



УДК 577.182.82.03

## МЕХАНИЗМ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ГЛИКОПЕПТИДНЫМ АНТИБИОТИКАМ КАК ОСНОВА СОЗДАНИЯ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ, СПОСОБНЫХ К ПРЕОДОЛЕНИЮ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

© 1997 г. А. С. Тренин, Е. Н. Олсуфьева<sup>#</sup>НИИ по изысканию новых антибиотиков РАМН,  
119867, Москва, Большая Пироговская ул., 11

Поступила в редакцию 17.12.96 г. Принята к печати 03.07.97 г.

Обобщены сведения о генетических и биохимических основах резистентности бактерий к антибиотикам группы ванкомицина – ристоцетина. Особое внимание уделено механизму резистентности, обусловленному модификацией мишени, а также молекулярным взаимодействиям при контакте гликопептидов с нормальными и модифицированными мишенями. Обсуждаются перспективы создания новых производных, активных в отношении резистентных бактерий. Наиболее рациональный подход к химической трансформации гликопептидов включает в себя модификацию внутреннего “связывающего кармана”, а также изменение периферийных участков молекулы, принимающих участие в стабилизации комплекса антибиотика с мишенью. Представлены новые полусинтетические препараты этой группы, активные в отношении гликопептидрезистентных энтерококков.

*Ключевые слова:* ванкомицин, тейкоплагин, эремомицин, резистентность к гликопептидам, химическая модификация антибиотиков, полусинтетические гликопептиды.

Значение антибиотиков группы гликопептидов в современной химиотерапии инфекционных заболеваний весьма велико. Ванкомицин, ристомицин (ристоцетин А), тейкоплагин подавляют развитие большинства грамположительных бактерий и с успехом применяются при лечении тяжелых форм пневмоний, эндокардитов, энтероколитов, сепсиса, абсцессов легких, остеомиелитов [1–3].

Одним из наиболее важных свойств гликопептидов следует считать их высокую активность в отношении возбудителей с множественной лекарственной устойчивостью [1, 3, 4]. Вместе с тем резистентность к самим гликопептидам у клинических штаммов до недавнего времени практически не развивалась [4–6]. Все это, несомненно, способствовало восприятию антибиотиков указанной группы как безусловно надежных средств, особенно ценных для лечения инфекций, не поддающихся терапии другими лекарственными препаратами [3, 4, 6].

В последние годы ситуация, связанная с применением гликопептидов, несколько изменилась. Все большее распространение стали получать гликопептидрезистентные штаммы возбудителей, в связи с чем эффективность использования препара-

тов указанной группы заметно снизилась, а терапия многих инфекционных заболеваний оказалась практически невозможной [1, 2, 7–9]. Преодоление резистентности к гликопептидным антибиотикам, таким образом, стало весьма серьезной задачей, требующей скорейшего разрешения [10].

Цель настоящего обзора – обобщение современных сведений по проблеме резистентности к гликопептидам. Обсуждаются генетические и биохимические основы резистентности, что позволяет наметить наиболее рациональные подходы к ее преодолению. Особое внимание уделяется возможностям химической модификации лекарственных средств этой группы.

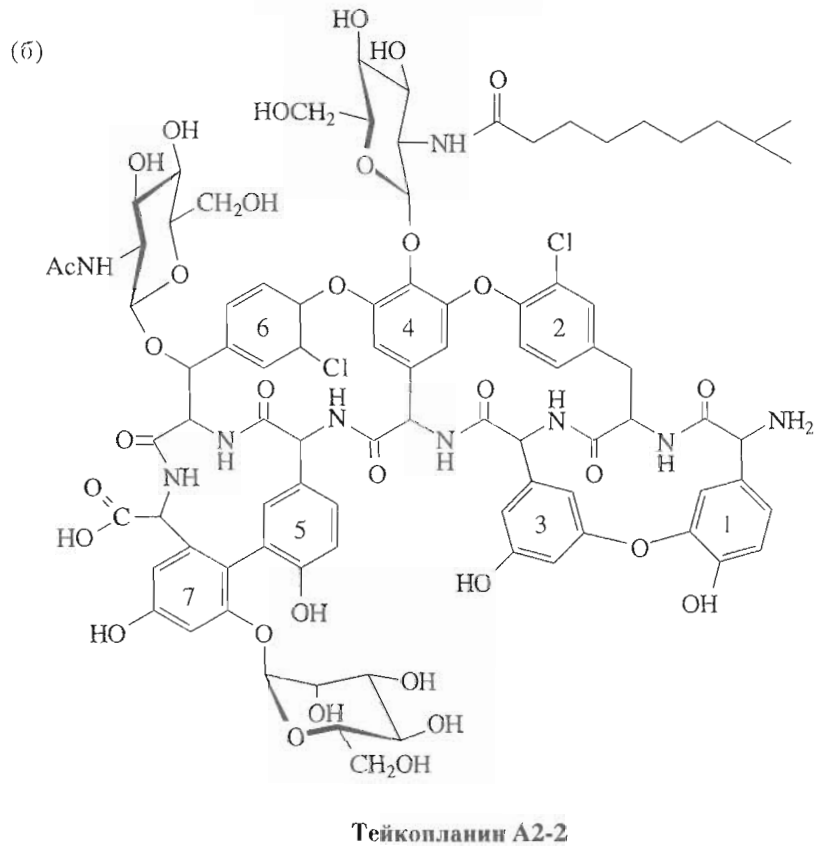
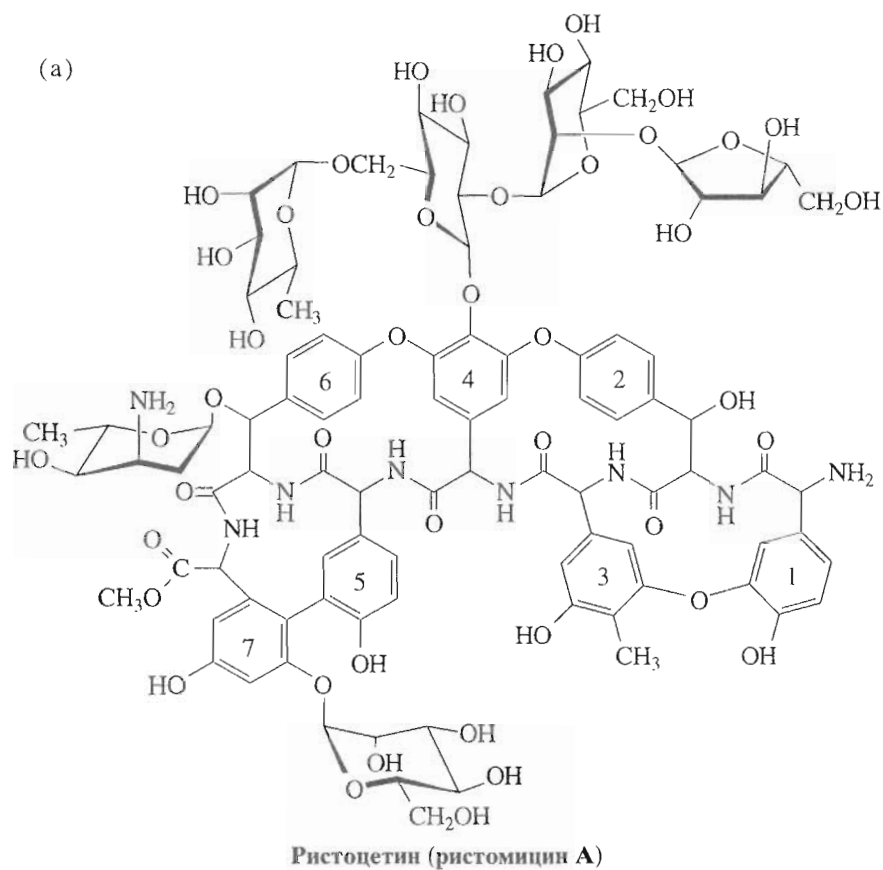
Резистентность к гликопептидам имеет ряд характерных особенностей, в частности индуцибельность [11], выраженные количественные градации устойчивости [12], значительные различия в механизме резистентности стафилококков, энтерококков и других грамположительных микроорганизмов [10, 13–15]. Есть веские основания полагать, что эти особенности обусловлены спецификой структуры и механизма действия указанных препаратов.

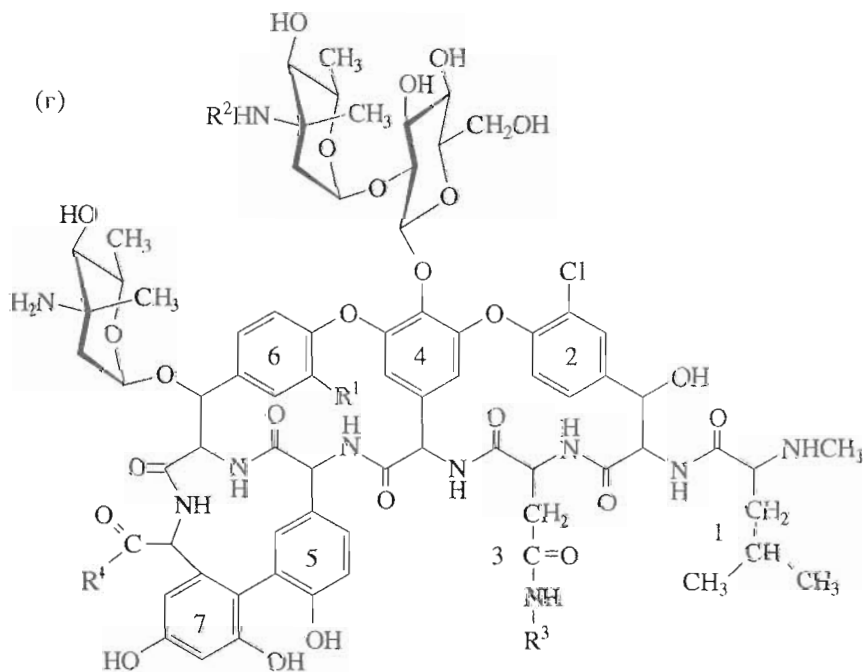
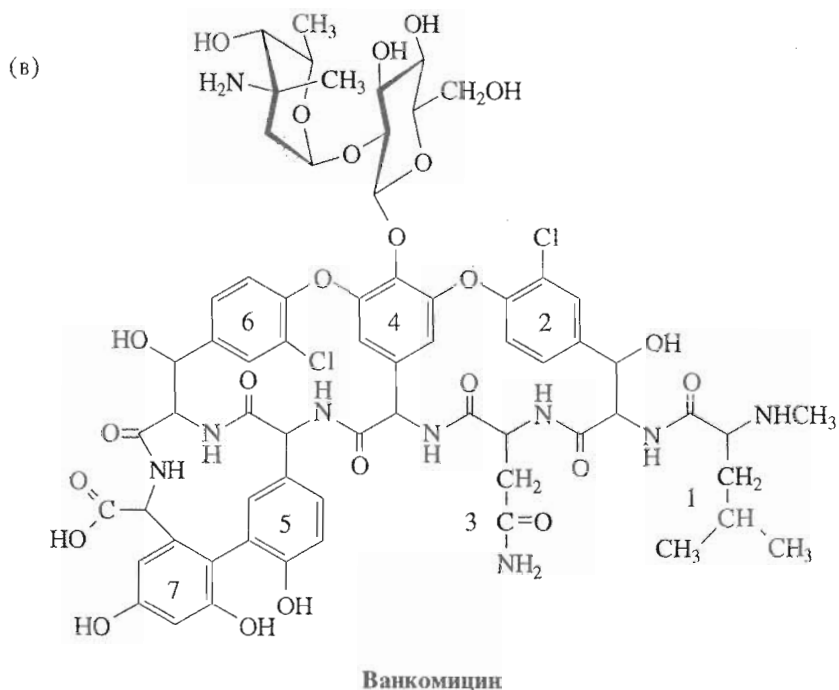
### 1. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ ГЛИКОПЕПТИДОВ И РАЗВИТИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К НИМ

Действие гликопептидных антибиотиков состоит в подавлении ими синтеза пептидогликана,

Сокращения: Лас – молочная кислота, МПК – минимальная подавляющая концентрация, ED<sub>50</sub> – средняя эффективная доза препарата, введение которой приводит к выздоровлению половины экспериментальных животных.

