

# Antibiotica, nu en in de toekomst

Hilda van den Bos

Er is constant behoefte aan nieuwe antibiotica. Er is nog geen enkel antibioticum ontwikkeld waar bacteriën niet resistent kunnen worden. Tot nu toe zijn de targets van de antibiotica beperkt. Mogelijk kunnen er nieuwe antibiotica gevonden worden als de focus meer op andere mogelijke targets komt te liggen. Bovendien zijn de meeste huidige antibiotica ontwikkeld door modificaties aan te brengen op bekende basisstructuren, scaffolds. Door andere technieken te gebruiken kunnen misschien nieuwe scaffolds worden gevonden waarmee nieuwe antibiotica kunnen worden ontwikkeld. Maar hoe deze technieken zich ook ontwikkelen, er zal altijd behoefte blijven naar nieuwe antibiotica. Het ziet er niet naar uit dat medicijnen zullen komen waar bacteriën geen resistentie tegen kunnen ontwikkelen.

In tegenstelling tot de meeste andere medicijnen, die in de toekomst net zo effectief zullen zijn als nu, gaat door de ontwikkeling van resistentie de werkzaamheid van antibiotica constant achteruit. Antibioticaresistente pathogenen vormen een grote bedreiging voor de gezondheid. Bijvoorbeeld methiciline-resistente *S. aureus* (MRSA), beter bekend als de ziekenhuisbacterie. Slechts één jaar nadat methiciline in de kliniek werd geïntroduceerd werden er al methiciline resistente stammen gevonden. MRSA wordt nu meestal behandeld met vancomycine, maar in 2002 is het eerste geval van VRSA (vancomycine-resistente *S. aureus*) gerapporteerd. Dit maakt het weer een stap moeilijker om een infectie met deze bacterie te behandelen. (1)

Er is dus steeds meer resistentie, waardoor het belangrijk blijft dat er nieuwe antibiotica worden ontwikkeld. Resistentie is niet tegen te houden, hooguit enigszins te vertragen door gecontroleerd antibiotica gebruik. Er is nog geen enkel antibioticum gevonden waar bacteriën geen resistentie tegen kunnen ontwikkelen. (2)

Daarnaast is het zo dat van de antibiotica die tegenwoordig gebruikt worden meer dan tweederde natuurlijke producten of hiervan afgeleid zijn. Maar de afgelopen jaren neemt het aantal medicijnen dat wordt ontwikkeld uit natuurlijke bronnen af. Waar zullen in de toekomst nieuwe antibiotica vandaan komen? (3)

Om te begrijpen hoe nieuwe antibiotica kunnen worden ontwikkeld is het belangrijk eerst iets te weten over de mechanismen waarmee bacteriën resistent kunnen worden en wat de

belangrijkste targets zijn van de huidige antibiotica.

## Resistentie mechanismen

Er zijn meerdere mechanismen die ervoor zorgen dat een bacterie resistent kan worden tegen bepaalde antibiotica. De drie belangrijkste mechanismen zijn weergegeven in figuur 1. Ten eerste kan ophoping van het antibioticum in de bacterie worden voorkomen door een verminderde opname of een verhoogde uitscheiding (A). Daarnaast kunnen antibiotica geïnactiveerd worden door hydrolyse of modificaties zoals fosforilering (B). Tot slot bestaat de mogelijkheid dat het target van het antibioticum wordt veranderd: of het wordt zo gemodificeerd dat het antibioticum niet meer kan binden, of de expressie van het target wordt upreguleerd (C). (4)

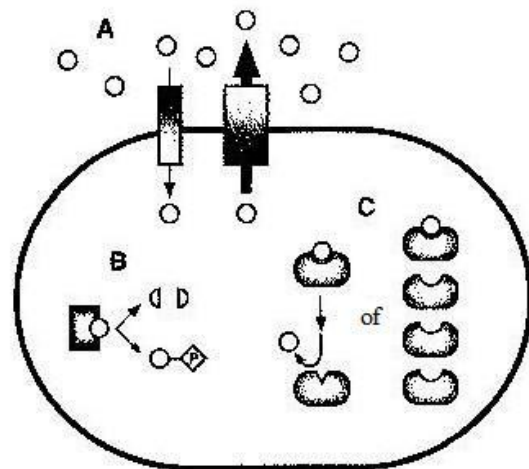


Fig. 1 De belangrijkste mechanismen bij resistentie

## Belangrijkste targets

Hoewel er veel verschillende antibiotica bestaan is het aantal targets beperkt. Er zijn vier klassieke targets waar de belangrijkste klassen van antibiotica op aangrijpen.

De biosynthese van de celwand: dit is de plek waar  $\beta$ -lactams en vancomycine aangrijpen. Deze antibiotica verhinderen het crosslinken van de peptidoglycaan laag, waardoor de bacterie niet meer beschermd is tegen osmolyse.

