

In alle hoeken en gaten

Nieuwe **antibiotica** zijn dringend nodig. Academici zoeken naar veelbelovende moleculen, om die vervolgens over te dragen aan het bedrijfsleven. Want waarschijnlijk is dat het onderzoeksmodel voor de toekomst. 'Feit is dat antibiotica niet echt winstgevend zijn.'

ARNO VAN 'T HOOG

Het liefst zouden onderzoekers een geheel nieuw soort antibioticum ontdekken. Eentje met een verrassende structuur en een nu nog onbekend werkingsmechanisme. Kortom, een stof die aangrijpt op een onderdeel van de bacteriecel dat nog door geen ander antibioticum wordt aangepakt. Want dat is het meest kansrijke recept in de strijd tegen resistente bacteriën.

Het vinden van nieuwe antibiotica is bittere noodzaak. Sommige ziekenhuisbacteriën, zoals *Staphylococcus aureus* en *Klebsiella pneumoniae*, zijn resistent geworden tegen verschillende soorten antibiotica. Daarnaast is de aanwas van nieuwe antibiotica de laatste twee decennia teruggelopen tot een traag druppelend stroompje. Tussen 1935 en 1968 werden veertien nieuwe antibioticaklassen geïntroduceerd, daarna nog maar vijf. Bedrijven hebben maar een paar nieuwkomers in de pijnlijn. Bovendien is het aantal grote bedrijven dat nieuwe antibiotica ontwikkelt, sinds 1980 gekrompen van twintig naar minder dan tien.

GEHEIMEN

De meeste nieuwe antibiotica die nu in klinische trials worden getest, komen voort uit modificatie en verbetering binnen bestaande klassen van verbindingen. Die analoge stoffen leveren nuttige therapieën, maar het gevaar van klassenbrede resistentie ligt op de loer. Daarnaast zoeken wetenschappers, met bescheiden

succes, gericht naar geheel nieuwe verbindingen tegen bestaande targets.

Met de opkomst van grootschalige genomics- en screeningstechnologie bestond er even hoop op het vinden van nieuwe antibiotica. Die belofte is niet

Minder dan tien grote bedrijven ontwikkelen nieuwe antibiotica

ingelost. Zo voerde SmithKline Beecham (nu onderdeel van GSK) 67 grootschalige screens uit van elk een kwart tot een half miljoen stoffen tegen driehonderd targets. Het leverde zestien hits op, vijf *lead compounds*, en uiteindelijk geen enkele klinische trial.

"Je hebt meer kans om iets nieuws te vinden als je zoekt in geïsoleerde, nog niet onderzochte biotopen", zegt de Leidse hoogleraar moleculaire biotechnologie Gilles van Wezel. Hij onderzoekt

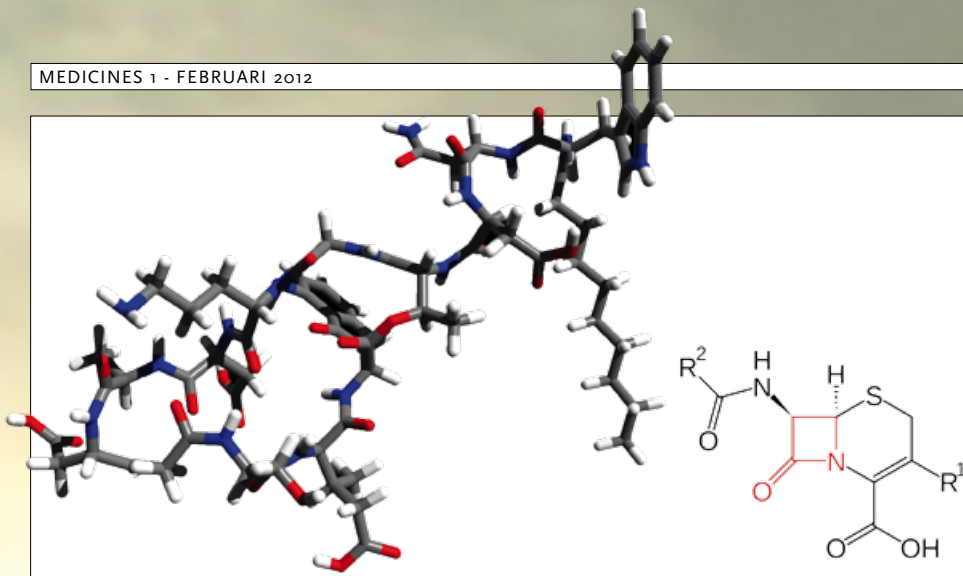
Streptomyces-stammen uit diepzeebodem of woestijngebieden. "Hollandse tuinaarde is al eens gescreend op antibiotica-activiteit."

