الفصل الثالث

المضادّات الحيوية التي تعمل على البناء الحيوي لجدار الخلية
ANTIBIOTICS THAT ACT ON CELL WALL BIOSYNTHESIS

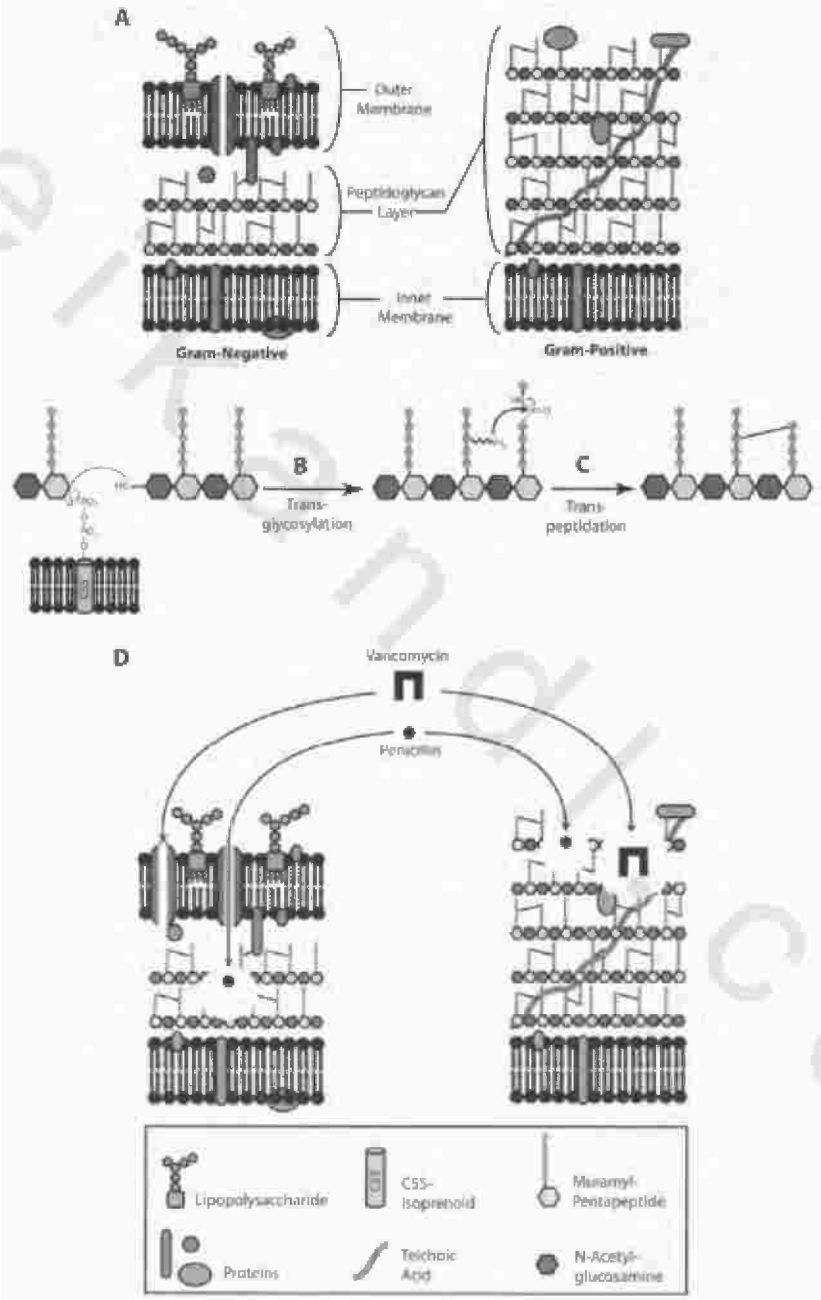
يتناول هذا الفصل المضادّات الحيوية التي تعترض أي من الخطوات المتعدّدة في تجميع – جدار الخلية البكتيري (cell wall assembly)، من التوليد الجيني (biogenesis) للموحودات (monomers) إلى التجميع المتخصص، الانتقال عبر الغشاء، والربط – التبادلي خارج الخلية (extracellular cross-linking) وتقوية الهيكل الخارجي لطبقات الببتيدوغليكان. في الصفحة المواجهة للشكل (٢.٢) توجد صورة مكبّرة لجزء من الشكل وهي تظهر التفاعلات على البناء الحيوي لجدار الخلية والمضادّات التي تمنعه.