De eiwitbiosynthese: door het grote aantal stappen dat nodig is voor de eiwitsynthese zijn er ook veel mogelijkheden om hierop in te grijpen. Bijvoorbeeld de tetracyclines, deze antibiotica grijpen aan op een subunit van het ribosoom.

DNA en RNA synthese: bacterieel DNA zit in een sterk opgedraaide vorm: supercoiled. Om replicatie mogelijk te maken moet het DNA ontwonden worden. Quinolonen grijpen op dit proces aan.

Ook op de transcriptie van DNA naar RNA kunnen antibiotica aangrijpen; Rifampicine remt de RNA polymerase waardoor er geen transcriptie kan plaatsvinden.

Folaat metabolisme: folaat is nodig voor de synthese van thymine, wat een essentiële component is van het DNA. Sulfonamides, de langst gebruikte antibiotica, remmen bepaalde stappen in de folaatsynthese. (4,5)

## Huidige antibiotica

Welke technieken zijn er tot nu toe gebruikt om de nieuwe antibiotica te ontwikkelen? Dit is vooral gedaan door het modificeren van zogenoemde 'scaffolds'.

De leden van een bepaalde klasse van antibiotica hebben allemaal dezelfde basisstructuur, dit is de scaffold. De meeste scaffolds waar de huidige antibiotica van zijn afgeleid zijn geïntroduceerd in de jaren '30 tot begin jaren '60. Door synthetische modificaties

waarbij de basisstructuur intact blijft kunnen nieuwe antibiotica worden ontwikkeld. Als het eerste antibioticum niet meer werkt omdat de bacterie resistentie heeft ontwikkeld kan een antibioticum van de volgende generatie worden gebruikt. Van bijvoorbeeld de penicillines en de cephalosporines zijn tot nu toe al vier verschillende generaties ontwikkeld. (Fig. 2) Vanaf begin jaren '60 tot 2000 zijn er, met uitzondering van de carbapenems in 1985, uitsluitend antibiotica in de kliniek geïntroduceerd die met deze methode zijn ontwikkeld.

Het synthetische modificeren van bekende scaffolds is een prima korte termijn oplossing om infecties met resistente pathogenen te kunnen behandelen, maar een waarschijnlijk meer duurzame methode is het ontdekken van nieuwe scaffolds. (4)

Een aantal antibiotica is ook per toeval ontdekt: ze waren met een heel ander doel ontwikkeld. Een voorbeeld is Prontosil, dat oorspronkelijk was ontwikkeld als een verfstof. En ook nalidixiczuur, een intermediaire verbinding in de synthese van chloroquine, bleek antibacteriële activiteit te bezitten. (4)

## Nieuwe antibiotica

De meeste natuurlijke antibiotica zijn ontdekt in bacteriën die gemakkelijk te verzamelen en te kweken zijn, namelijk de bodem actinomyceten. (4)

Door te zoeken in minder gemakkelijk bereikbare en onderzochte bacterie taxa en ecologische niches, zoals marine en symbiotische niches, zouden nieuwe antibiotica ontdekt kunnen worden. Er zijn aanwijzingen dat in marine omgevingen wel  $3.7 \times 10^{30}$  micro-organismen aanwezig zijn waarvan vele natuurlijke producten produceren die mogelijk de basis kunnen vormen voor nieuwe antibiotica. (3)

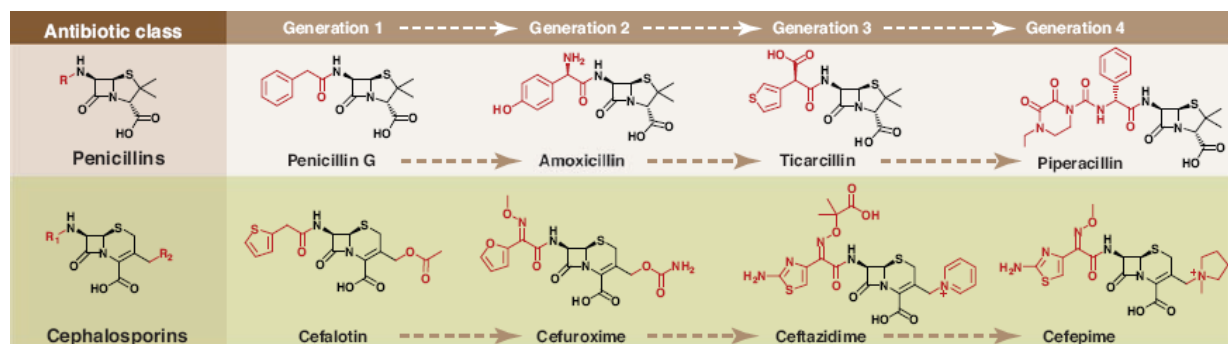


Fig. 2 De ontwikkeling van verschillende generaties penicillines en cephalosporines