Streptomyceten zijn een groep bodembacteriën die door hun draadvormige groeiwijze eerder aan schimmels doen denken. De helft van alle antibiotica is direct of indirect afkomstig van streptomyceten, bijvoorbeeld tetracycline, vancomycine en daptomycine.

Ondanks dat streptomyceten in het verleden intensief zijn gescreend, vermoedt Van Wezel dat ze nog lang niet al hun geheimen hebben prijsgegeven. Misschien zijn sommige antibiotica over het hoofd gezien, omdat streptomyceten de energievretende synthese van complexe secundaire metabolieten pas inschakelen als reactie op een specifiek micro-organisme in de bodem.

In 2008 ontdekte Van Wezels groep een signaalmechanisme dat de antibioticaproductie kan aanzetten. Toevoeging van de suiker N-acetylglucosamine aan





De relatief nieuwe antibiotica-klasse van lipopeptides (links, daptomycine) zijn veel groter dan bijvoorbeeld de van penicilline afgeleide beta-lactam-antibiotica (rechts). Nathaniel Martin: 'Lipopeptides zijn zeer effectief, ook tegen resistente bacteriën, maar het is eigenlijk nog niet bekend hoe ze werken.'

het kweekmedium activeert de antibioticaproductie van een aantal slapende genclusters, die mogelijk nieuwe antibiotica kunnen aanmaken.

Van Wezel: "Die route is verantwoordelijk voor wat wij de productie van huis-houdantibiotica noemen, de algemene afweerrespons. Maar nu zoeken we dus verder naar heel specifieke inductietrucs om die slapende genclusters wakker te maken."

Daarnaast brengen de onderzoekers het DNA van nieuwe *Streptomyces*-stammen in kaart. Genoomonderzoek heeft laten zien dat streptomyceten tot wel twintig slapende antibiotica-genclusters kunnen hebben. Van Wezel: "Door te sequensen, zien de we de diversiteit tussen soorten, en kunnen we ons beter richten op clusters die nog niet zijn onderzocht."

ANDERE STRATEGIE

Antibiotica zijn grofweg in te delen op basis van drie belangrijke aangrijpingspunten: de celwandsynthese, de celdeling (DNA-replicatie) en de eiwitsynthese. Grondige verstoring van een van die drie cruciale onderdelen van de celfysiologie kan een bacterie de das omdoen.

Nathaniel Martin, organisch chemicus aan de Universiteit Utrecht, richt zijn onderzoek op aangrijpingspunten in de celwandsynthese. "Mijn strategie is om de natuurlijke structuren van antibiotica als inspiratiebron te nemen en die na te maken en te verbeteren. Dat levert in de organische synthese vaak tijdrovende uitdagingen. Maar als dat eenmaal lukt, kun je antibiotica werkzamer of stabiel maken."

Martin onderzoekt de in 2003 geïntroduceerde nieuwe antibiotica-klasse van de

lipopeptides. Dat zijn veel grotere moleculen dan bijvoorbeeld de van penicilline afgeleide beta-lactam-antibiotica (zie afbeelding). Het bekendste lipopeptide is daptomycine. "Lipopeptides zijn zeer effectief, ook tegen resistente bacteriën, maar het is eigenlijk nog niet bekend hoe ze werken", vertelt hij. "De meeste wetenschappers denken dat deze stoffen de

'We zoeken trucs om slapende genclusters wakker te maken'

membraan verstoren, maar wij hebben gegevens waaruit blijkt dat er veel meer aan de hand is. Als je dat mechanisme exact in beeld kunt krijgen, met een duidelijk target, dan kun je misschien nieuwe middelen ontwikkelen."

De andere onderzoekslijn van Martin richt zich op Lipid-2, een precursor-molecuul dat bacteriën gebruiken om hun celwand te bouwen. "We weten dat moleculen die daarop aangrijpen, goede antibioticakandidaten zijn. Vancomycine bindt er bijvoorbeeld aan." Met een Vidi-beurs van NWO zoekt Martin naar nieuwe moleculen die kunnen binden aan Lipid-2.

Hij synthetiseert daarvoor lichtgevoelige moleculen, die na een lichtpuls covalent aan een target binden, in dit geval Lipid-2. "Zo kun je bacteriële eiwitten op het spoor komen waarvan je misschien wel wist dat ze bestonden, maar niet dat ze een target voor antibiotica zijn. Die strategie klinkt vrij eenvoudig, maar omdat het tamelijk complexe moleculen zijn, met aminozuren en suikers, kan het

soms maanden duren voordat je de fundamentele synthese goed in de vingers hebt."

