

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

Учредитель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Издатель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

www.iacmac.ru

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати 30.09.1999 г. (№019273) Тираж 3000 экз.

Подписка на сайте издателя
<https://service.iacmac.ru>

Адрес для корреспонденции
214019, г. Смоленск, а/я 5.
Тел./факс: (4812)45 06 02

Электронная почта:
info@cmac-journal.ru

Электронная версия журнала:
<https://cmac-journal.ru>

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование. Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несет рекламодатель

При перепечатке ссылка на журнал обязательна

Журнал является научным изданием для врачей, в связи с чем на него не распространяются требования Федерального закона от 29.12.2010 436-ФЗ «О защите детей от информации, причиняющей вред их здоровью и развитию»

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2022.

Содержание

От редакции

Веселов А.В.

- 292 Изменения в номенклатуре патогенных для человека микромицетов

Болезни и возбудители

Шадривова О.В., Рачина С.А., Стрелкова Д.А., Панчишина К.А., Гусев Д.А., Вашукова М.А., Мещанинова С.Г., Завражнов А.А., Митичкин М.С., Мамонов А.Г., Хостелиди С.Н., Козлова О.П., Гусаров В.Г., Замятин М.Н., Ловцевич Н.В., Кулешов В.Г., Шагдилеева Е.В., Оганесян Э., Десятик Е.А., Борзова Ю.В., Игнатъева С.М., Васильева Н.В., Клишко Н.Н.

- 295 Инвазивный аспергиллез у больных COVID-19 в отделениях реанимации и интенсивной терапии: результаты многоцентрового исследования

Ортенберг Э.А.

- 303 Инфекция *C. difficile*: клинико-экономическая оценка алгоритмов фармакотерапии антибиотикоассоциированной диареи в свете современных рекомендаций

Ортенберг Э.А.

- 308 Трансплантация фекальной микробиоты как метод лечения рецидивирующей *Clostridioides difficile*-обусловленной антибиотикоассоциированной диареи

Антимикробные препараты

Чернышов В.В., Кузовлев А.С., Черепанова Н.Д., Касаткина М.А., Иванов Р.А.

- 314 Конъюгаты сидерофоров с антибиотиками: структурное разнообразие и антибактериальная активность

Андреев В.А., Стецюк О.У., Андреева И.В.

- 345 Пробиотики: нерешенные вопросы

Шашмурина В.Р., Николаев А.И., Васильцова О.А., Дмитриев М.В., Гладаревская Е.И., Шашмурина А.Б., Тюрин С.М.

- 361 Отношение стоматологов, ведущих терапевтический прием пациентов, к антибиотикотерапии

Антибиотикорезистентность

Образцова О.А., Шпилева М.В., Катунин Г.Л., Обухов А.П., Шагабиева Ю.З., Соломка В.С.

- 369 Распространенность мутации A2058G в гене 23S рРНК, определяющей устойчивость к макролидным антибиотикам в российской популяции *Treponema pallidum*

Рогачева Ю.А., Попова М.О., Синяев А.А., Спиридонова А.А., Маркелов В.В., Власова Ю.Ю., Бондаренко С.Н., Зубаровская Л.С., Кулагин А.Д.

- 375 Колонизация нестерильных сайтов грамотрицательными бактериями с множественной лекарственной устойчивостью и ее роль в развитии инфекций кровотока у реципиентов аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

Опыт работы

Баранцевич Н.Е., Баранцевич Е.П.

- 383 Терапия сепсиса, обусловленного резистентной к карбапенемам *Klebsiella pneumoniae* у онкогематологических пациентов в современных условиях

Таубэ А.А., Демидова О.А., Александрова Т.В., Степанов Е.А., Журавлева М.В., Аляутдин Р.Н.

- 388 Анализ структуры назначений антибактериальных препаратов при внебольничной пневмонии в условиях реальной клинической практики

Игнатова Н.И., Елагин В.В., Будруев И.А., Антонян А.Э., Стрельцова О.С., Каменский В.А.

- 395 Применение фотодинамической инактивации в отношении возбудителей инфекций мочевыводящих путей

Конъюгаты сидерофоров с антибиотиками: структурное разнообразие и антибактериальная активность

Чернышов В.В., Кузовлев А.С., Черепанова Н.Д., Касаткина М.А., Иванов Р.А.

АНО ВО «Научно-технологический университет «Сириус», Краснодарский край, Россия

Контактный адрес:

Владимир Владимирович Чернышов
Эл. почта: vladimir.chernyshov2012@yandex.ru

Ключевые слова: сидерофоры, конъюгаты сидерофор-антибиотик, сидеромицины, антибиотико-резистентность, антибактериальная активность.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

В связи с неконтролируемым ростом устойчивости микроорганизмов к действию современных противомикробных препаратов возникают опасения, что в недалеком будущем человечество может вернуться в «доантибиотическую эру», когда даже для ранее легко излечимых инфекционных заболеваний не будет существовать надежных режимов антимикробной терапии. Одним из способов решения данной проблемы является лечение инфекционных заболеваний, вызванных антибиотико-резистентными бактериальными штаммами, с использованием направленной доставки антибиотиков с помощью конъюгации последних с сидерофорами (малыми молекулами, секретируемыми микроорганизмами для поглощения жизненно необходимого Fe(III)). Модифицированный сидерофором антибиотик (сидеромицин), подобно Троянскому коню, поглощается бактериальной клеткой в виде комплекса с Fe(III), позволяя антибиотику достигнуть своей биологической мишени. В данной работе рассмотрено структурное разнообразие конъюгатов сидерофоров с антибиотиками, в первую очередь, с фокусом на строение сидеромицина, во вторую – на взаимосвязь структуры сидеромицина и его антибактериальной активности. Настоящая работа состоит из двух основных частей: в первой кратко рассмотрены основные представители различных классов сидерофоров; во второй части демонстрируется структурное разнообразие сидеромицинов и подробно обсуждается их антибактериальная активность.

Review

Siderophore-antibiotic conjugates: structural diversity and antibacterial activity

Chernyshov V.V., Kuzovlev A.S., Cherepanova N.D., Kasatkina M.A., Ivanov R.A.

Sirius University of Science and Technology, Krasnodar region, Russia

Contacts:

Vladimir V. Chernyshov
E-mail: vladimir.chernyshov2012@yandex.ru

Key words: siderophores, antibiotic resistance, antibacterial agents, sideromycins, siderophore-antibiotic conjugates.

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.

Due to uncontrolled growth of antimicrobial resistance, in the near future humanity may return to the «pre-antibiotic era» with no reliable antimicrobial therapy even for previously easily treatable infectious diseases. One of possible solutions is improved delivery of antibiotics to antibiotic-resistant bacterial strains by conjugating them with siderophores (small molecules secreted by microorganisms to absorb essential Fe(III)). The siderophore-modified antibiotic (sideromycin), like a Trojan horse, permeates the bacterial cell as a complex with Fe(III), allowing the antibiotic to reach its biological target. In this review, we describe the structural diversity of siderophore-antibiotic conjugates with the focus on the structure of sideromycin as well as on the relationship between the structure of sideromycin and its antibacterial activity. We analyze main representatives of various classes of siderophores; the structural diversity of sideromycins and their antibacterial activity discussed in detail.

Введение

Устойчивость микроорганизмов к антимикробным препаратам неуклонно растет во всем мире. Снижение эффективности существующих лекарственных препаратов приводит к росту числа неудач в терапии инфекционных патологий. Бесконтрольное использование

антибиотиков в медицине и сельском хозяйстве усугубляет распространение устойчивости. В отсутствии неотложных мер в недалеком будущем человечество может вернуться в «доантибиотическую эру», когда даже для ранее легко излечимых инфекционных заболева-

ний не будет существовать надежных режимов антимикробной терапии.

Несмотря на то, что в настоящее время активно ведется разработка новых антибиотиков, есть риск, что ни один из них не будет достаточно эффективен против микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью.

Одним из вероятных способов борьбы с антибиотикорезистентностью может стать введение малых молекул, секретлируемых микроорганизмами для поглощения жизненно необходимого Fe(III), называемых сидерофорами, в структуру существующих антибиотиков. Модифицированный сидерофором антибиотик, подобно Троянскому коню, поглощается бактериальной клеткой в виде комплекса с Fe(III), что позволяет антибиотику достигнуть своей биологической мишени.

Настоящий обзор посвящен анализу информации о представителях различных структурных классов сидерофоров, механизмах их проникновения в бактериальные клетки в виде комплекса с Fe(III), а также о существующих конъюгатах сидерофор-антибиотик и их антибактериальной активности.

Раздел 1. СИДЕРОФОРЫ

Железо является необходимым элементом почти для всех микроорганизмов, благодаря своим уникальным химическим свойствам, таким как координирование и активация кислорода, способность к участию в электрон-транспортных и метаболических процессах [1, 2]. Трехвалентное железо является преобладающей формой в насыщенных кислородом средах и имеет очень низкую растворимость, что ограничивает концентрацию ионов Fe³⁺ до 10⁻¹⁸ М в аэробной среде при физиологическом pH, в результате чего бактериальная клетка сталкивается с проблемой нехватки железа. Отвечая на этот вызов, бактерии вынуждены создавать специальные конкурентные условия для усвоения железа из среды [3], включая производство и секрецию мощных хелатирующих агентов, называемых сидерофорами, которые позволяют получать биодоступные комплексы Fe(III) [4–6]. Патогенные бактериальные клетки выделяют сидерофоры для поглощения и растворения Fe(III) организма-хозяина [7].

Несомненно, данный способ поглощения Fe(III) бактериями можно рассматривать как слабое звено в их защите от проникновения токсичных веществ внутрь клетки. Таким образом комплекс сидерофор-Fe(III), который образуется после секреции сидерофора бактерией в окружающую среду, может содержать в себе дополнительную структурную единицу, например, антибиотик, который способен вызвать гибель бактериальной клетки. Данная концепция доставки антибиотиков в цитоплазму бактериальной клетки широко известна в литературе, как «Троянский конь». Первыми открытыми «Троянскими конями» (сидеромицинами) являлись продуцируемые бактериями конъюгаты: альбомуцины и салмицины.

В данном разделе будет кратко рассмотрено структурное разнообразие натуральных сидерофоров, продуцируемых различными бактериями, наиболее встречаемых в литературе, структурированные по железохелатирующим фрагментам в молекулах. Для более детального ознакомления с сидерофорами, их химическими и фармакологическими свойствами, можно обратиться к соответствующим публикациям [1, 3–5, 8–12].

Итак, существует более 500 различных сидерофоров, лишь половина из которых структурно охарактеризована, классифицирована и представлена в литературе [1]. Несмотря на разнообразие строения известных сидерофоров, железосвязывающие фрагменты обычно содержат одну или несколько из четырех следующих функциональных групп: катехолатную (замещенные 1,2-дигидроксibenзолы), гидроксаматную [13] (замещенные гидроксамовые кислоты), фенолятную или карбоксилатную группу [11, 14–16], по наличию которых сидерофоры разделяют на несколько классов, о которых будет идти речь далее.

Катехолатные сидерофоры

Одним из первых выделенных и структурно охарактеризованных катехолатных сидерофоров был энтеробактин **1**, секреция которого разнообразными, преимущественно грамотрицательными бактериями (например, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*), широко распространена [17] (Рисунок 1). Долгое время считалось, что скелет энтеробактина **1**, построенный на серин-трилактоне, является уникальным. Однако другой представитель катехолатных сидерофоров – бациллибактин **2**, продуцируемый грамположительными бактериями *Corynebacterium glutamicum* и *Bacillus subtilis*, также содержит трилактоновый остов, но в данном случае построенный на треонине [18] (Рисунок 1). Дополнительно стоит отметить, что в случае бациллибактина **2**, фрагменты 2,3-дигидроксibenзойных кислот присоединены к трилактоновому остову с помощью глициновых линкеров. Из других представителей катехолатных сидерофоров можно отметить амонабактин P 750 **3** [19] (*Aeromonas hydrophila*), хризеомонин **4** [20] (*Chryseomonas luteola*), сепратиохелин **5** [21] (*Serratia marcescens*) и цепациахелин **6** [22] (*Burkholderia cepacia*), парабактин **7** [23] (*Paracoccus denitrificans*) (Рисунок 1). Стоит отметить, что амонабактин P 750 **3**, продуцируемый патогенными бактериями, имеет еще три структурных аналога, отличающихся либо наличием триптофана в качестве C-концевой аминокислоты в тетрапептиде, либо наличием лизина в качестве N-концевой аминокислоты в тетрапептиде (Рисунок 1).

Катехолатные сидерофоры представляют собой гексадентантные, тетрадентантные, тридентантные или бидентантные лиганды с точки зрения координационной химии [24]. Гексадентантные сидерофоры имеют более высокое сродство к Fe(III), чем тетрадентант-

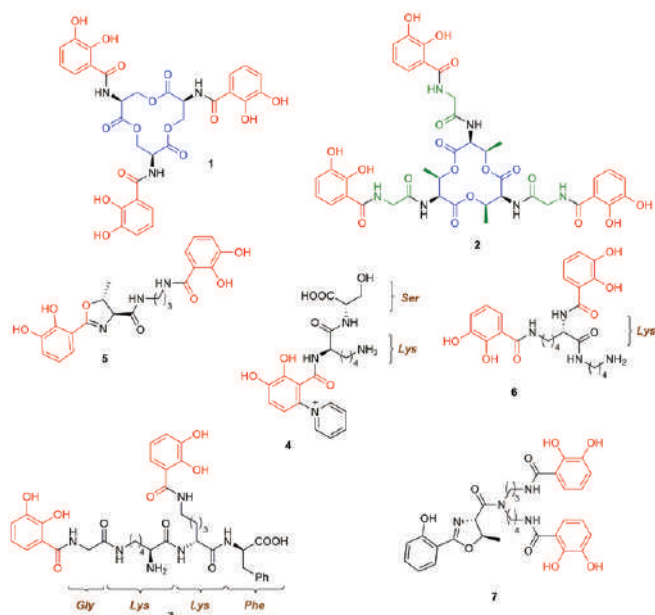


Рисунок 1. Катехолатные сидерофоры 1–7: красным цветом обозначен фрагмент 2,3-дигидроксibenзойной кислоты (катехолатный фрагмент); синим – фрагменты серин-трилактона (1) и треонин-трилактона (2); зеленым – различающиеся фрагменты бацилликсина (2) и энтеробактина (1); коричневым цветом обозначены остатки аминокислот в пептидных частях сидерофоров для удобного восприятия структуры соединения (3, 4, 6)

ные, у которых в то же время сродство к Fe(III) выше, чем у три- и бидентантных сидерофоров [1]. Более высокое сродство катехолатных сидерофоров к Fe(III) по сравнению с другими типами сидерофоров, равно как и распознаваемость широким кругом бактерий, делают их крайне привлекательными структурами для направленного транспорта конъюгатов к целевым мишеням внутри бактерий.

Гидроksamатные сидерофоры

Гидроksamатные сидерофоры, так же как и катехолатные, образуют хелаты в виде пятичленных циклов. Однако прочность комплексов в данном случае меньше, по сравнению с катехолатными сидерофорами. Несмотря на это, гидроksamатные сидерофоры секретируются бактериями различного типа и являются не менее привлекательными объектами для исследований с точки зрения медицинской химии. Далее будут рассмотрены лишь некоторые представители этого широко изученного класса органических молекул. Для более детального ознакомления с данным типом сидерофоров можно обратиться к работе Al Shaer D. и соавт. [13].

Дефероксамин **8** (также известный, как десферриоксамин, ферриоксамин В) является одним из наибо-

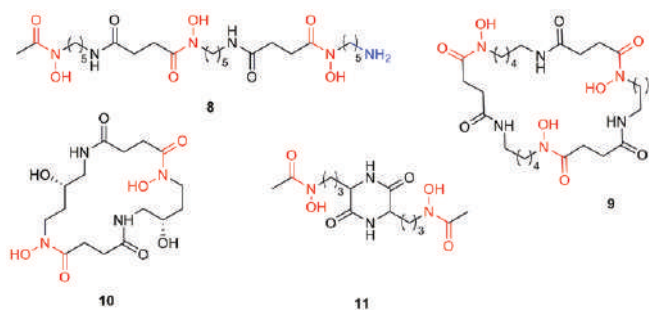


Рисунок 2. Гидроksamатные сидерофоры 8–11: красным цветом обозначена общая функциональная группа гидроksamовых кислот; синим – боковое плечо дефероксамина **8** со свободной аминогруппой, которое, вероятно, играет ключевую роль в распознавании рецептором

лее изученных представителей класса ферриоксаминов и представляет собой препарат для лечения острого отравления железом [25, 26], входящий в список основных лекарственных средств Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [27] (Рисунок 2). Дефероксамин **8** – линейный сидерофор, принадлежащий к классу тригидроksamовых кислот, преимущественно продуцируемый бактериями *Streptomyces pilosus* [28]. При установлении кристаллической структуры комплекса дефероксамина с Fe(III) методом рентгеноструктурного анализа было высказано предположение, что боковое плечо со свободной аминогруппой может играть ключевую роль в распознавании рецептором [29].

Кристаллическая структура другого представителя ферриоксаминов (ферриоксамин Е **9**) также была установлена методом рентгеноструктурного анализа его комплекса с Fe(III) [3, 30] (Рисунок 2). Ферриоксамин Е **9** продуцируется множеством бактериальных клеток, включая *Streptomyces glaucescens*, *Micrococcus luteus* и *Pseudomonas mendocina*. Стоит отметить, что константа связывания ферриоксамин Е **9** с Fe(III) примерно в 100 раз превышает таковую у ферриоксамин В **8**. Это может быть связано с циклической структурой ферриоксамин Е **9**, в которой присутствует полость для Fe(III) [29]. Аналогичное различие в константах связывания наблюдается и для других двух гидроksamатных сидерофоров – алкалина **10** (*Bordetella* spp.) и родоторуловой кислоты **11** (*Rhodotorula pilimanae*) (Рисунок 2).

Первыми охарактеризованными представителями гидроksamатных сидерофоров, выделенных еще в 1952 г. из грибов *Ustilago sphaerogana*, были феррихромы и копрогены [13]. С тех пор было выделено и зарегистрировано большое количество представителей данного класса соединений. С 2000 г. к семейству гидроksamатных сидерофоров добавилось порядка 135 новых структур, многие из которых были выделены из различных бактерий, собранных в Атлантическом океане [13]. Широкая распространенность и возможность неспецифического транспорта разных гидроksamатов разными видами бактерий, а также тот факт, что

первые известные сидеромицины представляли собой конъюгаты гидроксаматных сидерофоров, делают данный класс сидерофоров не менее привлекательным для структурных модификаций с точки зрения медицинской химии по сравнению с катехолами. В свою очередь, гидроксаматные сидерофору циклического строения являются более привилегированными структурами для химических модификаций благодаря их более высоким константам связывания с Fe(III), в сравнении с ациклическими аналогами.

Карбоксилатные сидерофору

Еще одним классом сидерофору являются карбоксилатные сидерофору, которые, с точки зрения строения молекул, относятся к классу замещенных α -гидроксикарбоновых кислот. В качестве яркого примера α -гидроксикарбоксилатных сидерофору можно привести ризоферрин **12**, являющийся продуктом конъюгации двух молекул лимонной кислоты с 1,4-диаминобутаном [31]. Данный сидерофор существует в виде двух энантиомеров – RR (гидроксильные группы направлены от нас) и SS (гидроксильные группы направлены к нам). Первый энантиомер продуцируется грибами [32] (*Rhizopus microsporus*), второй – бактериями *Ralstonia pickettii* [33] (Рисунок 3). В результате связывания Fe(III) с четырьмя карбоксильными и двумя спиртовыми группами ризоферрина образуется стабильный октаэдрический комплекс [4]. Еще два карбоксилатных сидерофору были выделены из культуральных фильтратов стафилококков (*Staphylococcus aureus*), выращенных в условиях дефицита железа – стафилоферрин А [34] **13** и стафилоферрин В [35], существующий, по крайней мере, в виде двух структурных изомеров **14** (*Staphylococcus hyicus*) и **14a** (*Cupriavidus metallidurans*) (Рисунок 3) [36]. В результате хелатирования Fe(III) стафилоферрином А образуется стабильный октаэдрический комплекс. При этом задействуются 4 карбоксильные группы, гидроксильные в хелатировании не участвуют. Хелатирование Fe(III) стафилоферрином В происходит тремя карбоксильными группами, имеющимися в составе обоих изомеров **14**, **14a** (Рисунок 3) [37].

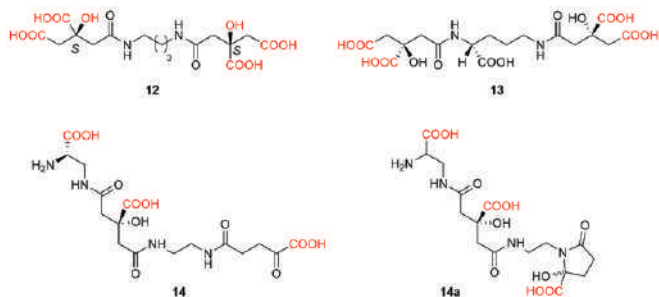


Рисунок 3. Карбоксилатные сидерофору **12–14**, **14a**: красным цветом обозначены функциональные группы, хелатирующие Fe(III)

Стоит отметить интересную особенность: более низкие значения pK_a делают карбоксилатные сидерофору менее эффективными хелатирующими агентами при физиологическом pH (по сравнению, например, с катехолами и гидроксаматами) карбоксилатные сидерофору остаются эффективными хелаторами Fe(III) при гораздо более низких диапазонах pH. По этой причине бактерии, живущие в слабосидовой среде, склонны к использованию именно карбоксилатных сидерофору [3].

Фенолятные сидерофору

В качестве следующего класса сидерофору отметим фенолятные сидерофору, содержащие одно или несколько замещенных фенольных фрагментов. В периодической литературе фенолятные сидерофору могут рассматриваться в качестве сидерофору смешанного типа, содержащими несколько хелатирующих Fe(III) групп. Наиболее распространенными фенолятными сидерофорами являются пиохелин **15** (*Pseudomonas aeruginosa*), содержащий дополнительно два тиазоловых ядра и структурно похожий иерсиниабактин **16** (*Yersinia enterocolitica*) [10], дополнительно содержащий еще одно ядро тиазола с дополнительной карбоксильной группой [8] (Рисунок 4). Структура комплекса иерсиниабактин-Fe(III) представляет собой искаженный октаэдр, сформированный за счет координации с неподеленными электронными парами трех атомов азота, одной депротонированной карбоксильной группой и двумя депротонированными гидроксильными группами [38]. В случае пиохелина **15** предполагается, что помимо гидроксильной группы и неподеленных электронных пар атомов азота, в хелатировании принимает участие карбоксильная группа в свободном виде [39] (Рисунок 4).