<sup>#</sup> Автор для переписки.





являющегося основным структурным компонентом бактериальной клеточной стенки [5, 16].

В сборке пептидогликана, осуществляемой, как известно, в периплазматическом пространстве, принимают участие молекулы N-ацетилглюкозаминил-N-ацетилмурамоилпентапептида, выполняющие роль основных строительных блоков. Встраивание подобных дисахарид-пентапептидов (дисахарид-пептидных звеньев) в растущие цепи пептидогликана происходит в ходе реакции трансгликозилирования. Последующее замыкание поперечных пептидных связей придает разветвленной структуре пептидогликана необходимую жесткость и прочность [16].

Ингибирующий эффект гликопептидов связан с подавлением ими реакции трансгликозилирования [17, 18]. В присутствии этих антибиотиков не происходит ни встраивания дисахарид-пентапептидов в растущую макромолекулу пептидогликана, ни тем более последующего образования поперечных сшивок [5, 16].

Важно подчеркнуть, что подавление процессов гликозилирования гликопептидами обусловлено не ингибированием соответствующих ферментов, а связыванием антибиотиков с субстратом реакции – дисахарид-пентапептидами: внушительные по своим размерам молекулы антибиотиков стерически препятствуют протеканию последующих биохимических процессов [17, 19].

При этом взаимодействие гликопептидных антибиотиков с указанными дисахарид-пептидными звеньями происходит по С-концевому участку пентапептидной группировки последних, а именно по *-D*-аланил-*D*-аланиновому концевому фрагменту (*-D*-Ala-*D*-Ala), который необходим для образования с участием транспептидаз поперечных сшивок, а также для нормальной работы *D*-аланин-карбоксипептидаз, отщепляющих концевой остаток *-D*-Ala от цепочек, не включенных в каркасную структуру образовавшегося пептидогликана [5, 16].

Именно в воздействии на субстрат, а не на фермент кроется основная причина трудного развития у микроорганизмов резистентности к гликопептидам, поскольку для ее возникновения требуются множественные мутации, способные обеспечить не только появление модифицированного субстрата, но и его эффективное использование в последующих биохимических процессах.

Вероятность одновременного появления подобных мутаций весьма низка. Вот почему устойчивость к гликопептидам, вызванную модификацией мишени, первоначально удавалось продемонстрировать лишь у лабораторных штаммов [5, 13]. Для клинических изолятов многих микроорганизмов, в первую очередь стафилококков, весьма характерной оказалась резистентность иного рода, нередко связанная с маскировкой ми-

шени с помощью специальных защищающих белков или с изменением проницаемости наружных слоев клеточной стенки [10, 15].

Эффективность защиты бактерий посредством изменений в наружных слоях клеточной стенки весьма велика. Подобный механизм имеется у грамотрицательных бактерий, для которых, как известно, характерна природная устойчивость к гликопептидам. Их резистентность объясняется наличием наружного липополисахаридного слоя, блокирующего доступ к пептидогликану для многих антибиотиков, в том числе препаратов данной группы [20].

К сожалению приходится констатировать, что генетические и биохимические аспекты механизма резистентности к гликопептидам, связанного с уменьшением доступности мишени, изучены до сих пор довольно слабо. Известно, например, что в отличие от штаммов, чувствительных к гликопептидам, резистентные штаммы стафилококков обладают несколько более толстой клеточной стенкой, имеющей нерегулярную структуру. Они значительно хуже адсорбируют фаги и более устойчивы к лизоциму. Тем не менее до сих пор не ясно, насколько такие отличия в структуре клеточной стенки способствуют повышению резистентности к гликопептидам [21, 22].

Вместе с тем убедительно показано, что клинические изоляты *Staphylococcus aureus*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, резистентные к тейкоплатину, характеризуются значительно большим содержанием “пенициллинсвязывающих белков” (РВР2-1 и РВР2-2). В составе их клеточной стенки имеются новые мембраносвязанные белки с *M* 35 и 39 кДа [15, 22]. Повышенное содержание белков РВР характерно также для штаммов *S. aureus*, получивших резистентность в лабораторных условиях [21]. Тот факт, что у клинических изолятов *S. aureus* рата подобных белков приводит к потере резистентности к тейкоплатину, безусловно, свидетельствует об их роли в защите от гликопептидов [22].

Механизм действия указанных белков на биохимическом уровне еще не вполне ясен. Их способность к какой-либо модификации мишени очевидна, так как у резистентных штаммов не наблюдается серьезных изменений в аминокислотном составе дисахарид-пептидных звеньев [15]. Лишь для нового 36,7-кДа белка, обнаруженного в цитоплазме резистентного лабораторного мутанта *S. aureus* 523к, удалось выявить *D*-лактатдегидрогеназную активность [23]. Не способны новые белки и к ферментативной инактивации гликопептидных антибиотиков, устойчивость которых к ферментным воздействиям давно известна и является одной из наиболее примечательных особенностей препаратов этой группы [24].

Таким образом, приходится допустить, что защитная функция большинства описываемых

здесь белков скорее всего заключается в предохранении восприимчивых к гликопептидам дисахарид-пептидных звеньев от контакта с антибиотиками [15, 21, 22].

Необходимо подчеркнуть, что механизм резистентности, связанный с уменьшением доступности мишени, значительно более эффективен по отношению к тейкопланину, чем к ванкомицину [25]. Действительно, выделенные к настоящему времени клинические изоляты *S. aureus* если и проявляли резистентность к гликопептидным препаратам, то только к тейкопланину [15, 26]. Вместе с тем в лабораторных условиях удается получать штаммы, обладающие устойчивостью как к тейкопланину, так и к ванкомицину, а также к обоим препаратам одновременно [21, 23, 27].

Поскольку гликопептидрезистентные стафилококки представляют значительную угрозу для здоровья людей, существует настоятельная необходимость поиска препаратов, способных преодолеть описываемый здесь механизм резистентности [2, 6, 25]. К сожалению, практически полное отсутствие сведений о его генетических и биохимических особенностях до сих пор не позволяет подвести должную научную основу для осуществления подобного скрининга. Тем не менее проверка химически модифицированных препаратов гликопептидных антибиотиков с использованием коагулазонегативных штаммов стафилококков, в том числе *S. haemolyticus* и *S. epidermidis*, регулярно проводится и время от времени дает обнадеживающие результаты [28–30].

Основные успехи в исследовании генетических и биохимических основ резистентности клинических штаммов к гликопептидным антибиотикам были достигнуты при изучении энтерококков. Вопреки всем первоначальным представлениям о трудности развития резистентности к гликопептидам за счет модификации мишени именно этот механизм оказался характерным для столь важной с клинической точки зрения группы возбудителей [9, 31–33].

Результаты многочисленных экспериментов убедительно показали, что число генов, ответственных за развитие резистентности по типу модификации мишени, весьма ограничено, они вполне могут компактно размещаться в относительно небольших трансмиссивных элементах [34–36] и их действие хорошо сочетается с работой обычных генов, участвующих в синтезе клеточной стенки [13].

Благодаря детальному анализу указанного механизма удается не только вскрывать основные причины падения эффективности известных гликопептидов, но и разрабатывать рациональные научные подходы, направленные на создание новых, более действенных лекарственных средств.

## 2. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ МОДИФИКАЦИЕЙ МИШЕНИ

Модификация мишени, приводящая к появлению резистентности к гликопептидным антибиотикам, состоит в изменении концевой фрагмента *-D-Ala-D-Ala* в пептидной цепи дисахарид-пентапептидов. Новый концевой фрагмент *-D-Ala-D-Lac* способствует резкому уменьшению связывания несущих его дисахарид-пентапептидов с гликопептидными антибиотиками и, как следствие этого, не мешает продолжению синтеза пептидогликана, несмотря на присутствие антибиотиков [9, 13, 33].

Для биосинтеза таких измененных дисахарид-пептидных звеньев, не восприимчивых к гликопептидам, требуется работа нескольких генов (рис. 1). Ключевая роль принадлежит гену *vanA*, продукт которого представляет собой *D-Ala-D-Xaa*-лигазу, имеющую по сравнению с обычной *D-Ala-D-Ala*-лигазой (ген *ddl*) гораздо меньшую субстратную специфичность и использующую в качестве субстрата наряду с *D*-аланином также *D*-молочную кислоту (*D*-лактат), представляющую собой гидроксильный аналог *D*-аланина. В результате вместо *D*-аланил-*D*-аланиновых дипептидов синтезируются *D*-аланил-*D*-лактатные депсипептиды, способные активно вовлекаться в биосинтез хотя и модифицированных, но все же достаточно полноценных для встраивания в пептидогликан дисахарид-пептидных звеньев [13, 32, 37, 38].

Снабжение *VanA*-лигазы *D*-лактатом происходит благодаря работе второго важного гена резистентности – *vanH*, кодирующего специфическую *D,D*-дегидрогеназу, обеспечивающую превращение пировиноградной кислоты (пируват, т.е.  $\alpha$ -кетокислота) в *D*-лактат ( $\alpha$ -гидроксикислота) [13, 39]. Третий основной ген резистентности – *vanX* – необходим для образования специфической гидролазы, расщепляющей связь в дипептиде *D*-аланил-*D*-аланин, но не способной к гидролизу депсипептидов *D*-аланил-*D*-лактат [40].

Наблюдается тесная сцепленность трех основных генов резистентности, экспрессируемых одновременно. При их нормальном функционировании содержание чувствительных к ванкомицину *-D-Ala-D-Ala*-фрагментов в дисахарид-пептидных звеньях резко сокращается. Соотношение не восприимчивых к ванкомицину концевых группировок *-D-Ala-D-Lac* к восприимчивым *-D-Ala-D-Ala* становится 49 : 1 [32, 41].