أوجه الشبه والاختلاف في تركيب جدار الخلية الموجبة – لغرام والسالبة – لغرام التي تؤثر على الحساسية للمضادّات الحيوية

البكتيريا مثل الإشريكية القولونية والسالمونيلا والزائفة واليرسنية هي بكتيريا سالبة – لغرام، بينما المكورات العنقودية، والمكورات العقدية، والمكورات المعوية موجبة – لغرام. ويعتمد الاختلاف في الاحتفاظ بالصبغة، "كريستال البنفسج" (crystal violet) في محلول الإيثانول (ethanol) على مدى سلامة الغشاء الخارجي للبكتيريا (الكائنات السالبة – لغرام) أو إذا كان غير كامل ومجزأ (الكائنات الموجبة – لغرام) (الشكل ٣.١ A) (ليي وشنيويند Lee and Schneewind, 2001، نافاري وشنيويند Navarre and Schneewind, 1999، نيكايدو Nikaido, 1994). لكل من البكتيريا السالبة والموجبة – لغرام طبقة الببتيدوغليكان كجزء من تركيب جدار الخلية لها. إن طبقة الببتيدوغليكان عموماً ولحد بعيد أكثر سماكة ومتعدّدة الطبقات في البكتيريا الموجبة – لغرام (الشكل ٣.١ A).

وتتشابك طبقة الببتيدوغليكان، مع خيوط الجليكان والبِبْتيد المتعامدة (orthogonal glycan) (الشكل ٣.١ B)، الربط – التبادلي (cross-linking) الإنزيمي لخيوط الجليكان، بواسطة عمل إنزيم ترانسغليكوسيلاز (transglycosylase)، وكذلك خيوط البِبْتيد بواسطة عمل إنزيم ترانسببتيداز (transpeptidase) (الشكل ٣.١ C). يدخل الربط – التبادلي وصلات ربط تساهمية للشبكة، ويتيح القوة الميكانيكية، كما وتوفر تراكيب الحاجز الرئيسة أمام قوى الضغط

التنافذي (الأزموزي) (osmotic pressure) التي قد تقتل البكتيريا. تمنع العديد من المضادّات الحيوية التي تؤثر على جدار الخلية البكتيري، الإنزيمات أو تنحي المواد المشاركة في تجميع الببتيدوغليكان والربط – التبادلي، كما سنلاحظ في الأقسام اللاحقة من هذا الفصل.



الشكل (٣,١). تراكيب جدار الخلية للبكتيريا الموجبة والسالبة – لغرام: (A) الاختلافات في نفاذية حواجز الغشاء الخارجي، (B) إطالة الببتيدوغليكان بواسطة عمل إنزيم ترانسغليكوسيلاز، (C) الربط – التبادلي للببتيدوغليكان بواسطة عمل إنزيم ترانسببتيداز، (D) اختراق المضادّات الحيوية للغشاء الهيولي (السيتوبلازمي) في البكتيريا الموجبة – لغرام.