Стоит принять во внимание, что данный тип сидерофору менее распространен, по сравнению с катехолатными и гидроксаматными сидерофорами. Однако комбинирование фенольного фрагмента с другими хелатирующими Fe(III) функциональными группами может приводить к синергетическому эффекту в проявляемой ими антибактериальной активности, поэтому исследование механизмов проникновения фенолятных сидерофору

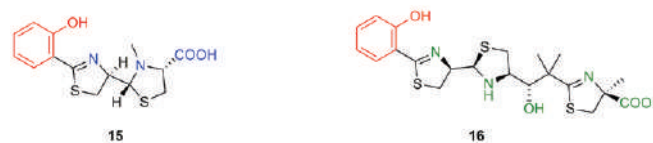


Рисунок 4. Фенолятные сидерофору **15–16**: красным цветом обозначены фенольные фрагменты, хелатирующие Fe(III); синим цветом обозначены дополнительные структурные фрагменты пиохелина **15**, предположительно, участвующие в хелатировании Fe(III); зеленым – структурные фрагменты иерсиниабактина **16**, участвующие в хелатировании Fe(III)

в бактериальные клетки является также одной из важнейших задач в борьбе с антибиотикорезистентностью.

Сидерофоры смешанного типа

В природе распространены и сидерофоры смешанного типа, которые включают в себя несколько из вышерассмотренных хелатирующих групп. В отдельную группу сидерофоров смешанного типа можно выделить тетрапептидные сидерофоры под общим названием орнибактины [22], продуцируемые *Burkholderia cepacia*, например, орнибактин С6 **17** и его структурные аналоги орнибактины С4, С8, содержащие метильную и *n*-пентильную группы, соответственно, вместо *n*-пропильной (Рисунок 5). Впервые изолированный из *Klebsiella aerogenes* сидерофор – эробактин **18**, содержащий гидроксаматные группы и α -гидроксикарбоксилатную, также является сидерофором смешанного типа (Рисунок 5).

Ряд сидерофоров под названием микобактины с общей формулой **19** (R_1 – R_5 = Н или алкил (в т.ч. липофильные)) продуцируются *Mycobacterium* spp. и являются предметом исследований множества научно-исследовательских групп [40–45] (Рисунок 5). Карбоксимикобактины (R_1 – R_3 = Н или алкил, R_4 = остаток жирной кислоты) с общей формулой **20**, выделенные из *P. denitrificans* и *Mycobacterium* spp., содержат замещенные оксазольные фрагменты, а также гидроксаматные и фенолятные группы [10] (Рисунок 5).

Секреция сидерофоров смешанного типа во многом связана с борьбой за Fe(III) среди бактериальных клеток. Благодаря их «смешанной» структуре проникновение сидерофоров в бактериальные клетки может осуществляться несколькими путями за счет селективной реакции отдельных рецепторов на конкретные функ-

циональные группы. Однако наличие нескольких хелатирующих Fe(III) групп в сидерофоре, делает комплекс сидерофор-Fe(III) максимально уязвимым для разнообразных бактерий, в том числе для «полезных», так как секреция сидерофора смешанного типа одним видом бактерий не дает гарантий, что другой вид не поглотит «не принадлежащий» ему комплекс сидерофор-Fe(III). Использование сидерофоров смешанного типа в получении синтетических сидеромицинов, тем не менее, является крайне привлекательным способом уничтожения широкого круга бактериальных клеток, относящихся к разным типам, «одним выстрелом», хотя и не лишено недостатков.

Механизм транспорта ионов Fe(III) в цитоплазму бактериальных клеток

Для успешной реализации концепции «Троянского коня» в исследованиях необходимо четкое понимание механизма транспорта ионов Fe³⁺ в цитоплазму бактериальных клеток с помощью сидерофоров. Мы рассмотрим данный механизм в общем виде для грамотрицательных и грамположительных бактерий. Следует заметить, что при рассмотрении механизмов поглощения комплексов сидерофор-Fe(III) конкретными бактериями, безусловно, будут возникать особенности вследствие широкого разнообразия как сидерофоров, так и бактериальных клеток. В начале данного раздела обсуждалось, что бактериальные клетки секретируют сидерофоры во внешнюю среду для захвата ионов Fe³⁺. Подробнее с механизмом выделения сидерофоров бактериальными клетками можно ознакомиться в работах [10, 46–48].

Грамотрицательные бактерии распознают комплекс сидерофор-Fe(III) (Sid-Fe³⁺) с помощью специфических рецепторов внешней мембраны (OMR – outer-membrane receptor(s)) (стадия 1, Рисунок 6).

Несмотря на то, что OMR отличаются у разных видов бактерий, все они взаимодействуют с белком внутренней мембраны (TonB), чтобы облегчить проникновение комплекса Sid-Fe³⁺. Данный процесс в литературе называется ROSET (Rotational Surveillance and Energy Transfer) и предполагает следующее: на первой стадии происходит физическое вращение белка TonB за счет других белков внутренней мембраны (ExbB и ExbD), а также за счет электрохимической протонной движущей силы, генерируемой в периплазме во время нормального клеточного дыхания (стадия 2, Рисунок 6).

Вторая стадия ROSET включает в себя конформационный сдвиг в OMR, вызванный физическим вращением белка TonB (стадия 3, Рисунок 6). В результате происходит высвобождение комплекса Sid-Fe³⁺ через внешнюю мембрану в периплазму (стадия 4, Рисунок 6), где периплазматический связывающий белок PBP (periplasmic binding protein) переносит его на внутреннюю мембрану (стадия 5, Рисунок 6). Во внутренней мембране находится ABC-транспортный комплекс (ABC – ATP-binding cassette), состоящий из трех белков, который

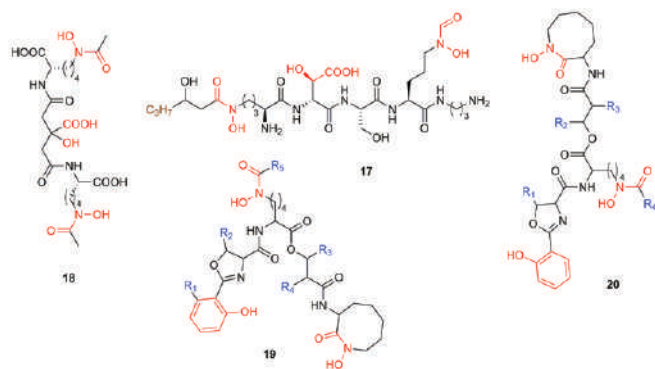


Рисунок 5. Сидерофоры смешанного типа **17–20**: красным цветом обозначены функциональные группы (фенолятные, гидроксикарбоксилатные, гидроксаматные), хелатирующие железо; синим – различающиеся заместители в микобактинах и карбоксимикобактинах общих формул **19** и **20** соответственно; коричневым – *n*-пропильная группа орнибактина С6 **17**, замена которой на метил и *n*-пентил, позволит получить структурные аналоги – С4 и С8 соответственно

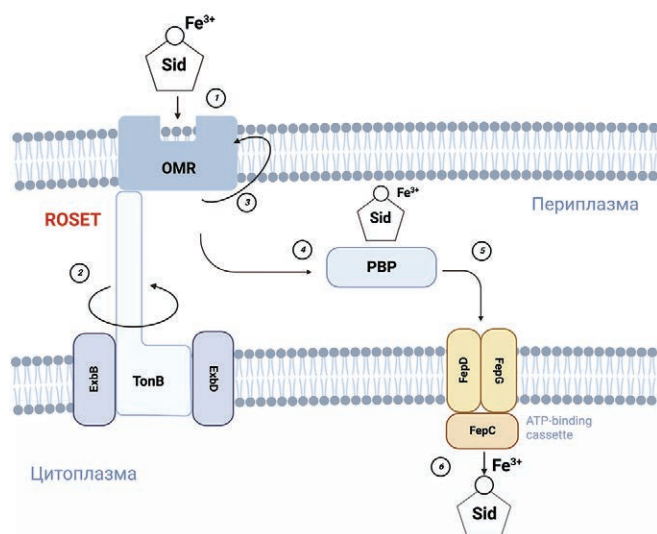


Рисунок 6. Механизм (в обобщенном виде) поглощения комплекса Sid-Fe³⁺ грамотрицательными бактериями: 1) распознавание комплекса Sid-Fe³⁺ OMR; 2–3) ROSET – физическое вращение белка внутренней мембраны TonB и конформационный сдвиг в OMR; 4) высвобождение комплекса Sid-Fe³⁺ в периплазму и связывание с PBP; 5) перенос комплекса Sid-Fe³⁺ с помощью PBP на ABC-транспортный комплекс; 6) высвобождение комплекса Sid-Fe³⁺ в цитоплазму

далее транспортирует комплекс Sid-Fe³⁺ в цитоплазму [10, 16, 46, 49] (стадия 6, Рисунок 6).

Грамположительные бактерии, которые имеют лишь одну цитоплазматическую мембрану, обладают более простой системой захвата комплекса сидерофор-Fe(III). На первом этапе происходит распознавание комплекса Sid-Fe³⁺ сидерофор-связывающими белками SBP1 и SBP2 (SBP – siderophore-binding protein) (стадия 1, Рисунок 7), связанными с пермеазами 1 и 2 (ферментоподобными белками, участвующими в активном транспорте веществ в бактериальную клетку, при этом стоит отметить, что каждая пермеаза переносит в клетку только одно определенное вещество), соответственно.

После связывания комплекса Sid-Fe³⁺ происходят конформационные изменения белков (SBP1 и SBP2), которые затем активируют пермеазы 1 и 2, позволяя комплексу Sid-Fe³⁺ пересекать цитоплазматическую мембрану [3, 10, 46] (стадия 2, Рисунок 7).

Высвобождение железа из комплекса сидерофор-Fe(III) или сидеромицин-Fe(III) после их попадания в бактериальную клетку чаще всего происходит в цитоплазме. В настоящее время выделяют три возможных механизма высвобождения железа: восстановление металлического центра, протон-опосредованная диссоциация комплекса сидерофор-железо, гидролиз комплекса сидерофор-железо [50]. Механизм восстановления, координированного с сидерофором, Fe(III) до Fe(II) приводит к существенному снижению энергии взаимодействия железа с сидерофором и позволяет комплексу диссоциировать. Большинство исследователей

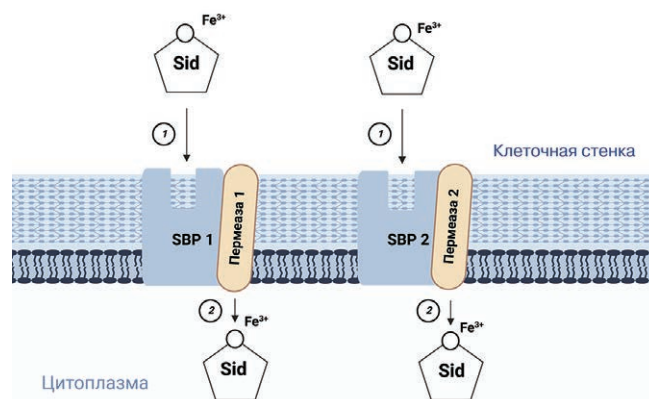


Рисунок 7. Механизм (в обобщенном виде) поглощения комплекса Sid-Fe³⁺ грамположительными бактериями: 1) распознавание комплекса Sid-Fe³⁺ SBP1 и SBP2 с последующими конформационными изменениями последних и активацией пермеаз 1 и 2; 2) высвобождение комплекса Sid-Fe³⁺ в цитоплазму

склоняется к тому, что данный путь является наиболее вероятным, хоть и не лишен недостатков. Например, окислительно-восстановительные потенциалы у многих сидерофоров имеют более высокие отрицательные значения, чем у большинства сильных биологических восстановителей [51, 52]. По этой логике такое восстановление невозможно без тех или иных катализаторов и промоуторов. Таковыми могут выступать, например, специфические бактериальные редуктазы [53–56] или сильные хелаторы Fe(II), которые способствуют сдвигу окислительно-восстановительного потенциала комплекса сидерофор-железо в положительную сторону за счет формирования устойчивых комплексов с Fe(II) [57, 58]. Два оставшихся механизма являются более неоднозначными. Механизм высвобождения железа с помощью протонирования в цитоплазме возможен только при весьма низких значениях pH, которые не соответствуют физиологическому внутриклеточному pH бактерий. Гидролиз комплекса сидерофор-железо также имеет существенный недостаток – значительные метаболические затраты на постоянный синтез новых молекул сидерофора. До сих пор механизмы диссоциации большинства бактериальных комплексов сидерофор-Fe(III) остаются малоизученными.

В данном разделе было проиллюстрировано структурное разнообразие различных классов сидерофоров, продуцируемых бактериальными клетками, кратко обсуждены механизмы транспорта комплексов сидерофор-Fe(III) в клетки грамотрицательных и грамположительных бактерий, освещены основные пути высвобождения ионов железа, входящих в состав вышеупомянутых комплексов. Конечно, затронуты далеко не все известные на настоящее время сидерофоры, однако, некоторые примеры еще встретятся в следующей части обзора. Для более детального ознакомления со строением известных на момент написания данного об-

зора сидерофоров, можно обратиться к работам [1, 4, 13, 47, 59].

Резюмируя, выскажем несколько основных тезисов по использованию сидерофоров в синтезе конъюгатов сидерофор-антибиотик, которые потенциально могут выступать в качестве эффективного оружия в борьбе человечества с антибиотикорезистентностью. Во-первых, катехолатные сидерофоры, обладающие высокими константами связывания с Fe(III), и гидроксаматные сидерофоры циклического строения, образующие стабильные (катехолатно-подобные) комплексы, являются основными строительными блоками, используемыми в синтезе сидеромицинов, в связи с их широкой распознаваемостью и, как следствие, эффективностью в доставке связанного антибиотика в бактериальные клетки в конкурентных условиях в смеси с другими сидерофорами. Конъюгаты на основе гидроксаматных и катехолатных производных могут являться ксеносидерофорами [60], т.е. распознаваться рядом бактерий, не секретирующих данные сидерофоры. Во-вторых, использование сидерофоров смешанного строения в концепции «Троянского коня» может привести к синергетическому эффекту в проявляемой конъюгатами фармакологической активности. Введение в структуру конъюгатов дополнительных функциональных групп, способных к хелатированию Fe(III) (особенно карбоксилатных и фенолятных) может потенциально не только привести к получению более стабильных комплексов с Fe(III), но и расширить ряд бактерий, способных к распознаванию полученных конъюгатов. Таким образом, необходимо использовать все существующие сидерофоры (особенно те, что секретируются широким спектром бактерий) для химических модификаций, что позволит получить конъюгаты разнообразного строения, и исследовать их антибактериальные свойства. Только ясная взаимосвязь структура-активность поможет четко сформулировать и понять по какому пути следует идти в разработке высокоэффективных конъюгатов сидерофор-антибиотик.

Раздел 2. КОНЪЮГАТЫ СИДЕРОФОРОВ С АНТИБИОТИКАМИ

Сидеромицины натурального происхождения

Как было упомянуто ранее, потребность в железе для всех бактериальных клеток является критической. Микроорганизмы эволюционно приобрели рецепторы, которые способны распознавать и транспортировать комплексы сидерофор-железо от других видов (ксеносидерофоры), чтобы получать преимущество в конкурентном росте. В ответ на это некоторые бактерии стали синтезировать конъюгаты сидерофор-антибиотик, называемые сидеромицинами, которые состоят из модифицированного хелатора, связанного с антибиотиком за счет ковалентных связей [61]. Сидеромицины, действуя как «Троянский конь», хелатируют трехвалентное железо и проникают в конку-

рирующую бактериальную клетку по такому же механизму, как и свободный сидерофор, что в результате приводит к доставке конъюгата в цитоплазму и к дальнейшей гибели этой бактериальной клетки [13, 62].

Сидеромицины состоят из металлсвязывающей части, линкера и лекарственного (или лекарстvomподобного) вещества. В качестве природных сидеромицинов можно упомянуть альбомидины **21a-c**, являющиеся одними из наиболее изученных природных конъюгатов и содержащих тригидроксаматную сидерофорную часть [63] (Рисунок 8).

Альбомидины обладают мощной антибактериальной активностью, как *in vivo*, так и *in vitro*, в сочетании с низкой токсичностью. Однако они не применяются в клинической практике из-за быстрого возникновения резистентности у бактерий к ним [64].

После попадания альбомидинов **21a-c** в цитоплазму бактериальных клеток, происходит гидролиз амидного линкера под действием сериновой протеазы [65], фермента, отвечающего за селективный гидролиз пептидных связей. Стоит отметить важность внутриклеточного гидролиза конъюгата с последующим высвобождением антибиотика, поскольку микроорганизмы не чувствительны к антибактериальному действию негидролизованых альбомидинов, что было показано ранее [66, 67]. Также среди сидеромицинов известны и микроцины, представляющие собой конъюгаты сидерофоров, содержащие полипептидные антибиотики, присоединенные к энтеробактину **1** с помощью глюкозного линкера [68, 69]. Факт доставки подобных молекул, демонстрирует возможность вво-

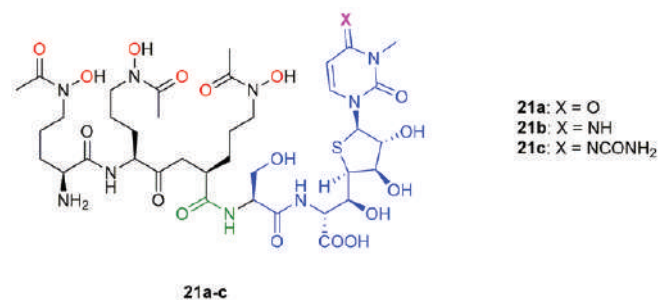


Рисунок 8. Структура альбомидинов **21a-c** (октаэдрический комплекс с Fe(III) на рисунке не указан из соображений четкого понимания структуры органической части): красным цветом обозначены атомы кислорода, участвующие в образовании октаэдрического комплекса с Fe(III), гидроксильные группы (OH) образуют три ионные связи, карбонильные атомы кислорода (C=O) – три ковалентные связи по донорно-акцепторному механизму; черным цветом обозначена тригидроксаматная сидерофорная часть альбомидинов; зеленым цветом – амидный линкер, связывающий сидерофорную часть с антибиотиком; синим цветом – тиорибозил-пиримидиновый фрагмент (лекарственная часть); розовым цветом – варьирующаяся группа X в трех альбомидинах

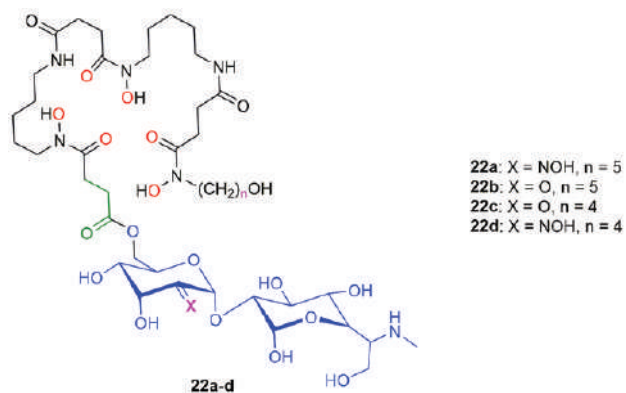


Рисунок 9. Структура салмицинов **22a-d** (октаэдрический комплекс с Fe(III) на рисунке не указан из соображений четкого понимания структуры органической части): красным цветом обозначены атомы кислорода, участвующие в образовании октаэдрического комплекса с Fe(III), гидроксильные группы (OH) образуют три ионные связи, карбонильные атомы кислорода (C=O) – три ковалентные связи по донорно-акцепторному механизму; черным цветом обозначена сидерофорная часть даноксамина; зеленым цветом – сложноеэфирный линкер, связывающий сидерофорную часть с антибиотиком; синим цветом – аминодисахаридный антибиотик; розовым цветом – варьирующаяся группа X в четырех салмицинах и число метиленовых групп (n)

доть в бактериальную клетку даже большие молекулы в концепции «Троянского коня».

В качестве еще одного примера природного сидеромицина, стоит отметить салмицин **B 22b**, выделенный из культуральной жидкости *Streptomyces violaceus* DSM8286 в 1995 г. [70] (Рисунок 9). Салмицин **B 22b** оказался высокоэффективным в отношении стафилококков, стрептококков, включая резистентные штаммы этих патогенов, наряду со структурными аналогами салмицинами **A 22a**, **C 22c**, **D 22d** (Рисунок 9). В состав салмицинов **22a-d** входят известный гидроксаматный сидерофор даноксамин и аминодисахаридный антибиотик. Салмицины демонстрируют хорошую ингибирующую эффективность *in vitro* в отношении ряда грамположительных бактерий, но они гораздо менее активны *in vivo*, что объясняется внеклеточным гидролизом лабильной сложноеэфирной связи. Устойчивость грамотрицательных бактерий к салмицинам может быть обусловлена специфичностью транспортеров внешней мембраны [71].

Как было показано в работах [72, 73], синтетический десферрисалмицин **B** (хелатный комплекс **22b** с Fe(III)) обладает антибактериальной активностью, сравнимой с активностью встречающихся в природе салмицинов, что демонстрирует возможность создания подобных конъюгатов путем химического синтеза.

После открытия сидеромицинов, секретлируемых бактериями, родилась идея направленной доставки ан-

тибиотиков в бактериальные клетки за счет конъюгирования последних с сидерофорами. Невозможность использования альбомуцинов и салмицинов в клинической практике приводит к потребности в открытии структурно похожих, более эффективных сидеромицинов, лишенных тех недостатков, которыми обладают вышеупомянутые природные конъюгаты. Далее будут рассмотрены некоторые примеры синтетических сидеромицинов (включая конъюгаты натуральных сидерофоров и их синтетических аналогов) и обсуждены их антибактериальные свойства.

Конъюгаты сидерофор-антибиотик, содержащие катехолатный фрагмент

Катехолатные сидерофоры обладают не только широкой распознаваемостью у большинства бактерий, но и имеют очень высокие константы связывания с Fe(III), что делает их отличной отправной точкой в синтезе конъюгатов сидерофор-антибиотик, потенциально обладающих фармакологической активностью. Энтеробактин обладает высоким сродством к связыванию с Fe(III). Константа комплексообразования энтеробактина с Fe(III) значительно больше, чем у многих синтетических хелаторов, таких как ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота). Благодаря такому высокому сродству энтеробактин способен хелатировать Fe(III) в среде, где концентрация Fe³⁺ поддерживается низкой, например, в живых организмах [12, 74–76].

Авторским коллективом [77] синтезирован ряд конъюгатов энтеробактина путем модификации положения C5 катехолатного фрагмента (лишь три из которых **23**, **23a**, **24** содержали антибиотик) (Рисунок 10).