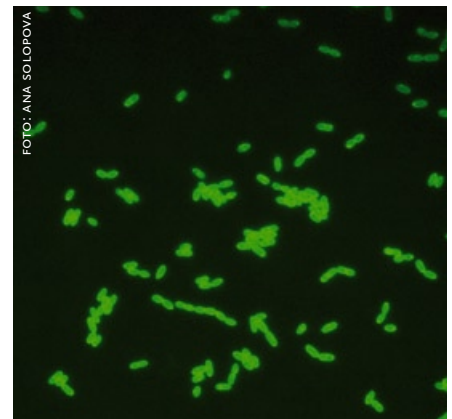
Ook de Groningse hoogleraar moleculaire genetica Oscar Kuipers richt zich op Lipid-2 en de celwandsynthese. Maar hij doet dat via de lantibiotica: peptides met circa 34 aminozuren, die van nature soms bijzonder gemodificeerd zijn en daardoor met elkaar kunnen reageren en ringstructuren kunnen vormen. Deze klasse van peptide-antibiotica werd ruim 70 jaar geleden voor het eerst ontdekt in de melkzuurbacterie *Lactococcus lactis* (zie afbeelding).

LANTIBIOTICA

Kuipers werkte al in 1990 aan het lantibioticum nisine, bij het voedingsinstituut NIZO. Daar onderzocht hij nisine als conserveringsmiddel in zuivelproducten. Bij zijn huidige onderzoek aan de Rijksuniversiteit Groningen is het doel medisch, en gebruikt zijn onderzoeksgroep synthetische biologie om nieuwe lantibiotica te vinden en om ze in het lab te synthetiseren.

Lantibiotica kunnen bacteriegroei op twee manieren hinderen. Ze blokkeren Lipid-2, het belangrijke transportmolecuul in de bacteriële celwandsynthese, en vormen poriën in de membraan, die daardoor gaat lekken.

Net zoals Van Wezel met *genome mining* zoekt naar nieuwe antibioticaclusters, zo speurt Kuipers naar nieuwe lantibioticagenen in het almaar uitdijende reservoir van bacteriële DNA-sequenties. "We zijn al honderden nieuwe lantibioticagenen op het spoor gekomen", zegt hij. "Die pluggen we vervolgens in ons expressiesysteem om ze tot leven te wekken, en ze vervolgens te testen tegen een indicatorbacterie."



De melkzuurbacterie *Lactococcus lactis*, waarin de lantibiotica werden ontdekt, een klasse peptide-antibiotica. Wetenschappers zijn hard op zoek naar nieuwe lantibiotica(genen).

► In een andere onderzoekslijn behandelen de Groningers de ringstructuren van verschillende lantibiotica als losse modules, die ze naar wens kunnen combineren. “We gaan zelfs andere functionele groepen toevoegen, waardoor we een *double target molecule* kunnen maken.”

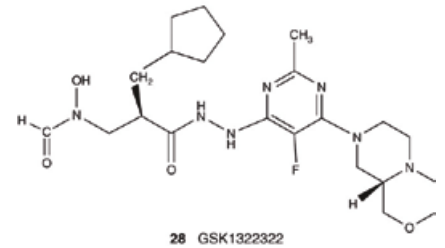
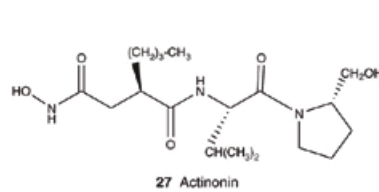
Volgens Kuipers is de verdere ontwikkeling van een verbeterd lantibioticum afhankelijk van allerlei nog onbekende factoren: stabiliteit, toxiciteit, werkzaamheid, farmacokinetiek en mate van resistentieontwikkeling. “Als je kandidaat dat onderzoek allemaal overleeft, dan moet je om de tafel met de farmaceutische industrie voor de verdere ontwikkeling.”

Nieuwe behandelingen op basis van lantibiotica bewegen voorzichtig richting de kliniek. Sinds november 2011 doet het Britse Novacta Therapeutics klinische trials met een lantibioticum als behandeling van darminfecties met resistente *Clostridium difficile*. Daarnaast ontwikkelt het bedrijf lantibiotica tegen MRSA.

LAAGHANGEND FRUIT

Of die nieuwe middelen de trials doorstaan, zal op zijn vroegst over 4 of 5 jaar duidelijk worden. Rudolf van Olden, medisch directeur van GSK Nederland, weet uit ervaring dat die weg heel lang is. “In het preklinische onderzoek lijkt soms alles veelbelovend.” Maar de *proof of the pudding* komt uit kostbare trials en markttoelatingsprocedures.