لقد وُصفت طبقة البيتيدوغليكان السميكة للبكتيريا الموجبة – لغرام بأنها جزيء عضوي سطحي، لعرض الكربوهيدرات والبروتينات في حين أن الغشاء الخارجي هو جزيء السطح العضوي المكافيء لهذا في البكتيريا السالبة – لغرام (لي وشنيويند Lee and Schneewind, 2001). إن لكل من البكتيريا السالبة والموجبة – لغرام بروتينات ترتبط بشكل تساهمي مع سلاسل الببْتيد (peptide chains) في طبقة البيتيدوغليكان (الجدول ٣,١) (برون وهنتكي Braun and Hantke, 1974). وبعض بروتينات الغشاء الخارجي هذه تعمل كلاصقات (adhesions) للبروتينات المحددة على أغشية الخلية للفقريات، مثل غزو البروتين من اليرسنية السلّية الكاذبة (Yersinia pseudotuberculosis)، الذي يرتبط مع بروتينات بيتا ١ – إنتجرين (β1-integrin) المنتشرة على الخلايا المضيفة وهو التفاعل المطلوب للاختراق البكتيري إلى الأنسجة اللمفية المعوية (أيسبرج و ليونج Isberg and Leong, 1990). تتصل بروتينات السطح المرتبطة مع طبقة البيتيدوغليكان السميكة في البكتيريا الموجبة – لغرام أثناء التكوين الحيوي بفعل إنزيم سورتاز (sortase)، الذي نوقش في الفصل الخامس عشر كهدف محتمل للمضادّات البكتيرية. إن الغشاء الخارجي للبكتيريا السالبة – لغرام غير متماثل في تكوين الدهن (الشحم)، حيث إن الدهون الفسفورية (phospholipids) موجودة في الطبقة (الوريقة) الداخلية ودهن A (lipid A) هو الدهن الغالب في الطبقة الخارجية (ريتز Raetz, 1987)، مع سلاسل مستضدات O (O-antigen chains) المتغيرة المرتبطة تساهمياً والتي تواجه البيئة الخارجية كسطح كربوهيدرات عالي الإستضاد (الشكل ٣,١ A). ولطبقة البيتيدوغليكان السميكة في البكتيريا الموجبة – لغرام كذلك بوليمرات (مكثورات) أحماض التيكويك (polymers of teichoic acids) مرتبطة بها (الشكل ٣,١ A). كما يمكن لكربوهيدرات وبروتينات السطح أن تخدم العديد من الأدوار، ويشمل ذلك الحماية ضد قتل الخلية – المضيفة، تقديم ربيطات (مركبات ترابطية) (ligands) محددة للارتباط بالسطوح الأحيائية واللاأحيائية، ويسهل التحويل بين (interconversion) أشكال خلية الحرق السطحي (singe cell forms) (حيوانات نباتات صغيرة جداً) (planktonic) ومجتمعات القشرة الحيوية الرقيقة (الفلم الحيوي) (biofilm) للبكتيريا.

إن البكتيريا الموجبة – لغرام حساسة لبعض المضادّات الحيوية التي لا تعمل أو تعمل بشكل ضعيف (مثال: ضد الزائفات pseudomonads) ضد البكتيريا السالبة – لغرام، وهذا الاختلاف يتعلق بقدرة المضادّات الحيوية على أن تُعطّل بواسطة الحد من أحجام مسام (pore sizes) بروتينات بورين (proteins porin) في الأغشية الخارجية للكائنات السالبة – لغرام (الشكل ٣,١ A و D) (كوبنك وآخرون Koebnik *et al*, 2000). كما وأنه لا يوجد مثل هذا الحاجز للانتشار في البكتيريا الموجبة – لغرام. فالفانكوميسين، على سبيل المثال، لا يستطيع اختراق الغشاء الخارجي وعليه فهو فعال كمضاد حيوي ضد المُمرضات الموجبة – لغرام فقط. وفي البكتيريا السالبة – لغرام، الفضاء بين الأغشية الداخلية والخارجية هو الفضاء حول الجبلّة (periplasmic space) (الشكل ٣,١ D). إضافة إلى خيوط طبقة البيتيدوغليكان وللجبلّة إنزيمات متحللة بالماء (hydrolytic enzymes) لتحوّل النيوكليوتيدات الناقصة والمتعدّدة القسمة (oligomeric and nucleotides polymeric)، البتيدات، والسكريدات (saccharides) إلى موحودات (monomers) والتي