Авторы оценили распознавание, доставку и полезность модифицированного энтеробактина в граммотри-

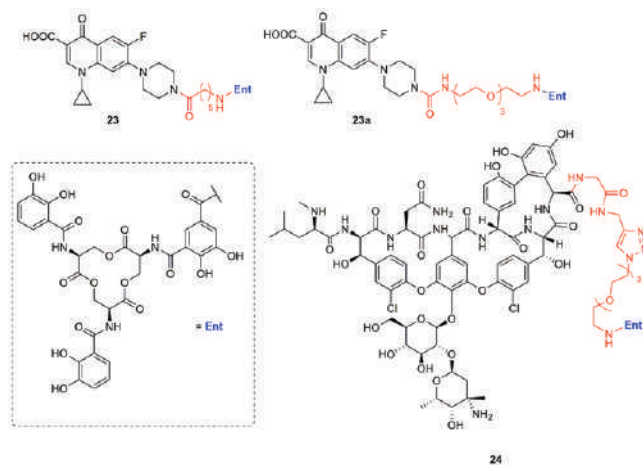


Рисунок 10. Структурные формулы конъюгатов энтеробактина с антибиотиками: ципрофлоксацином **23** и ванкомицином **24**. Модифицированный энтеробактин обозначен на рисунке как **Ent**; красным цветом выделен линкер, связывающий ципрофлоксацин и ванкомицин в конъюгатах **23** и **24** соответственно, с энтеробактином

цательных бактериях. В биологических исследованиях использовались три штамма *E. coli*, которые являлись дефектными в синтезе или транспорте энтеробактина (в частности штамм ATCC 33475). На первом этапе авторы проверили влияние энтеробактина (*L-Ent*) на восстановление роста штамма *E. coli* ATCC 33475, который неспособен биосинтезировать энтеробактин, однако может его импортировать и метаболизировать в условиях дефицита железа. Как и ожидалось, низкие микромолярные концентрации *L-Ent* восстанавливали рост *E. coli* ATCC 33475. Обнаружено, что конъюгаты энтеробактина, содержащие трет-бутилоксикарбонильный, циклогексильный, нафтильный или фенилметилбензильный заместитель вместо антибиотика, также восстанавливали рост *E. coli* ATCC 33475 до аналогичных уровней, по сравнению с *L-Ent*. Кроме того, авторами показано, что при обработке бактериальных клеток в тех же условиях конъюгатами сидерофоров **23**, **23a**, содержащими более объемные заместители, например, цiproфлоксацин, соединенный через линкер, восстановления роста *E. coli* ATCC 33475 не наблюдалось. Аналогичное отсутствие восстановления роста *E. coli* ATCC 33475 наблюдалось и при использовании конъюгата **24**, содержащего в качестве антибиотика ванкомицин, присоединенный через 1,2,3-триазольный линкер. В работе [77] не постулируется, что отсутствие восстановления роста *E. coli* ATCC 33475 в случае использования конъюгатов **23**, **23a**, **24**, содержащих антибиотик (ципрофлоксацин и ванкомицин соответственно) в структуре, является следствием ингибирования роста бактерий высвобождающимся антибиотиком или отсутствием активного транспорта в цитоплазму, но, принимая во внимание все наблюдения, авторы полагают, что последний вариант является наиболее вероятным объяснением. Для выяснения причин отсутствия восстановления роста *E. coli* ATCC 33475 в некоторых случаях авторы проводили аналогичные исследования с использованием штамма *P. aeruginosa* PAO1, который синтезирует и экспортирует два сидерофора (пиохелин и пиовердин), однако использует энтеробактин в качестве

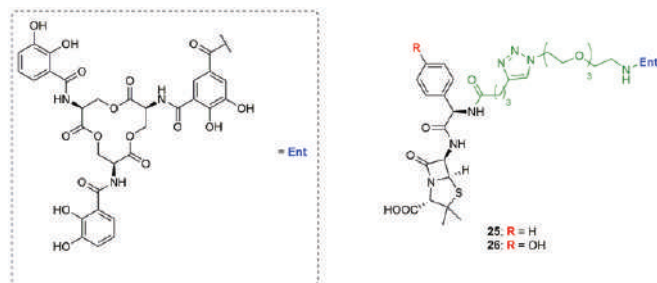


Рисунок 11. Структурные формулы конъюгатов энтеробактина с антибиотиками: ампициллином **25** и амоксициллином **26**. Модифицированный энтеробактин обозначен на рисунке как **Ent**; красным цветом выделен заместитель **R**, отличающийся у ампициллина и амоксициллина; зеленым цветом выделен полиэтиленгликолевый линкер

ксеносидерофора. Добавление *L-Ent* к культивируемым клеткам *P. aeruginosa* PAO1, как и ожидалось, привело к восстановлению роста, сопоставимое практически со всеми синтезированными конъюгатами энтеробактина, за исключением конъюгата **24**, имеющего наибольший размер. В качестве самого важного наблюдения, авторы [77] отмечают, что факт того, что конъюгаты **23**, **23a** восстанавливали рост *P. aeruginosa* PAO1 в условиях дефицита железа, указывает на то, что конъюгаты были успешно доставлены в цитоплазму бактериальных клеток. При этом, авторы [77] отмечают, что антибактериальное действие цiproфлоксацина было в значительной степени ослаблено за счет конъюгации с сидерофором через линкер.

Продолжением вышеупомянутого исследования стал синтез еще двух конъюгатов энтеробактина с бета-лактамами антибиотиками [78]: ампициллином **25** и амоксициллином **26** (Рисунок 11). Указанные фрагменты были соединены посредством введения полиэтиленгликолевого линкера. Антибактериальная активность полученных конъюгатов исследовалась в отношении нескольких штаммов *E. coli* (уропатогенные штаммы CFT073 и UT189, энтерогеморрагический штамм O157:H7 и энтеротоксигенный штамм O78:H11).

В работе [78] показано, что все вышеуказанные штаммы оказались чувствительными к конъюгатам **25** и **26**, особенно в условиях дефицита железа. Значения МПК (минимальных подавляющих концентраций) сидеромицинов были примерно в 1000 раз ниже, чем у исходных антибиотиков. Авторы [78] отмечают, что синтезированные конъюгаты избирательно убивали *E. coli* при совместном культивировании с другими видами бактерий, способными к поглощению комплекса энтеробактин-Fe(III). Конъюгат **25** обладает антибактериальной активностью в отношении устойчивых к ампициллину бактерий: МПК (*E. coli* CFT073) = 10 нМ, МПК (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883) > 100 мкМ, МПК

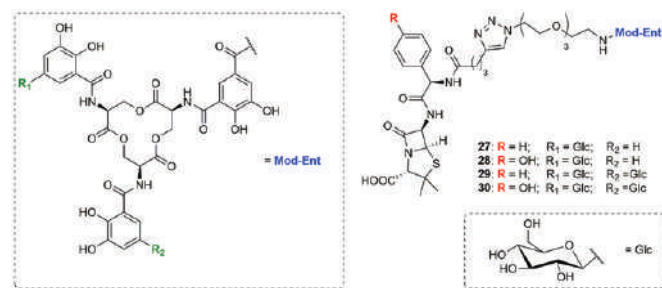


Рисунок 12. Структурные формулы конъюгатов сальмохелина (моно и дигликированного энтеробактина) с антибиотиками: ампициллином **27**, **29** и амоксициллином **28**, **30**. Модифицированный энтеробактин обозначен на рисунке как **Mod-Ent**; красным цветом выделен заместитель **R**, отличающийся у ампициллина и амоксициллина; зеленым цветом выделены заместители **R1**, **R2** в энтеробактине, представляющие собой углеводные остатки

(*P. aeruginosa* PAO1) = 10 мкМ, МПК (*S. aureus* ATCC 25923) = 10 мкМ [79].

Теми же авторами [80] синтезированы гликированные производные энтеробактина (сальмохелины) и конъюгаты с ампициллином и амоксициллином **27–30** (Рисунок 12).

Использование сальмохелина в синтезе конъюгатов является актуальным направлением исследований, поскольку сальмохелин не связывается с липокалин-2 [81–83]. Липокалин-2 – это белок, участвующий во врожденном иммунитете человека, специфично связывающий многие сидерофоры, тем самым значительно уменьшая хелатирующую способность бактерий во время роста в организме хозяина, что приводит к бактериостатическому действию на бактерии [84]. Считается, что у гипервирулентных штаммов чаще всего встречается сальмохелин [85]. Результаты биологических исследований были аналогичными предыдущим – полученные конъюгаты **27–30** обеспечивали от 100 до 1000-кратного усиления антибактериальной активности по сравнению с исходными бета-лактамами в отношении пяти штаммов *E. coli* (CFT073, UTI89, H9049, K-12, B) [80].

В работе [86] представлен синтез конъюгата энтеробактин-ципрофлоксацин **31**, содержащего дисульфидный линкер, предназначенный для расщепления после попадания в восстанавливающую среду бактериальной цитоплазмы (Рисунок 13). Авторами [86] описано исследование антибактериальной активности полученного конъюгата **31** в отношении различных штаммов *E. coli* и сравнение антибактериальной активности конъюгата **31** и конъюгата **23**, который обсуждался ранее и который требует внутриклеточного гидролиза сидерофора с помощью энтеробактин-гидролазы (IroD) для ингибирования роста бактерий.

Показано [86], что конъюгаты **23**, **31** не обладают антибактериальной активностью в отношении лабораторного штамма *E. coli* K-12. Авторами [86] обнаружено, что конъюгат **31** слабо ингибирует рост IroD-экспрессирующих штаммов *E. coli*, которые ингибируются конъюгатом **23** (UTI89, CFT073, пробиотического штамма *E. coli* Nissle 1917, K-12(DE3)). Вышеупомянутые штаммы по недавно опубликованным данным обладают чуть меньшей, чем 50% резистентностью к цiproфлоксацину [87], вероятно, возникшей в результате мутаций ДНК-гиразы [88], являющейся цитоплазматической мишенью фторхинолоновых антибиотиков. При этом стоит отметить, что, согласно результатам анализа ферментативной активности, конъюгат **31** гидролизует IroD. В работе [86] показано, что конъюгат **31** обладает антибактериальной активностью в отношении *E. coli* B, *E. coli* JB2, неэкспрессирующих IroD, и рост которых не ингибируется конъюгатом **23**. Основываясь на том, что конъюгат **31** проявляет антибактериальную активность вне зависимости от экспрессии IroD бактериями, авторы [86] считают, что дисульфидный линкер может быть расщеплен внутриклеточно, и что гидролиз трилактонового остова

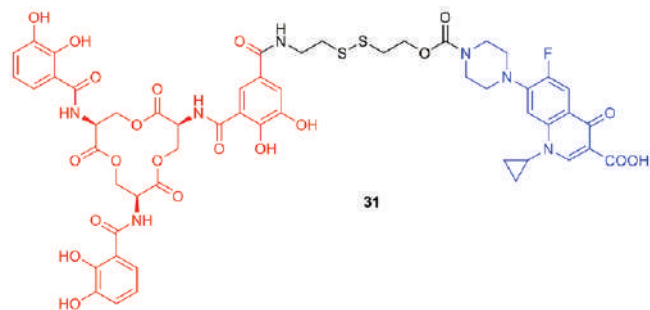


Рисунок 13. Структурная формула конъюгата энтеробактин-ципрофлоксацин **31** с дисульфидным линкером. Красным цветом выделена сидерофорная часть конъюгата; синим – цiproфлоксацин; черным – дисульфидный линкер

энтеробактина не является важным параметром для проявления антибактериальной активности. Однако исходя из того, что конъюгат **31** ингибирует рост лишь отдельных клеточных линий в микромолярных концентрациях, можно сказать, что восстановительное расщепление конъюгата **31**, вероятно, не у всех штаммов протекает эффективно. Также авторы работы [86] не уверены, что побочные продукты восстановительного расщепления конъюгата **31** (содержащие тиольную группу) не образуют аддуктов с другими молекулами в цитоплазме, которые будут препятствовать эффективному ингибированию ДНК-гиразы.

Нельзя не отметить ряд интересных работ, в которых показано, что бактериальным рецепторам и транспортерам зачастую не нужно распознавать полные структуры сидерофоров, а достаточно скоординированной катехолатной части энтеробактина [12]. Например, авторами работы [89] показано, что трилактоновый остов энтеробактина в сидеромицинах может быть заменен различными структурно аналогичными блоками. Так, конъюгаты **32**, **33** обладают антибактериальной активностью в отношении четырех штаммов дикого типа *P. aeruginosa* KW799, Pa4, Pa6, PAO1 (МПК конъюгатов варьируется от 0,05 до 0,39 мкМ), а также *E. coli* ATCC 25922 (МПК конъюгатов варьируется от 1,56 до 6,25 мкМ) в условиях дефицита железа, в то время как исходные ампициллин и амоксициллин активностью не обладают [89] (Рисунок 14). В данной работе наглядно показано: во-первых, преимущество использования концепции «Троянского коня» для эффективной доставки антибиотика через две мембраны грамотрицательных бактерий в цитоплазму, во-вторых, возможность использования в качестве сидерофорной части конъюгата лишь синтетического хелатирующего фрагмента, который может обладать меньшими размерами и легче проникать через клеточные мембраны бактериальных клеток.

Авторами [90] синтезированы структурно похожие на конъюгаты **32**, **33** соединения, содержащие цiproфлоксацин в качестве антибиотика с пиперазиновым линкером **37** и без него **34–36** (Рисунок 14).

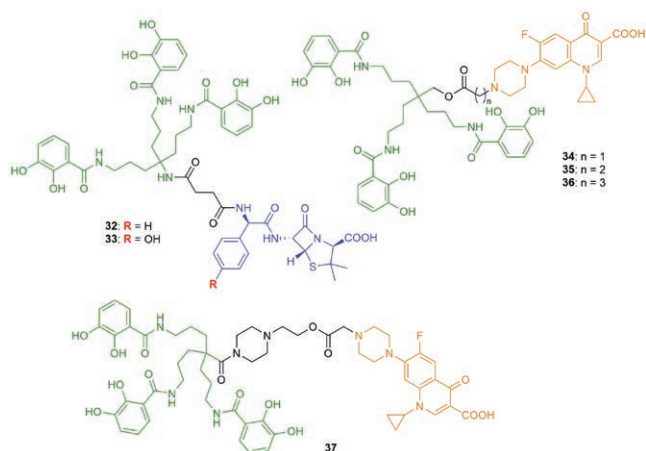


Рисунок 14. Структурные формулы конъюгатов **32–37**, содержащих ампициллин **32**, амоксициллин **33**, ципрофлоксацин **34–37** в качестве антибиотика и энтеробактин-подобный синтетический сидерофор. Синим цветом обозначен фрагмент бета-лактамого антибиотика (соединения **32**, **33**); оранжевым цветом обозначен ципрофлоксацин, входящий в конъюгаты **34–37**; красным цветом выделен заместитель **R** в конъюгатах **32**, **33**; зеленым цветом выделен энтеробактин-подобный синтетический сидерофор, содержащий три катехолатных фрагмента, в соединениях **32–37**

Конъюгаты **34**, **35** проявили умеренную антибактериальную активность в отношении чувствительных к ципрофлоксацину *P. aeruginosa* DSM 1117, МПК которых составила 8 и 64 мг/л, соответственно. При этом конъюгаты **34–36** были неактивны в отношении устойчивых к ципрофлоксацину *P. aeruginosa* AM 85 [90].

Авторским коллективом [91] была разработана и синтезирована серия конъюгатов энтеробактина и ципрофлоксацина (а также их аналогов, не содержащих сидерофорной части), соединенных линкерами различного строения, и оценено высвобождение антибиотика во время доставки конъюгата в бактериальную клетку. Показано [91], что линкеры, содержащие более объемные заместители (**38b** по сравнению с **38a**) обладают

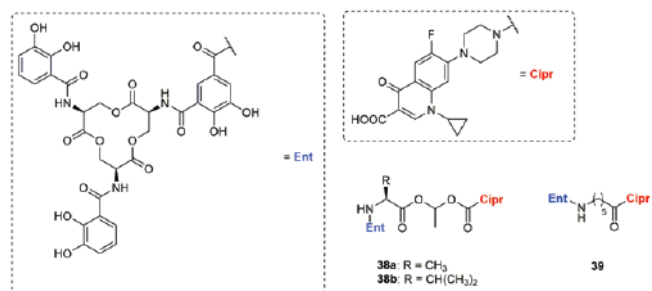


Рисунок 15. Структурные формулы конъюгатов энтеробактина и ципрофлоксацина **38a**, **38b**, **39**. Синим цветом обозначен фрагмент энтеробактина **Ent** в конъюгатах; красным цветом обозначен фрагмент ципрофлоксацина **Cipr** в конъюгатах

большой стабильностью, и, следовательно, на высвобождение антибиотика из конъюгата с подобными линкерами требуется больше времени (Рисунок 15). Конъюгат **39** со стабильным линкером был введен в качестве контроля (единственный конъюгат в линейке не содержащий более чувствительной к гидролизу [92] (ацилокси)сложноэфирной группы (-C(O)OCH₂O(O)C-) в линкере) (Рисунок 15). Авторами [91] показано, как наличие объемного сидерофора влияет на гидролитическую стабильность конъюгатов (производные, содержащие алкильный заместитель вместо энтеробактина, подвергаются гидролизу примерно в 20 раз быстрее, чем производные, содержащие энтеробактин).

Как было отмечено ранее, бактериальным рецепторам и транспортерам зачастую не нужно распознавать полные структуры сидерофоров, а достаточно скоординированной катехолатной части энтеробактина [12]. Агробактин **40** и парабактин **7** являются натуральными катехолатными сидерофорами, выделенными из культур *Agrobacterium tumefaciens* В6 и *P. denitrificans* соответственно [23, 93] (Рисунок 16).

В работе [94] получен синтетический аналог **41** вышеупомянутых сидерофоров и показано, что соединение **41** способствует росту *E. coli* за счет транспорта энтеробактин-рецептором комплекса сидерофора с Fe(III) (Рисунок 16). Основываясь на данных результатах, другой авторский коллектив [95] использовал сидерофор **41** для получения конъюгата **42**, содержащего лоракарбеф в качестве антибиотика (Рисунок 16). Синтезированный конъюгат **42** обладает умеренной ингибирующей активностью в отношении *S. aureus* X1.1 (МПК = 64 мг/л), V41 (МПК = 64 мг/л), *Streptococcus agalactiae* AC283 (МПК = 16 мг/л), *Streptococcus pneumoniae* PARK (МПК = 64 мг/л) [95].

Еще один пример конъюгата сидерофор-антибиотик представлен в работе [96]. Конъюгат **43** содержит цефалоспорин в качестве связующего линкера, а в качестве антибиотика – оксазолидинон (Рисунок 17).

Авторы [96] предположили, что линкер бета-лактамого антибиотика может гидролизироваться бактериальными бета-лактамазами с высвобождением оксазолидинона. Оценка антибактериальной активности конъюгата **43** в отношении *E. coli* DC0 и *P. aeruginosa* KW799/wt показала, что конъюгат **43** является чрезвычайно активным в отношении обоих видов (МПК (*E. coli*) < 0,025 мкМ; МПК (*P. aeruginosa*) = 0,2–0,4 мкМ) [96].

Фенотиазины представляют собой класс малых молекул, которые были идентифицированы как потенциальное средство для лечения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью и латентного туберкулеза. Например, тиоридазин и хлорпромазин являются антипсихотическими препаратами, а также обладают антимикробной активностью *in vitro* в отношении *Mycobacterium tuberculosis* [97–99]. В работе [100] сообщается, что тиоридазин ингибирует рост клинических изолятов *M. tuberculosis* устойчивых к большинству противотуберкулезных препаратов первого ряда. Другое исследование [101] сообщает

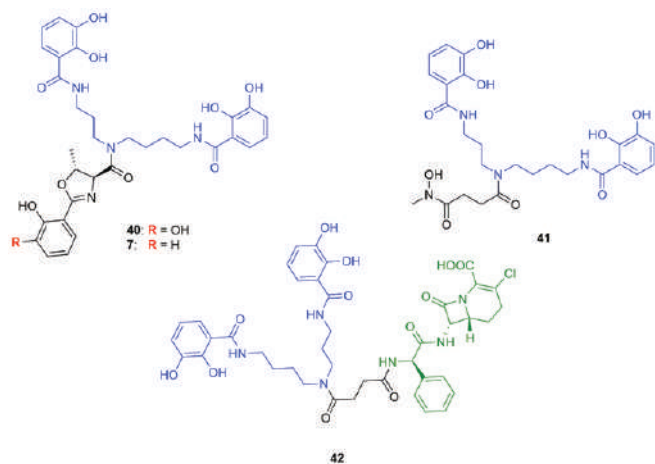


Рисунок 16. Структурные формулы агробактина **40** и парабактина **7**, а также их синтетического аналога **41**, структурная формула конъюгата, содержащего лоракарбеф **42**. Синим цветом выделена общая сидерофорная часть соединений **7**, **40–42**; красным цветом – различающийся заместитель в структурах агробактина и парабактина; зеленым цветом выделен антибиотик в конъюгате **42**

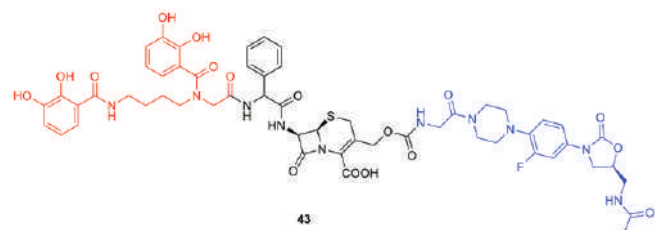


Рисунок 17. Структурная формула конъюгата **43**, содержащего цефалоспорин в качестве линкера. Красным цветом выделена сидерофорная часть конъюгата; черным – цефалоспориновый линкер; синим – оксазолинон

о том, что минимальная ингибирующая концентрация тиоридазина в отношении *M. tuberculosis* H37Rv составляет 2,5 мг/л. В работе [102] сообщается, что тиоридазин ингибирует специфические эффлюкс-ные помпы, также как и экспрессию генов, кодирующих эти насосы оттока *M. tuberculosis*. В недавно опубликованной работе [103] представлен синтез первого конъюгата сидерофор-антибиотик **44**, содержащего фенотиазин (Рисунок 18). Исследование антибактериальной активности конъюгата **44** в отношении *Mycobacterium smegmatis* показало, что функционализация фенотиазина катехолатным сидерофором не привела к увеличению активности [103].

В работе [104] представлен синтез конъюгата **45**, аналога линезолида с катехолатным сидерофором (Рисунок 19).