У большинства клинических изолятов энтерококков устойчивость к гликопептидам имеет ярко выраженный индуцируемый характер [11]. Индукция генов резистентности происходит в том случае, когда на их общий промоторный участок,



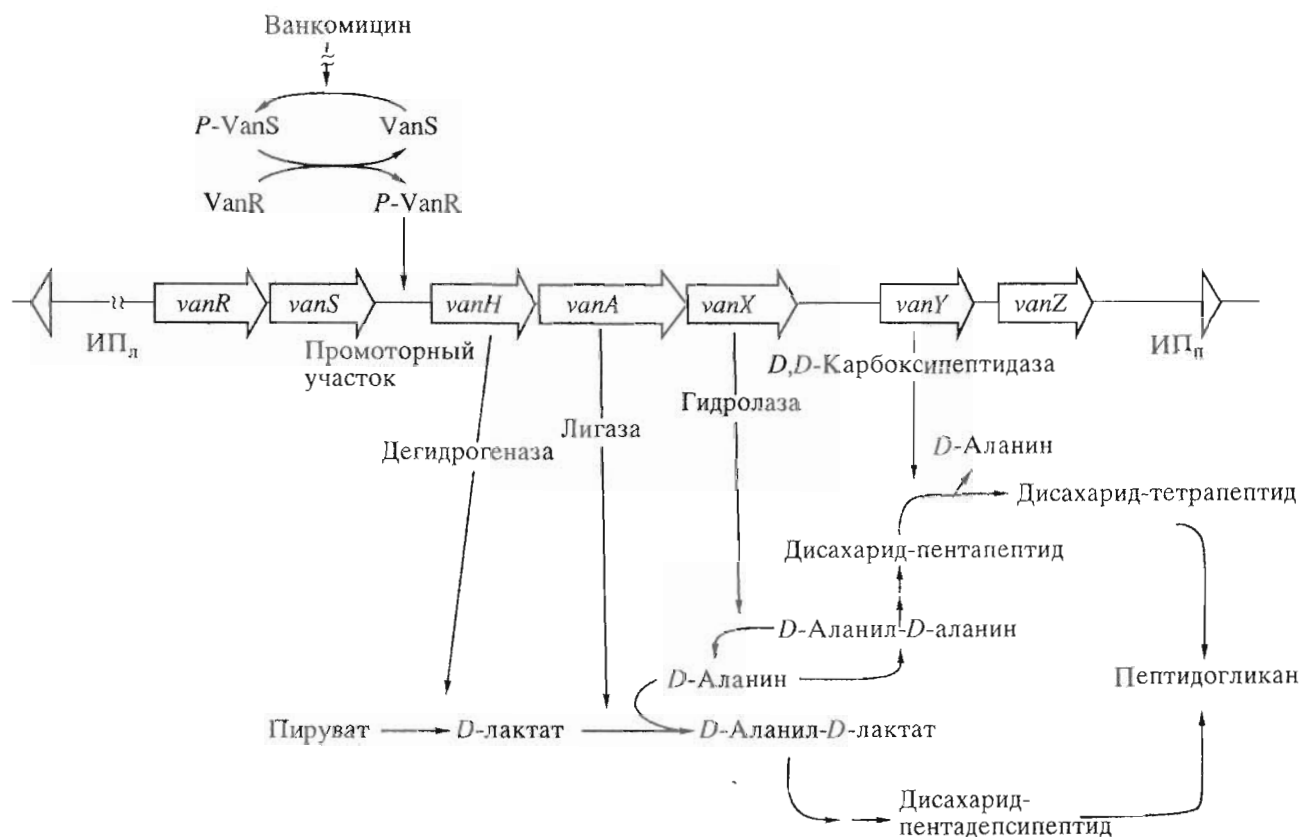


Рис. 1. Организация и функционирование генов резистентности к гликопептидным антибиотикам на примере транспозона Tn 1546 из *E. faecium* VM 4147. (ИП<sub>л</sub> и ИП<sub>п</sub> – левый и правый инвертированные повторы).

расположенный перед *vanH* (рис. 1), воздействует специальный белок VanR [42, 43]. Активация последнего (активная форма обозначена *P-VanR*), в свою очередь, происходит при посредстве трансмембранного белка VanS [43]. Действие указанных белков позволяет говорить о существовании специальной двухкомпонентной сигналпередающей регуляторной системы [42–44]. Внешним стимулом, запускающим ее работу, является, по-видимому, ингибирование гликопептидными антибиотиками трансгликозилирования, одного из наиболее важных процессов в формировании полноценной структуры пептидогликана [45]. Индукцию основных генов резистентности к гликопептидам можно получить также, используя антибиотики негликопептидной природы, подавляющие трансгликозилирование, такие, например, как мюекомицин или бацитрацин [45, 46]. Отвечающие за индукцию устойчивости к гликопептидам гены *vanS* и *vanR* располагаются вблизи регулируемых ими основных генов резистентности [34, 37, 42, 44].

Как показали эпидемиологические исследования, ген *vanA* широко распространен в резистентных штаммах энтерококков [47, 48]. Поскольку наблюдается гибридизация *vanA*-зонда с ДНК большинства высокорезистентных штаммов, можно было предположить, что указанный ген

входит в состав транспозона и соответственно способен к активной передаче внутри микробных популяций [35, 49, 50]. В самом деле, в районе расположения описываемых генов при секвенировании ДНК резистентных штаммов удалось выявить два небольших (38 п. о.) инвертированных повтора, располагающихся на расстоянии порядка 10 т. п. о. друг от друга и являющихся характерным признаком существования транспозона [51].

В состав обнаруженного у *Enterococcus faecium* VM4147 транспозона Tn1546 и ряда других транспозонов помимо гена *vanA* и всех описываемых выше генов резистентности входят также гены *vanY* и *vanZ* (рис. 1). Первый кодирует специфическую *D,D*-карбоксипептидазу, не ингибируемую пенициллином [34, 52], функция второго пока не вполне ясна [53].

Наличия самого по себе гена *vanY* еще не достаточно для проявления резистентности к ванкомицину [51]. Роль указанного гена становится значимой лишь в присутствии остальных генов резистентности. Дело в том, что он кодирует специфическую VanY-карбоксипептидазу, отщепляющую *S*-концевой *D*-аланин из пентапептидных группировок дисахарид-пептидных звеньев [31, 54]. Можно сказать, что указанный фермент подчиня-



ет работу предыдущих генов, поскольку устраняет чувствительную к ванкомицину мишень на самом последнем этапе, когда та уже присутствует в готовых строительных блоках [39, 44, 52, 55].

Не удивительно, что деятельность описываемого фермента особенно важна при избытке *D*-аланина в среде, когда, несмотря на усиленную работу VanX-гидролазы, достаточно большое количество *D*-аланил-*D*-аланиновых дипептидов все же сохраняется и оказывается включенным в состав дисахарид-пептидных звеньев. У штаммов, обладающих нормально работающей VanY-карбоксипептидазой, уровень резистентности к гликопептидам даже в условиях избытка *D*-аланина в среде будет по-прежнему высок [55].

Многие клинические изоляты энтерококков обладают устойчивостью к гликопептидам благодаря наличию не *vanA*-, а *vanB*-гена резистентности, кодирующего *D*-Ala-*D*-Хаа-лигазу, несколько отличную от VanA-лигазы по аминокислотной последовательности (76% гомологии) [56, 57]. Вместе с тем VanB-лигаза обладает принципиально сходным с VanA-лигазой механизмом действия: в результате ее работы также образуется депсипептид *D*-аланил-*D*-лактат [56–58]. Поскольку VanB-штаммы обычно обладают низкоуровневой резистентностью и, проявляя устойчивость к ванкомицину, сохраняют чувствительность к тейкопланину [12, 49, 58], можно думать, что эффективность работы этой лигазы несколько ниже, чем у VanA.

Необходимо отметить, что характер резистентности энтерококков зависит не только от способности к образованию конкретной лигазы, но и от функционирования других генов кластера резистентности [56, 57, 59]. Действительно, для ряда VanB-штаммов характерным оказался высокоуровневый тип резистентности и, наоборот, некоторые VanA-штаммы проявляли обычную для штаммов VanB низкоуровневую резистентность [7, 60].

Здесь уместно обратить внимание на наличие количественного аспекта в проблеме резистентности к гликопептидным антибиотикам. Действительно, уровень устойчивости к этим препаратам в значительной степени зависит от функционирования дополнительных генов *van*-кластера, работа которых самым существенным образом отражается на эффективности формирования модифицированных мишеней [10, 42]. По-видимому, именно по этой причине в клинической практике имеет место не только высокоуровневый (МПК к ванкомицину  $\geq 128$  мкг/мл), но и низкоуровневый тип резистентности (МПК  $\leq 64$  мкг/мл), а также многочисленные промежуточные формы [12].

Для большинства изолятов *Enterococcus gallinarum*, *E. casseliflavus* и *E. flavescens* характерно существование природной низкоуровневой резис-

тентности к ванкомицину, но не к тейкопланину. Изучение этого феномена позволило выявить VanC-фенотип, проявляющийся у большинства штаммов конститутивно и связанный с хромосомной локализацией генов резистентности [49, 61].

С помощью ПЦР был амплифицирован ген *vanC*, кодирующий еще одну специфическую *D*-Ala-*D*-Хаа-лигазу, результатом деятельности которой оказывается образование *D*-аланил-*D*-сериновых дипептидов, а в конечном счете – менее восприимчивых к ванкомицину видоизмененных дисахарид-пептидных звеньев, содержащих на С-конце пентапептидных фрагментов группировку *-D*-Ala-*D*-Ser [61–64]. Очевидно, что подобная замена не сказывается на чувствительности штаммов к тейкопланину [57].

Ген *vanC* локализуется в высококонсервативных районах бактериальной хромосомы и нередко сопряжен с генами, ответственными за образование специфической *D*,*D*-гидролазы и чувствительной к пенициллину *D*,*D*-карбоксипептидазы [61, 63]. Сама VanC-лигаза характеризуется весьма невысокой степенью аминокислотной гомологии с VanA- и VanB-лигазами (38%) [56, 57, 62].

В целом, говоря о механизме резистентности, обусловленном модификацией мишени, следует признать его высокую эффективность, в особенности в отношении ванкомицина. Конечным результатом работы всех описываемых здесь генов является образование как можно большего числа измененных мишеней, утративших свою первоначальную способность к взаимодействию с молекулами гликопептидных антибиотиков. Наиболее эффективной модификацией дисахарид-пептидных звеньев оказывается замена их концевых фрагментов *-D*-Ala-*D*-Ala на *-D*-Ala-*D*-Lac.