GSK heeft op dit moment twee stoffen in klinisch onderzoek. De eerste is afgeleid van het 10 jaar geleden ontdekte natuurlijke antibioticum actinonine. Een fase 2 klinische trial is ermee afgerond voor



Een van de twee antibiotica die GlaxoSmithKline momenteel in klinisch onderzoek heeft, GSK 1322322, is afgeleid van het 10 jaar geleden ontdekte natuurlijke antibioticum actinonine. Een fase 2 klinische trial is ermee afgerond voor acute huidinfecties.

acute huidinfecties. De stof remt een enzym, peptide-deformylase, dat onmisbaar is bij de bacteriële eiwitsynthese.

De andere stof wordt ontwikkeld als middel tegen ziekenhuisinfecties met *E. coli* en *K. pneumoniae*. Het kleine molecuul is afgeleid van een stof tegen schimmelnagels en is een fase 1 trial succesvol

‘Het laaghangende fruit hebben we inmiddels geplukt’

doorgekomen. De verbinding hindert de eiwitsynthese door de blokkering van transfer-RNA.

Volgens een vorig jaar in het *Journal of Antibiotics* verschenen review van alle antibiotica die op dit moment in trials worden onderzocht, is deze tweede stof van GSK een van de weinige antibiotica met een echt nieuw werkingsmechanisme tegen gramnegatieve bacteriën. Het merendeel van de veertig nieuwe verbindingen die nu wereldwijd in trials

worden onderzocht, is echter gericht op al bekende targets. Van Olden: “Het laaghangende fruit hebben we inmiddels geplukt. Het blijkt lastig om nieuwe aangrijpingspunten te vinden.”

Toch moeten we niet te somber doen, of denken dat we de race gaan verliezen, vindt Van Olden. “De wetenschap levert de technologie en de inzichten om het probleem aan te pakken. We moeten dit vraagstuk alleen veel meer gaan zien als een gemeenschappelijk, mondiaal probleem, dat dus niet de exclusieve verantwoordelijkheid is van het bedrijfsleven. Vergelijk het met griepvaccinatie. Dat is ook een gemeenschappelijke verantwoordelijkheid van overheden en bedrijven, die mondiaal wordt gecoördineerd en aangepakt.”

Ook het voorschrijven van antibiotica moet internationaal worden afgestemd, vindt hij. “Op dit moment is vooral Zuid-Europa daarin te gemakkelijk, waardoor daar veel meer resistentie optreedt. Dat is eigenlijk een belangrijker onderwerp dan het vinden en maken van nieuwe moleculen.”

DE PARADOX VAN ANTIBIOTICAONDERZOEK

Een goed werkend, nieuw antibioticum willen artsen eigenlijk zo weinig mogelijk gebruiken. Dan hebben ze immers iets achter de hand voor als geen ander middel meer werkt. Bovendien helpt die strategie resistentie voorkomen.

Maar een middel dat mondjesmaat wordt gebruikt, genereert nauwelijks omzet voor het farmaceutische bedrijf dat er miljoenen in heeft geïnvesteerd. Omgekeerd leidt het veelvuldig gebruik van een nieuw antibioticum tot snelle resistentieontwikkeling, waarmee een antibioticum snel aan effectiviteit en dus waarde kan verliezen.

Ziedaar de paradox van grootschalige investeringen in antibioticaonderzoek. Die verklaart volgens Nathaniel Martin

(Universiteit Utrecht) voor een belangrijk deel waarom de industrie er steeds minder in investeert. “Bedrijven moeten winst maken. En het feit is dat antibiotica niet echt winstgevend zijn. Bijvoorbeeld door de hoge



ontwikkelkosten en doordat ze door resistentie veelal binnen 10 jaar niet meer bruikbaar zijn. Het bedrijfsleven kun je het niet kwalijk nemen dat het kiest voor andere typen geneesmiddelen.”

Volgens Rudolf Van Olden (GSK) ligt de oplossing op het gebied van investeren en vergoeden. “Je kunt aan de investeringskant denken aan meer publiek-private samenwerking. Daarnaast zou er gekeken moeten worden naar een hogere vergoeding.”

Martin: “Ik verwacht dat het fundamentele antibioticaonderzoek steeds meer zal plaatsvinden in partnerships tussen bedrijven onderzoekinstellingen. We moeten niet verwachten dat bedrijven daarin het voortouw nemen. Die rol hebben ze wel bij het klinische onderzoek, als een nieuw molecuul beschikbaar is.”