Исследования антибактериальной активности конъюгата **45** проводились в среде, обедненной железом (САО), также как и в бульоне Мюллера-Хинтон (МНВ),

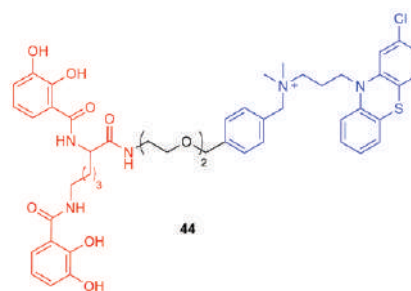


Рисунок 18. Структурная формула конъюгата **44**, содержащего фенотиазиновый антибиотик. Красным цветом выделена сидерофорная часть конъюгата; черным – связующий линкер; синим – фенотиазиновый антибиотик

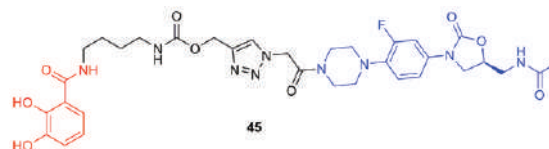


Рисунок 19. Структурная формула конъюгата **45**, содержащего в качестве антибиотика оксазолинон – структурный аналог линезолида. Красным цветом выделена сидерофорная часть; черным – связующий линкер; синим – антибиотическая часть аналога линезолида

который имеет более высокую концентрацию железа. Линезолид, использованный в качестве препарата сравнения, проявлял антибактериальную активность только при концентрации 1024 мкМ и не проявлял активности при той же концентрации в МНВ в отношении штамма *P. aeruginosa* PAO1. Согласно биологической оценке конъюгат **45** обладает МПК 128 мкМ в отношении *P. aeruginosa* в среде САО, что значительно ниже концентрации линезолида (МПК = 1024 мкМ) в тех же условиях [104]. Однако МПК конъюгата **45** в отношении *P. aeruginosa* PAO1 в среде МНВ составляла 512 мкМ. Эти данные позволяют утверждать, что системы поглощения железа *P. aeruginosa* PAO1 участвуют в поглощении конъюгата **45**. Геном *P. aeruginosa* кодирует по крайней мере 12 транспортеров наружной мембраны, участвующих в путях поглощения железа, каждый из которых зависит от своего сидерофора. Авторы [104] сперва предположили, что в поглощении конъюгата **45** принимает участие рецептор PfeA (энтеробактин-транспортер наружной мембраны). Однако данная гипотеза была опровергнута – МПК конъюгата **45** в отношении мутанта штамма *P. aeruginosa* PAO1, лишённого PfeA, в аналогичных экспериментах оказалась неизменной. Авторами [104] был получен конъюгат, структурный аналог соединения **45**, содержащий сложноэфирную группу между ядром 1,2,3-триазола и пиперазинона (наличие дополнительного атома кислорода между карбонильной С=О группой и метиленовым фрагментом -CH₂-), для улучшения антибактериальной

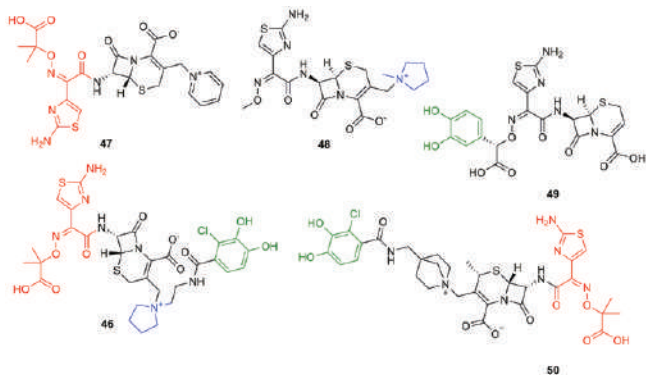


Рисунок 20. Структурные формулы цефидерокола **46**, цефтазида **47**, цефепима **48**, цефетекола **49**, GSK3342830 **50**. Красным цветом выделен структурный фрагмент цефтазида **47**, повторяющийся в цефидероколе **46**, GSK3342830 **50**; синим выделен фрагмент цефепима **48**, повторяющийся в цефидероколе **46**; зеленым выделена катехолатная группа в цефидероколе **46**, цефетеколе **49**, GSK3342830 **50**

активности конъюгата **45**. Однако его минимальные ингибирующие концентрации были выше, чем у конъюгата **45** во всех трех аналогичных экспериментах (МПК(САА) = 256 мкМ, МПК(МНВ) = 1024 мкМ, МПК(САА(ΔPfeA)) = 256 мкМ). Авторы [104] предположили, что подобный результат можно объяснить внеклеточным гидролизом линкера.

В настоящее время, пожалуй, наиболее известным конъюгатом сидерофор-антибиотик является цефидерокол **46**, антибиотик класса цефалоспоринов, содержащий катехолатную группу 2-хлор-3,4-дигидроксибензойной кислоты [105–108] (Рисунок 20).

Цефидерокол используется для лечения инфекций, вызванных экстремально-резистентными и панрезистентными грамотрицательными бактериями (*Enterobacterales*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp.). Цефидерокол был одобрен для клинического применения в США в ноябре 2019 г., в Европейском союзе – в 2020 г., а также включен в список основных лекарственных средств ВОЗ [109, 110]. Специфичный механизм действия цефидерокола **46** является комбинацией его уникальных свойств: сидерофороподобное проникновение в клетку за счет катехолатной группы в структуре, создающее высокую концентрацию лекарственного средства в месте действия; относительная устойчивость к гидролизу большинством бета-лактамаз [111]. Можно заметить структурную схожесть цефидерокола **46** с цефтазидимом **47** и цефепимом **48**, цефалоспориновыми антибиотиками третьего и четвертого поколения соответственно (Рисунок 20).

Цефидерокол **46** и его антибактериальная активность является предметом обсуждения во многих обзорных статьях, подробно ознакомиться с которыми можно по ссылкам [112–114]. В одной из последних публикаций [114] была проведена оценка актив-

ности *in vitro* большого числа антибиотиков в отношении нескольких штаммов *Stenotrophomonas maltophilia*. Исследования показали, что МПК цефидерокола составляла от 0,004 мг/л до 2 мг/л в отношении 217 клинических изолятов *S. maltophilia*, которые были собраны в 52 странах от пациентов с инфекциями различной локализации. Исследования антибактериальной активности цефидерокола и других соединений-лидеров в экспериментах *in vitro* проводились на мышинных и крысиных моделях в отношении нескольких штаммов *S. maltophilia* (SR200614, SR201934, SR202006). Показано, что цефидерокол может стать эффективным альтернативным вариантом лечения инфекции нижних дыхательных путей, вызванных *S. maltophilia*. Минимальная ингибирующая концентрация цефидерокола *in vivo* составила 0,063, 0,5, 0,125 мг/л (для штаммов SR200614, SR201934, SR202006 соответственно) [114].

Цефидерокол стал первым конъюгатом сидерофор-бета-лактамы антибиотик, одобренным FDA. Ни один другой подобный конъюгат (например, цефетекол **49** и GSK3342830 **50**) [113, 115–119] не прошел далее I фазы клинических испытаний [115] (Рисунок 20). Активность цефетекола *in vitro* не подтвердилась в экспериментах *in vivo*, а конъюгат GSK3342830 обладал плохой переносимостью при применении у добровольцев [117, 120].

Конъюгация природных сидерофоров с антибиотиками является отличной отправной точкой в разработке высокоэффективных антибактериальных агентов. В то же время конъюгация антибиотиков с синтетическими аналогами натуральных сидерофоров также имеет некоторые преимущества, как, например, возможность уменьшения размера целевого конъюгата, что может облегчить проникновение сидеромицина в клетку. Функционализация антибиотиков катехолатными сидерофорами является одним из наиболее распространенных подходов к синтезу сидеромицинов. Связано это в первую очередь с высокой хелатирующей способностью катехолов, во вторую – с распознаванием катехолатных фрагментов широким рядом бактерий. Если целью является подавление роста конкретного вида бактерий, лучше всего отталкиваться от нативных сидерофоров, продуцируемых данным видом микроорганизмов. В противном случае, сидерофоры, продуцируемые конкретной бактерией, могут конкурировать с полученными сидеромицинами по силе хелатирования железа и проникающей способности, что негативно отразится на антибактериальной активности полученных конъюгатов.

Конъюгаты сидерофор-антибиотик, содержащие гидроксаматный фрагмент

После открытия альбомуцинов **21a-c** и салмицинов **22a-d** в литературе всё больше появляются исследования, посвященные синтезу и изучению антибактериальной активности сидеромицинов с гидроксаматным

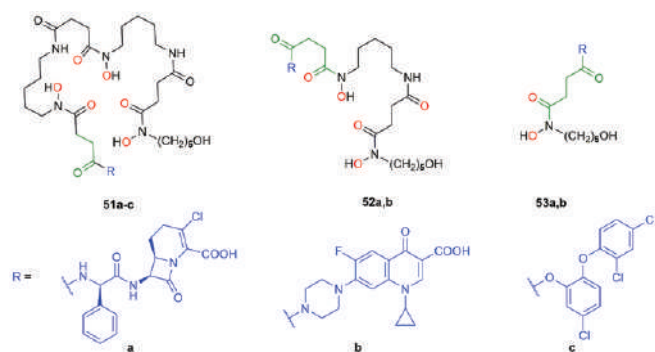


Рисунок 21. Структура конъюгатов даноксамина-антибиотиков **51a-c** (октаэдрический комплекс с Fe(III) на рисунке не указан из соображений четкого понимания структуры органической части), а также структурно похожих конъюгатов **52a**, **52b**, **53a**, **53b**: красным цветом обозначены атомы кислорода, участвующие в образовании комплекса с Fe(III), гидроксильные группы (OH) образуют ионные связи, карбонильные атомы кислорода (C=O) – ковалентные связи по донорно-акцепторному механизму; черным цветом обозначена сидерофорная часть даноксамина; зеленым цветом – линкер, связывающий сидерофорную часть с антибиотиком; синим цветом – антибиотики (лоракарбеф **a**, цiproфлоксацин **b**, триклозан **c**)

фрагментом в структуре. Синтез структурных аналогов салмицинов **22a-d**, содержащих лоракарбеф **51a**, цiproфлоксацин **51b** и триклозан **51c** в качестве лекарственной части десферрисальмицина В, описан в работе Wenciewicz T. и соавт. [121] (Рисунок 21).

Все три конъюгата **51a-c** были активны против множества различных бактерий, однако во всех случаях, кроме соединения **51c**, конъюгаты обладали более низкой антибактериальной активностью по сравнению с исходным салмицином **22b**, что указывает либо на необходимость процесса внутриклеточного высвобождения лекарственного препарата гидролизом в цитоплазме (отметим, что в случае исходного соединения **22b**, дисахаридный антибиотик связывался с даноксамином сложноэфирным линкером, также как и в случае **51c**, в то время как соединения **51a**, **51b** содержали амидный линкер, который хуже гидролизуется), либо на то, что лекарство не достигло своей мишени, а если и достигло, то имело более низкое сродство по сравнению с исходным дисахаридным антибиотиком. В случае соединения **51c**, содержащего триклозан, наблюдаемая ингибирующая активность не превышала активность исходного **22b**. В другой работе [122] были получены конъюгаты **51a-53a**, **51b-53b**, а также была исследована их антибактериальная активность в отношении *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *K. aerogenes*, *E. coli* (Рисунок 21). Полученные конъюгаты **51a-53a** обладали умеренной активностью в отношении *A. baumannii*, *S. aureus* (значения МПК варьировались

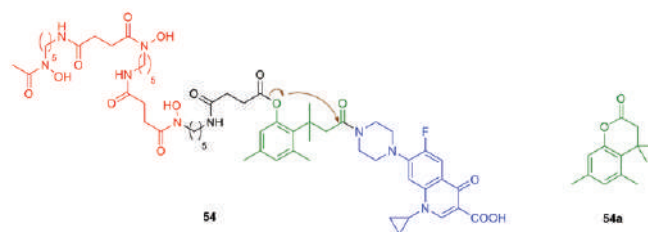


Рисунок 22. Структура конъюгата **54**, содержащего в линкере «триметильный замок», и лактона **54a**, образующегося в результате высвобождения цiproфлоксацина из конъюгата. Красным цветом выделена сидерофорная часть конъюгата, синим – цiproфлоксацин; зеленым – «триметильный замок»; коричневыми стрелками показаны переходы электронов, приводящие к образованию лактона **54a**

от 16 до 64 мкМ), в то время, как исходный лоракарбеф был неактивен в отношении *A. baumannii* ATCC 17961 (МПК > 128 мкМ) и более активен в отношении *S. aureus* SG (МПК = 1 мкМ). Конъюгаты **51b-53b** обладали хорошей активностью в отношении некоторых бактерий (особенно *S. aureus* SG (МПК (**51b**) = 1 мкМ), *K. aerogenes* ATCC 35029 (МПК (**52b**, **53b**) = 4 мкМ)), однако исходный цiproфлоксацин оказался в несколько раз активнее всех полученных конъюгатов в отношении всех исследуемых видов бактерий [122]. Отдельно стоит выделить конъюгат **51b**, минимальные ингибирующие концентрации которого составили: *S. aureus* SG 511 – 1 мкМ, *A. baumannii* ATCC 17961 – > 128 мкМ, *P. aeruginosa* ATCC 27853 – > 128 мкМ, *E. coli* ATCC 25922 – > 128 мкМ, в то время как минимальные ингибирующие концентрации цiproфлоксацина в отношении тех же бактериальных штаммов составляли ≤0,5 мкМ. Данные результаты показали, что скорее всего весь тригидроксаматный остов сидерофора требуется для облегчения активного транспорта синтетического сидеромицина в бактериальную клетку. Причиной может служить низкая хелатирующая способность дигидроксаматных производных **52a**, **52b** и моногидроксаматных **53a**, **53b**. Более высокая антибактериальная активность цiproфлоксацина по сравнению с конъюгатом **51b** может быть обусловлена низкой степенью гидролиза амидной связи в линкере.

Для синтеза конъюгатов сидерофор-антибиотик часто используется подход «триметильного замка», чувствительного к эстеразам и фосфатазам (Рисунок 22). Эта особенность «триметильного замка» позволяет часто использовать его для связывания сидерофора с токсичным для бактериальных клеток антибиотиком [123–125]. Суть действия «триметильного замка» заключается в эффективном высвобождении цiproфлоксацина за счет разрыва сложноэфирной связи C–O и последующей атаки электронов по амидному атому углерода с высвобождением цiproфлоксацина и образованием лактона **54a** (Рисунок 22). В работе Ji C. и

соавт. [126] был разработан и синтезирован потенциальный эстеразочувствительный конъюгат **54** с использованием «триметильного замка» (Рисунок 22).

Конъюгат **54** проявил антибактериальную активность от умеренной до хорошей против группы бактерий ESKAPE [127] (значения МПК варьировались от 1 до 32 мкМ для *S. aureus* ATCC 29213, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *A. baumannii* ATCC 17961, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. aerogenes* ATCC 35029, *E. coli* ATCC 25922), за исключением *E. faecium* NCTC 7171 (МПК > 128 мкМ).

В работе Ghosh M. и соавт. [128] представлен синтез конъюгата **55a** 5-фторуридина (противогрибкового препарата) с синтетическим тригидроксаматным сидерофором (Рисунок 23). Конъюгат **55a** проявлял повышенную антибактериальную активность в отношении грамположительных микроорганизмов, включая *S. aureus* (X1.1, V41, X400, S13E), *Staphylococcus epidermidis* (70, 222) (значения МПК варьируются от 1 до 8 мг/л) и *Enterococcus faecalis* D 2041 (МПК = 16 мг/л) [128]. В продолжение данного исследования была опубликована еще одна работа, в которой получены структурно близкие к соединению **55a** конъюгаты 5-фторуридина **55b-55d**, модифицированного валином, с тригидроксаматным сидерофором [129]. Авторами [129] был осуществлен синтез трех конъюгатов **55b-55d**, содержащих одно, два и три ядра 5-фторуридина, и исследована их антибактериальная активность в отношении *E. coli* X580 (Рисунок 23).

В работе Lu Y. и соавт. [129] показано, что все полученные конъюгаты обладают более выраженной антибактериальной активностью, чем исходный 5-фторуридин, а также демонстрируют более сильную активность в условиях дефицита железа, что прямо указывает на проникновение конъюгатов в бактериальные клетки. В результате биологических исследований было пока-

зано, что конъюгат **55d**, содержащий три ядра 5-фторуридина, является более активным ингибитором роста бактерий, чем моно и ди-сидерофор-замещенные 5-фторуридины **55b**, **55c**. В работе [129] отражено, что схожая тенденция наблюдалась при исследовании противогрибковой активности всех полученных конъюгатов в отношении *Candida albicans* ATCC 48130: конъюгат **55d**, содержащий три антибиотических фрагмента, оказался наиболее эффективным.

Таким образом, использование гидроксаматных сидерофоров в доставке антибиотиков в бактериальную цитоплазму активно используется разными научными коллективами. Стоит отметить, что примеров сидеромицинов, содержащих гидроксаматный сидерофор, безусловно, гораздо больше, с их структурой и антибактериальной активностью можно ознакомиться в работе Al Shaer D. и соавт. [13]. Конечно, использование катехолатных сидерофоров в синтезе сидеромицинов превалирует над использованием гидроксаматных сидерофоров в связи с их хелатирующей способностью. Тем не менее нельзя игнорировать факт, что гидроксамовые кислоты не менее активно продуцируются бактериями, также как и то, что многие природные сидеромицины содержат в строении гидроксаматный остов. В настоящее время лишь один синтетический сидеромицин, а именно цефидерокол, применяется в клинической практике, однако смотря на структуру природных сидеромицинов, создается ощущение, что гидроксаматные сидерофоры являются крайне перспективными остовами для синтеза сидеромицинов, антибактериальное действие которых не будет уступать таковому у цефидерокола.

Конъюгаты сидерофор-антибиотик, содержащие фенолятный фрагмент

Фенолятные сидерофоры не так активно используются в синтезе конъюгатов сидерофор-антибиотик, как катехолаты или гидроксаматы, в силу того, что на них приходится лишь малая доля железа, транспортируемого в бактериальные клетки, в связи с их более низкой хелатирующей способностью.

В работе [130] описан синтез конъюгатов норфлоксацина **56a**, **56b**, **57a**, **57b** с сидерофором, секретлируемым *P. aeruginosa* – пиохелином R = III, R = IV, который отвечает лишь за 5-10% транспорта железа в бактериях (Рисунок 24).

Однако, несмотря на низкий процент поставляемого железа пиохелином в бактериальную клетку, пиохелин секретруется всеми штаммами *P. aeruginosa*, а, следовательно, имеет и специфические рецепторы во внешней мембране, отвечающие за его проникновение в бактериальную клетку, что делает пиохелин весьма привлекательным объектом для функционализации, приводящей к сидеромицинам различного строения. В полученных соединениях встречаются два вида линкеров, связывающих антибиотик и сидерофор – легкогидролизруемые (**56b**, **57b**) и негидролизру-

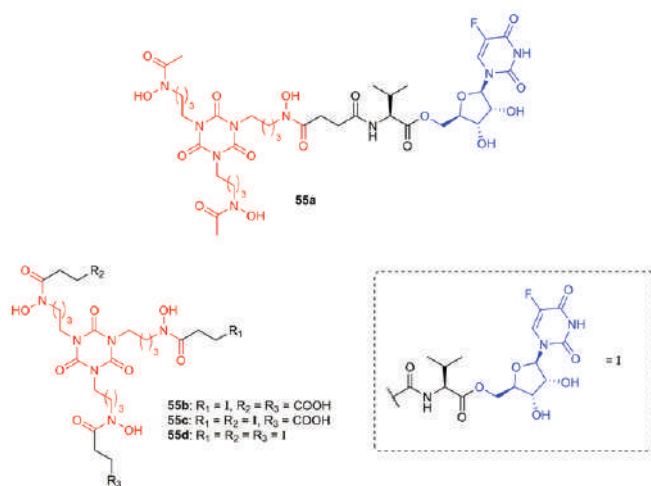


Рисунок 23. Структурная формула конъюгата **55**, содержащего 5-фторуридин в качестве антибиотика. Красным цветом выделен тригидроксаматный сидерофор; черным – связующий линкер; синим – 5-фторуридин

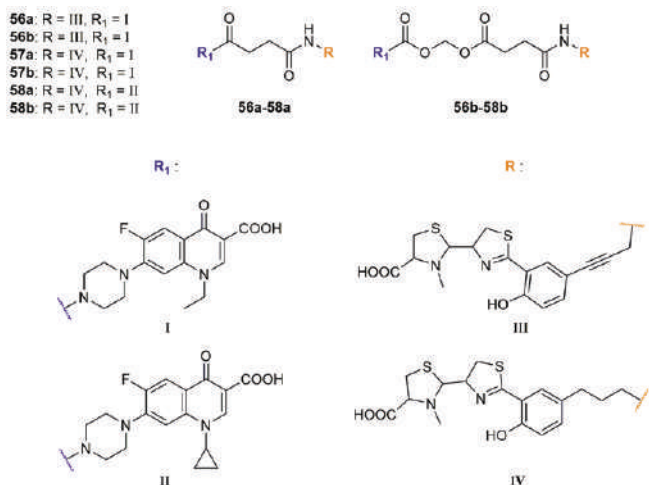


Рисунок 24. Структуры синтезированных конъюгатов пиохелин-норфлоксацин **56a**, **56b**, **57a**, **57b**, пиохелин-ципрофлоксацин **58a**, **58b**. Заместители **R** и **R₁** – сидерофорная часть и остов антибиотика соответственно

емые (**56a**, **57a**). Исследования антибактериальной активности показали, что конъюгаты **56b**, **57b** обладают ингибирующей активностью в отношении штамма *P. aeruginosa* PAO1 (Рисунок 24), в то время как конъюгаты **56a**, **57a**, содержащие стабильный линкер, не показали значительного ингибирования. По-видимому, это связано с необходимостью гидролиза целевых конъюгатов в цитоплазме бактериальных клеток. Авторы [130] утверждают, что из-за наличия стабильного линкера норфлоксацин либо неспособен достичь ДНК-гиразы в цитоплазме, либо сидерофорная часть создает стерические затруднения, которые мешают ингибированию этого фермента. Стоит отметить, что результаты данной работы [130] очень хорошо коррелируют с результатами, полученными этим же авторским коллективом в исследовании, посвященном синтезу конъюгатов пиовердина [131]. Таким образом, было показано, что высвобождение антибиотика из конъюгата сидерофор-антибиотик, а значит и наличие линкера, способного к быстрому и количественному протеканию гидролиза в цитоплазме бактериальных клеток, является крайне важным параметром появления антибактериальной активности. В работе Noël S. и соавт. [132] также получены конъюгаты пиохелин-ципрофлоксацин **58a**, **58b** (R = IV, R₁ = II), однако исследование их антибактериальных свойств показало, что полученные конъюгаты обладают более низкой активностью, чем исходный цiproфлоксацин (Рисунок 24). Авторы предполагают, что это связано с преждевременным гидролизом конъюгатов во внеклеточной среде.

