Arbeitsprogramm: Die Aufklärung des Wirk- und Resistenzmechanismen soll durch die Kombination verschiedener komplementärer Verfahren erreicht werden. Diese beinhalten u.a. die Generierung von ortsspezifischen *M. tuberculosis* Gendeletionsmutanten mittels Phagentransduktion, heterologe Expression His-getaggtter Wildtyp und Mutantenversionen der identifizierten Hydrolasen, chromatographische Proteinaufreinigung und enzymatische Charakterisierung der potentiellen Hydrolyse der Verbindungen, Nachweis der potentiellen Spaltprodukte über HPLC.

Referenzen

1. *Lancet* **375**, 1830-1843 (2010)
2. *Arch Pharm (Weinheim)* **349**, 763-773 (2016)
3. *J Nat Prod* **78**, 1910-1925 (2015)
4. *Mol Microbiol* **101**, 194-209 (2016)
5. *ACS Infect Dis* **4**, 123-134 (2018)
6. *Antimicrob Agents Chemother* **63**, e00136-19 (2019)