Подобная резистентность характерна лишь в отношении гликопептидных антибиотиков и не дает перекрестной устойчивости с лекарственными препаратами других классов [10].

Вместе с тем, поскольку эффективность описываемого механизма резистентности в отношении ванкомицина и тейкопланина различна, можно заключить, что любые, даже весьма незначительные на первый взгляд, изменения в структуре гликопептидных антибиотиков могут оказаться весьма важными для преодоления устойчивости.

Таким образом, следует признать, что теоретическая возможность преодоления резистентности путем использования гликопептидов с измененной химической структурой существует. Ярким подтверждением этого вывода стало создание на базе гликопептидных молекул ряда полусинтетических препаратов, активных не только в отношении резистентных энтерококков и стафилококков [28–30, 65, 66], но и в отношении грамотрицательных микроорганизмов [20], обладающих, как известно, природной устойчивостью к гликопептидам [5, 16, 25].

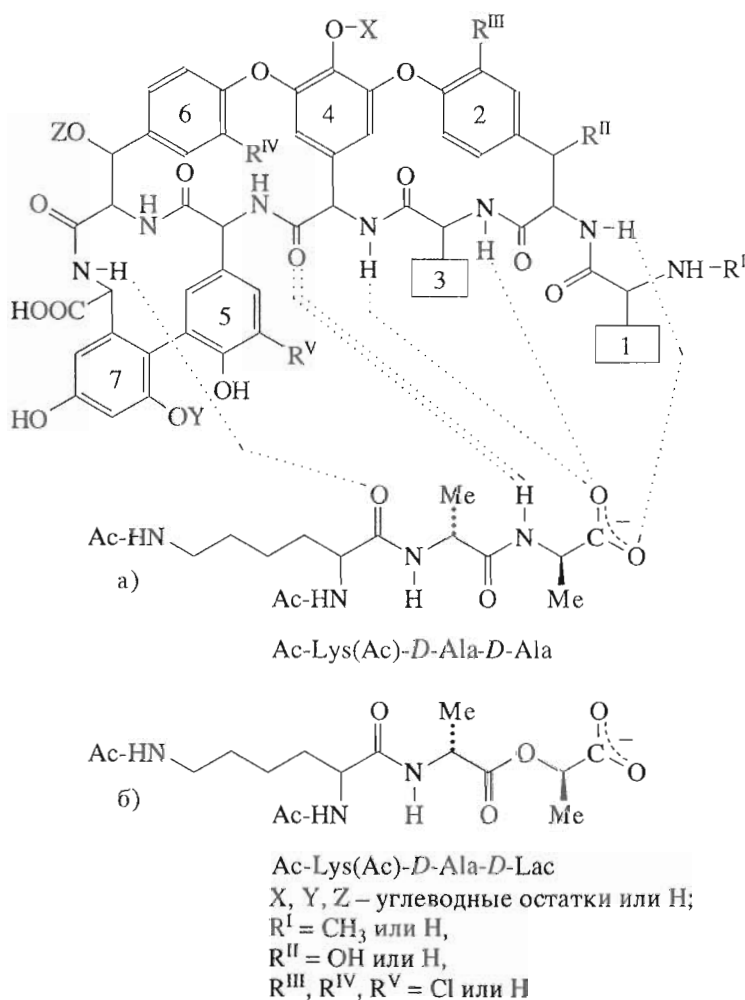


Рис. 2. Модель взаимодействия гликопептидного антибиотика с лигандом Ac-Lys(Ac)-D-Ala-D-Ala в чувствительных к антибиотикам бактериях (а). Пунктиром обозначены водородные связи. Двойным пунктиром обозначена водородная связь, которая не образуется, когда лиганд меняется на Ac-Lys(Ac)-D-Ala-D-Lac (б) в резистентных энтерококках.

В целях выяснения наиболее предпочтительных направлений в химической модификации антибиотиков следует провести детальный анализ взаимодействия гликопептидов с их мишенями на молекулярном уровне.

### 3. ОСНОВЫ МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В СИСТЕМЕ ГЛИКОПЕПТИД-МИШЕНЬ, ВОЗМОЖНОСТИ УЛУЧШЕНИЯ ГЛИКОПЕПТИДНОЙ СТРУКТУРЫ

Взаимодействие гликопептидного антибиотика с С-концевым фрагментом -D-Ala-D-Ala дисахарид-пентапептидного предшественника пептидогликана напоминает взаимодействие субстрата с ферментом и осуществляется в два этапа. Сначала за счет электростатического притяжения концевая -COO-группа пентапептидного остатка пеп-

тидогликана клеточной стенки сближается с положительно заряженной N-концевой аминогруппой антибиотика-гликопептида, после чего происходит полное затягивание концевой дипептидной фрагмента внутрь связывающего кармана молекулы антибиотика [5]. При этом возникает пять водородных связей между NH- и CO-группами дипептида мишени и гептапептидного остова антибиотика, как показано на примере Ac-Lys(Ac)-D-Ala-D-Ala и агликонового фрагмента гликопептидного антибиотика (рис. 2а).

Образующийся комплекс достаточно прочен. Значение константы связывания для различных антибиотиков этой группы колеблется от  $10^5$  до  $10^6$  M<sup>-1</sup> [67, 68]. Однако антибактериальная активность не всегда находится в прямой зависимости от прочности комплекса препарата с модельным пептидом Ac-Lys(Ac)-D-Ala-D-Ala.



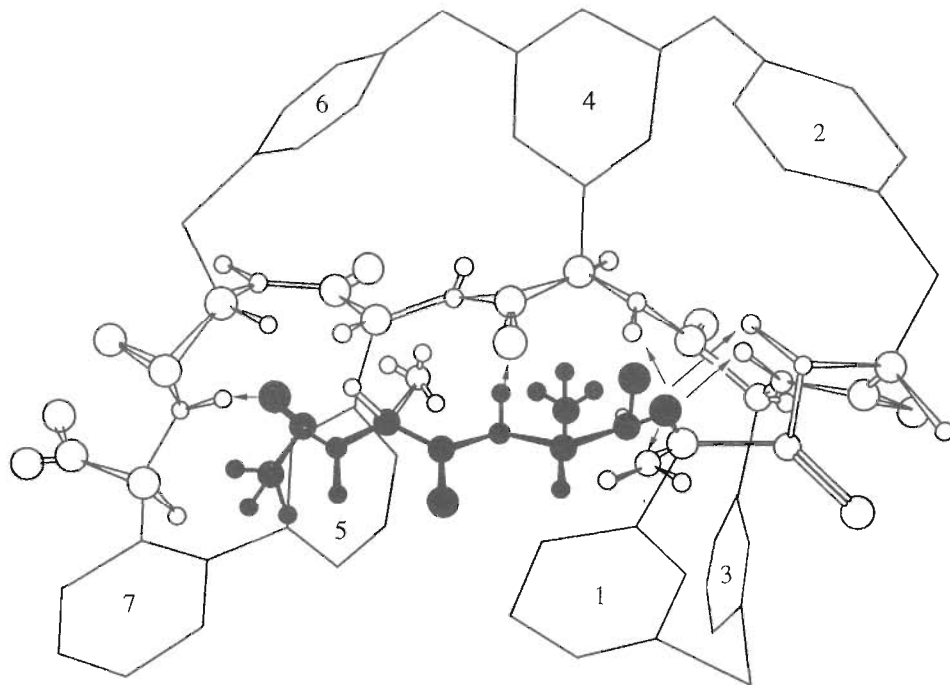


Рис. 3. Взаимодействие агликона гликопептидного антибиотика с модельным пептидом Ac-D-Ala-D-Ala. Стрелками обозначены водородные связи.

Каждый из известных антибиотиков – ристоцетин, тейкопланин, ванкомицин и эремомицин – имеет свои характерные особенности, обусловленные их химическим строением.

К одной группе относят ристоцетин и тейкопланин, аминокислотные остатки 1 и 3 которых содержат ковалентно связанные друг с другом ароматические кольца (рис. 3). При этом их внутренняя структура, напоминающая карман, способный связываться с концевым фрагментом -D-Ala-D-Ala, обладает более устойчивой конформацией по сравнению с антибиотиками ванкомициновой группы – ванкомицином и эремомицином, у которых остатки алифатических аминокислот 1 и 3 ковалентно не связаны.

В стабилизации комплекса гликопептидных антибиотиков с мишенью большую роль играют так называемые вторичные взаимодействия, в которых участвуют периферийные (по отношению к связывающему карману) участки молекул. Следовательно, вторичная структура этих антибиотиков имеет большое значение.

Так, для стабилизации комплекса в случае ванкомицина необходим остаток -N-метил-D-лейцина и дисахаридная ветвь [69]. Для агликона эремомицина было показано, что замена концевого остатка -N-метил-D-лейцина на остаток -D-лизина, содержащий аминоалкильный радикал с липофильным фрагментом  $-(CH_2)_4-$ , не приводит к потере его антибактериальной активности [70].

Для ристоцетина и особенно для эремомицина очень важную роль в проявлении антибактери-

альной активности играет способность молекул этих антибиотиков образовывать в водных растворах димеры [71]. В случае эремомицина эта способность сохраняется для многих его полусинтетических производных [72]. Оказалось, что присоединение молекулы модельного лиганда, содержащего фрагмент -D-Ala-D-Ala, к димеру антибиотиков увеличивает их антибактериальную активность.

На основании этих данных были предложены модели взаимодействия антибиотиков-гликопептидов с мишенью [71]. Если ванкомицин взаимодействует с мишенью как мономер (рис. 4б), то эремомицин – как димер (рис. 4в, 5). Димеры эремомицина и CL-AA6-эремомицина (атом хлора в положении 3 ароматического кольца остатка аминокислоты 6) (A82846B или LY 264826) особенно прочны ( $K_{\text{дим}} \sim 10^5 \text{ M}^{-1}$ ) [73]. Две молекулы антибиотиков взаимодействуют друг с другом по типу “голова к хвосту” путем синхронного образования водородных связей между пептидными NH- и CO-группами, не участвующими в образовании комплекса с фрагментом D-Ala-D-Ala (рис. 5). Константа димеризации эремомицина в комплексе с лигандом Ac-Lys(Ac)-D-Ala-D-Ala на два порядка больше, чем в отсутствие этого лиганда [71].