Лантибиотики представляют собой класс полициклических пептидных антибиотиков, содержащих характерные тиозфирные аминокислоты лантионин или метиллантионин, а также ненасыщенную аминокислоту дегидроаланин и 2-аминоизомасляную кислоту.

Данный класс соединений относится к рибосомально синтезируемым и посттрансляционно модифицированным антимикробным пептидам, продуцируемым некоторыми грамположительными бактериями, и ингибирует биосинтез пептидогликана (также известного как муреин), являющегося важнейшим компонентом клеточной стенки бактерий, который выполняет механические и антигенные функции, осуществляет осмотическую защиту клетки [133, 134]. Стоит отметить, что лантибиотики неспособны проникать через наружные мембраны грамотрицательных бактерий, что существенно ограничивает возможность их использования. Авторами [135] синтезировано несколько конъюгатов лантибиотика галлидермина с сидерофорами грамотрицательных бактерий (в том числе и пиохелином **59**) и исследована их антибактериальная активность в отношении нескольких штаммов грамотрицательных бактерий (*P. aeruginosa* ATCC 14207, *B. ceracia* ATCC 25416, *E. coli* DH5α и *Salmonella enterica* ATCC13311) (Рисунок 25).

Все конъюгаты превращали в комплексы с Fe(III) перед биологической оценкой методом «spot-on-lawn overlay». Полученные конъюгаты не обладали антибактериальной активностью, как в среде с достаточным содержанием железа, так и в условиях дефицита в концентрациях 100 мкМ. В результате экспериментов *in vitro* показано [135], что все синтезированные конъюгаты незначительно стимулировали рост *P. aeruginosa*, на основании чего авторы предположили, что комплексы конъюгат-Fe(III) попадают в бактериальную клетку. Однако либо создается слишком низкая локальная концентрация конъюгатов, либо они не достигают внутренней мембраны, из-за чего не наблюдается ингибирование роста бактерий. Авторы [135] считают, что подобная доставка железа и незначительное стимулирование роста обнадёживает, ведь это свидетельствует о том, что конъюгаты распознаются рецепторами бактериальной мембраны.

В работе Paulen A. и соавт. [136] представлен синтез конъюгата **60** оксазолидинона с пиохелином (Рисунок 26). Исследования антибактериальной активности в отношении *P. aeruginosa* PAO1 показали, что конъюгат **60** не обладает значимой активностью в от-

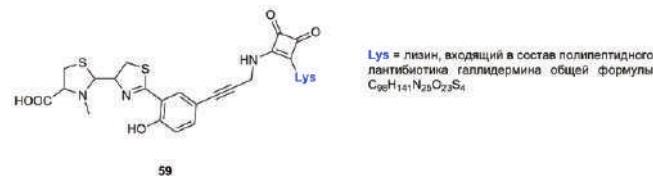


Рисунок 25. Структура конъюгата пиохелина-галлидермина **59** в общем виде. Черным цветом обозначена сидерофорная часть и линкер; синим цветом обозначено место связывания линкера с лантибиотиком галлидермином – свободная аминогруппа лизина, входящего в состав полипептидной цепи галлидермина (молекулярная формула которого указана на рисунке)

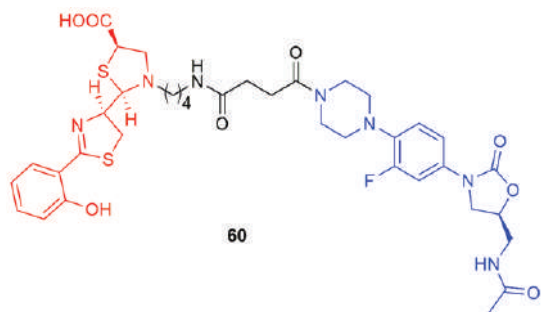


Рисунок 26. Структура конъюгата **60**, содержащего в качестве антибиотика оксазолидинон – структурный аналог линезолида. Красным цветом выделена сидерофорная часть; черным – связующий линкер; синим – антибиотическая часть аналога линезолида

ношении данного микроорганизма [136]. По-видимому, это снова связано с крайне медленным гидролизом амидной связи между линкером и антибиотиком, что, в свою очередь, приводит к медленному высвобождению (или не приводит вовсе) оксазолидинона в цитоплазму.

В литературе на момент написания данного обзора представлено не так много работ по синтезу сидеромицинов, содержащих исключительно фенолятный сидерофор в структуре, что связано с низким процентом Fe(III), транспортируемого ими в бактериальные клетки.

Конъюгаты сидерофор-антибиотик, содержащие дигидропиридоновый фрагмент

В качестве конъюгатов сидерофор-антибиотик, синтезированных на основе синтетических хелаторов Fe(III), безусловно стоит отметить конъюгаты, содержащие дигидропиридоновый фрагмент, являющийся изо-стером катехолатных сидерофоров. В качестве таковых можно отметить МС-1 **61** [137, 138], BAL30072 **62** [116, 139, 140], MB-1 **63** [141] (Рисунок 27). Эти конъюгаты проявляют мощную антибактериальную активность в отношении продуцирующих бета-лактамазы штаммов Enterobacterales, *P. aeruginosa* и *S. maltophilia*.

В литературе [138, 142–144] показано, что монокарбам МС-1 **61** обладает широкой антибактериальной активностью в отношении многих грамотрицательных патогенов. Например, МПК МС-1 **61** в отношении множества штаммов *E. coli* варьируется от 0,06 до 0,25 мг/л [143]. МС-1 также оказался наиболее активным из всех тестируемых агентов в среде с низким содержанием железа в отношении штаммов *P. aeruginosa* с мутациями в пориновых белках (МПК **61** составляла 0,25–1 мг/л) [143]. В работе [138] осуществлен синтез и исследование антибактериальной активности конъюгата **61** в отношении *K. pneumoniae* 1000–02, *A. baumannii* АВ-3167, *P. aeruginosa* 1091-05 и некоторых его структурных аналогов для установления взаимосвязи структура-активность. Показано, что наличие заместителя у атома азота в триазольном кольце, способного к образованию водородных связей (гликолевый фрагмент),

является крайне важным параметром появления антибактериальной активности как *in vitro*, так и *in vivo*, предположительно из-за более высоких концентраций конъюгата, достигаемых в ткани легких. Стоит упомянуть, что введение небульемых алкильных заместителей в метиленовый фрагмент бета-лактама, является многообещающим направлением в разработке еще более активных по сравнению с МС-1 конъюгатов [138].

BAL30072 **62** представляет собой моносульфатам, конъюгированный с железохелатирующим дигидропиридоновым фрагментом (Рисунок 27). Его антибактериальную активность исследовали в сравнении с клинически используемыми в настоящее время антибиотиками. Конъюгат **62** показал высокую *in vitro* активность против *P. aeruginosa* (МПК₅₀ (**62**) = 2 мг/л), *Acinetobacter* spp. (МПК₅₀ (**62**) = 0,5 мг/л), *Providencia* spp. (МПК₅₀ (**62**) = 0,06 мг/л), *S. marcescens* (МПК₅₀ (**62**) = 2 мг/л), *Burkholderia* spp. (МПК₅₀ (**62**) = 0,06 мг/л), *S. maltophilia* (МПК₅₀ (**62**) = 0,5 мг/л), *Citrobacter freundii* (МПК₅₀ (**62**) = 4 мг/л), *K. aerogenes* (МПК₅₀ (**62**) = 0,5 мг/л), *Enterobacter cloacae* (МПК₅₀ (**62**) = 4 мг/л), *E. coli* (МПК₅₀ (**62**) = 1 мг/л), *Klebsiella oxytoca* (МПК₅₀ (**62**) = 0,125 мг/л), *K. pneumoniae* (МПК₅₀ (**62**) = 16 мг/л), *Proteus* spp. (МПК₅₀ (**62**) = 0,06 мг/л), что практически во всех случаях значительно превышало активность препаратов сравнения [145].

Конъюгат MB-1 **63** (Рисунок 27) обладает антибактериальной активностью *in vitro* против множества клинически важных родов бактерий, которая эквивалентна или превосходит активность существующих антибиотиков, в том числе цефалоспоринов, монобактамов, карбапенемов, хинолонов и аминогликозидов (значения МПК₅₀ для *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *S. marcescens*, *Proteus* spp., *S. maltophilia* составляли 0,06, 0,12, 1, 0,25, 0,25, 0,03, 0,06 мг/л соответственно) [146]. Авторы [146] отмечают четырехкратное улучшение активности конъюгата **63** в отношении *P. aeruginosa* по сравнению с меропенемом (МПК₉₀ (**63**) = 1 мг/л, МПК₉₀ (меропенем) = 4 мг/л), а также превосходную активность в отношении *S. maltophilia* по сравнению со всеми

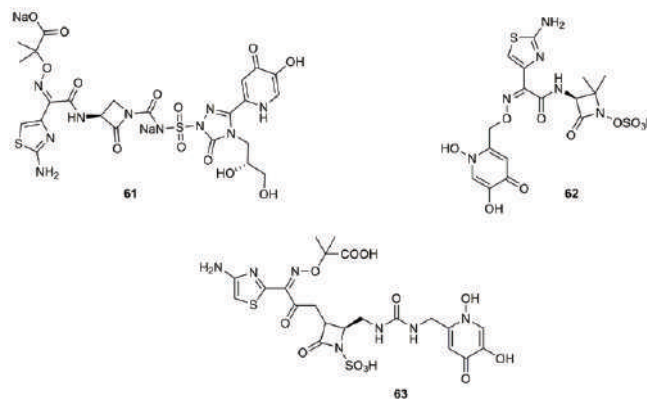


Рисунок 27. Структурная формула конъюгатов МС-1 **61**, BAL30072 **62**, MB-1 **63**

препаратами сравнения (МПК₉₀ (**63**) = 0,25 мг/л, МПК (препаратов сравнения) = 4-64 мг/л).

МС-1 **61**, МВ-1 **63** содержат объемные заместители, которые улучшают стабильность по отношению к бета-лактамазам, но основная часть этих заместителей предотвращает связывание с активным центром мишени РВРЗ, потому из вышеперечисленных препаратов лишь VAL30072 **62** дошел до стадии клинических испытаний, однако его разработка компанией Basilea Pharmaceutica была приостановлена на 1 фазе в связи с гепатотоксичностью, препятствовавшей достижению эффективной терапевтической дозы [115, 120, 147].

В качестве еще одного примера конъюгата сидерофор-антибиотик, содержащего железохелатирующий дигидроксопиридоновый фрагмент, стоит отметить GT-1 **64** [148, 149] (Рисунок 28).

Конъюгат **64** продемонстрировал МПК ≤ 2 мг/л *in vitro* в отношении множества изолятов с множественной устойчивостью, включая разнообразные изоляты *E. coli* и *K. pneumoniae*, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра, AmpC бета-лактамазы и карбапенемазы, а также изоляты *Acinetobacter* spp., продуцирующие бета-лактамазы класса ОХА [150]. Стоит отметить, что GT-1 **64** был более эффективен *in vitro* в отношении разнообразных клинических изолятов *P. aeruginosa* (МПК₅₀ (**64**) = 0,25 мг/л), *K. oxytoca* (МПК₅₀ (**64**) = 0,06 мг/л), *Proteus* spp. (МПК₅₀ (**64**) = 0,25–0,5 мг/л), *S. marcescens* (МПК₅₀ (**64**) = 2 мг/л) и *K. aerogenes* (МПК₅₀ (**64**) = 0,5 мг/л), чем цефтазидим, цефтриаксон и ципрофлоксацин [148]. В другой работе [151] были проведены исследования *in vivo*, которые показали, что эффективность лечения мышей, инфицированных *Yersinia pestis*, с помощью GT-1 **64** была ниже эффективности препарата сравнения – ципрофлоксацина (мыши, которые получали низкие дозы GT-1 погибали от инфекции на седьмой день, в случаях, когда мыши получали GT-1 в дозе 60 или 200 мг/кг, их выживаемость составляла 90%, в то время как выживаемость мышей, которые получали ципрофлоксацин в дозе 30 мг/кг, была 100%). В марте 2019 г. в Австралии было инициировано исследование I фазы препарата GT-1, но позднее данное исследование было остановлено в связи с гепатотоксичностью, препятствовавшей достижению эффективной терапевтической дозы [115, 152].

Согласно опубликованным данным по антибактериальной активности четырех конъюгатов: МС-1 **61**, VAL30072 **62**, МВ-1 **63**, GT-1 **64**, можно предположить,

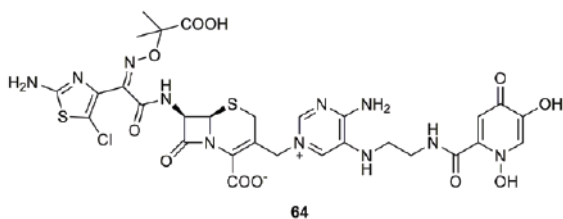


Рисунок 28. Структурная формула конъюгата GT-1 **64**

Чернышов В.В. и соавт.

Конъюгаты сидерофоров с антибиотиками

что использование биоизостеров природных сидерофоров, обладающих схожей хелатирующей способностью, является актуальным способом борьбы с антибиотико-резистентностью и требует дальнейших исследований, в том числе синтеза большого числа конъюгатов для установления четкой взаимосвязи структура-активность.

Конъюгаты сидерофор-антибиотик, содержащие сидерофорный фрагмент смешанного строения

Конъюгаты сидерофор-антибиотик могут распознаваться несколькими системами захвата сидерофоров, при условии что в одну и ту же молекулу включены разные функциональные группы, хелатирующие железо [76]. Руководствуясь этим, Ghosh A. и соавт. [95] разработаны и получены конъюгаты **65-68**, содержащие как катехолатные фрагменты, так и гидроксаматные (Рисунок 29). Авторы работы [95] вдохновились натуральным сидерофором смешанного строения фимсбактином А **69** (секретируемым *A. baumannii*) и синтезировали конъюгаты, сидерофорная часть которых была структурно схожа как с фимсбактином А **69**, так и с ранее упомянутым синтетическим сидерофором **41** (Рисунок 29).

Конъюгаты **65, 66** представляют собой модификации конъюгата **42**, упомянутого ранее. Соединения **67, 68** [153] отличались от соединений **65, 66** расположением гидроксаматной части сидерофора. В случае соединений **65, 66** гидроксаматная часть уходила в боковую цепь, а в случае соединений **67, 68** являлась связующей между антибиотиками и катехолатной частью сидерофора (Рисунок 29).

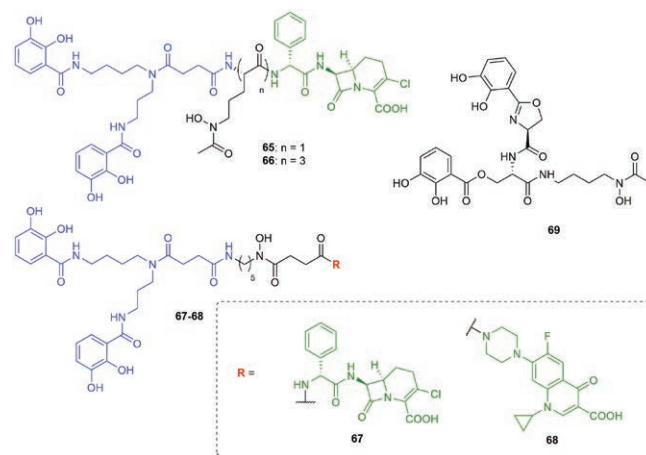


Рисунок 29. Структурные формулы конъюгатов **65-68**, фимсбактина А **69**. Катехолатная часть сидерофора в конъюгатах **65-68** выделена синим цветом (структурно идентичная таковой в конъюгате **42**); черным цветом обозначена гидроксаматная часть сидерофора в конъюгатах **65-68**; зеленым цветом – антибиотики в конъюгатах **65-68**, среди которых лоракарбеф (**65-67**), ципрофлоксацин (**68**); красным цветом обозначен фрагмент антибиотика в конъюгатах **67-68**

Антибактериальную активность полученных конъюгатов **65**, **66** тестировали *in vitro* в отношении ряда бактерий, препаратом сравнения выступал лоракарбеф [95]. Согласно исследованиям [95], конъюгат **65** обладает активностью *in vitro*, превышающей такую у препарата сравнения в отношении нескольких штаммов стафилококков: *S. aureus* X41 (МПК (**65**) = 4 мг/л, МПК (лоракарбеф) = 8 мг/л), X400 (МПК (**65**) = 8 мг/л, МПК (лоракарбеф) > 128 мг/л), S132 (МПК (**65**) = 4 мг/л, МПК (лоракарбеф) > 128 мг/л), *S. epidermidis* 270 (МПК (**65**) = 2 мг/л, МПК (лоракарбеф) = 4 мг/л). Но в некоторых случаях активность конъюгата **65** была в несколько раз хуже активности лоракарбефа [95]. Стоит отметить, что антибактериальная активность конъюгата **66** была в разы хуже, чем у конъюгата **65** и препарата сравнения, за исключением лишь активности в отношении *Streptococcus* A C203 (МПК (**65**) = 32 мг/л, МПК (**66**) = 4 мг/л, МПК (лоракарбеф) > 0,03 мг/л). Дополнительное исследование *in vitro* активности в отношении штамма *E. coli* X580 (лишенного белка наружной мембраны FhuA, отвечающего за транспорт гидроксаматных сидерофоров) конъюгатами **65**, **66**, показало, что конъюгат **65**, вероятнее всего, требует не только белка FhuA для транспорта конъюгата в бактериальную клетку, либо вообще не использует данный белок для проникновения. В то же время конъюгат **66**, обладающий гораздо большим размером относительно конъюгата **65**, вероятнее всего использует именно белок FhuA для транспорта в микробную клетку [95]. В работе Wępciewicz T. и соавт. [153] показано, что конъюгат **67** обладает умеренной антибактериальной активностью в отношении *S. aureus* SG 511 (МПК (**67**) = 32 мкМ), *E. coli* ATCC 25922 (МПК (**67**) = 8 мкМ), *A. baumannii* ATCC 17961 (МПК (**67**) = 0,125 мкМ), в то время как значения МПК препарата сравнения – лоракарбефа в отношении тех же клеточных линий составили 1, 2, 128 мкМ соответственно. Дополнительно сообщается, что в результате оценки антибактериальной активности конъюгата **67** с использованием микроразведений в бульоне с добавками железа и в условиях его дефицита, сидеромицин **67** показывал значения МПК 0,5 мкМ и 0,0078 мкМ, соответственно, в отношении *A. baumannii*. Активность конъюгата **67** авторы [153] объясняют его вероятной структурной схожестью с фимсбактином **А 69** и предполагают, что комплекс сидеромицина **67** с Fe(III) может иметь схожую структуру с комплексом сидерофор-Fe(III), а значит иметь схожие механизмы поглощения, что объяснило бы такую высокую чувствительность у данного вида бактерий. Интересно, что конъюгат ципрофлоксацина **68** был неактивен в отношении всех тестируемых штаммов, что свидетельствует о высоковероятном отсутствии транспорта конъюгата в цитоплазму бактериальных клеток, где находится ДНК-гираза (мишень фторхинолонов). На основании установленных закономерностей структура-активность, маловероятно, что модификация ципрофлоксацина уменьшила

его способность ингибировать ДНК-гиразу, поскольку положение C-7 фторхинолонового каркаса является наиболее оптимальным для введения объемных заместителей [153]. Также известно, что атом азота в ядре пиперазина может содержать ацильный или алкильный заместитель, что также не будет влиять на активность полученных производных. На основании аргументов, представленных в работе [153], можно с большой уверенностью предположить, что вероятнее всего, конъюгат **68** не был доставлен в цитоплазму бактериальных клеток.

В работе [154] в качестве основного структурного фрагмента выступал тот же синтетический сидерофор, что в вышеизложенной работе. С целью распространения спектра антибактериальной активности ванкомицина на грамотрицательные бактерии при условии сохранения его активности в отношении грамположительных бактерий [155] был осуществлен синтез конъюгатов **70**, **71**, содержащих катехолатный и катехолатно-гидроксаматный сидерофор соответственно (Рисунок 30).

В исследовании Ghosh M. и соавт. [154] проводилось сравнение антибактериальной активности конъюгатов **70**, **71** и ванкомицина в отношении *E. coli* X580, *E. coli* EC14, *P. aeruginosa* X620, *P. aeruginosa* X621, *S. aureus* X.1.1, *M. luteus*, как в условиях достаточного содержания железа, так и в условиях его дефицита. Согласно проведенному исследованию конъюгаты **70**, **71** обладают меньшей или сопоставимой антибактериальной активностью по сравнению с ванкомицином в отношении всех исследованных грамотрицательных (*E. coli* X580, *E. coli* EC14, *P. aeruginosa* X620, *P. aeruginosa* X621) и грамположительных (*S. aureus* X.1.1, *M. luteus*) штаммов. Лишь в одном случае конъюгат **70** обладал меньшей МПК, чем препарат сравнения (МПК (**70**) = 32 мг/л, МПК (ванкомицин) > 128 мг/л)

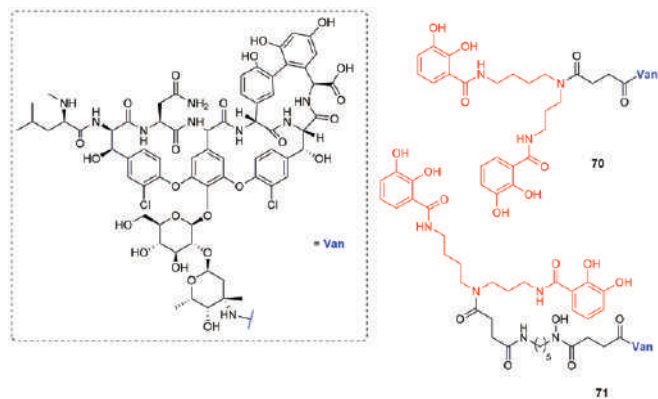


Рисунок 30. Структурные формулы конъюгатов **70**, **71**. Красным цветом обозначен катехолатная часть сидерофора, общая для конъюгатов **70**, **71**; черным цветом обозначен линкер между сидерофорной частью и ванкомицином (структура которого представлена в рамке, обозначен синим цветом), содержащий гидроксаматную часть (**71**) и нет (**70**)

в условиях дефицита железа – в отношении гиперчувствительного к антибиотикам *P. aeruginosa* X621.

