



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Natural product antibiotics: synthesis and next generation analogues

Lysenko, V.

Citation

Lysenko, V. (2026, May 21). *Natural product antibiotics: synthesis and next generation analogues*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4304553>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4304553>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

N

Nederlandse samenvatting

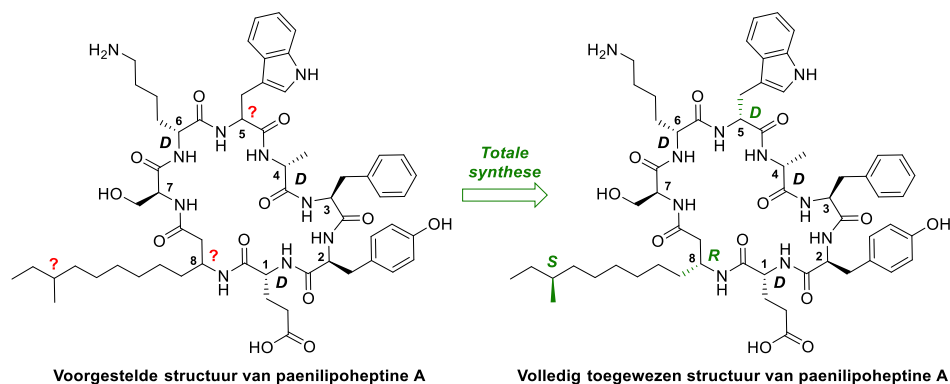
De toenemende verspreiding van antimicrobiële resistentie, in combinatie met de beperkte economische vooruitzichten op de ontdekking en ontwikkeling van antibacteriële geneesmiddelen, benadrukt de noodzaak voor innovatief onderzoek naar nieuwe antibioticastrategieën.¹⁻³ In dit kader blijven natuurlijke antibiotica een waardevolle bron van structurele en mechanistische diversiteit, waardoor ze een belangrijk onderdeel vormen van de inspanningen om de momenteel uitgeputte antibioticapijplijn nieuw leven in te blazen.⁴⁻⁶ Dit proefschrift draagt bij aan het wereldwijde probleem van antibioticaresistentie door zich te richten op de ontdekking, synthese en modificatie van antibiotische verbindingen afkomstig uit natuurlijke bronnen.

In **Hoofdstuk 1** wordt een overzicht gegeven van het onderzoeksveld van antibacteriële geneesmiddelen, waarbij de groeiende uitdaging van antibioticaresistentie centraal staat. Deze resistentie wordt steeds vaker in verband gebracht met ernstige infecties die bijdragen aan hogere sterftecijfers, stijgende zorgkosten en langere ziekenhuisopnames.^{2,3,7,8} Dit benadrukt de dringende behoefte aan de ontwikkeling van nieuwe antibiotica, een doel dat op verschillende manieren kan worden bereikt, waaronder de benaderingen die in dit hoofdstuk worden besproken. Een van de meest succesvolle strategieën uit het verleden is de verkenning van natuurlijke bronnen om nieuwe antibacteriële verbindingen te identificeren. Deze aanpak heeft geleid tot de ontdekking van een breed scala aan antimicrobiële middelen die hun weg naar de kliniek hebben gevonden, waaronder penicilline, streptomycine, colistine, chlooramfenicol, vancomycine en daptomycine. De meeste van deze natuurlijke antibiotica werden echter meer dan vijftig jaar geleden ontdekt, en sindsdien hebben bacteriën in toenemende mate resistentie tegen deze middelen ontwikkeld.⁹⁻¹¹ Voortgang op het gebied van de organische chemie heeft de totale synthese en structurele modificatie van natuurlijke producten mogelijk gemaakt.¹² Deze ontwikkelingen hebben in belangrijke mate bijgedragen aan het inzicht in de structuur-activiteitsrelaties (SAR) van natuurlijke antimicrobiële stoffen, wat de weg heeft vrijgemaakt voor de ontwikkeling van nieuwe analogen met verbeterde eigenschappen. Synthetische benaderingen hebben met name een cruciale rol gespeeld bij de ontwikkeling van het antituberculosemiddel rifampicine, evenals bij meerdere generaties penicillines en cefalosporines.¹³⁻¹⁶ Een bijzonder interessant voorbeeld is cefiderocol, een synthetisch gemodificeerde cefalosporine met een catecholgroep in de structuur. Deze catechol maakt gebruik van een zogenoemd “Trojaanse paard-mechanisme”, waardoor cefiderocol bacteriële cellen kan binnendringen via hun ijzertransportsystemen. Eenmaal in de periplasmatische ruimte remt de β -lactamgroep van cefiderocol de biosynthese van peptidoglycaan, wat leidt tot de dood van de bacteriële cel.¹⁷⁻²⁰