Для тейкопланина характерна способность к существованию в двух различных конформационных состояниях. Каждое из них оказывается по-своему важным для антибактериальной активности препарата [74]. Один из конформеров способен к дополнительной стабилизации своего комплекса

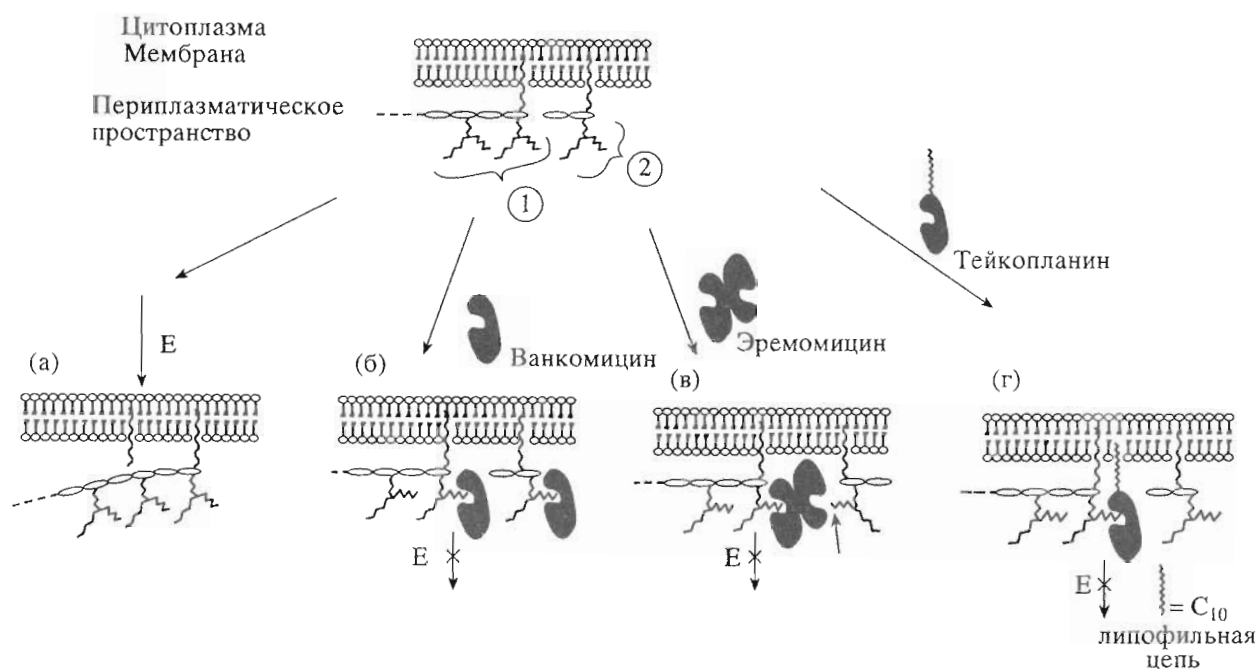


Рис. 4. Синтез с участием трансглюкозидазы (E) пептидогликана клеточной стенки бактерий в отсутствие антибиотиков (а) и подавление синтеза пептидогликана в присутствии антибиотиков-гликопептидов ванкомицина (б), эремомицина (в) и тейкопланина (г). (1 – пептидогликан, 2 – дисахарид-пентапептид).

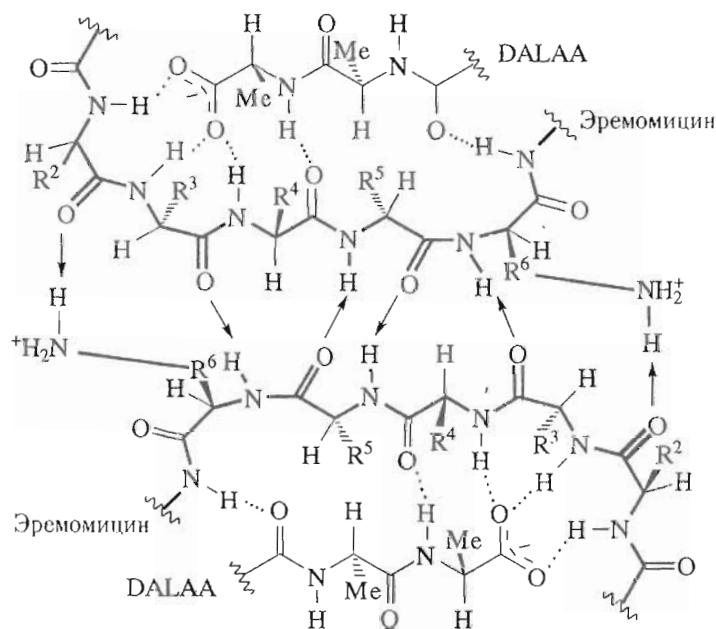


Рис. 5. Взаимодействие димера эремомицина с двумя молекулами Ac-Lys(Ac)-D-Ala-D-Ala (DALAA). Пунктиром показаны водородные связи между антибиотиком и рецептором, стрелками – между двумя молекулами антибиотика.

с мишенью за счет гидрофобного взаимодействия трех аксиальных протонов остатка N-ацил-D-глюкозамина при остатке 4 (AA4) с боковой метильной группой C-концевого остатка D-аланина модельного дипептида N-ацетил-D-Ala-D-Ala.

Другой конформер характеризуется тем, что благодаря повороту остатка N-ацил-D-глюкозамина на  $180^\circ$  у него появляется возможность свободного встраивания в клеточную цитоплазматическую мембрану длинным липофильным ациль-

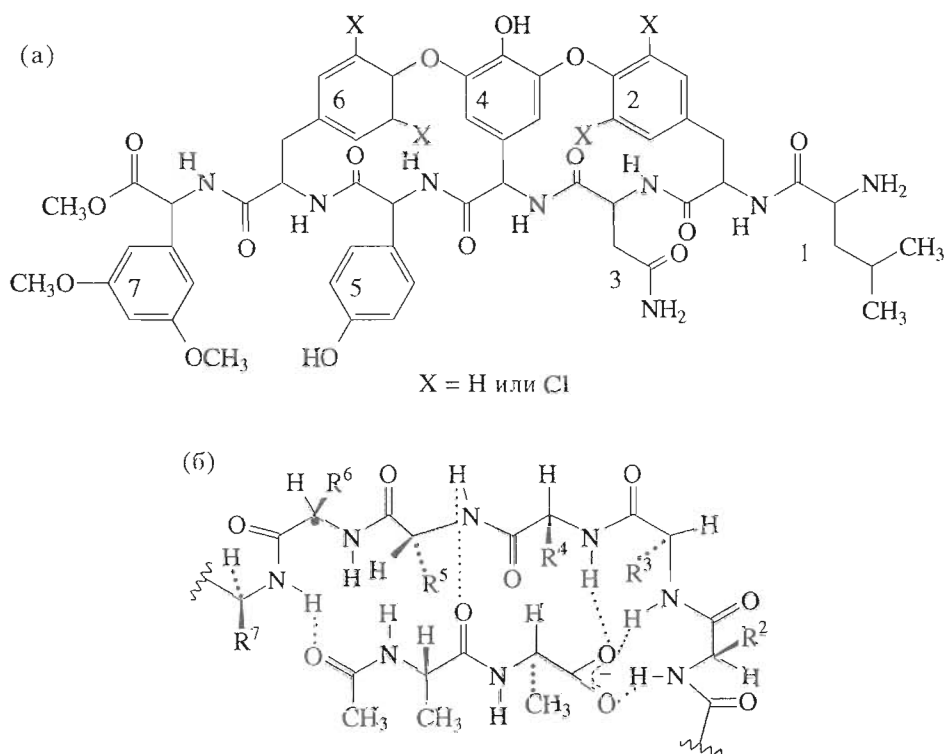


Рис. 6. Структура синтетического гептапептида (а) и схема его взаимодействия с дипептидом Ас-*D*-Ала-*D*-Ала (б).

ным радикалом  $C_{10}$ . Наличие подобного якоря существенно усиливает взаимодействие антибиотика с мишенью [74] (рис. 4г).

Как уже было указано, устойчивые к гликопептидам энтерококки (*VanA*- и *VanB*-фенотипов) при построении клеточной стенки в качестве предшественников используют дисахарид-пептидные звенья, модифицированные по *C*-концевому пептидному остатку. При взаимодействии ванкомицина с модельным пептидом, содержащим нормальный концевой фрагмент *D*-Ала-*D*-Ала, образуются пять водородных связей, а при взаимодействии того же антибиотика с моделью, имитирующей модифицированные звенья с концевым *D*-Ала-*D*-Лас-звеном (или *D*-аланил-*D*- $\alpha$ -гидроксипропанатом), — четыре водородные связи (рис. 2) [13]. Кроме того, возникает дополнительное отталкивание между карбонильной группой остатка АА4 и кислородом сложноэфирной группы депсипептида. Величина константы связывания ( $\sim 10^2 \text{ M}^{-1}$ ) хотя и заметно снижена, но все же достаточна, чтобы обеспечить некоторое слабое взаимодействие “резистентного” рецептора с антибиотиком.

При этом не следует забывать об уникальных способностях гликопептидных антибиотиков к дополнительной стабилизации комплекса с мишенью за счет использования различных элементов своей вторичной структуры, например путем образования димеров или закоривания на мемб-

ране жирными липофильными радикалами. Кооперативность между процессами димеризации и взаимодействия с рецептором внутри связывающего кармана антибиотика термодинамически очень выгодна и играет важную роль в ингибировании синтеза пептидогликана клеточной стенки бактерий [75].

Таким образом, химическую трансформацию антибиотиков-гликопептидов следует направить не только на конструирование нового связывающего кармана, имеющего выраженную комплементарность к предшественникам пептидогликана, содержащим фрагмент *D*-Ала-*D*-Лас, но и на модификацию периферийных участков молекулы антибиотика, способных значительно повысить эффективность первичного взаимодействия антибиотика с мишенью.

Эти два основных подхода к преодолению резистентности бактерий успешно развиваются в настоящее время.

#### 4. ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ГЛИКОПЕПТИДНЫХ АНТИБИОТИКОВ, НАПРАВЛЕННАЯ НА ИЗМЕНЕНИЕ ИХ СВЯЗЫВАЮЩЕГО КАРМАНА

Указанный подход направлен прежде всего на конструирование нового связывающего кармана антибиотика, что достигается путем полного химического синтеза его агликона или же путем ча-



Антибактериальная активность гликопептидных антибиотиков и их производных в отношении бактерий с множественной лекарственной устойчивостью: МПК (мкг/мл) (интервал или среднее значение) [28, 29, 66, 79, 80, 81]

Клинические штаммы бактерий	Ванкомицин	Тейкопланин	Эремомин	LY 264826	LY 191145	LY 307599	MDL 63166	MDL 63246	LCTA 337
<i>Staphylococcus aureus</i>	1-4	0.13-8	0.13	0.25	0.125-2	0.06-0.5	0.125	0.06-0.25	0.5
<i>S. epidermidis</i>	1-8	0.5-16	0.13	0.5-4	0.25-4	0.25-1	0.125	0.06-1	0.5
<i>S. haemolyticus</i>	1-4	1-64	0.13	0.5	0.25	0.25-1	0.5	0.13-2	0.13
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203	0.5	0.016-0.06	0.13	0.13	0.016	0.06	0.25	0.002-0.03	0.13
Энтерококки (чувствительные)	1-2	0.13-0.5	0.13-0.5	0.25-1	0.13-1	0.03-2	0.5	0.06-0.13	0.25
Энтерококки (резистентные)									
VanA	>128	>128	>128	4-128	1-16	0.03-2	16	4-64	8-64
VanB	>128	>128	-	2-128	1-8	0.016-2	-	0.016-0.13	-
VanC	>128	>128	-	0.5-2	0.5-1	0.06-1	-	0.03-0.13	-

стичной реконструкции подходящего природного гликопептида.