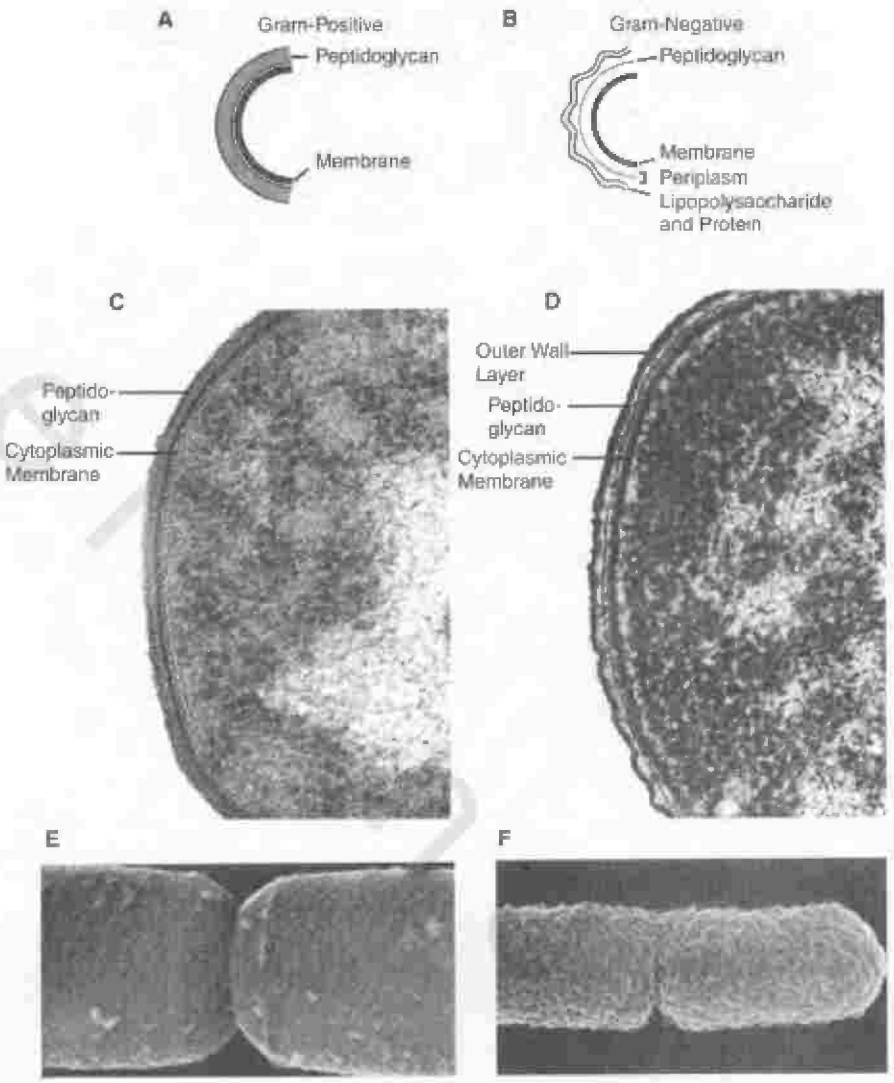
من ثمَ ترتبط بواسطة بروتينات حول الجبلَة الناقلة، والمقدمة إلى بروتينات الغشاء الناقلة ومن ثم إدخالها. ويوجد كذلك بروتينات تعمل كوصيفات تساعد البروتينات التي يتم إفرازها إلى الغشاء الخارجي لتنثني وتعبر فضاء الجبلَة.