In dit proefschrift wordt een alomvattende benadering gehanteerd om het urgente probleem van antimicrobiële resistentie aan te pakken, met een primaire focus op de

synthese en modificatie van natuurlijke producten om nieuwe antimicrobiële middelen te ontwikkelen.

Hoofdstuk 2 beschrijft de isolatie, structurele opheldering en synthese van een nieuwe klasse lipopeptiden, bekend als paenilipoheptinen. Deze verbindingen worden geproduceerd door *Paenibacillus*-soorten, bacteriën die bekendstaan om hun antimicrobiële lipopeptiden, zoals polymyxinen, tridecaptinen, octapeptinen en paenibacterinen.^{21,22} Het eerste deel van dit hoofdstuk (**2A**) richt zich op de identificatie en isolatie van de nieuwe cyclische lipopeptide paenilipoheptine B, samen met de eerder gerapporteerde paenilipoheptine A.²³ Beide verbindingen werden geïsoleerd uit de fermentatie van het producerende organisme en vervolgens uitvoerig geanalyseerd met behulp van diverse methoden, waaronder genoomvoorspelling, MS/MS-sequentiebepaling, NMR-spectroscopie en Marfey-analyse. Dit leidde tot een vrijwel volledige structurele toewijzing van het natuurlijke product en onthulde dat de eerder voorgestelde structuur van paenilipoheptine A onjuist was. **Hoofdstuk 2B** richt zich op de synthese, verdere structurele opheldering en bevestiging van paenilipoheptine A (**Figuur 1**). De in **hoofdstuk 2A** gepresenteerde gegevens waren onvoldoende om de stereochemie van het onnatuurlijke β -aminozuur binnen de structuur van paenilipoheptine A vast te stellen. Daarom werd een synthetische route ontworpen waarmee verschillende stereoisomeren van dit aminozuur gemaakt konden worden. Het synthetische materiaal werd vervolgens vergeleken met dat uit een natuurlijke bron via Marfey-analyse. Nadat de stereochemie van dit centrum was vastgesteld, werd de totale synthese van paenilipoheptine A uitgevoerd met behulp van solid-phase peptide synthesis (SPPS), waarbij de uiteindelijke cyclisatie in oplossing werd uitgevoerd. De structuur van de synthetische paenilipoheptine A werd geverifieerd door middel van NMR-vergelijking en HPLC-co-injectie-experimenten met het natuurlijke product, waarmee het stereochemische raamwerk werd vastgesteld en de structuur van dit natuurlijke product werd bevestigd. Bovendien leverde de ontwikkelde synthetische route voldoende materiaal op voor uitgebreide antimicrobiële evaluaties, waaruit bleek dat paenilipoheptine A specifieke activiteit vertoont tegen Gram-positieve bacteriën.