Полным синтезом получен [76] гептапептид, содержащий пространственно разобщенные аминокислотные остатки AA5 и AA7 (рис. 6а), который взаимодействует с модельным пептидом Ac-D-Ala-D-Ala иначе (рис. 6б), чем природные гликопептидные антибиотики. В комплексе этого гептапептида с Ac-D-Ala-D-Ala 4-я водородная связь, считая с N-конца антибиотика, образуется между NH-группой остатка AA5 и C=O-группой N-концевого остатка D-аланина модельного дипептида, в то время как для всех природных гликопептидов 4-я связь в норме образуется между C=O-группой остатка AA4 и NH-группой модельного пептида Ac-Lys(Ac)-D-Ala-D-Ala (ср. рис. 2а и 6б).

Синтезирован N-концевой тетрапептид, содержащий в модифицированной пептидной цепи ос-

татка AA4 HO-группу, способную взаимодействовать с атомом кислорода сложноэфирной группы депсипептида Ac-D-Ala-D-Lac [77]. Таким образом, при образовании тетрапептидом комплекса с этим депсипептидом возможно появление дополнительной 4-й водородной связи, которая теперь образуется между C=O-группой остатка D-аланина модельного пептида и HO-группой остатка AA4 тетрапептида (рис. 7).

Итальянскими исследователями был предложен метод, позволяющий расщепить 2 → 3-пептидную связь и удалить аминокислоты 1 и 3 [78]. В результате этих превращений был получен синтон – соответствующим образом защищенный тетрапептид (с последовательностью аминокислот 4-7), с которым через ароматический радикал остатка аминокислоты 4 связана аминокислота 2. К тетрапептиду 4-7 с N-конца присоединялась аминокислота 3, затем замыкалась 2 → 3-пептидная связь, и к полученному гексапептиду присоединялась аминокислота 1. Из этого синтона 16-стадийным синтезом впервые были получены три неприродных гептапептида (рис. 8): AA1' = D-Lys; AA3' = Phe (8а), AA1' = D-Lys, AA3' = Lys (8б) и AA1' = D-MeLeu, AA3' = Lys (8в). Пептиды (8а) (MDL 63166) и (8в) были активны в отношении устойчивых VanA-энтерококков (таблица) [79].

Однако, несмотря на большую синтетическую работу и обнадеживающие результаты, рассмотренный подход остается очень трудоемким и дорогостоящим. Перспективна в этом направлении модификация антибиотиков ванкомициновой группы по карбоксамидной группе остатка аспарагина (AA3), расположенной непосредственно вблизи связывающего кармана антибиотика (см. следующий раздел).

Наилучшие результаты в решении столь актуальной проблемы, как разработка препаратов, преодолевающих резистентность к гликопептидам, были достигнуты при модификации, направ-

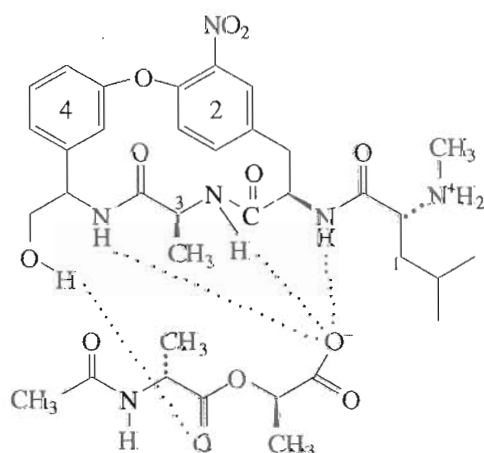
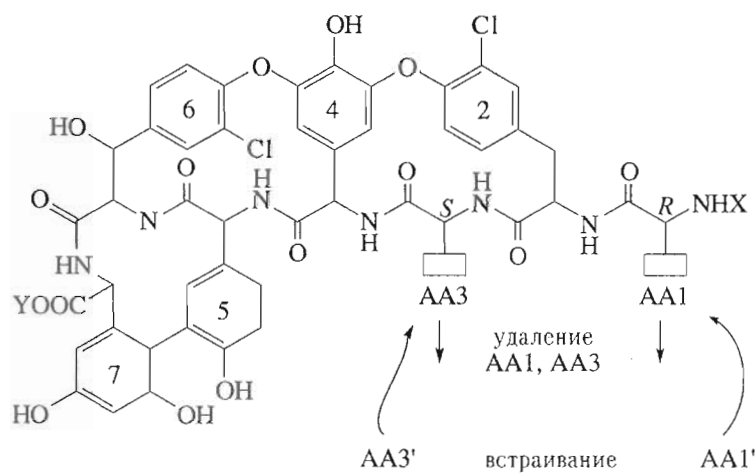


Рис. 7. Взаимодействие синтетического тетрапептида, содержащего HO-группу остатка AA4, с депсипептидом Ac-D-Ala-D-Lac.



(а)  $\text{AA3}' = \text{Phe}$ ,  $\text{AA1}' = D\text{-Lys}$  (MDL 63166)

(б)  $\text{AA3}' = \text{Lys}$ ,  $\text{AA1}' = D\text{-Lys}$

(в)  $\text{AA3}' = \text{Lys}$ ,  $\text{AA1}' = D\text{-MeLeu}$

X, Y – блокирующие группы или H,  $\text{CH}_3$ .

**Рис. 8.** Схема получения новых неперидных гептапептидов на примере агликона тейкопланина: путем расщепления пептидной связи 2  $\rightarrow$  3, получения синтона удалением аминокислот AA1 и AA3 и достраивания синтона до гептапептида новыми аминокислотами AA1' и AA3'.

ленной на изменение гидрофобности молекулы антибиотика.

### 5. ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ МОЛЕКУЛЫ АНТИБИОТИКА, НАПРАВЛЕННАЯ НА ИЗМЕНЕНИЕ ЕГО ГИДРОФОБНОСТИ

В этом подходе используются химические модификации по всем возможным реакционноспособным группам целой молекулы антибиотика –  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{NCH}_3$ ,  $-\text{OH}$  и др. Активность получаемых при этом полусинтетических производных оценивается с помощью различных моделей, в том числе в экспериментах с резистентными к гликопептидам клиническими VanA-, VanB- и VanC-штаммами энтерококков *Enterococcus faecium* и *E. faecalis*, а также тейкопланинрезистентными штаммами стафилококков.

Работы подобного профиля, проводимые в ведущих зарубежных научных центрах и в России (НИИНА РАМН), были начаты практически сразу после установления полной химической структуры основных гликопептидных антибиотиков. В качестве исходных соединений для подобных экспериментов были использованы главным образом препараты, разрешенные к применению в клинике, например ванкомицин (Eli Lilly, США) [18, 82], тейкопланин (Lepetit, Италия) [65, 83], эремоницин (НИИНА РАМН, Россия) [81, 84–86].

Среди производных тейкопланина наиболее интересными соединениями были AA7-карбоксамиды, содержащие аминоалкильные радикалы.

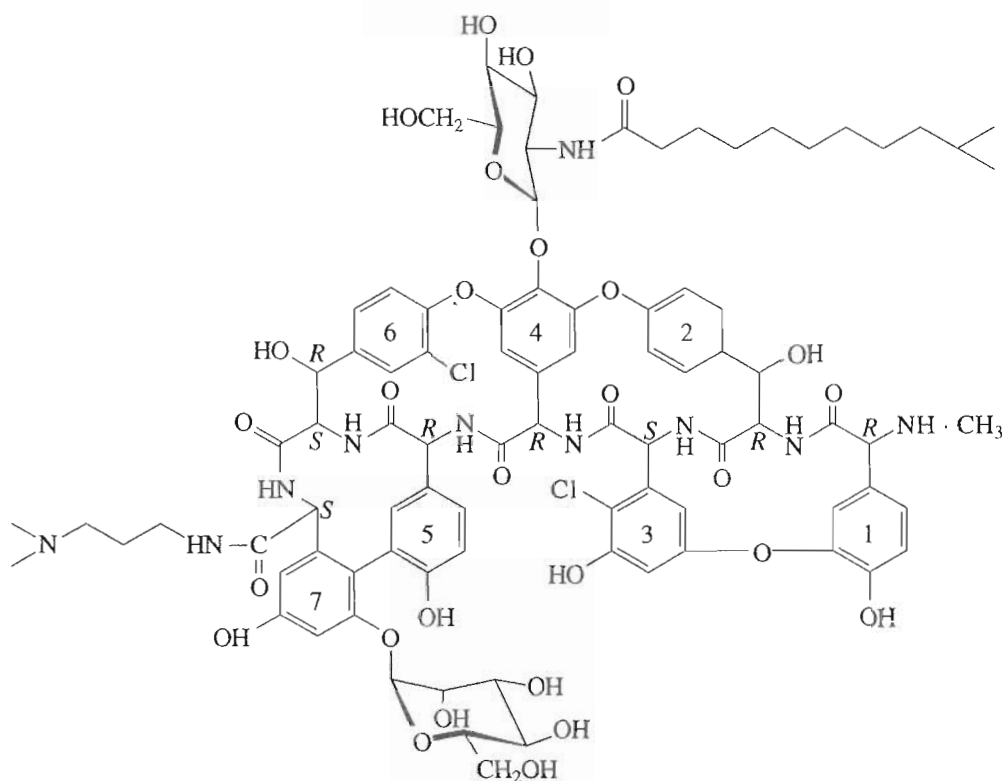
Исследовательским центром Lepetit (Италия) в качестве перспективного кандидата для клинических испытаний подробно изучен препарат MDL 63246 (таблица) [28, 29]. Препарат был получен в несколько стадий исходя из близкого аналога тейкопланина – антибиотика MDL 62476. Ключевой стадией было амидирование  $\text{COOH}$ -концевой группы антибиотика N,N-диметиламинопропиламином.

Интересно, что введенный радикал обладал гидрофобными свойствами и одновременно имел положительный заряд на атоме азота. При введении того же заместителя в концевую  $\text{COOH}$ -группу агликона тейкопланина было получено производное MDL 62934, способное преодолевать природную резистентность грамотрицательных бактерий. Для этого соединения МПК в отношении *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* составила соответственно 2–4 и 8–32 мкг/мл, в то время как для тейкопланина и его агликона – более 1024 мкг/мл [20].

Эффективное подавление аналогом MDL 62934 грамотрицательных микроорганизмов связано с тем, что указанное соединение увеличивает проницаемость наружных липополисахаридных слоев клеточной стенки, вероятно, за счет вытеснения двухвалентных катионов, в том числе  $\text{Mg}^{2+}$ . В результате антибиотик приобретает способность преодолевать характерный для этих микроорганизмов наружный защитный барьер по механизму самоиндуцирующего транспорта [20].