إن كل من تراكيب جدار الخلية هذه هو هدف محتمل للإعاقة بواسطة المضادّات الحيوية. ويمكن أن تؤدي الخواص المتميزة للأغشية الخارجية حتى بين البكتيريا السالبة – لغرام إلى الاختلافات في النفاذية للمضادّات الحيوية. فعلى سبيل المثال، تُظهر الأغشية الخارجية للزائفة الزنجارية حوالي ١٠٠– أضعاف أقل نفاذية للكيفالوسبورين مثل كيفالوريدين (cephaloridine) (نيكايدو Nikaido, 1998) عن غيرها من البكتيريا السالبة – لغرام ويرجع ذلك جزئياً إلى البورينات ذات المسام الصغيرة التي تحد من المرور الداخلي للمضادّات الحيوية إلى فضاء الجبلَة.

المظاهر المميزة لجدران الخلية للبكتيريا السالبة لغرام والموجبة – لغرام يمكن تمييزها في كل من المراسم الدقيقة الإلكترونية الانتقالية (transmission electron micrographs) والمراسم الدقيقة الإلكترونية التفرسيّة (scanning electron micrographs). وفي الشكل (٣,٢ A و٣,٢ B)، عُكست مخططات جدار الخلية بواسطة صورة أرثروباكتر كريستالوبويتيز *(Arthrobacter crystallopoietes)* الموجبة – لغرام (الشكل ٣,٢ C) والشعرة البيضاء العفنة *(Leucothrix mucor)* السالبة – لغرام (الشكل ٣,٢ D). صور المسح للعصية الرقيقة *(Bacillus subtilis)* (الشكل ٣,٢ E) والإشريكية القولونية السالبة – لغرام (الشكل ٣,٢ F) تُظهر أنسجة (بنية) سطح مختلفة.

الجدول (٣,١). البروتينات المرتبطة بشكل تساهمي مع البيتيدوغليكان.

الفئة الوظيفية	البروتين المثال	الآلية
الحماية من جهاز المناعة	البروتينات من عائلة M-	تحول جيني – مضاد للبلعمة
	بروتين A	تحول جيني – مضاد للبلعمة
	C5a بيتيداز	يدمر الجاذب الكيميائي
التركيبية	بروتينات شحمية	ترتبط بالغشاء الخارجي
	أهداب	تتجمع لتكوّن خيوط
العدوى / الفوعية	إم إس سي آر إيه إم إم إس (MSCRAMMs)	يربط مكونات قالب خارج الخلية
	الغزو	يرتبط ببيتا ١ إنتجرين (β-1 integrin)، غزو النسيج.
	إنترنالين (Internalin)	يُسهل غزو الخلية المضيفة
اكتساب الغذاء	غليكوسيداز glycosidase	يفلق السكريد
	بيتيداز peptidase	يفلق البيْتيد
	نيوكليوتيداز nucleotidases	يفلق قليل – ناقص النيوكليوتيد oligonucleotides
التصاق الخلية البكتيرية	مادة تجميع	ترتبط بمادة ربط المكورات المعوية
	بروتين استبعاد السطح	يمنع التزاوج بين البكتيريا ذات البلازميدات المتشابهة بواسطة آلية غير معروفة