Даптомицин – липопептидный антибиотик, специально используемый для лечения системных и опасных для жизни инфекций, вызванных грамположительными бактериями. Большой размер его молекулы и полианионное строение ограничивают его диффузию через внешнюю мембрану грамотрицательных бактерий [156, 157]. В работе [158] представлено получение конъюгата **72** даптомицина с катехолатным сидерофором **41**, направленным на проникновение внутрь клеток грамотрицательных бактерий (Рисунок 31).

Линкер, связывающий антибиотик и сидерофор, содержал дополнительную гидроксаматную группу. Результаты исследования антибактериальной активности *in vitro* конъюгата **72** показали селективную активность в отношении нескольких штаммов *A. baumannii*, в том числе с множественной лекарственной устойчивостью: ATCC 17961, ARC 3484, ARC 3486, ARC 5081 (МПК (**72**) = 0,4 мкМ), ATCC BAA 1710, ATCC BAA 1793, ATCC BAA 1797, ATCC BAA 1800, ARC 5079, ATCC 19606 (МПК (**72**) = 0,8 мкМ) [158]. В качестве препаратов сравнения использовались даптомицин и цiproфлоксацин, МПК которых в отношении штаммов *A. baumannii* ATCC 17961, *A. baumannii* ARC 3486 составляли более 100 и 25 мкМ соответственно. Переносимость конъюгата **72** *in vivo* определяли путем внутривенного введения в дозе 250 мг/кг мышам ICR, в результате которого не было обнаружено нежелательных побочных реакций. Предварительное исследование эффективности *in vivo* конъюгата **72** было проведено с использованием штамма *A. baumannii* ATCC 17961. Мышей инфицировали внутрибрюшинно *A. baumannii* ATCC 17961 и препарат вводили внутривенно через 30 мин. и 24 ч. после инфицирования. В качестве контроля вводили цiproфлоксацин в дозе 50 мг/кг и даптомицин в дозе 50 мг/кг, а конъюгат **72** вводили в дозах 25 мг/кг, 10 мг/кг и 5 мг/кг. Все мыши, получавшие даптомицин умерли через 1 день, в то время как выживаемость мышей, получавших конъюгат **72**, составила 80%, 80% и 20% (в случае дозировки 25 мг/кг, 10 мг/кг и 5 мг/кг соответственно). Полученные результаты свидетельствуют о том, что конъюгация сидерофоров с лекарственными препаратами, такими как даптомицин, которые гораздо больше по размеру, чем сидерофор, способствует активному поглощению бактериями, что позволяет обойти проблемы проницаемости у грамотрицательных бактерий. Авторы [158] считают, что успешный результат зависит от трех параметров: правильно выбранный сидерофор, верно выбранный антибиотик и правильный линкер, связывающий эти две части. Дополнительно авторы [158] отмечают, что дизайн синтетических сидеромицинов должен основываться не только на включении в структуру хелатирующих Fe(III) функциональных групп, но и на стехиометрии связывания железа, также как и на структурных аспектах координационной сферы железа, которые часто имеют

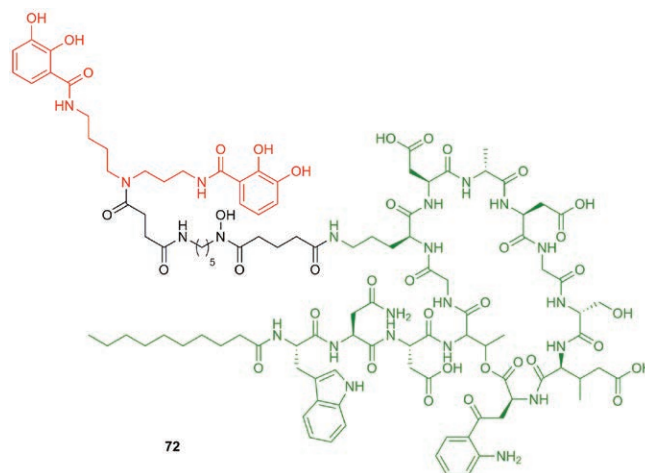


Рисунок 31. Структурная формула конъюгата даптомицин-сидерофор **72**. Красным цветом выделена катехолатная часть сидерофора; черным – гидроксаматная часть сидерофора; зеленым – замещенный даптомицин

решающее значение для распознавания клетками. Например, многие природные сидеромицины содержат три бидентатных лиганда для полной координации железа.

P. aeruginosa – грамотрицательная бактерия, распространенная в окружающей среде, например, в почве и воде, ставшая за последние несколько десятилетий важным патогеном, обладающим высокой антибиотикорезистентностью. Первичным сидерофором *P. aeruginosa* является пигмент пиовердин, содержащий хромофорную группу дигидроксиинолинового типа [159], хотя данная бактерия может использовать и ряд ксеносидерофоров. Различные штаммы *P. aeruginosa* очень избирательно распознают и используют один из трех типов (пиовердин I типа **73**, II типа – **74**) пиовердинов, структурно изомерных друг другу [160–162] (Рисунок 32).

В связи с актуальностью проблемы поиска способов борьбы с *P. aeruginosa* и специфичностью распознавания этой бактерией пиовердина в работе [163] были синтезированы два конъюгата пиовердин-ампициллин **75**, **76** (Рисунок 33) из синтетических аналогов пиовердинов первого и второго типа (Рисунок 32). В качестве линкера, связывающего сидерофор и ампициллин, была выбрана декандикарбоновая кислота, в надежде, что такой длинный и гибкий линкер не создаст стерических препятствий между модифицированным ампициллином и его целевой бактериальной транспептидазой, а также чтобы не повлиять на распознавание сидерофорной части внешней мембраной. Антибактериальная активность обоих конъюгатов в отношении двух штаммов *P. aeruginosa* ATCC 27853 и ATCC 15692 определялась методом разведений в агаре. В отличие от ампициллина, к которому *P. aeruginosa* природно устойчива, конъюгаты

75, **76** проявили ярко-выраженную антибактериальную активность (МПК (ATCC 15692, **75**) = 0,39 мкМ, МПК (ATCC 27853, **76**) = 0,024 мкМ). Как и ожидалось [163], конъюгаты полностью лишены антибактериальной активности против штаммов, которые не могут использовать исходные пиовердины для поглощения железа (МПК (ATCC 15692, **76**) > 100 мкМ, МПК (ATCC 27853, **75**) > 100 мкМ). Это говорит о том, что выбор пути захвата пиовердина имеет решающее значение для антибактериальной активности полученных конъюгатов [163].

Детальные исследования антибактериальной активности показали, что оба конъюгата **75**, **76** способны задерживать рост бактерий на 16 ч. и, в конечном итоге, приводить к отбору резистентных мутантов, более не чувствительных к конъюгатам. Авторы отмечают, что данные мутанты будут менее вирулентными из-за большей склонности к дефициту железа. Тем же авторским коллективом [164] получен конъюгат пиовердин-цефалексин **77**, в котором сидерофор и бета-лактамы сшиты путем конденсации гуанидинового фрагмента *L*-аргинина с соответствующим β-дикетоном, в результате чего был получен замещенный пиримидиновый цикл, который и являлся конечным линкером в целевом конъюгате (Рисунок 33).

В результате первоначальных биологических исследований антибактериальной активности конъюгата **77** в отношении *P. aeruginosa* ATCC 15692 методом диффузии в агар ингибирования роста бактерий не на-

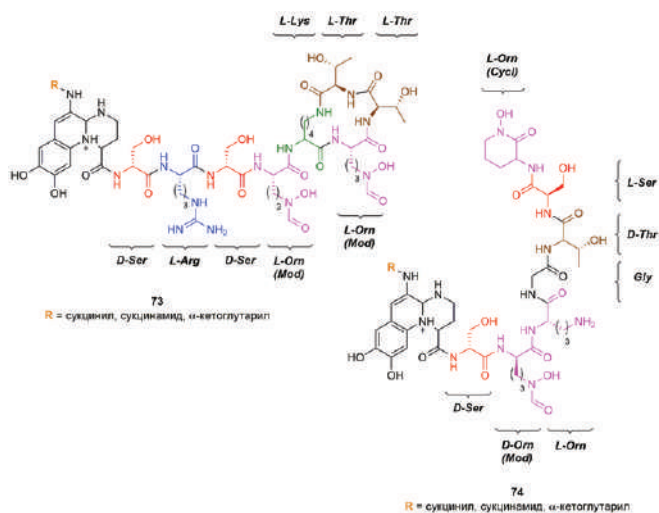


Рисунок 32. Структуры натуральных пиовердинов первого **73** и второго **74** типа. Разными цветами для удобного восприятия пептидной последовательности сидерофоров выделены аминокислотные остатки. Orn (Mod) – *N*-гидрокси-*N*-формилорнитин; *L*-Orn (Cycl) – *N*-гидроксициклоорнитин; оранжевым цветом выделена группа, которая может варьироваться (сукцинияльная, сукцинамидная или α-кетоглутариловая)

блюдалось. Причина отсутствия активности была исследована с помощью сравнительных исследований по стимуляции роста. При тяжелом дефиците железа, вызванном добавлением ED-DHA (этилендиамин-ди-(*o*-гидроксибензилуксусной) кислоты), рост *P. aeruginosa* значительно замедлялся. При добавлении пиовердина рост бактерий восстанавливался, как и в случае добавления конъюгата **77**, что указывает на способность сидеромицина действовать схожим с пиовердином образом. Следовательно, конъюгат **77** способен проникать в бактериальные клетки через путь поглощения пиовердина. Таким образом, авторы [164] считают, что отсутствие антибактериальной активности конъюгата **77** связано с отсутствием активности его антибиотической части. Также отсутствие активности конъюгата **77** может быть связано с отсутствием гидролиза линкера, соединяющего антибиотическую часть и сидерофор, вследствие которого создаются стерические затруднения, мешающие антибиотику скоординироваться к необходимой мишени.

В работе [131] сообщается о синтезе и антибактериальной активности конъюгатов **78a-d** пиовердина первого типа R = III, содержащего сукцинияльный заместитель в дигидроксихинолиновом фрагменте сидерофора, с хинолоновыми антибиотиками – норфлоксацином R₁ = I и бензонафтиридоном R₁ = II (Рисунок 34). Линкер связывает антибиотики и сидерофор с помощью амидных связей с обоими фрагментами, образуя соединения **78a-d** (Рисунок 34).

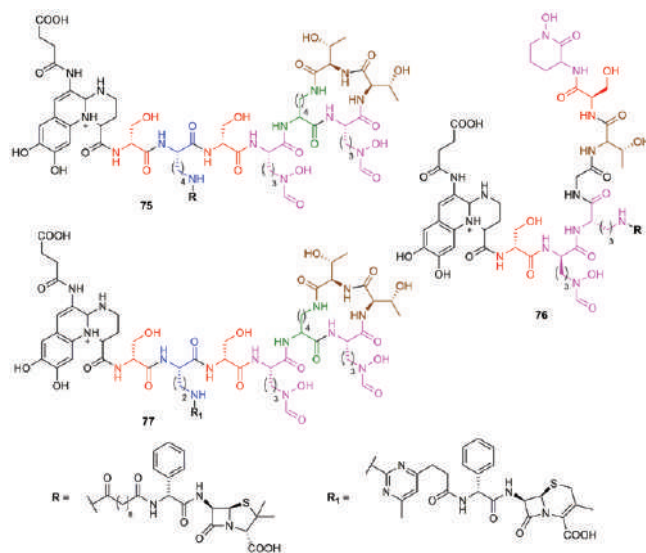


Рисунок 33. Структуры синтезированных конъюгатов пиовердин-антибиотик **75-77**: пиовердин I-ампициллин, пиовердин II-ампициллин, пиовердин I-цефалексин соответственно. Разными цветами для удобного восприятия пептидной последовательности сидерофоров выделены аминокислотные остатки. Заместители **R** и **R₁** – модифицированные линкерами антибиотики пиовердин и цефалексин соответственно

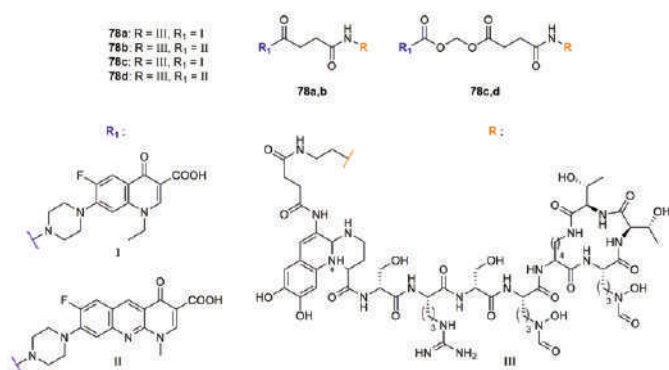


Рисунок 34. Структуры синтезированных конъюгатов пиовердин-хинолоны **78a-d**. Заместители **R** и **R₁** – сидерофорная часть и остов антибиотика соответственно

В случае конъюгатов **78c-d** линкер был метилendioксисодержащим, который, как ожидалось [131], должен легче гидролизироваться в цитоплазме бактериальных клеток. Для изучения свойств конъюгатов в отношении мишени антибиотика были проведены тесты на ингибирование гиразы *E. coli*, выбор на которую пал в связи с тем, что она является мишенью хинолонов как у *E. coli*, так и у *P. aeruginosa*.

Активность в отношении гиразы исследовалась тестом ингибирования отрицательной суперспирализации релаксированной ДНК. В присутствии кольцевой двухцепочечной релаксированной ДНК гираза индуцирует отрицательные суперспирали, которые не образуются в присутствии ингибиторов гиразы. Согласно полученным результатам, конъюгаты **78a-d** в 12,5-50 раз менее активны, чем антибиотик, не связанный с сидерофором. Авторы [131] объясняют это наличием объемного сидерофора в структуре, создающего стерические препятствия. Анализ транспорта пиовердин-хинолоновых конъюгатов **78a-d** на штаммах *P. aeruginosa* ATCC 15692, IA1 (мутанты, неспособные к секреции пиовердина) показал, что все полученные конъюгаты транспортируют железо в бактериальные клетки с небольшими кинетическими различиями. В то же время GrvA-дефицитный штамм *P. aeruginosa* K690, который не продуцирует рецептор наружной мембраны пиовердина, показал полное отсутствие транспорта железа в присутствии тех же конъюгатов, что может говорить лишь о том, что транспорт железа осуществляется именно через рецептор GrvA. Исследования антибактериальной активности конъюгатов **78a-d** проводили либо в твердой среде (приготовленной в среде Мюллера-Хинтона или в сукцинатной), а также в растворе в отношении вышеупомянутых штаммов *P. aeruginosa*. Согласно полученным результатам, конъюгаты норфлоксацина ингибировали рост всех исследуемых штаммов в несколько раз хуже, чем норфлоксацин, равно, как и бензонафтиридон. Конъюгаты бензонафтиридона в большинстве случаев были также гораздо менее активны, чем исходный не-

конъюгированный антибиотик, за исключением более низких ингибирующих концентраций конъюгата **78d** в отношении штаммов *P. aeruginosa* ATCC15692 (сукцинатная среда, МПК (**78d**) = 1 мг/л, МПК (бензонафтиридон) = 4 мг/л, МПК (норфлоксацин) = 0,06 мг/л), IA1 (сукцинатная среда, МПК (**78d**) = 1 мг/л, МПК (бензонафтиридон) = 16 мг/л, МПК (норфлоксацин) = 0,03 мг/л), K690 (сукцинатная среда, МПК (**78d**) = 8 мг/л, МПК (бензонафтиридон) = 16 мг/л, МПК (норфлоксацин) = 4 мг/л). Более слабую активность полученных соединений авторы [131] объяснили следствием либо стерических затруднений, которые создает громоздкий пиовердин в конъюгатах **78a-d**, либо следствием отсутствия накопления пиовердина внутри клетки после высвобождения железа, что, в свою очередь, вызывает недостаточно быстрое высвобождение антибиотика и его частичное выведение из бактериальной клетки в конъюгированном виде. Также авторы [131] не исключают, что низкая антибактериальная активность конъюгатов **78c, 78d**, содержащих легко гидролизующийся линкер может быть вызвана его неспецифическим гидролизом и, следовательно, высвобождением хинолона из конъюгата, до попадания конъюгата в бактериальную клетку.

Как было упомянуто ранее, существует ряд структурно похожих сидерофоров, секретируемых *M. tuberculosis*, с общим названием микобактины, например, микобактин Т **18a** (Рисунок 35). Так, авторы [165] синтезировали конъюгат микобактин-артемизинин **80** с ярко-выраженной противотуберкулезной активностью (Рисунок 35).

Авторы [165] получили синтетический аналог микобактина со свободной аминогруппой, которая далее была использована для конъюгирования с артемизинином **79** [166], в результате чего был получен конъюгат **80**. Примечательно, что сам по себе артемизинин **79** не обладает противотуберкулезной активностью [167].

Показано, что конъюгат **80** обладает противотуберкулезной активностью (МПК (*M. tuberculosis*

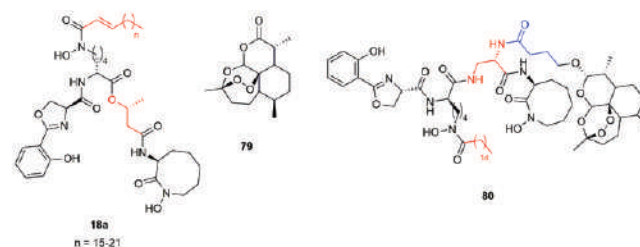


Рисунок 35. Структурные формулы микобактина Т **18a**, артемизинина **79**, конъюгата артемизинина с аналогом микобактина Т **80**. Красным цветом в структурах **18a** и **80** выделены те части, которые отличаются в натуральном микобактине Т и его синтетическом аналоге; синим цветом в структуре **80** выделен линкер, связывающий сидерофор с антибиотиком

H37Rv, **80**) = 0,39 мг/л), в том числе и в отношении штаммов с множественной лекарственной устойчивостью (показатели МПК варьируются от 0,16 мг/л до 1,25 мг/л) и даже штаммов с широкой лекарственной устойчивостью (показатели МПК варьируются от 0,078 мг/л до 0,625 мг/л) [165]. Поскольку конъюгат **80** обладал селективностью в отношении *M. tuberculosis* из-за четкого распознавания микобактина T, в отношении других бактерий (в том числе грамположительных *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* SG511 и грамотрицательных *S. marcescens* SG621, *K. pneumoniae* ATCC 10031, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* KW799/WT, KW799/61, SG137, ATCC 27853, *S. maltophilia* GN12873) антибактериальной активности не наблюдалось [165].

В связи с полученными результатами антибактериальной активности конъюгата **80** авторы [165] предположили, что высокая активность синтетического сидеромицина **80** может быть связана с восстановлением связанного трехвалентного железа в двухвалентное и возникновением химических реакций наподобие реакции Фентона (реакция ионов Fe^{2+} с пероксидом водорода). То есть, после высвобождения ионов железа Fe^{2+} может происходить взаимодействие ионов металла с пероксидным мостиком (ROOR), в результате которой может произойти образование ионов Fe^{3+} и $RO\cdot$, $RO\bullet$ (последние две частицы находятся в составе одной молекулы). В результате подобных превращений произойдет накопление свободных радикалов в бактериальной клетке, которые могут вызвать внутриклеточные повреждения. Для подтверждения выдвинутой гипотезы авторы [165] подвергали промытые и обработанные конъюгатом **80** бактериальные клетки воздействию гидроксибензилфлуоресцеина, который способен окисляться гидроксильными радикалами с образованием флуоресцентного производного. Как и ожидалось, конъюгат **80** приводил к образованию радикалов в течение 3 ч. после обработки клеток, что было показано с использованием вышеупомянутого эксперимента. Дополнительно авторы [165] сообщают, что рифампицин – ингибитор транскрипции и бактерицидный противотуберкулезный препарат, демонстрировал уровни высвобождения гидроксильных радикалов ниже в два раза и более.

Концептуально можно ожидать, что сидеромицины, содержащие сидерофорный фрагмент смешанного строения должны показывать высокую антибактериальную активность в связи с их способностью проникать в бактериальные клетки за счет узнаваемости различными рецепторами. Однако не всегда теоретические ожидания совпадают с реальностью, в связи с чем лишь отдельные представители подобных сидеромицинов обладают умеренными показателями антибактериальной активности. Таким образом, утверждать, что сидеромицины, содержащие сидерофор смешанного типа в своей структуре, в разы перспективнее сидеромицинов другой структуры, в настоящее время не представляется возможным.

Заключение

В настоящее время антибиотикорезистентность является ключевой проблемой лечения инфекционных патологий. Разработка антибактериальных препаратов, работающих по механизму «Троянского коня», является одним из перспективных вариантов решения данной проблемы. В данном обзоре были рассмотрены достижения в области синтеза и исследования антибактериальной активности конъюгатов сидерофор-антибиотик, содержащих как натуральные (секретируемые бактериями) железохелатирующие фрагменты, так и синтетические.

Введение в молекулу антибиотика железохелатирующего заместителя облегчает проникновение антибиотика в бактериальную клетку, что обеспечивает доставку антибиотика в связанной с сидерофором форме в бактериальную цитоплазму, что в свою очередь приводит к достижению высокой концентрации антибиотика у предполагаемой мишени. Стоит при этом учитывать, что любой живой организм не только уникален, но еще и мало предсказуем, в связи с чем на момент написания обзора, нет четкой взаимосвязи между типом конъюгата (или типом сидерофора, входящего в состав сидеромицина) и уровнем его антибактериальной активности *in vitro* и *in vivo*. Существует острая необходимость синтеза библиотек подобных конъюгатов и исследования взаимосвязи структура-активность, поскольку на данный момент нет достаточных данных для планирования направленного синтеза сидеромицинов с заданными фармакологическими свойствами. В пользу этого также свидетельствует факт, что лишь один сидеромицин – цефидерокол одобрен к применению, в то время как его структурные аналоги либо не прошли клинических испытаний, либо вообще не показывают антибактериальной активности.

На основании проведенного анализа литературы можно сформулировать некоторые направления для развития исследований по данной тематике. В обозримом будущем, вероятно, будут расширяться библиотеки синтетических конъюгатов сидерофор-антибиотик различного строения за счет варьирования как антибактериально активной части, так и сидерофорной части с линкером, связывающим два фрагмента сидеромицина. Варьирование линкера необходимо, так как нет четкого понимания, какой линкер лучше использовать для связывания железохелатирующей части и антибиотика, чтобы он не разрушался до внедрения в бактериальную цитоплазму, но разрушался после, а также, чтобы побочные продукты его расщепления негативно не сказывались на активности всего сидеромицина. Вероятно, большие усилия будут прикладываться в области разработки синтетических аналогов природных сидерофоров, содержащих лишь железохелатирующий фрагмент, поскольку не обязательно использовать весь сидерофор для доставки антибиотика в бактериальную клетку. Конъюгаты, полученные таким образом, вероятно, будут обладать высокими показателями антибактериальной активности в

связи с их меньшим размером, что играет не последнюю роль в проникновении в бактериальные клетки. Наиболее активно будет развиваться синтез сидеромицинов, содержащих катехолатный, гидроксаматный или биоизостерные им фрагменты, которые будут отвечать за хелатирование Fe(III), что связано с тем, что именно сидеромицины подобного строения, обладают наивысшими константами связывания с Fe(III), что немаловажно для повышения эффективности транспорта антибиотика внутрь бактерий.