Высокая антибактериальная активность препарата MDL 63246 в отношении грамположи-





MDL 63 246

тельных бактерий, включая метициллинрезистентные клинические штаммы, была подтверждена в опытах *in vivo* [28].

Среди многочисленных производных ванкомицина не было найдено препаратов с заметной активностью в отношении устойчивых к гликопептидам штаммов энтерококков. Наиболее интересные результаты были получены совсем недавно сотрудниками фирмы Eli Lilly (США) при модификации близкого аналога эремомицина – Cl-AA6-эремомицина (A82846B или LY264826). Было показано, что введение объемистых липофильных алифатических или ароматических радикалов в аминогруппу остатка эремозамина дисахаридной ветви при AA4 обеспечивало появление высокой активности в отношении резистентных VanA-энтерококков [66, 80, 87]. При этом вводимый бифенильный радикал, например в *N*-парафенилбензил-Cl-AA6-эремомицине (LY307599), дал больший эффект, чем моноароматический радикал, например в *N*-пара-хлорбензил-Cl-AA6-эремомицине (LY191145) (таблица).

Интервал антибактериальной активности *in vitro* в отношении резистентных VanA-энтерококков составил 0.03–2 и 1–16 мкг/мл соответственно для LY 307599 и LY 191145. Стоит подчеркнуть, что наиболее активное соединение LY 307599 заметно подавляло рост некоторых природно устойчивых грамположительных бактерий. МПК для штам-

мов *Leuconostoc*, *Pediococcus* и *Lactobacillus* составила 16–30 мкг/мл [66].

Препарат LY 307599 подтвердил свою высокую активность в опытах *in vivo*. Он эффективно защищал мышей, экспериментально инфицированных штаммами *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes* (C-203) и *Staphylococcus aureus* 3055 (ED<sub>50</sub> соответственно 0.012; 0.036 и 0.36 мг/кг). Сходные результаты по антибактериальной активности получены также для близкого аналога LY 307599 – препарата LY 333328, в котором присутствует дополнительный атом хлора в *n*-положении бифенильного радикала. Оба препарата, LY 307599 и LY 333328, были отобраны фирмой Eli Lilly как кандидаты для клинических испытаний.

Соединения, активные в отношении резистентных VanA-энтерококков, были получены также в ряду производных эремомицина [81]. На примере AA3, AA7-бисбензиламида карбокси-AA3-эремомицина (LCTA-337) было показано (таблица), что резистентность бактерий удается преодолеть путем введения одновременно двух бензильных радикалов в С-концевую группу AA7 и в боковой радикал остатка аспарагина AA3, расположенного непосредственно вблизи связывающего кармана антибиотика.

Обнадеживающие результаты были получены также при введении в молекулу эремомицина



липофильных радикалов  $C_{10}$  или ароматических радикалов в аминокислоту 7: путем получения карбоксамидов по С-концевой группе или аминотетильных производных (по Манниху) в положение 4 ароматического кольца этой же аминокислоты [88].

Полученные результаты по модификации эремомицина в различных аминокислотных остатках (АА3 или АА7 в двух вариантах) показали, что введение липофильных алифатических или ароматических радикалов в молекулу антибиотика приводит к появлению активности в отношении устойчивых VanA-энтерококков. Для модифицированных производных по АА7 (карбоксамидов и по Манниху) было установлено, что влияние заместителя определяется прежде всего его липофильностью и размером и в меньшей степени зависит от места введения [81, 88].

Поскольку в рассмотренных случаях модификация проводилась на периферийных участках большой молекулы гликопептидных антибиотиков, действие этих производных на резистентные энтерококки можно объяснить не столько усилившимся специфическим взаимодействием внутри связывающего кармана с рецептором – фрагментом *-Lys-D-Ala-D-Lac*, сколько более эффективным взаимодействием липофильных участков молекулы антибиотика со всеми элементами мишени, включая мембранные структуры.

Это предположение недавно было подтверждено экспериментальными данными. Было показано [89, 90], что активный в отношении устойчивых энтерококков препарат LY191145 практически не связывался с лигандом – депсипептидом *Ac-Lys(Ac)-D-Ala-D-Lac*, однако проявлял заметное сродство к мембранным белкам, выделенным из клеточной стенки резистентных VanA-энтерококков. В то же время ванкомицин такого сродства не обнаруживал, а *Cl-AA6-эремомицин* связывался с модельным рецептором значительно слабее. При этом введенный радикал мог способствовать стабилизации выгодной для взаимодействия с мишенью конформации молекулы антибиотика в виде димера (как в случае эремомицина) и/или выполнять роль дополнительного якоря на поверхности мембраны клеточной стенки бактерий (как в случае тейкопланина).

Важно, что появление активности в отношении VanA-энтерококков у производных эремомицина (например, *LCTA 337*), так же как и у ряда производных *Cl-AA6-эремомицина* [80], далеко не всегда связано с увеличением общей антибактериальной активности в отношении многих других грамположительных микроорганизмов. Создается впечатление, что участвующие в синтезе пептидогликана мембранные структуры у VanA-устойчивых энтерококков более уязвимы к действию антибиотика, содержащего липофильные радикалы, чем мембранные структуры у чувствительных грамположительных бактерий.

Пока еще не получено убедительных данных, подтверждающих эффективность рассмотренных выше полусинтетических производных антибиотиков-гликопептидов в отношении устойчивых штаммов VanA-энтерококков *in vivo*. Смогут ли препараты с неспецифическим механизмом действия (т.е. слабо связывающиеся с лигандами N-ацил-*D-Ala-D-Lac*) решить проблему резистентности или нет, покажет время.

Подводя итог обсуждению новейших сведений по проблеме резистентности бактерий к гликопептидам, можно сделать однозначный вывод: знания в области механизма действия этой группы лекарственных препаратов, сведения об основах взаимодействия антибиотиков с чувствительными клеточными структурами на молекулярном уровне чрезвычайно полезны. Они позволяют проанализировать вклад отдельных компонентов гликопептидных структур в проявление их общей биологической активности.

Благодаря такой информации удастся проводить целенаправленную химическую модификацию гликопептидных антибиотиков. В конечном счете получены весьма ценные химические структуры, способные эффективно преодолевать те способы защиты, которые наблюдаются у бактерий в клинических условиях.

Поскольку на базе гликопептидных структур с успехом проводится создание новых весьма действенных лекарственных препаратов, можно с уверенностью заключить, что рассматриваемая группа антибиотических веществ в настоящее время не только не теряет своего значения, но в качестве основы для химической модификации имеет весьма достойные перспективы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сидоренко С.В. // Антибиотики и химиотерапия. 1995. Т. 40. С. 57–69.
2. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC) // Infect. Med. 1995. V. 12. P. 619–620.
3. Kirby W.N. // J. Antimicrob. Chemother. 1984. V. 14 (Suppl. 1). P. 73–78.
4. Griffith R.S. // J. Antimicrob. Chemother. 1984. V. 14 (Suppl. D). P. 1–5.
5. Гейл Э., Кандлифф Э., Рейнолдс П., Ричмонд М., Уоринг М. Молекулярные основы действия антибиотиков: Пер. с англ. М.: Мир, 1975.
6. Kayser F.H. // Curr. Opin. Infect. Dis. 1995. V. 8 (Suppl. 1). P. S7–S11.
7. Clark N.C., Cooksey R.C., Hill B.C., Swenson J.M., Tenover F.C. // Antimicrob. Agents Chemother. 1993. V. 37. P. 2311–2317.
8. Montecalvo M.A., Horowitz H., Gedris C., Carbonaro C., Tenover F.C., Issah A., Cook P., Wormser G.P. // Antimicrob. Agents Chemother. 1994. V. 38. P. 1363–1367.
9. Plessis P., Lamy T., Donnio P.Y., Autuly F., Grulois I., Le Prise P.Y., Avril J.L. // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1995. V. 14. P. 959–963.
10. Woodford N., Johnson A.P., Morrison D., Speller D.C.E. // Clin. Microbiol. Rev. 1995. V. 8. P. 585–615.