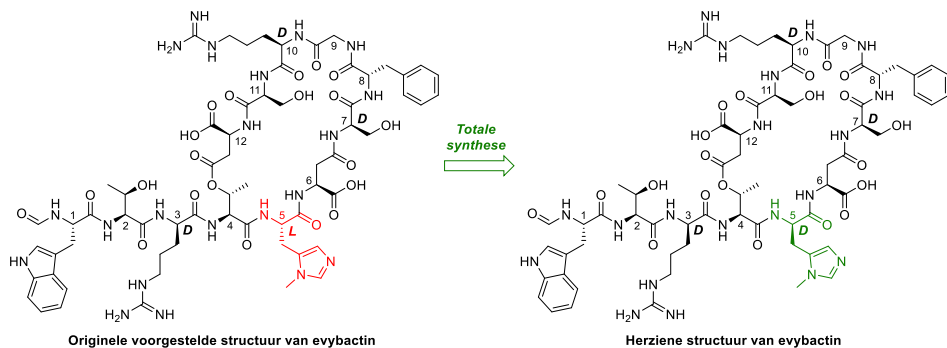


Figuur 1. De voorgestelde en volledig toegewezen structuren van paenilipoheptine A.

De ontdekking en structurele opheldering van de paenilipoheptineklasse van natuurlijke producten vergroot het inzicht in de antimicrobiële peptiden die worden geproduceerd door *Paenibacillus*-soorten. Deze bevindingen kunnen bovendien bijdragen aan het verfijnen van de nauwkeurigheid van voorspellingen van genoomanalyse voor andere niet-ribosomaal gesynthetiseerde peptiden die door bacteriën worden geproduceerd. Een grondig onderzoek naar het werkingsmechanisme van de paenilipoheptinen is eveneens gerechtvaardigd. Een mogelijke benadering hiervoor is het kweken van resistente mutanten om zo het doelwit van de paenilipoheptinen te identificeren. Daarnaast zouden SAR-studies kunnen worden uitgevoerd om de mogelijkheden voor structurele modificatie van de paenilipoheptinen te verkennen. Dergelijke onderzoeken kunnen de weg vrijmaken voor verbeteringen in de oplosbaarheid en antibacteriële werking van deze unieke klasse lipopeptiden.

In **Hoofdstuk 3** worden de synthese en structurele opheldering van het natuurlijke product evybactin (**Figuur 2**) gepresenteerd. Evybactin is een cyclisch depsipeptide dat wordt geproduceerd door *Photorhabdus nonneputensis* en waarvan is aangetoond dat het selectief de groei van *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) remt. De verbinding richt zich op de sterk geconserveerde DNA-gyrase van de bacterie. De anti-*Mtb*-selectiviteit is voornamelijk te danken aan het vermogen om de bacteriële cel binnen te dringen via de unieke mycobacteriële transporter BacA.²⁴ Aangezien er eerder geen synthetische routes voor evybactin waren gerapporteerd, besloten wij de verbinding te synthetiseren om de voorgestelde structuur te bevestigen en om de problemen aan te pakken omtrent de lage opbrengst bij isolatie uit het natuurlijke producentorganisme. Voor de synthese van de voorgestelde structuur van evybactin werden twee routes toegepast, waarbij gebruik werd gemaakt van een combinatie van vaste- en oplossingfasebenaderingen. De meest robuuste route omvatte een verestering op vaste stof, gevolgd door een finale cyclisatie via amidevorming. De NMR-spectra van de bereide verbinding kwamen echter niet overeen met die van het natuurlijke product, waardoor aanvullende experimenten ter verduidelijking van de structuur noodzakelijk waren. Met behulp van de Lewis-groep, de ontdekkers van evybactin, werden gedetailleerde MS/MS- en Marfey-analyses uitgevoerd op natuurlijk geïsoleerde evybactin. Deze onderzoeken toonden aan dat de stereochemie van het His(3-Me)-residu in de evybactinstructuur oorspronkelijk verkeerd was toegewezen, wat leidde tot onze herziening van de configuratie van dit aminozuur als D. Met deze kennis werd een gestroomlijnde methode ontwikkeld voor de synthese van de Fmoc-beschermd variant van dit onnatuurlijke aminozuur, waarmee vervolgens de synthese van evybactin met de correcte structuur kon worden gerealiseerd. Het synthetische materiaal vertoonde identieke biologische activiteit aan het natuurlijke product en kwam overeen met natuurlijk evybactin in NMR-spectroscopie en HPLC-co-injectie-experimenten. Hiermee werd de structuur van evybactin vastgesteld. Bovendien maakte de ontwikkelde syntheseroute de bereiding van evybactin op een schaal van enkele honderden milligrammen mogelijk, waarmee de productieproblemen bij isolatie uit het producentorganisme werden opgelost.