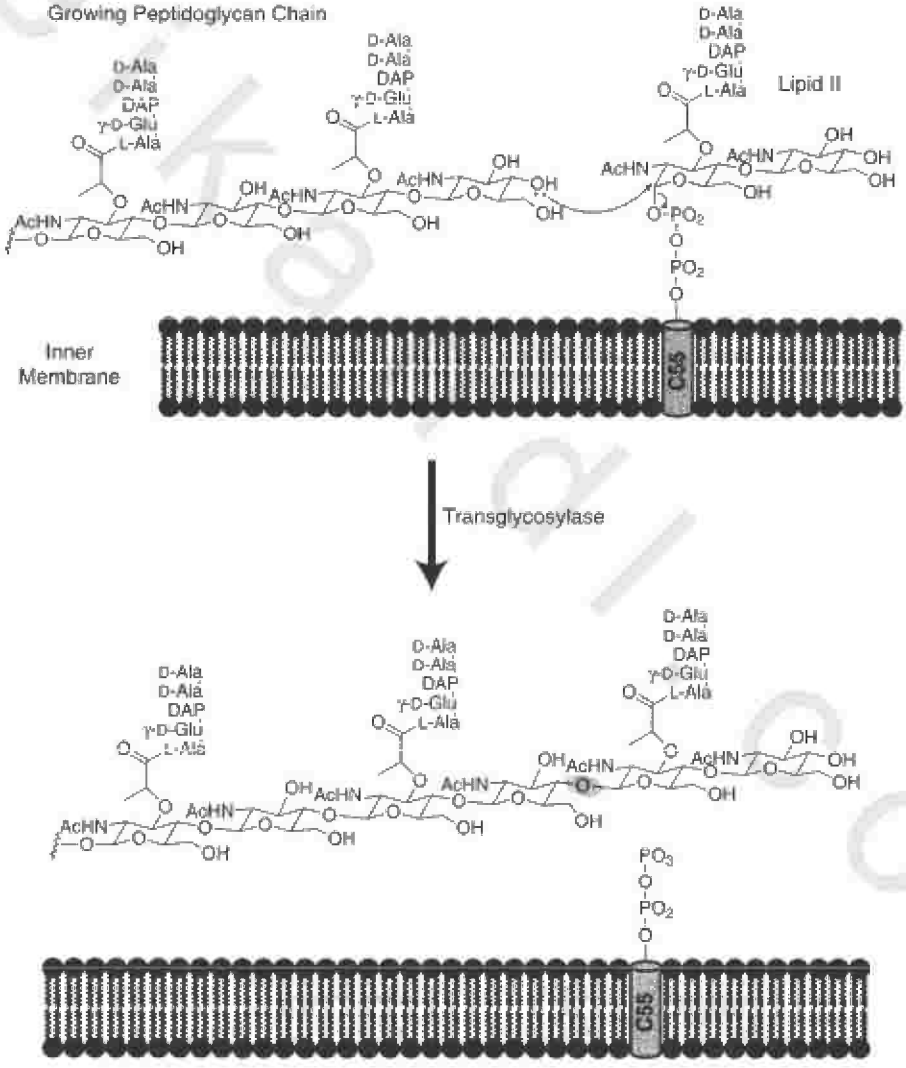
الشكل (٣,٢). جدران الخلية للبكتيريا. (A وB) رسوم تخطيطية لجدران الخلية الموجبة لغرام (A) والسالبة- لغرام (B). (C وD) تُظهر المراسم الإلكترونية الدقيقة جدران للبكتيريا الموجبة – لغرام، أرثروباكتر كريستالوبويتيز (C)، و للبكتيريا السالبة – لغرام، الشعرة البيضاء العفنة (D). (E، F) المراسم الإلكترونية النفرسية الدقيقة للبكتيريا الموجبة – لغرام (العصية الرقيقة) (ث) والسالبة – لغرام (الإشريكية القولونية) (F). لاحظ بنية السطح في الخلايا التي تظهر في اللوحتين E، F. الخلية الواحدة للعصية الرقيقة أو الإشريكية القولونية هي حوالي ١ ميكروميتر في القطر.

ثلاث مراحل للتجميع الإنزيمي للببْتيدوغليكان: سيتوبلازمي (هيولي)، المرتبط بالأغشية، وخارج السيتوبلازمي

الإنزيمات في المرحلة السيتوبلازمية لمسار مور (Mur pathway): مور أ– ف (Mur A-F)