Благодарность

Авторский коллектив выражает свою благодарность к.м.н. Дехничу Андрею Владимировичу, к.б.н. Эйдельштейну Михаилу Владимировичу, к.х.н. Миндичу Алексею Леонидовичу за помощь в создании настоящего обзора.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение No. 075-10-2021-113, уникальный идентификатор проекта RF----193021X0001).

Литература

- Hider R.C., Kong X. Chemistry and biology of siderophores. *Nat Prod Rep.* 2010;27(5):637-657. DOI: 10.1039/b906679a
- Zughaier S.M., Cornelis P. Editorial: role of iron in bacterial pathogenesis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018;8:344. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00344
- Dertz E.A., Raymond K.N. Siderophores and transferrins. *Comprehensive coordination chemistry II.* 2003;8:141-168. DOI: 10.1016/B0-08-043748-6/08175-5
- D.J. Raines, T.J. Sanderson, E.J. Wilde, A.-K. Duhme-Klair. Siderophores, Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering, Elsevier, 2015. DOI: 10.1016/B978-0-12-409547-2.11040-6
- Neilands J.B. Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. *J Biol Chem.* 1995;270(45):26723-26726. DOI: 10.1074/jbc.270.45.26723
- Holden V.I., Bachman M.A. Diverging roles of bacterial siderophores during infection. *Metallomics.* 2015;7(6):986-995. DOI: 10.1039/C4MT00333K
- Peleg A.Y., de Bрей A., Adams M.D., Cerqueira G.M., Mocali S., Galardini M., et al. The success of *Acinetobacter* species; genetic, metabolic and virulence attributes. *PLoS One.* 2012;7(10):e46984. DOI: 10.1371/journal.pone.0046984
- Crumbliss A.L., Harrington J.M. Iron sequestration by small molecules: thermodynamic and kinetic studies of natural siderophores and synthetic model compounds. *Adv Inorg Chem.* 2009;61:179-250. DOI: 10.1016/S0898-8838(09)00204-9
- Ratledge C., Dover L.G. Iron metabolism in pathogenic bacteria. *Ann Rev Microbiol.* 2000;54(1):881-941. DOI: 10.1146/annurev.micro.54.1.881
- Ho Y.N., Lee H.J., Hsieh C.T., Peng C.C., Yang Y.L. Chemistry and biology of salicyl-capped siderophores. *Stud Nat Prod Chem.* 2018;59:431-490. DOI: 10.1016/B978-0-444-64179-3.00013-X
- Swayambhu G., Bruno M., Gulick A.M., Pfeifer B.A. Siderophore natural products as pharmaceutical agents. *Curr Opin Biotechnol.* 2021;69:242-251. DOI: 10.1016/j.copbio.2021.01.021
- Raymond K.N., Dertz E.A., Kim S.S. Enterobactin: an archetype for microbial iron transport. *PNAS.* 2003;100(7):3584-3588. DOI: 10.1073/pnas.0630018100
- Al Shaer D., Al Musaimi O., de la Torre B.G., Albericio F. Hydroxamate siderophores: natural occurrence, chemical synthesis, iron binding affinity and use as Trojan horses against pathogens. *Eur J Med Chem.* 2020;208:112791. DOI: 10.1016/j.ejmech.2020.112791
- Sajeed Ali S., Vidhale N. Bacterial siderophore and their application: a review. *Int J Curr Microbiol App Sci.* 2013;2(12):303-312.
- Fan D., Fang Q. Siderophores for medical applications: imaging, sensors, and therapeutics. *Int J Pharm.* 2021;597:120306. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2021.120306
- Miethke M., Marahiel M.A. Siderophore-based iron acquisition and pathogen control. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2007;71(3):413-451. DOI: 10.1128/mmbr.00012-07
- Fiedler H.P., Krastel P., Muller J., Gebhardt K., Zeeck A. Enterobactin: the characteristic catecholate siderophore of Enterobacteriaceae is produced by *Streptomyces* species. *FEMS Microbiol Lett.* 2001;196(2):147-151. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2001.tb10556.x
- May J.J., Wendrich T.M., Marahiel M.A. The *dhb* operon of *Bacillus subtilis* encodes the biosynthetic template for the catecholic siderophore 2,3-dihydroxybenzoate-glycine-threonine trimeric ester bacillibactin. *J Biol Chem.* 2001;276(10):7209-7217. DOI: 10.1074/jbc.M009140200
- Telford J.R., Raymond K.N. Amonabactin: a family of novel siderophores from a pathogenic bacterium. *J Biol Inorg Chem.* 1997;2(6):750-761. DOI: 10.1007/s007750050191
- Adolphs M., Taraz K., Budzikiewicz H. Catecholate siderophores from *Chryseomonas luteola*. *Zeitschrift für Naturforschung C.* 1996;51c:281-285. DOI: 10.1515/znc-1996-5-603

21. Ehlert G., Taraz K., Budzikiewicz H. Serratiochelin, a new catecholate siderophore from *Serratia marcescens*. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 1994;49c:11-17. DOI: 10.1515/znc-1994-1-203
22. Barelmann I., Taraza K., Budzikiewicz H., Meyer J.M. Cepaciachelin, a new catecholate siderophore from *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia*. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 1996;51c:627-630. DOI: 10.1515/znc-1996-9-1004
23. Bergeron R.J., Weimar W.R., Dionis J.B. Demonstration of ferric L-parabactin-binding activity in the outer membrane of *Paracoccus denitrificans*. *J Bacteriol*. 1988;170(8):3711-3717. DOI: 10.1128/jb.170.8.3711-3717.1988
24. Baramov T., Schmid B., Ryu H., Jeong J., Keijzer K., von Eckardstein L., et al. How many O-donor groups in enterobactin does it take to bind a metal cation? *Chem Eur J*. 2019;25(28):6955-6962. DOI: 10.1002/chem.201900453
25. Ballas S.K., Zeidan A.M., Duong V.H., DeVeaux M., Heeney M.M. The effect of iron chelation therapy on overall survival in sickle cell disease and β -thalassemia: a systematic review. *Am J Hematol*. 2018;93(7):943-952. DOI: 10.1002/ajh.25103
26. Merlot A.M., Kalinowski D.S., Richardson D.R. Novel chelators for cancer treatment: where are we now? *Antioxid Redox Signal*. 2013;18(8):973-1006. DOI: 10.1089/ars.2012.4540
27. Pawlaczyk M., Schroeder G. Deferoxamine-modified hybrid materials for direct chelation of Fe(III) ions from aqueous solutions and indication of the competitiveness of *in vitro* complexing toward a biological system. *ACS Omega*. 2021;6(23):15168-15181. DOI: 10.1021/acsomega.1c01411
28. Carver P.L. The battle for iron between humans and microbes. *Curr Med Chem*. 2018;25(1):85-96. DOI: 10.2174/0929867324666170720110049
29. Dhungana S., White P.S., Crumbliss A.L. Crystal structure of ferrioxamine B: a comparative analysis and implications for molecular recognition. *J Biol Inorg Chem*. 2001;6(8):810-818. DOI: 10.1007/s007750100259
30. Van der Helm D., Poling M. The Crystal structure of ferrioxamine E. *J Am Chem Soc*. 1976;98(1):82-86. DOI: 10.1021/ja00417a014
31. Bergeron R.J., Xin M., Smith R.E., Wollenweber M., McManis J.S., Ludin C., et al. Total synthesis of rhizoferrin, an iron chelator. *Tetrahedron*. 1997;53(2):427-434. DOI: 10.1016/S0040-4020(96)01061-7
32. Drechsel H., Metzger J., Freund S., Jung G., Boelaert J.R., Winkelmann G. Rhizoferrin – a novel siderophore from the fungus *Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformis*. *Biol Metals*. 1991;4(4):238-243. DOI: 10.1007/BF01141187
33. Münzinger M., Taraz K., Budzikiewicz H., Drechsel H., Heymann P., Winkelmann G., et al. S,S-rhizoferrin (*enantiomer*) – a siderophore of *Ralstonia (Pseudomonas) pickettii* DSM 6297 – the optical antipode of R,R-rhizoferrin isolated from fungi. *BioMetals*. 1999;12(2):189-193. DOI: 10.1023/a:1009259118034
34. Konetschny-Rapp S., Jung G., Meiwes J., Zahner H. Staphyloferrin A: a structurally new siderophore from staphylococci. *Eur J Biochem*. 1990;191(1):65-74. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1990.tb19094.x
35. Cheung J., Beasley F.C., Liu S., Lajoie G.A., Heinrichs D.E. Molecular characterization of staphyloferrin B biosynthesis in *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol*. 2009;74(3):594-608. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2009.06880.x
36. Madsen J.L.H., Johnstone T.C., Nolan E.M. Chemical synthesis of staphyloferrin B affords insight into the molecular structure, iron chelation, and biological activity of a polycarboxylate siderophore deployed by the human pathogen *Staphylococcus aureus*. *J Am Chem Soc*. 2015;137(28):9117-9127. DOI: 10.1021/jacs.5b04557
37. Marchetti M., De Bei O., Bettati S., Campanini B., Kovachka S., Gianquinto E., et al. Iron metabolism at the interface between host and pathogen: from nutritional immunity to antibacterial development. *Int J Mol Sci*. 2020;21(6):2145. DOI: 10.3390/ijms21062145
38. Miller M.C., Parkin S., Fetherston J.D., Perry R.D., DeMoll E. Crystal structure of ferric-yersiniabactin, a virulence factor of *Yersinia pestis*. *J Inorg Biochem*. 2006;100(9):1495-1500. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2006.04.007
39. Steel A.D., Keohane C.E., Knouse K.W., Rossiter S.E., Williams S.J., Wuest W.M. Diverted total synthesis of promosalin analogs demonstrates that an iron-binding motif is responsible for its narrow-spectrum antibacterial activity. *J Am Chem Soc*. 2016;138(18):5833-5836. DOI: 10.1021/jacs.6b03373
40. Bose P., Harit A.K., Das R., Sau S., Iyer A.K., Kashaw S.K. Tuberculosis: current scenario, drug targets, and future prospects. *Med Chem Res*. 2021;30(4):807-833. DOI: 10.1007/s00044-020-02691-5
41. Schwartz B.D., De Voss J.J. Structure and absolute configuration of mycobactin J. *Tetrahedron Lett*. 2001;42(21):3653-3655. DOI: 10.1016/S0040-4039(01)00531-7
42. Arshad M. 1,3,4-Oxadiazole nucleus with versatile pharmacological applications: a review. *Int J Pharm Sci Res*. 2014;5:1124-1137. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.5(4).1000-13
43. Parikh P.H., Timaniya J.B., Patel M.J., Patel K.P. Design, synthesis, and characterization of novel substituted 1,2,4-oxadiazole and their biological broadcast. *Med Chem Res*. 2020;29:538-548. DOI: 10.1007/s00044-020-02505-8
44. Bhoi M.N., Borad M.A., Jethava D.J., Acharya P.T., Pithawala E.A., Patel C.N., et al. Synthesis, biological evaluation and computational study of novel isoniazid containing 4*H*-Pyrimido[2,1-*b*]benzothiazoles derivatives. *Eur J Med Chem*. 2019;177:12-31. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.05.028

45. Krátký M., Bösze S., Baranyai Z., Stolaříková J., Vinšová J. Synthesis and biological evolution of hydrazones derived from 4-(trifluoromethyl)benzohydrazide. *Bioorg Med Chem Lett.* 2017;27(23):5185-5189. DOI: 10.1016/j.bmcl.2017.10.050
46. Wilson B.R., Bogdan A.R., Miyazawa M., Hashimoto K., Tsuji Y. Siderophores in iron metabolism: from mechanism to therapy potential. *Trends Mol Med.* 2016;22(12):1077-1090. DOI: 10.1016/j.molmed.2016.10.005
47. Leventhal G.E., Ackermann M., Schiessl K.T. Why microbes secrete molecules to modify their environment: the case of iron-chelating siderophores. *J R Soc Interface.* 2019;16(150):20180674. DOI: 10.1098/rsif.2018.0674
48. Caza M., Lépine F., Dozois C.M. Secretion, but not overall synthesis, of catecholate siderophores contributes to virulence of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Mol Microbiol.* 2011;80(1):266-282. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2011.07570.x
49. Klebba P.E., Newton S.M.C., Six D.A., Kumar A., Yang T., Nairn B.L., et al. Iron acquisition systems of gram-negative bacterial pathogens define TonB-dependent pathways to novel antibiotics. *Chem Rev.* 2021;121(9):5193-5239. DOI: 10.1021/acs.chemrev.0c01005
50. Dhungana S., Anderson D.S., Mietzner T.A., Crumbliss A.L. Kinetics of iron release from ferric binding protein (FbpA): mechanistic implications in bacterial periplasm-to-cytosol Fe³⁺ transport. *Biochemistry.* 2005;44(28):9606-9618. DOI: 10.1021/bi0505518
51. Creutz C. Complexities of ascorbate as a reducing agent. *Inorg Chem.* 1981;20(12):4449-4452. DOI: 10.1021/ic50226a088
52. Millis K.K., Weaver K.H., Rabenstein D.L. Oxidation/reduction potential of glutathione. *J Org Chem.* 1993;58(15):4144-4146. DOI: 10.1021/jo00067a060
53. Matzanke B.F., Anemüller S., Schünemann V., Trautwein A.X., Hantke K. FhuF, part of a siderophore-reductase system. *Biochemistry.* 2004;43(5):1386-1392. DOI: 10.1021/bi0357661
54. Hartmann A., Braun V. Iron transport in *Escherichia coli*: uptake and modification of ferrichrome. *J Bacteriol.* 1980;143(1):246-255. DOI: 10.1128/jb.143.1.246-255.1980
55. Capela D., Barloy-Hubler F., Gouzy J., Bothe G., Ampe F., Batut J., et al. Analysis of the chromosome sequence of the legume symbiont *Sinorhizobium meliloti* strain 1021. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;98(17):9877-9882. DOI: 10.1073/pnas.161294398
56. Llamas M.A., Sparrius M., Kloet R., Jiménez C.R., Vandenbroucke-Grauls C., Bitter W. The heterologous siderophores ferrioxamine B and ferrichrome activate signaling pathways in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol.* 2006;188(5):1882-1891. DOI: 10.1128/JB.188.5.1882-1891.2006
57. Harrington J.M., Crumbliss A.L. The redox hypothesis in siderophore-mediated iron uptake. *BioMetals.* 2009;22(4):679-689. DOI: 10.1007/s10534-009-9233-4
58. Mies K.A., Wirgau J.I., Crumbliss A.L. Ternary complex formation facilitates a redox mechanism for iron release from a siderophore. *BioMetals.* 2006;19(2):115-126. DOI: 10.1007/s10534-005-4342-1
59. Khasheii B., Mahmoodi P., Mohammadzadeh A. Siderophores: importance in bacterial pathogenesis and applications in medicine and industry. *Microbiol Res.* 2021;250:126790. DOI: 10.1016/j.micres.2021.126790
60. Ji C., Juárez-Hernández R.E., Miller M.J. Exploiting bacterial iron acquisition: siderophore conjugates. *Future Med Chem.* 2012;4(3):297-313. DOI: 10.4155/fmc.11.191
61. Braun V., Pramanik A., Gwinner T., Köberle M., Bohn E. Sideromycins: tools and antibiotics. *BioMetals.* 2009;22(1):3-13. DOI: 10.1007/s10534-008-9199-7
62. Cheng A.V., Wuest, W.M. Signed, sealed, delivered: conjugate and prodrug strategies as targeted delivery vectors for antibiotics. *ACS Infect Dis.* 2019;5(6):816-828. DOI: 10.1021/acsinfecdis.9b00019
63. Górska A., Sloderbach A., Marszałt M.P. Siderophore-drug complexes: potential medicinal applications of the 'Trojan horse' strategy. *Trends Pharmacol Sci.* 2014;35(9):442-449. DOI: 10.1016/j.tips.2014.06.007
64. Michailidou F., Burnett D., Sharma S.V., Van Lanen S.G., Goss R.J.M. Natural products incorporating pyrimidine nucleosides. Reference module in chemistry, molecular sciences and chemical engineering. 2020;2:500-536. DOI: 10.1016/b978-0-12-409547-2.14797-3
65. Drawz S.M., Bonomo R.A. Three decades of β -lactamase inhibitors. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23(1):160-201. DOI: 10.1128/CMR.00037-09
66. Hartmann A., Fiedler H.P., Braun V. Uptake and conversion of the antibiotic albomycin by *Escherichia coli* K-12. *Eur J Biochem.* 1979;99(3):517-524. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1979.tb13283.x
67. Braun V., Günthner K., Hantke K., Zimmermann L. Intracellular activation of albomycin in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *J Bacteriol.* 1983;156(1):308-315. DOI: 10.1128/jb.156.1.308-315.1983
68. Duquesne S., Destoumieux-Garzón D., Peduzzi J., Rebuffat S. Microcins, gene-encoded antibacterial peptides from enterobacteria. *Nat Prod Rep.* 2007;24(4):708-734. DOI: 10.1039/b516237h
69. Nolan E.M., Walsh C.T. Investigations of the McelI-catalyzed posttranslational modification of the microcin E492 C-terminus: linkage of ribosomal and nonribosomal peptides to form "Trojan Horse" antibiotics. *Biochemistry.* 2008;47(35):9289-9299. DOI: 10.1021/bi800826j
70. Vértesy L., Aretz W., Fehlhaber H.W., Kogler H. Salmycin A-D, antibiotika aus *Streptomyces violaceus*,

- DSM 8286, mit siderophor-aminoglycosid-struktur. *Helv Chim Acta*. 1995;78(1):46-60. DOI: 10.1002/hlca.19950780105
71. Szebesczyk A., Olshvang E., Shanzer A., Carver P.L., Gumienna-Kontecka E. Harnessing the power of fungal siderophores for the imaging and treatment of human diseases. *Coord Chem Rev*. 2016;327-328:84-109. DOI: 10.1016/j.ccr.2016.05.001
72. Roosenberg J.M., Miller M.J. Total synthesis of the siderophore danoxamine. *J Org Chem*. 2000;65(16):4833-4838. DOI: 10.1021/jo000050m
73. Dong L., Roosenberg J.M., Miller M.J. Total synthesis of desferrisalmycin B. *J Am Chem Soc*. 2002;124(50):15001-15005. DOI: 10.1021/ja028386w
74. Carrano C.J., Raymond K.N. Ferric ion sequestering agents. Kinetics and mechanism of iron removal from transferrin by enterobactin and synthetic tricatechols. *J Am Chem Soc*. 1979;101(18):5401-5404. DOI: 10.1021/ja00512a047
75. Karpishin T.B., Raymond K.N. The first structural characterization of a metal-enterobactin complex: $[V(\text{enterobactin})]^{2-}$. *Angew Chem Int Ed Engl*. 1992;31(4):466-468. DOI: 10.1002/anie.199204661
76. Kong H., Cheng W., Wei H., Yuan Y., Yang Z., Zhang X. An overview of recent progress in siderophore-antibiotic conjugates. *Eur J Med Chem*. 2019;182:111615. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.111615
77. Zheng T., Bullock J.L., Nolan E.M. Siderophore-mediated cargo delivery to the cytoplasm of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*: syntheses of monofunctionalized enterobactin scaffolds and evaluation of enterobactin-cargo conjugate uptake. *J Am Chem Soc*. 2012;134(44):18388-18400. DOI: 10.1021/ja3077268
78. Zheng T., Nolan E.M. Enterobactin-mediated delivery of β -lactam antibiotics enhances antibacterial activity against pathogenic *Escherichia coli*. *J Am Chem Soc*. 2014;136(27):9677-9691. DOI: 10.1021/ja503911p
79. Negash K.H., Norris J.K.S., Hodgkinson J.T. Siderophore-antibiotic conjugate design: new drugs for bad bugs? *Molecules*. 2019;24(18):3314. DOI: 10.3390/molecules24183314
80. Chairatana P., Zheng T., Nolan E.M. Targeting virulence: salmochelin modification tunes the antibacterial activity spectrum of β -lactams for pathogen-selective killing of *Escherichia coli*. *Chem Sci*. 2015;6(8):4458. DOI: 10.1039/c5sc00962f
81. Kjeldsen L., Johnsen A.H., Sengelov H., Borregaard N. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *J Biol Chem*. 1993;268(14):10425-10432. DOI: 10.1016/s0021-9258(18)82217-7
82. Cowland J.B., Borregaard N. Molecular characterization and pattern of tissue expression of the gene for neutrophil gelatinase-associated lipocalin from humans. *Genomics*. 1997;45(1):17-23. DOI: 10.1006/geno.1997.4896
83. Yang J., Goetz D., Li J., Wang W., Mori K., Setlik D., et al. An iron delivery pathway mediated by a lipocalin. *Mol Cell*. 2002;10(5):1045-1056. DOI: 10.1016/s1097-2765(02)00710-4
84. Raffatellu M., George M.D., Akiyama Y., Hornsby M.J., Nuccio S.P., Paixao T.A., et al. Lipocalin-2 resistance confers an advantage to *Salmonella enterica* serotype typhimurium for growth and survival in the inflamed intestine. *Cell Host Microbe*. 2009;5(5):476-486. DOI: 10.1016/j.chom.2009.03.011
85. Lam M.M.C., Wyres K.L., Judd L.M., Wick R.R., Jenney A., Brisse S., et al. Tracking key virulence loci encoding aerobactin and salmochelin siderophore synthesis in *Klebsiella pneumoniae*. *Genome Med*. 2018;10(1):77. DOI: 10.1186/s13073-018-0587-5
86. Neumann W., Nolan E.M. Evaluation of a reducible disulfide linker for siderophore-mediated delivery of antibiotics. *J Biol Inorg Chem*. 2018;23(7):1025-1036. DOI: 10.1007/s00775-018-1588-y
87. Wu D., Ding Y., Yao K., Gao W., Wang Y. Antimicrobial resistance Analysis of clinical *Escherichia coli* isolates in neonatal ward. *Front Pediatr*. 2021;9:1-7. DOI: 10.3389/fped.2021.670470
88. Karczmarczyk M., Martins M., Quinn T., Leonard N., Fanning S. Mechanisms of fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli* isolates from food-producing animals. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(20):7113-7120. DOI: 10.1128/AEM.00600-11
89. Ji C., Miller P.A., Miller M.J. Iron transport-mediated drug delivery: practical syntheses and *in vitro* antibacterial studies of tris-catecholate siderophore-aminopenicillin conjugates reveals selectively potent antipseudomonal activity. *J Am Chem Soc*. 2012;134(24):9898-9901. DOI: 10.1021/ja303446w
90. Fardeau S., Dassonville-Klimpt A., Audic N., Sasaki A., Pillon M., Baudrin E., et al. Synthesis and antibacterial activity of catecholate-ciprofloxacin conjugates. *Bioorg Med Chem*. 2014;22(15):4049-4060. DOI: 10.1016/j.bmc.2014.05.067
91. Zheng T., Nolan E.M. Evaluation of (acyloxy)alkyl ester linkers for antibiotic release from siderophore-antibiotic conjugates. *Bioorg Med Chem Lett*. 2015;25(21):4987-4991. DOI: 10.1016/j.bmcl.2015.02.034
92. Gupta D., Gupta S.V., Lee K.D., Amidon G.L. Chemical and enzymatic stability of amino acid prodrugs containing methoxy, ethoxy and propylene glycol linkers. *Mol Pharmaceutics*. 2009;6(5):1604-1611. DOI: 10.1021/mp900084v
93. Ong S.A., Peterson T., Neilands J.B. Agrobactin, a siderophore from *Agrobacterium tumefaciens*. *J Biol Chem*. 1979;254:1860-1865. DOI: 10.1016/s0021-9258(17)37736-0
94. Corbin J.L., Bulen W.A. Isolation and identification of 2,3-dihydroxybenzoic acid and 2-N,6-N-di(2,3-dihydroxybenzoyl)-L-lysine formed by iron-deficient *Azotobacter vinelandii*. *Biochemistry*. 1969;8(3):757-762. DOI: 10.1021/bi00831a002