De in dit hoofdstuk uitgevoerde studies hebben geleid tot de correctie van de eerder gepubliceerde structuur van evybactin. De vaststelling van de juiste structuur, in combinatie met de robuuste synthesesmethoden die zijn ontwikkeld, maakt verder onderzoek naar het therapeutisch potentieel van evybactin mogelijk en opent de deur naar gedetailleerde SAR-studies van dit veelbelovende natuurlijke product.



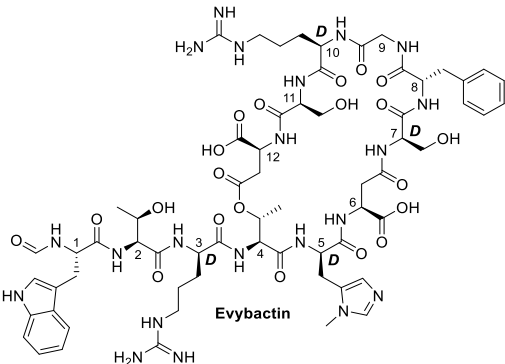
Figuur 2. De voorgestelde en herziene structuren van evybactin

SAR-studies met evybactin worden beschreven in **Hoofdstuk 4** van dit proefschrift. In dit hoofdstuk werd de eerder ontwikkelde robuuste synthesesmethode voor evybactin gebruikt om een uitgebreid onderzoek uit te voeren naar de structurele kenmerken die bepalend zijn voor de biologische activiteit van de verbinding (**Tabel 1**). Beginnend met een alaninescan werd vastgesteld dat bepaalde posities in de evybactinsequentie minder invloed hebben op de antibacteriële activiteit, waaronder Thr², Ser⁷ en D-Ser¹¹. Daarentegen leidden substituties op andere residu-posities tot een duidelijke afname van de werkzaamheid. Vervolgens werd de bijdrage van de geladen aminozuren binnen het molecuul onderzocht, waaruit bleek dat de positieve lading op de arginineposities geprefereerd wordt. Verder werd vastgesteld dat het His(3-Me)-residu essentieel is voor de activiteit van de verbinding tegen *Mtb*; zelfs kleine veranderingen, zoals vervanging van dit residu door een standaard histidine, hadden een aanzienlijke negatieve invloed op de biologische activiteit. Ook de significantie van zowel de exo- als endocyclische componenten van evybactin voor de activiteit werd onderzocht. Hieruit bleek dat kleine aanpassingen in de cyclische structuur, zoals de vervanging van Thr⁴ door Ser⁴, leidden tot een verminderde activiteit, terwijl de invoeging van het 2,3-diaminopropionzuur-(Dap)-residu op die positie de activiteit volledig uitschakelde. Een analyse van de N-terminus met het oog op mogelijke modificaties liet zien dat de formylgroep niet essentieel is voor de activiteit van evybactin. Hierdoor kan deze worden vervangen door een stabielere en gemakkelijker in te bouwen acetylgroep zonder noemenswaardig verlies aan werking.

Gezamenlijk bieden deze inzichten in de SAR een waardevolle basis voor toekomstig onderzoek dat gericht is op het verder optimaliseren van evybactin en het benutten van het potentieel als veelbelovend antibacterieel middel. De N-terminus van evybactin is