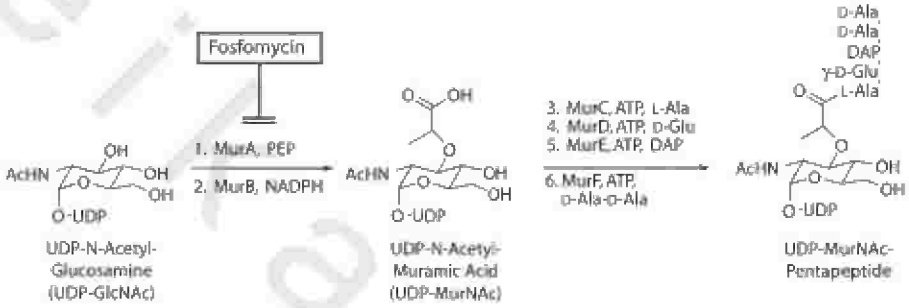
عندما تنمو وتنقسم البكتيريا، يجب وضع طبقة (أو طبقات) الببتيدوغليكان بشكل أفقي وجانبي على حد سواء (لتشكيل حاجز) (هولتجي Holtje, 1998). إن وحدة الببتيدوغليكان التي أُضيفت إلى طبقات الببتيدوغليكان

الممتدة هي ببتيد مخموس ثنائي السكريل (disaccharyl pentapeptide) والتي قُدمت في سطح الغشاء في حين أنها مرتبطة بشحم (دهن) سي ٥٥ (C_{55}) (undecaprenyl) (شحم ٢) في رابطة فوسفودايستر (phosphodiester linkage) التي يحدث لها إنفلاق في خطوة نقل الغليكوسيل (transglycosylation) (الشكل ٣.٣). يتوفر لكل من الدهن، السكريات وأجزاء (أنصاف) البِبْتيد المخموس (pentapeptide moieties) إنزيمات متخصصة بتجميع الببتيدوغليكان. تعرف طبقة الببتيدوغليكان كذلك بالميورين (murein) (من اليونانية "حائط") وتسمى الجينات للخطوات الأولى في التجميع *murA-G* (فان هيجينورت van Heijenoort, 2001a).



الشكل (٣,٣). عمل الترانسغليكوسيلازات (transglycosylases) على C_{55} – الشحم – المرتبط بركازة البِبْتيد المخموس إن – أسيتيل موراميل (MurNAc) (N-acetyle-muramyl).

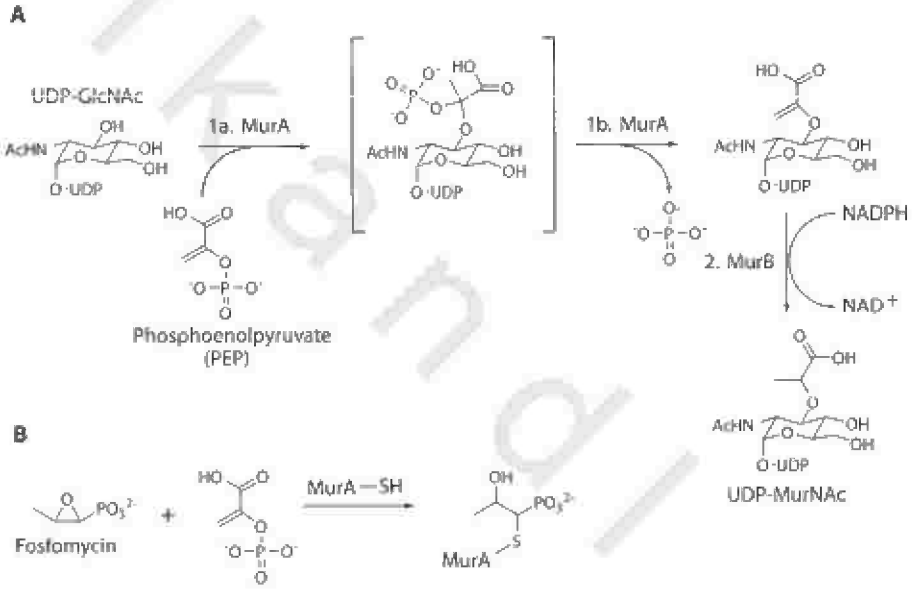
أُنجزت المرحلة السيتوبلازمية لتجميع الميورين (murein assembly) بواسطة الإنزيمات الست ميور أ–ف (MurA-F)، بدأً من نيوكليوتيد السكرالثنائي الفسفور UDP-*N* أسيتيل غلوكوسامين (UDP-N- nucleotide disphosphosugar acetylglucosamine (UDP-GlcNAc) ويتبع إلى ميوراميل الخماسي الببْتيد، و-UDP-mumarmyle-L-Ala-D-γ-Glu *meso*- diaminopimelate -D-Ala-D-Ala (الشكل ٣,٤). تُصنع UDP-GlcNAc ذاتها بواسطة إنزيم ذا وظيفة ثنائية، GlmU (جيهرنج وآخرون Gehring *et al.*, 1996، مينجن – لاسريلوكس Mengin-Lecreulux وهيجينورت Heijenoort, 1994)، الذي يعمل على أستلة الغلوكوسامين– 1P ومن ثمّ على uridylylates.