11. Shlaes D.M., Bouvet A., Devine C., Shlaes J.H., al-Obeid S., Williamson R. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1989. V. 33. P. 198–203.
12. Woodford N., Johnson A.P., Morrison D., Chin A.T., Stephenson J.R. // *Lancet.* 1990. V. 335. P. 226.
13. Bugg T.D.H., Wright G.D., Dutka-Malen S., Arthur M., Courvalin P., Walsh C.T. // *Biochemistry.* 1991. V. 30. P. 10 408–10 415.
14. Handwerger S., Pucci M.J., Volk K.J., Liu J., Lee M.S. // *J. Bacteriol.* 1994. V. 176. P. 260–264.
15. O'Hare M.D., Reynolds P.E. // *J. Antimicrob. Chemother.* 1992. V. 30. P. 753–768.
16. Франклин Т., Сноу Дж. Биохимия антимикробного действия: Пер. с англ. М.: Мир, 1984.
17. Barna J.C., Williams D.H. // *Ann. Rev. Microbiol.* 1984. V. 38. P. 339–357.
18. Nagarajan R. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1991. V. 35. P. 605–609.
19. Reynolds P.E. // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1989. V. 8. P. 943–950.
20. Hancock R.E.W., Farmer S.W. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993. V. 37. P. 453–456.
21. Daum R.S., Gupta S., Sabbagh R., Milewski W.M. // *J. Infect. Dis.* 1992. V. 166. P. 1066–1072.
22. Shlaes D.M., Shlaes J.H., Vincent S., Etter L., Fey P.D., Goering R.V. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993. V. 37. P. 2432–2437.
23. Milewski W.M., Boyle-Vavra S., Moreira B., Ebert C.C., Daum R.S. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1996. V. 40. P. 166–172.
24. Higgins H.M., Harrison W.H., Wild G.M., Bungay H.R., McCormick M.H. // *Antibiotics Annual 1957–1958* // Eds H. Welch, F. Marti-Ibanez. N.Y.: Medical Encyclopedia, Inc., 1958. P. 906–914.
25. Nicas T.J., Allen N.E. // *Glycopeptide Antibiotics* / Ed. R. Nagarajan: N.Y.; Basel; Hong Kong; Marcel Dekker Inc., 1994. P. 219–241.
26. Brunet F., Vedel G., Dreyfus F., Vaxelaire J.F., Giraud T., Schremmer B., Monsallier J.F. // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1994. V. 9. P. 145–147.
27. Noble W.C., Yirani Z., Cree R.G.A. // *FEMS Microbiol. Lett.* 1992. V. 93. P. 195–198.
28. Goldstein B.P., Candiani G., Arain T.M., Romano G., Ciciliato J., Berti M., Abbondi M., Scotti R., Mainini M., Ripamonti F., Resconi A., Denaro M. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995. V. 39. P. 1580–1588.
29. Kenny M.T., Brackman M.A., Dulworth J.K. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995. V. 39. P. 1589–1590.
30. Biavasco F., Lupidi R., Varaldo P.E. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1992. V. 36. P. 331–338.
31. al-Obeid S., Collatz E., Gutman L. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1990. V. 34. P. 252–256.
32. Arthur M., Molinas C., Bugg T.D.H., Wright G.D., Walsh C.T., Courvalin P. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1992. V. 36. P. 867–869.
33. Alken N.E., Hobbs J.N., Jr., Richardson J.M., Riggan R.M. // *FEMS Microbiol. Lett.* 1992. V. 98. P. 109–115.
34. Handwerger S. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1994. V. 38. P. 473–475.
35. Handwerger S., Skoble J. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995. V. 39. P. 2446–2453.
36. Hayden M.K., Koenig G.J., Trenholme G.M. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1994. V. 38. P. 1225–1229.
37. Brisson-Noel A., Dutka-Malen S., Molinas C., Leclercq R., Courvalin P. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1990. V. 34. P. 924–927.
38. Dutka-Malen S., Molinas C., Arthur M., Courvalin P. // *Mol. Gen. Genet.* 1990. V. 224. P. 364–372.
39. Arthur M., Molinas C., Dutka-Malen S., Courvalin P. // *Gene.* 1991. V. 103. P. 133–134.
40. Wu Z., Walsh C.T. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. V. 92. P. 11603–11607.
41. Reynolds P.E., Depardieu F., Dutka-Malen S., Arthur M., Courvalin P. // *Mol. Microbiol.* 1994. V. 13. P. 1065–1070.
42. Arthur M., Courvalin P. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993. V. 37. P. 1563–1571.
43. Wright G.D., Holman T.R., Walsh C.T. // *Biochemistry.* 1993. V. 32. P. 5057–5063.
44. Arthur M., Molinas C., Courvalin P. // *J. Bacteriol.* 1992. V. 174. P. 2582–2591.
45. Handwerger S., Kolokathis A. // *FEMS Microbiol. Lett.* 1990. V. 58. P. 167–170.
46. Allen N.E., Hobbs J.N., Jr. // *FEMS Microbiol. Lett.* 1995. V. 132. P. 107–114.
47. Dutka-Malen S., Blaimont B., Wauters G., Courvalin P. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1994. V. 38. P. 1675–1677.
48. Miele A., Bandera M., Goldstein B.P. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995. V. 39. P. 1772–1778.
49. Dutka-Malen S., Leclercq R., Coutani V., Duval J., Courvalin P. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1990. V. 34. P. 1875–1879.
50. Handwerger S., Skoble J., Discotto L.F., Pucci M.J. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995. V. 39. P. 362–368.
51. Arthur M., Molinas C., Depardieu F., Courvalin P. // *J. Bacteriol.* 1993. V. 175. P. 117–127.
52. Wright G.D., Molinas C., Arthur M., Courvalin P., Walsh C.T. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1992. V. 36. P. 1514–1518.
53. Arthur M., Depardieu F., Molinas C., Reynolds P., Courvalin P. // *Gene.* 1995. V. 154. P. 87–92.
54. Arthur M., Molinas C., Courvalin P. // *Gene.* 1992. V. 120. P. 111–114.
55. Arthur M., Depardieu F., Snaith H.A., Reynolds P., Courvalin P. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1994. V. 38. P. 1899–1903.
56. Evers S., Reynolds P.E., Courvalin P. // *Gene.* 1994. P. 140. P. 97–102.
57. Gold H.S., Unal S., Cercenado E., Thauvin-Eliopoulos C., Eliopoulos G.M., Moellering R.C., Jr. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993. V. 37. P. 1604–1609.
58. Sahn D.F., Kissinger J., Gilmore M.S., Murray P.R., Mulder R., Solliday J., Clarke B. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1989. V. 33. P. 1588–1591.
59. Woodford N., Jones B.L., Baccus Z., Ludlam H.A., Brown D.F.J. // *J. Antimicrob. Chemother.* 1995. V. 35. P. 179–184.
60. Quintilliani R., Jr., Evers S., Courvalin P. // *J. Infect. Dis.* 1993. V. 167. P. 1220–1223.
61. Leclercq R., Dutka-Malen S., Duval J., Courvalin P. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1992. V. 36. P. 2005–2008.
62. Dutka-Malen S., Molinas C., Arthur M., Courvalin P. // *Gene.* 1992. V. 112. P. 53–58.
63. Reynolds P.E., Snaith H.A., Maguire A.J., Dutka-Malen S., Courvalin P. // *Biochem. J.* 1994. V. 301. P. 5–8.
64. Sahn D.F., Free L., Handwerger S. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995. V. 39. P. 1480–1484.

65. Malabarba A., Ciabatti R., Scotti R., Goldstein B.P., Ferrari P., Kurz M., Andreini B.P., Denaro M. // *J. Antibiot.* (Tokyo). 1995. V. 48. P. 869–883.
66. Nicas T.I., Mullen D.L., Flokovitch J.E., Preston D.A., Snyder N.J., Zweifel M.J., Wilkie S.N., Rodrigues M.J., Thompson R.C., Cooper R.J. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1996. V. 40. P. 2194–2199.
67. Good V.M., Gwinn M.N., Divison D.J. // *J. Antibiot.* 1990. V. 43. P. 550–555.
68. Lim H.-K., Hsieh Y.L., Ganem B., Henion J. // *J. Mass Spectrom.* 1995. V. 30. P. 708–714.
69. Cristofaro M.F., Beauregard D.A., Husheng Y., Osborn M.J., Williams D.H. // *J. Antibiot.* 1995. V. 48. P. 805–810.
70. Miroshnikova O.V., Berdnikova T.F., Olsufyeva E.N., Pavlov A.Y., Reznikova M.I., Preobrazhenskaya M.N. // *J. Antibiot.* 1996. V. 49. P. 1157–1161.
71. Mackay J.P., Gerhard U., Beauregard D.A., Westwell M.S., Searle M.S., Williams D.H. // *J. Am. Chem. Soc.* 1994. V. 116. P. 4581–4590.
72. Pavlov A.Y., Berdnikova T.F., Olsufyeva E.N., Miroshnikova O.V., Filipposyanz S.T., Preobrazhenskaya M.N. // *J. Antibiot.* 1996. V. 49. P. 143–147.
73. Gerhard U., Mackay J.P., Malpestone R.A., Williams D.H. // *J. Am. Chem. Soc.* 1993. V. 115. P. 232–237.
74. Westwell M.S., Gerhard U., Williams D.H. // *J. Antibiot.* 1995. V. 48. P. 1292–1298.
75. Batta G., Kover K.E., Sztaricskai F., Williams D.H. // 5th International Conference on Chemical Synthesis of Antibiotics and Related Microbial Products. Debrecen (Hungary), 1996. OL 13.
76. Nakamura K., Nishima S., Yamamura S. // *Tetrahedron Lett.* 1995. V. 36. P. 8629–8632.
77. Bois-Choussy M., Beugelman R., Bouillon J.-P., Zhu J. // *Tetrahedron Lett.* 1995. V. 36. P. 4781–4784.
78. Malabarba A., Ciabatti R., Maggini M., Ferrari P., Colombo L., Denaro M. // *J. Org. Chem.* 1996. V. 61. P. 2151–2157.
79. Malabarba A., Ciabatti R., Gerly E., Ripamonti F., Ferrari P., Colombo L., Olsufyeva E.N., Pavlov A.Y., Reznikova M.I., Lazhko E.I., Preobrazhenskaya M.N. // *J. Antibiot.* 1996. V. 49. P. 70–81.
80. Nicas T.I., Cole C.T., Preston D.A., Schabel A.A., Nagarajan R. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1989. V. 33. P. 1477–1481.
81. Olsufyeva E.N., Berdnikova T.F., Miroshnikova O.V., Preobrazhenskaya M.N., Ciabatti R., Malabarba A., Colombo L. // 5th International Conference on Chemical Synthesis of Antibiotics and Related Microbial Products. Debrecen (Hungary), 1996. P. 10.
82. Nagarajan R., Shabel F.F., Occolowitz J.L., Couter F.T., Ott J.L., Felty-Duckworth A.M. // *J. Antibiot.* 1989. V. 42. P. 63–72.
83. Malabarba A., Nicas T.I., Thompson R.C. // *Med. Res. Rev.* 1997. V. 17. P. 69–137.
84. Олсуфьева Е.Н., Бердникова Т.Ф., Докишина Н.Ю., Орлова Г.И., Малкова И.И., Прозорова И.Н. // Антибиотики и химиотерапия. 1989. Т. 34. С. 352–358.
85. Pavlov A.Y., Berdnikova T.F., Olsufyeva E.N., Lazhko E.I., Malkova I.V., Preobrazhenskaya M.N. // *J. Antibiot.* 1993. V. 46. P. 1731–1739.
86. Pavlov A.Y., Olsufyeva E.N., Berdnikova T.F., Malkova I.V., Preobrazhenskaya M.N. // *J. Antibiot.* 1994. V. 47. P. 225–232.
87. Schwalbe R.S., McIntosh A.C., Qaiyumi S., Jonson J.A., Jonson R.J., Furness K.M., Holloway W.J., Steele-Moore L. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1996. V. 40. P. 2416–2419.
88. Pavlov A.Y., Olsufyeva E.N., Berdnikova T.F., Lazhko E.I., Preobrazhenskaya M.N. // 4th International Conference on Chemical Synthesis and Related Microbial Products Nashville, Brown Country, Indiana (USA), 1994. P. 17.
89. LeTourneau D.L., Hobbs J.N., Allen N.E. // 35th Inter-science Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. American Society for Microbiology. Washington D. C., 1995. Abstr. F251. P. 157.
90. Allen N.E., Hobbs J.N., Nicas T.I. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1996. V. 40. P. 2356–2362.

## The Mechanism of Resistance to Glycopeptide Antibiotics as the Basis for the Development of Novel Derivatives Capable of Overcoming the Resistance

A. S. Trenin and E. N. Olsuf'eva

*Institute of New Antibiotics, Russian Academy of Medical Sciences,  
ul. Bol'shaya Pirogovskaya 11, Moscow, 119867 Russia*

**Abstract**—The data on the genetic and biochemical bases of bacterial resistance to antibiotics of the vancomycin–ristocetin group are summarized. Special emphasis is placed on the mechanism of resistance associated with target modification and on molecular interactions occurring upon contact of glycopeptides with normal and modified targets. The prospects for developing new derivatives active against resistant bacteria are discussed. The most rational approach to the chemical transformation of glycopeptides involves the modification of the internal “binding pocket” and the peripheral regions of the molecule that participate in the stabilization of the antibiotic–target complex. Novel semisynthetic drugs of this group active against glycopeptide-resistant enterococci are described.

**Key words:** vancomycin; teicoplanin; eremomycin; glycopeptide resistance; antibiotics, chemical modification; semisynthetic glycopeptides