Bovendien is het overgrote deel van de micro-organismen nog nooit in culture zijn gebracht: 99% van de bacteriën en 95% van de schimmels zijn nog niet gekweekt in een laboratorium. Wetenschappers zijn bezig met het ontwikkelen van methoden waarmee ook deze micro-organismen gekweekt kunnen worden. (6)

Sommige potentiële nieuwe scaffolds zijn mogelijk al wel bekend maar nog niet goed genoeg onderzocht. Het simpelweg bestuderen van literatuur over oude patenten heeft bijvoorbeeld al nieuwe antibiotica opgeleverd: op basis van een patent uit 1985 heeft een onderzoeksgroep van Bayer een reeks antibiotica geïsoleerd die ongecontroleerde eiwitafbraak veroorzaken. Hierdoor wordt de celdeling geremd en zorgt het uiteindelijk voor celdood. (7)

Bovendien zijn de drie antibiotica die het meest recent zijn geïntroduceerd, de mutilines, lipopeptides en oxazolidinonen, meer dan 20 jaar eerder al ontdekt. Het kan dus nuttig zijn het onderzoek te richten op al bekende maar nog niet goed onderzochte scaffolds. (4)

### **Op zoek naar antibiotica met sequencing**

Een andere manier om nieuwe antibiotica te ontdekken is door gebruik te maken van genomische sequencing. Midden jaren '90 waren weinig farmaceutische bedrijven geïnteresseerd in de ontwikkeling van antibiotica. Maar de mogelijkheden van het sequensen en het ontrafelen van de aminozuurvolgorde hebben de antibioticaontwikkeling een nieuwe impuls gegeven. Toen in 1995 het eerste bacteriële genoom was gesequenced, dat van *Haemophilus Influenza*, waren er plotseling vele mogelijkheden om nieuwe antibiotica te vinden. Het vooruitzicht van honderden genen, met bekende en onbekende functies, die onderzocht konden worden zorgde ervoor dat de farmaceutische industrie weer interesse toonde in de ontwikkeling van antibiotica.

GlaxoSmithKline (GSK) bijvoorbeeld, heeft in 7 jaar meer dan 300 genen gescreend op hun mogelijkheden als antibacteriële targets. Om de mogelijke targets te vinden werden genomen van verschillende maar relevante pathogenen, zowel grampositief als gramnegatief, met elkaar vergeleken. De genen die in de verschillende bacteriën sterk geconserveerd zijn hebben een grote kans

functies te hebben die belangrijk te zijn voor de overleving van de bacteriën. Om alleen breed-spectrum, maar wel bacterie specifieke targets te selecteren werden genen die niet sterkt geconserveerd bleken of een humane homoloog hebben uitgeselecteerd. Vervolgens is met knock-out technieken gekeken of het gen essentieel is voor de groei van het pathogeen. Als het organisme namelijk niet meer groeit in de afwezigheid van het gen suggereert dit dat het gen onmisbaar is voor het organisme en dus een mogelijk target voor antibiotica. Bovendien is met verschillende promotors gekeken of de groei afhankelijk was van het expressieniveau van het gen. Ook dit is een aanwijzing voor hoe belangrijk het gen is voor het organisme.

Vervolgens zijn de overgebleven kandidaat targets getest met High Throughput Screening (HTS). Dit betekent dat er wordt gekeken of er in de database van GSK, die 260.000-530.000 verschillende moleculen bevat, stoffen aanwezig zijn die in staat zijn één of meer van de targets te remmen. Als een dergelijk molecuul gevonden wordt betekent dit dat deze stof mogelijk een nieuw antibioticum is. (2)

De kans dat deze methode mogelijke antibiotica oplevert hangt natuurlijk sterk af van de grote en diversiteit van de database die gebruikt wordt. Er kunnen databases met natuurlijke en/of synthetische stoffen worden gebruikt. De stoffen in de natuurlijke database kunnen komen uit planten, bacteriële of dierlijke bronnen. (8)

### **Andere databases**

Maar niet alleen databases die speciaal zijn ontwikkeld voor onderzoek naar antibiotica kunnen worden gebruikt.