daarbij geïdentificeerd als een bijzonder geschikt uitgangspunt voor verdere optimalisatie, omdat veranderingen op deze positie relatief eenvoudig zijn aan te brengen. Deze eigenschap, in combinatie met de brede beschikbaarheid van diverse carbonzuurbouwstenen, maakt het mogelijk om een grote verscheidenheid aan N-terminale substituenten te introduceren. Een eerste aanpak zou moeten bestaan uit het onderzoeken of lipide-achtige modificaties op deze positie de antibacteriële activiteit versterken, aangezien veel antimicrobiële verbindingen N-terminale hydrofobe groepen bevatten. Naast de N-terminus kunnen ook de posities Thr², Ser⁷ en D-Ser¹¹ worden benut voor het toepassen van verschillende conjugatiestrategieën die gericht zijn op het verbeteren van de eigenschappen van evybactin. Zoals is aangetoond, wordt de activiteit van evybactin tegen Gram-negatieve bacteriën sterk beïnvloed door hun buitenmembraan. Dit suggereert dat koppeling van dit natuurlijke product aan bekende membraanverstorende stoffen, zoals polymyxine B-nonapeptide,²⁵ de membraandoordringing zou kunnen verbeteren en daarmee de antimicrobiële werkzaamheid kan vergroten.

Tabel 1. Belangrijkste bevindingen uit de SAR-studies van evybactin. Minimale remmende concentraties (MIC's) gemeten tegen *M. tuberculosis* H37Rv mc²6020 mCherry.



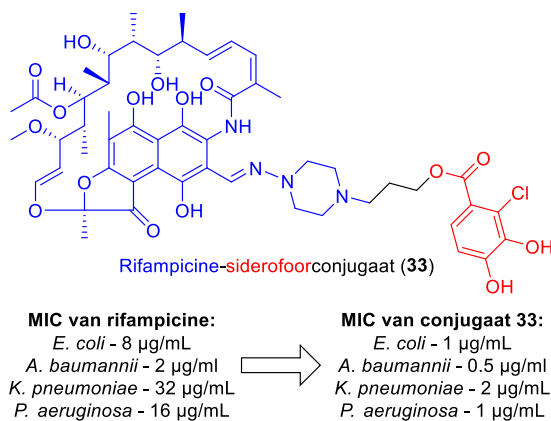
Evybactin

Modificatie	MIC (µg/mL) tegen <i>Mtb</i>
Originele evybactin	0.063
Thr ² => Ala ²	0.125
D-Ser ⁷ => D-Ala ⁷	0.063
Ser ¹¹ => Ala ¹¹	0.25
D-Arg ³ => D-Lys ³	0.5
D-Arg ³ => D-Cit ³	4
D-Arg ¹⁰ => D-Lys ¹⁰	0.25
D-Arg ¹⁰ => D-Cit ¹⁰	4
D-His(3-Me) ⁵ => D-His ⁵	>16
Thr ⁴ => Ser ⁴	4
Thr ⁴ => Dap ⁴	>16
Formyl-Trp ¹ => Ac-Trp ¹	0.25

Tot slot richt **Hoofdstuk 5** zich op de toepassing van de zogenaamde “Trojaanse paard-strategie”^{226–28} om het antibacteriële profiel van rifampicine te verbeteren, een geneesmiddel dat wordt gebruikt bij de behandeling van tuberculose en infecties veroorzaakt door andere Gram-positieve bacteriën. Hoewel rifampicine zich bindt aan een sterk geconserveerde bacteriële RNA-subeenheid, is de werkzaamheid ervan over het algemeen beperkt tegen Gram-negatieve bacteriën vanwege de aanwezigheid van hun buitenmembraan. Om de effectiviteit van rifampicine te vergroten, hebben we verschillende rifampicine-siderofoorconjugaten ontworpen en gesynthetiseerd. Een