95. Ghosh A., Ghosh M., Niu C., Malouin F., Moellmann U., Miller M.J. Iron transport-mediated drug delivery using mixed-ligand siderophore- β -lactam conjugates. *Chem Biol.* 1996;3(12):1011-1019. DOI: 10.1016/S1074-5521(96)90167-2
96. Liu R., Miller P.A., Vakulenko S.B., Stewart N.K., Bog-gess W.C., Miller M.J. A synthetic dual drug sideromycin induces Gram-negative bacteria to commit suicide with a Gram-positive antibiotic. *J Med Chem.* 2018;61(21):3845-3854. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b00218
97. Weinstein E.A., Yano T., Li L.S., Avarbock D., Avarbock A., Helm D., et al. Inhibitors of type II NADH:menaquinone oxidoreductase represent a class of antitubercular drugs. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102(12):4548-4553. DOI: 10.1073/pnas.0500469102
98. Alsaad N., Wilffert B., Van Altena R., De Lange W.C.M., Van Der Werf T.S., Kosterink J.G.W., et al. Potential anti-microbial agents for the treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *Eur Respir J.* 2014;43(3):884-897. DOI: 10.1183/09031936.00113713
99. Ordway D., Viveiros M., Leandro C., Bettencourt R., Almeida J., Martins M., et al. Clinical concentrations of thioridazine kill intracellular multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(3):917-922. DOI: 10.1128/AAC.47.3.917-922.2003
100. Amaral L., Kristiansen J.E., Abebe L.S., Millett W. Inhibition of the respiration of multi-drug resistant clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* by thioridazine: potential use for initial therapy of freshly diagnosed tuberculosis. *J Antimicrob Chemother.* 1996;38(6):1049-1053. DOI: 10.1093/jac/38.6.1049
101. Martins M., Schelz Z., Martins A., Molnar J., Hajös G., Riedl Z., et al. *In vitro* and *ex vivo* activity of thioridazine derivatives against *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Antimicrob Agents.* 2007;29(3):338-340. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2006.10.013
102. Amaral L., Viveiros M. Why thioridazine in combination with antibiotics cures extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* infections. *Int J Antimicrob Agents.* 2012;39(5):376-380. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2012.01.012
103. Tarapdar A., Norris J.K.S., Sampson O., Mukamolova G., Hodgkinson J.T. The design and synthesis of an antibacterial phenothiazine-siderophore conjugate. *Beilstein J Org Chem.* 2018;14:2646-2650. DOI: 10.3762/bjoc.14.242
104. Paulen A., Gasser V., Hoegy F., Perraud Q., Pesset B., Schalk I.J., et al. Synthesis and antibiotic activity of oxazolidinone-catechol conjugates against *Pseudomonas aeruginosa*. *Org Biomol Chem.* 2015;13(47):11567-11579. DOI: 10.1039/c5ob01859e
105. Ito A., Nishikawa T., Matsumoto S., Yoshizawa H., Sato T., Nakamura R., et al. Siderophore cephalosporin cefiderocol utilizes ferric iron transporter systems for antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(12):7396-7401. DOI: 10.1128/AAC.01405-16
106. Hildebrand D., Böhringer J., Körner E., Chiriac U., Förmer S., Sähr A., et al. Cefiderocol protects against cytokine-and endotoxin-induced disruption of vascular endothelial cell integrity in an *in vitro* experimental model. *Antibiotics.* 2022;11:581. DOI: 10.3390/antibiotics11050581
107. McCreary E.K., Heil E.L., Tamma P.D. New perspectives on antimicrobial agents: cefiderocol. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021;65(8):e02171-20. DOI: 10.1128/AAC.02171-20
108. Wang C., Yang D., Wang Y., Ni W. Cefiderocol for the treatment of multidrug-resistant Gram-negative bacteria: a systematic review of currently available evidence. *Front Pharmacol.* 2022;13:896971. DOI: 10.3389/fphar.2022.896971
109. Matsunaga Y., Echols R., Katsube T., Yamano Y., Ariyasu M., Nagata T. Cefiderocol (S-649266) for nosocomial pneumonia caused by Gram-negative pathogens: study design of APEKS-NP, a phase 3 double-blind parallel-group randomized clinical trial. B42. CRITICAL CARE: THE FEVER – INFECTIONS IN THE ICU. 2018;A3290-A3290. DOI: 10.1164/ajrccm-conference.2018.197.1_MeetingAbstracts.A3290
110. Nordmann P., Shields R.K., Doi Y., Takemura M., Echols R., Matsunaga Y., et al. Mechanisms of reduced susceptibility to cefiderocol among isolates from the CREDIBLE-CR and APEKS-NP clinical trials. *Microb Drug Resist.* 2022;28(4):398-407. DOI: 10.1089/mdr.2021.0180
111. Zhanel G.G., Golden A.R., Zelenitsky S., Wiebe K., Lawrence C.K., Adam H.J., et al. Cefiderocol: a siderophore cephalosporin with activity against carbapenem-resistant and multidrug-resistant Gram-negative bacilli. *Drugs.* 2019;79(3):271-289. DOI: 10.1007/s40265-019-1055-2
112. El-Lababidi R.M., Rizk J.G. Cefiderocol: a siderophore cephalosporin. *Ann Pharmacother.* 2020;54:1215-1231. DOI: 10.1177/1060028020929988
113. Laurent D. Developments for the treatment of invasive infections due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Respir Infect.* 2019;3:3. DOI: 10.18297/jri/vol3/iss2/3
114. Nakamura R., Oota M., Matsumoto S., Sato T., Yamano Y. *In vitro* activity and *in vivo* efficacy of cefiderocol against *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021;65(4):e01436-20. DOI: 10.1128/AAC.01436-20
115. Prasad N.K., Seiple I.B., Cirz R.T., Rosenberg O.S. Leaks in the pipeline: a failure analysis of Gram-negative antibiotic development from 2010 to 2020. *Antimicrob Agents Chemother.* 2022;66(5):e00054-22. DOI: 10.1128/aac.00054-22
116. Wright H., Bonomo R.A., Paterson D.L. New agents for

- the treatment of infections with Gram-negative bacteria: restoring the miracle or false dawn? *Clin Microbiol Infect.* 2017;23(10):704-712. DOI: 10.1016/j.cmi.2017.09.001
117. Tenero D., Farinola N., Berkowitz E.M., Tiffany C.A., Qian Y., Xue Z., et al. Pharmacokinetics, safety, and tolerability evaluation of single and multiple doses of GSK3342830 in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Drug Dev.* 2019;8(6):754-764. DOI: 10.1002/cpdd.637
118. Koeth L.M., DiFranco-Fisher J.M., Scangarella-Oman N.E., Miller L.A. Analysis of MIC and disk diffusion testing variables for gepotidacin and comparator agents against select bacterial pathogens. *J Clin Microbiol.* 2017;55(6):1767-1777. DOI: 10.1128/JCM.02366-16
119. Kong Q., Yang Y. Recent advances in antibacterial agents. *Bioorg Med Chem Lett.* 2021;35:127799. DOI: 10.1016/j.bmcl.2021.127799
120. Page M.G.P. The role of iron and siderophores in infection, and the development of siderophore antibiotics. *Clin Infect Dis.* 2019;69(Suppl. 7):S529-S537. DOI: 10.1093/cid/ciz825
121. Wencewicz T.A., Möllmann U., Long T.E., Miller M.J. Is drug release necessary for antimicrobial activity of siderophore-drug conjugates? Syntheses and biological studies of the naturally occurring salmycin "Trojan Horse" antibiotics and synthetic desferridinoxamine-antibiotic conjugates. *BioMetals.* 2009;22(4):633-648, DOI: 10.1007/s10534-009-9218-3
122. Wencewicz T.A., Long T.E., Möllmann U., Miller M.J. Trihydroxamate siderophore-fluoroquinolone conjugates are selective sideromycin antibiotics that target *Staphylococcus aureus*. *Bioconjugate Chem.* 2013;24(3):473-486. DOI: 10.1021/bc300610f
123. Milstien S., Cohen L.A. Stereopopulation control. I. Rate enhancement in the lactonizations of o-hydroxy-hydrocinnamic acids. *J Am Chem Soc.* 1972;94(26):9158-9165. DOI: 10.1021/ja00781a029
124. Greenwald R.B., Choe Y.H., Conover C.D., Shum K., Wu D., Royzen M. Drug delivery systems based on trimethyl lock lactonization: poly(ethylene glycol) prodrugs of amino-containing compounds. *J Med Chem.* 2000;43(3):475-487. DOI: 10.1021/jm990498j
125. Houghton T.J., Tanaka K.S.E., Kang T., Dietrich E., Lafontaine Y., Delorme D., et al. Linking bisphosphonates to the free amino groups in fluoroquinolones: preparation of osteotropic prodrugs for the prevention of osteomyelitis. *J Med Chem.* 2008;51(21):6955-6969. DOI: 10.1021/jm801007z
126. Ji C., Miller M.J. Chemical syntheses and *in vitro* antibacterial activity of two desferrioxamine B-ciprofloxacin conjugates with potential esterase and phosphatase triggered drug release linkers. *Bioorg Med Chem.* 2012;20(12):3828-3836. DOI: 10.1016/j.bmc.2012.04.034
127. Yu Z., Tang J., Khare T., Kumar V. The alarming antimicrobial resistance in ESKAPEE pathogens: can essential oils come to the rescue? *Fitoterapia.* 2020;140:104433. DOI: 10.1016/j.fitote.2019.104433
128. Ghosh M., Miller M.J. Design, synthesis, and biological evaluation of isocyanurate-based antifungal and macrolide antibiotic conjugates: iron transport-mediated drug delivery. *Bioorg Med Chem.* 1995;3(11):1519-1525. DOI: 10.1016/0968-0896(95)00134-3
129. Lu Y., Miller M.J. Syntheses and studies of multiwarhead siderophore-5-fluorouridine conjugates. *Bioorg Med Chem.* 1999;7(12):3025-3038. DOI: 10.1016/S0968-0896(99)00248-5
130. Rivault F., Liébert C., Burger A., Hoegy F., Abdallah M.A., Schalk I.J., et al. Synthesis of pyochelin-norfloxacin conjugates. *Bioorg Med Chem Lett.* 2007;17(3):640-644. DOI: 10.1016/j.bmcl.2006.11.005
131. Hennard C., Truong Q.C., Desnottes J.F., Paris J.M., Moreau N.J., Abdallah M.A. Synthesis and activities of pyoverdin-quinolone adducts: a prospective approach to a specific therapy against *Pseudomonas aeruginosa*. *J Med Chem.* 2001;44(13):2139-2151. DOI: 10.1021/jm990508g
132. Noël S., Gasser V., Pesset B., Hoegy F., Rognan D., Schalk I.J., et al. Synthesis and biological properties of conjugates between fluoroquinolones and a N³-functionalized pyochelin. *Org Biomol Chem.* 2011;9(24):8288-8300. DOI: 10.1039/c1ob06250f
133. Götz F., Perconti S., Popella P., Werner R., Schlag M. Epidermin and gallidermin: staphylococcal lantibiotics. *Int J Med Microbiol.* 2014;304(1):63-71. DOI: 10.1016/j.ijmm.2013.08.012
134. Willey J.M., Van Der Donk W.A. Lantibiotics: peptides of diverse structure and function. *Annu Rev Microbiol.* 2007;61(1):477-501. DOI: 10.1146/annurev.micro.61.080706.093501
135. Yoganathan S., Sit C.S., Vederas J.C. Chemical synthesis and biological evaluation of gallidermin-siderophore conjugates. *Org Biomol Chem.* 2011;9(7):2133-2141. DOI: 10.1039/c0ob00846j
136. Paulen A., Hoegy F., Roche B., Schalk I.J., Mislin G.L.A. Synthesis of conjugates between oxazolidinone antibiotics and a pyochelin analogue. *Bioorg Med Chem Lett.* 2017;27(21):4867-4870. DOI: 10.1016/j.bmcl.2017.09.039
137. Murphy-Benenato K.E., Dangel B., Davis H.E., Durand-Réville T.F., Ferguson A.D., Gao N., et al. SAR and structural analysis of siderophore-conjugated monocarbam inhibitors of *Pseudomonas aeruginosa* PBP3. *ACS Med Chem Lett.* 2015;6(5):537-542. DOI: 10.1021/acsmchemlett.5b00026
138. Flanagan M.E., Brickner S.J., Lall M., Casavant J., Deschenes L., Finegan S.M., et al. Preparation, gram-negative antibacterial activity, and hydrolytic stability of novel siderophore-conjugated monocarbam diols. *ACS*

- Med Chem Lett. 2011;2(5):385-390. DOI: 10.1021/ml200012f
139. Hofer B., Dantier C., Gebhardt K., Desarbre E., Schmitt-hoffmann A., Page M.G.P. Combined effects of the siderophore monosulfactam BAL30072 and carbapenems on multidrug-resistant Gram-negative bacilli. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(5):1120-1129. DOI: 10.1093/jac/dks527
 140. Mushtaq S., Woodford N., Hope R., Adkin R., Livermore D.M. Activity of BAL30072 alone or combined with β -lactamase inhibitors or with meropenem against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae and non-fermenters. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(7):1601-1608. DOI: 10.1093/jac/dkt050
 141. Tomaras A.P., Crandon J.L., McPherson C.J., Nicolau D.P. Potentiation of antibacterial activity of the MB-1 siderophore-monobactam conjugate using an efflux pump inhibitor. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(4):2439-2442. DOI: 10.1128/AAC.04172-14
 142. Tillotson G.S. Trojan horse antibiotics – a novel way to circumvent gram-negative bacterial resistance? *Infect Dis (Auckl).* 2016;9:45-52. DOI: 10.4137/idrt.s31567
 143. McPherson C.J., Aschenbrenner L.M., Lacey B.M., Fahnoe K.C., Lemmon M.M., Finegan S.M., et al. Clinically relevant Gram-negative resistance mechanisms have no effect on the efficacy of MC-1, a novel siderophore-conjugated monocarbam. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(12):6334-6342. DOI: 10.1128/AAC.01345-12
 144. Han S., Zaniewski R.P., Marr E.S., Lacey B.M., Tomaras A.P., Evdokimov A., et al. Structural basis for effectiveness of siderophore-conjugated monocarbams against clinically relevant strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107(51):22002-22007. DOI: 10.1073/pnas.1013092107
 145. Page M.G.P., Dantier C., Desarbre E. *In vitro* properties of BAL30072, a novel siderophore sulfactam with activity against multiresistant Gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(6):2291-2302. DOI: 10.1128/AAC.01525-09
 146. Tomaras A.P., Crandon J.L., McPherson C.J., Banevicius M.A., Finegan S.M., Irvine R.L., et al. Adaptation-based resistance to siderophore-conjugated antibacterial agents by *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(9):4197-4207. DOI: 10.1128/AAC.00629-13
 147. Paech F., Messner S., Spickermann J., Wind M., Schmitt-Hoffmann A.H., Witschi A.T., et al. Mechanisms of hepatotoxicity associated with the monocyclic β -lactam antibiotic BAL30072. *Arch Toxicol.* 2017;91(11):3647-3662. DOI: 10.1007/s00204-017-1994-x
 148. Oh S.H., Park H.S., Kim H.S., Yun J.Y., Oh K., Cho Y.L., et al. Antimicrobial activities of LCB10-0200, a novel siderophore cephalosporin, against the clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and other pathogens. *Int J Antimicrob Agents.* 2017;50(6):700-706. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2017.06.001
 149. Nguyen L.P., Park C.S., Pinto N.A., Lee H., Seo H.S., Vu T.N., et al. *In vitro* activity of a novel siderophore-cephalosporin LCB10-0200 (GT-1), and LCB10-0200/avibactam, against carbapenem-resistant *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, and *Pseudomonas aeruginosa* strains at a tertiary hospital in Korea. *Pharmaceuticals.* 2021;14:370. DOI: 10.3390/ph14040370
 150. Nguyen L.P., Pinto N.A., Vu T.N., Lee H., Cho Y.L., Byun J.H., et al. *In vitro* activity of a novel siderophore-cephalosporin, GT-1 and serine-type β -lactamase inhibitor, GT-055, against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter* spp. Panel strains. *Antibiotics.* 2020;9(5):267. DOI: 10.3390/antibiotics9050267
 151. Halasohoris S.A., Scarff J.M., Pysz L.M., Lembirik S., Lemmon M.M., Biek D., et al. *In vitro* and *in vivo* activity of GT-1, a novel siderophore cephalosporin, and GT-055, a broad-spectrum β -lactamase inhibitor, against biothreat and ESKAPE pathogens. *J Antibiot.* 2021;74(12):884-892. DOI: 10.1038/s41429-021-00472-9
 152. Butler M.S., Paterson D.L. Antibiotics in the clinical pipeline in October 2019. *J Antibiot.* 2020;73:329-364. DOI: 10.1038/s41429-020-0291-8
 153. Wenciewicz T.A., Miller M.J. Biscatecholate-monohydroxamate mixed ligand siderophore-carbacephalosporin conjugates are selective sideromycin antibiotics that target *Acinetobacter baumannii*. *J Med Chem.* 2013;56(10):4044-4052. DOI: 10.1021/jm400265k
 154. Ghosh M., Miller M.J. Synthesis and *in vitro* antibacterial activity of spermidine-based mixed catechol- and hydroxamate-containing siderophore – vancomycin conjugates. *Bioorg Med Chem.* 1996;4(1):43-48. DOI: 10.1016/0968-0896(95)00161-1
 155. Kumar A., Augustine D., Sudhindran S., Kurian A.M., Dinesh K.R., Karim S., et al. *Weissella confusa*: a rare cause of vancomycin-resistant Gram-positive bacteraemia. *J Med Microbiol.* 2011;60(10):1539-1541. DOI: 10.1099/jmm.0.027169-0
 156. Pogliano J., Pogliano N., Silverman J.A. Daptomycin-mediated reorganization of membrane architecture causes mislocalization of essential cell division proteins. *J Bacteriol.* 2012;194(17):4494-4504. DOI: 10.1128/JB.00011-12
 157. Taylor S.D., Palmer M. The action mechanism of daptomycin. *Bioorg Med Chem.* 2016;24(24):6253-6268. DOI: 10.1016/j.bmc.2016.05.052
 158. Ghosh M., Miller P.A., Möllmann U., Claypool W.D., Schroeder V.A., Wolter W.R., et al. Targeted antibiotic delivery: selective siderophore conjugation with daptomycin confers potent activity against multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* both *in vitro* and *in vivo*. *J Med Chem.* 2017;60(11):4577-4583. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.7b00102
 159. Lamont I.L., Martin L.W., Sims T., Scott A., Wallace M. Characterization of a gene encoding an acetylase required for pyoverdine synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *J*

- Bacteriol. 2006;188(8):3149-3152. DOI: 10.1128/JB.188.8.3149-3152.2006
160. Meyer J.M., Stintzi A., De Vos D., Cornelis P., Tappe R., Taraz K., et al. Use of siderophores to type pseudomonads: the three *Pseudomonas aeruginosa* pyoverdine systems. *Microbiology*. 1997;143(1):35-43. DOI: 10.1099/00221287-143-1-35
161. Voulhoux R., Filloux A., Schalk I.J. Pyoverdine-mediated iron uptake in *Pseudomonas aeruginosa*: the Tat system is required for PvdN but not for FpvA transport. *J Bacteriol.* 2006;188(9):3317-3323. DOI: 10.1128/JB.188.9.3317-3323.2006
162. Visca P., Imperi F., Lamont I.L. Pyoverdine siderophores: from biogenesis to biosignificance. *Trends Microbiol.* 2007;15(1):22-30. DOI: 10.1016/j.tim.2006.11.004
163. Kinzel O., Tappe R., Gerus I., Budzikiewicz H. The synthesis and antibacterial activity of two pyoverdin-ampicillin conjugates, entering *Pseudomonas aeruginosa* via the pyoverdin-mediated iron uptake pathway. *J Antibiot.* 1998;51(5):499-507. DOI: 10.7164/antibiotics.51.499
164. Kinzel O., Budzikiewicz H. Synthesis and biological evaluation of a pyoverdin- β -lactam conjugate: a new type of arginine-specific cross-linking in aqueous solution. *J Peptide Res.* 1999;53(6):618-625. DOI: 10.1034/j.1399-3011.1999.00053.x
165. Miller M.J., Walz A.J., Zhu H., Wu C., Moraski G., Möllmann U., et al. Design, synthesis, and study of a mycobactin-artemisinin conjugate that has selective and potent activity against tuberculosis and malaria. *J Am Chem Soc.* 2011;133(7):2076-2079. DOI: 10.1021/ja109665t
166. Wang J., Xu C., Wong Y.K., Li Y., Liao F., Jiang T., et al. Artemisinin, the magic drug discovered from traditional chinese medicine. *Engineering.* 2019;5(1):32-39. DOI: 10.1016/j.eng.2018.11.011
167. Arsenault P., Wobbe K., Weathers P. Recent advances in artemisinin production through heterologous expression. *Curr Med Chem.* 2008;15(27):2886-2896. DOI: 10.2174/092986708786242813