Het artikel van Miller (9) dit jaar toont aan dat ook andere databases een bron kunnen zijn van nieuwe antibiotica. Het screenen van een één miljoen stoffen bevattende database, die oorspronkelijk ontwikkeld was voor eukaryotische eiwitkinase remming leverde een nieuwe groep antibiotica op; de pyridopyrimidines. Deze database was gekozen omdat het kleine ATP-mimetische moleculen bevat die mogelijk een essentieel bacterieel enzym zouden kunnen remmen. Dit bleek ook het geval te zijn: de pyropirimidines werken als competitieve remmers van de ATP-binding en zijn selectief voor bacteriële eiwitkinases. Met vergelijkbare onderzoeken

met andere databasen kunnen mogelijk nieuwe targets en scaffolds gevonden worden. (4)

### **Oud target, nieuw antibioticum**

De meeste antibiotica hebben een beperkt aantal targets. Resistente pathogenen worden bestreden met een nieuwe generatie van de antibiotica. Door het ontwikkelen van nieuwe scaffolds voor diezelfde targets kan een goede strategie zijn. Hierdoor wordt namelijk kruisresistentie met de al bestaande antibiotica vermeden. (4)

### **Minder breed-spectrum antibiotica**

Tot voor kort heerste bij de ontwikkeling van antibiotica het idee dat hoe breder het antibioticum werkzaam is hoe beter. Maar het is ten eerste niet zo eenvoudig is om nieuwe breed-spectrum antibiotica te ontwikkelen en ten tweede zijn meer specifieke bedreigingen zijn, zoals MRSA. Dit heeft tot gevolg dat er meer antibiotica worden ontwikkeld die een smallere werkzaamheid hebben. Ze doden bijvoorbeeld wel de grampositieve, maar niet de gramnegatieve bacteriën. Recentelijk zijn zelfs verschillende antibiotica ontwikkeld die alleen werkzaam zijn tegen Staphylococci. Dit soort antibiotica kan natuurlijk heel beperkt worden toegepast, maar heeft wel het voordeel dat de endogene microflora van de patiënt minder wordt aangetast waardoor er minder bijwerkingen optreden. (4)

### **Combinatie therapie**

Tot slot zijn er nog mogelijkheden met combinatie therapie. De meeste bacteriële infecties worden behandeld met een enkel antibioticum. Antibiotica waar een hoge intrinsieke resistentie tegen is werken vaak wel in combinatie met andere antibiotica. Bovendien is gebleken dat combinatie therapie de ontwikkeling van resistentie kan onderdrukken. (4)

### **Conclusie**

Tot nu toe is de ontwikkeling van nieuwe antibiotica hoofdzakelijk beperkt gebleven tot het genetisch modificeren van bekende scaffolds die aangrijpen op een beperkt aantal targets. Om ook in de toekomst infecties met resistente bacteriën te kunnen blijven behandelen zijn nieuwe scaffolds nodig. Het onderzoeken van minder bekende niches kan een oplossing brengen. Bovendien heeft de ontwikkeling van DNA-sequencing voor een

opleving gezorgd. Daarnaast kunnen nieuwe antibiotica worden gevonden door de uitgangspunten van het onderzoek te veranderen: screenen van andere databasen en niet alleen op zoek naar breed-spectrum antibiotica.

Maar hoe de technieken zich ook gaan ontwikkelen, het lijkt er niet op dat er antibiotica zullen worden gevonden waar bacteriën geen resistentie tegen ontwikkelen. Er zullen dus altijd nieuwe antibiotica nodig zijn.

### **Bronnen**

1. Pfeltz RF, Wilkinzon BJ, The escalating challenge of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Curr Drug Targets Infect Disord*. 2004 Dec; 4(4): 273-94.
2. Payne DJ, Gwynn MN, Holmes DJ, Pompliano DL, Drugs for bad bugs: confronting the challenges of antibacterial discovery. *Nat Rev Drug Discov*. 2007 Jan; 6(1): 29-40.
3. Li JW, Vederas JC, Drug discovery and natural products: end of an era or an endless frontier? *Science*. 2009 Jul 10; 325(5937): 161-5.
4. Fischbach MA, Walsh CT, Antibiotics for emerging pathogens. *Science*. 2009 Aug 28; 325(5944): 1089-93
5. Yoneyama H, Katsumata R, Antibiotic resistance in bacteria and its future for novel antibiotic development. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2006 May; 70(5): 1060-75.
6. Demain AL, Sanchez S, Microbial drug discovery: 80 years of progress. *J Antibiot (Tokyo)*. 2009 Jan; 62(1): 5-16.
7. Brötz-Oesterhelt H, *et al*. Dysregulation of bacterial proteolytic machinery by a new class of antibiotics. *Nature Medicine*, 2005 Oct; 11(10): 1082-7.
8. Pathania R, Brown ED, Small and lethal: searching for new antibacterial compounds with novel modes of action. *Biochem Cell Biol*. 2008 Apr; 86(2): 111-5.
9. Miller RJ *et al*. A class of selective antibacterials derived from a protein kinase inhibitor pharmacophore. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Feb 10; 106(6):1737-42. Epub 2009 Jan 22.