eerste poging om via clickchemie een catecholgeerop aan rifampicine te koppelen resulteerde in een inactieve verbinding. Dit leidde tot verder onderzoek naar de aard van de gebruikte linkers en naar hun invloed op de activiteit van de conjugaten. Met deze kennis werd een verbeterde linkerstrategie ontwikkeld, wat resulteerde in de synthese van rifampicine-siderofoorconjugaten die een sterkere activiteit tegen Gram-negatieve bacteriën vertoonden dan rifampicine zelf. De resultaten toonden aan dat de structurele kenmerken van zowel de linker als de catecholgeerop bijdragen aan de activiteit van de conjugaten. Opvallend was verbinding **33 (Figuur 3)**, waarin rifampicine via een korte esterlinker is verbonden met een chlorocatechol-eenheid. Deze verbinding liet de grootste toename in werkzaamheid zien. Met deze verbinding werden verdere onderzoeken uitgevoerd om het mechanisme te achterhalen waarmee het molecuul de bacteriële cel binnendringt. Hoewel de exacte transporter die verantwoordelijk is voor de verhoogde activiteit van het conjugaat niet kon worden geïdentificeerd, werd aangetoond dat de activiteit van verbinding **33** ijzerafhankelijk is en afneemt wanneer het medium wordt aangevuld met de natuurlijke siderofoor enterobactine. Dit wijst erop dat conjugaat **33** gebruikmaakt van een siderofoormechanisme om bacteriële cellen binnen te dringen. Daarnaast werd deze verbinding getest tegen een brede reeks Gram-negatieve pathogenen, waaronder meerdere resistente isolaten. In vrijwel alle gevallen vertoonde verbinding **33** een hogere activiteit dan ongemodificeerd rifampicine, wat het potentieel van de “Trojaanse paard-strategie” benadrukt.

Het onderzoek naar de verschillende linkerstrategieën die in dit hoofdstuk worden beschreven, biedt waardevolle inzichten in het ontwerp van antibioticum-siderofoorconjugaten. Daarbij is aangetoond dat de gebruikte linker een even grote invloed kan hebben als de antimicrobiële of siderofoorcomponent van het molecuul, waarbij een onjuiste keuze van linker de activiteit volledig teniet kan doen. Bovendien is vastgesteld dat de “Trojaanse paard-strategie” de eigenschappen van het typisch Gram-positieve antibioticum rifampicine kan verbeteren, waardoor het ook krachtige activiteit kan vertonen tegen Gram-negatieve bacteriën. Om een volledig beeld te krijgen van de mogelijkheden en beperkingen van deze strategie, moeten meer Gram-positieve antibiotica binnen dit kader worden onderzocht. Een antibacterieel middel dat hiervoor bijzonder interessant is, is evyactin, zoals beschreven in **Hoofdstukken 3 en 4**. Deze verbinding, die eveneens moeite heeft om het buitenmembraan van Gram-negatieve bacteriën te passeren, richt zich op DNA-gyrase, een doelwit dat sterk geconserveerd is tussen verschillende bacteriesoorten. Dit suggereert dat de werkzaamheid van evyactin mogelijk verder kan worden verbeterd door toepassing van de “Trojaanse paard-strategie”.



Figuur 3. De structuur en MIC's van rifampicine-siderofoorconjugaat **33** vergeleken met die van rifampicine. Rifampicine is gemarkeerd in blauw, de linker in zwart en het siderofoordeel in rood.

Samenvattend dragen de resultaten die in dit proefschrift worden gepresenteerd gezamenlijk bij aan het onderzoek naar uiteenlopende antibacteriële strategieën in de strijd tegen multiresistente pathogenen. Natuurlijke producten, die de primaire focus vormt van het onderzoek in dit proefschrift, zullen naar verwachting een cruciale rol blijven spelen bij de ontdekking en ontwikkeling van nieuwe antimicrobiële middelen. Traditionele onderzoeksmethoden, die beginnen met de isolatie van actieve verbindingen gevolgd door structurele opheldering en activiteitsonderzoek, worden tegenwoordig aangevuld met moderne technieken zoals genoom-mining, waarmee het arsenaal aan toegankelijke natuurlijke verbindingen aanzienlijk kan worden uitgebreid. Daarnaast bieden alternatieve benaderingen die gebruikmaken van synthetische methoden de mogelijkheid om gerichte modificaties aan te brengen, waardoor de eigenschappen van natuurlijke producten verder kunnen worden verbeterd. De combinatie van traditionele en innovatieve strategieën die in dit proefschrift zijn onderzocht, benadrukt het uitzonderlijke potentieel van natuurlijke producten als effectieve antibiotica en benadrukt hun onmisbare rol in de toekomst van antimicrobiële therapie.

Referenties

- (1) Gargate, N.; Laws, M.; Rahman, K. M. Current Economic and Regulatory Challenges in Developing Antibiotics for Gram-Negative Bacteria. *npj Antimicrob. Resist.* **2025**, *3* (1), 50.
- (2) Boucher, H. W.; Talbot, G. H.; Bradley, J. S.; Edwards, J. E.; Gilbert, D.; Rice, L. B.; Scheld, M.; Spellberg, B.; Bartlett, J. Bad Bugs, No Drugs: No ESCAPE! An Update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* **2009**, *48* (1), 1–12.
- (3) Prestinaci, F.; Pezzotti, P.; Pantosti, A. Antimicrobial Resistance: A Global Multifaceted Phenomenon. *Pathog. Glob. Health* **2015**, *109* (7), 309–318.
- (4) Lewis, K.; Lee, R. E.; Brötz-Oesterhelt, H.; Hiller, S.; Rodnina, M. V.; Schneider, T.; Weingarth, M.; Wohlgemuth, I. Sophisticated Natural Products as Antibiotics. *Nature* **2024**, *632* (8023), 39–49.
- (5) Clardy, J.; Fischbach, M. A.; Walsh, C. T. New Antibiotics from Bacterial Natural Products. *Nat. Biotechnol.* **2006**, *24* (12), 1541–1550.
- (6) Bernal, F. A.; Hammann, P.; Kloss, F. Natural Products in Antibiotic Development: Is the Success Story Over? *Curr. Opin. Biotechnol.* **2022**, *78*, 102783.
- (7) Antimicrobial Resistance Collaborators. Global Burden of Bacterial Antimicrobial Resistance in 2019: A Systematic Analysis. *Lancet* **2022**, *399* (10325), 629–655.
- (8) GBD 2021 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global Burden of Bacterial Antimicrobial Resistance 1990–2021: A Systematic Analysis with Forecasts to 2050. *Lancet* **2024**, *404* (10459), 1199–1226.
- (9) Gould, K. Antibiotics: From Prehistory to the Present Day. *J. Antimicrob. Chemother.* **2016**, *71* (3), 572–575.
- (10) Katz, L.; Baltz, R. H. Natural Product Discovery: Past, Present, and Future. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2016**, *43* (2–3), 155–176.
- (11) Hutchings, M. I.; Truman, A. W.; Wilkinson, B. Antibiotics: Past, Present and Future. *Curr. Opin. Microbiol.* **2019**, *51*, 72–80.
- (12) Nicolaou, K. C.; Rigol, S. A Brief History of Antibiotics and Select Advances in Their Synthesis. *J. Antibiot. (Tokyo)* **2018**, *71* (2), 153–184.
- (13) Sensi, P. History of the Development of Rifampin. *Clin. Infect. Dis.* **1983**, *5* (Supplement_3), S402–S406.
- (14) Grobbelaar, M.; Louw, G. E.; Sampson, S. L.; van Helden, P. D.; Donald, P. R.; Warren, R. M. Evolution of Rifampicin Treatment for Tuberculosis. *Infect. Genet. Evol.* **2019**, *74*, 103937.
- (15) Lobanovska, M.; Pilla, G. Penicillin's Discovery and Antibiotic Resistance: Lessons for the Future? *Yale J. Biol. Med.* **2017**, *90*, 135–145.
- (16) Lin, X.; Kück, U. Cephalosporins as Key Lead Generation Beta-Lactam Antibiotics. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2022**, *106* (24), 8007–8020.
- (17) Kohira, N.; West, J.; Ito, A.; Ito-Horiyama, T.; Nakamura, R.; Sato, T.; Rittenhouse, S.; Tsuji, M.; Yamano, Y. *In Vitro* Antimicrobial Activity of a Siderophore Cephalosporin, S-649266, against Enterobacteriaceae Clinical Isolates, Including Carbapenem-Resistant Strains. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2016**, *60* (2), 729–734.
- (18) Zhanel, G. G.; Golden, A. R.; Zelenitsky, S.; Wiebe, K.; Lawrence, C. K.; Adam, H. J.; Idowu, T.; Domalaon, R.; Schweizer, F.; Zhanel, M. A.; Lagacé-Wiens, P. R. S.; Walkty, A. J.; Noreddin, A.; Lynch III, J. P.; Karlowsky, J. A. Cefiderocol: A Siderophore Cephalosporin with Activity Against Carbapenem-Resistant and Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacilli. *Drugs* **2019**, *79* (3), 271–289.
- (19) Sato, T.; Yamawaki, K. Cefiderocol: Discovery, Chemistry, and In Vivo Profiles of a Novel Siderophore Cephalosporin. *Clin. Infect. Dis.* **2019**, *69* (Supplement_7), S538–S543.
- (20) Aoki, T.; Yoshizawa, H.; Yamawaki, K.; Yokoo, K.; Sato, J.; Hisakawa, S.; Hasegawa, Y.; Kusano, H.; Sano, M.; Sugimoto, H.; Nishitani, Y.; Sato, T.; Tsuji, M.; Nakamura, R.; Nishikawa, T.; Yamano, Y. Cefiderocol (S-649266), A New Siderophore Cephalosporin Exhibiting Potent Activities against *Pseudomonas Aeruginosa* and Other Gram-Negative Pathogens Including Multi-Drug Resistant Bacteria: Structure Activity Relationship. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *155*, 847–868.
- (21) Olishkevsk, S.; Nickzad, A.; Déziel, E. Bacillus and Paenibacillus Secreted Polyketides and Peptides Involved in Controlling Human and Plant Pathogens. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2019**, *103* (3), 1189–1215.
- (22) Cochrane, S. A.; Vederas, J. C. Lipopeptides from *Bacillus* and *Paenibacillus* Spp.: A Gold Mine of Antibiotic Candidates. *Med. Res. Rev.* **2016**, *36* (1), 4–31.

- (23) Vater, J.; Herfort, S.; Doellinger, J.; Weydmann, M.; Borriess, R.; Lasch, P. Genome Mining of the Lipopeptide Biosynthesis of *Paenibacillus Polymyxa* E681 in Combination with Mass Spectrometry: Discovery of the Lipoheptapeptide Paenilipoheptin. *ChemBioChem* **2018**, *19* (7), 744–753.
- (24) Imai, Y.; Hauk, G.; Quigley, J.; Liang, L.; Son, S.; Ghiglieri, M.; Gates, M. F.; Morrisette, M.; Shahsavari, N.; Niles, S.; Baldisseri, D.; Honrao, C.; Ma, X.; Guo, J. J.; Berger, J. M.; Lewis, K. Erythromycin Is a DNA Gyrase Inhibitor That Selectively Kills Mycobacterium Tuberculosis. *Nat. Chem. Biol.* **2022**, *18* (11), 1236–1244.
- (25) Wesseling, C. M. J.; Martin, N. I. Synergy by Perturbing the Gram-Negative Outer Membrane: Opening the Door for Gram-Positive Specific Antibiotics. *ACS Infect. Dis.* **2022**, *8* (9), 1731–1757.
- (26) Tillotson, G. S. Trojan Horse Antibiotics – A Novel Way to Circumvent Gram-Negative Bacterial Resistance? *Infect. Dis.* **2016**, *9*, 45–52.
- (27) Rayner, B.; Verderosa, A. D.; Ferro, V.; Blaskovich, M. A. T. Siderophore Conjugates to Combat Antibiotic-Resistant Bacteria. *RSC Med. Chem.* **2023**, *14* (5), 800–822.
- (28) Górka, A.; Sloderbach, A.; Marszałł, M. P. Siderophore–Drug Complexes: Potential Medicinal Applications of the ‘Trojan Horse’ Strategy. *Trends Pharmacol. Sci.* **2014**, *35* (9), 442–449.