الشكل (٣,٤). تجميع UDP-MurNAc الببْتيد المخموس بواسطة الإنزيمات الستة ميور A– F.

يتطلب تحويل GlcNAc إلى نصف ميوراميل بناء ٣– أو– إيثر الأكتيل (3'*O*-lactyle ether) من بقايا GlcNAc وينجز ذلك بواسطة إنزيمين هما ميور A و ميور B (murA and mur B) (الشكل ٣,٥ A). يستخدم ميور A فوسفوإينول بيروفيت (PEP) phosphoenolpyruvate) كمادة مشاركة ويُثبت ترابط إيثر ٣– أو إينول بيروفيت (ether 3'-*O*-enolpyruvate) بواسطة إضافة/ حذف تسلسل غير عادي، حيث إن ٣– أكسجين (3'-oxygen) في GlcNAc يضاف إلى الرابطة المضاعفة لـ PEP، ريجيو– (-regio) وبتجسيم نوعي (sterospecifically) عند C_2 و C_3 تصبح مجموعة مثيل (methyle group) بشكل عابر (كاسيدي وكاهان Cassidy and Kahan, 1973، والش وآخرون Walsh *et al.*,1996a). والخطوة الثانية هي التخلص بواسطة الإنزيم – الحفّاز من H^+ و Pi لتوليد إيثر الإينول (enol ether). يعتبر ميور B هو مؤكسد للفلافوبروتين (flavoprotein) الذي يُضيف هيدريد (hydride) إلى C_3 وبروتونيت C_2 (protonates) لتوليد إيثر اللاكتيل (lactyle ether) وإنتاج حامض الميوراميك (acid UDP- muramic) (بنسون وآخرون Benson *et al.*, 1993). إن كاربوكسيلات إيثر اللاكتيل هو الموضع لبناء سلسلة الببْتيد الاحقة بواسطة ميور F,E,D,C. لقد تم تحديد الأشعة السينية لتراكيب ميور A وميور B (بنسون وآخرون ١٩٩٥، شونبرون وآخرون Schonbrunn *et al.*, 1996، سكارزينسكي وآخرون Skarzynski *et al.*, 1996) وتعزز الملاحظات الآلية المذكورة أعلاه معماريا. يعتبر ميور A هو الهدف للمضاد الحيوي فوسفوميسين (انظر الجدول ٢,١ الموصى باستخدامه في معالجة عداوى المسالك

البولية)، هو مستقلب ثلاث – كربونات إبوكسي بوبيل فوسفونيت (epoxy propyl phosphonate) بسيط من المتسلسلات (streptomycetes) (سيتو Seto, 1997) والذي يعمل لتعطيل مُناظر PEP (الشكل ٣,٥ B). يوجد موقع سيستين (cysteine) نشط في ميورA، Cys-115 في ميور A في الإشريكية القولونية الذي فيه تفتح سلسلة ثيوليت الجانبية (thiolate side chain) إبوكسيد (epoxide) الفعال للفوسفوميسين المقيَد، لينتج حبل تساهمي مستقر ليسد الموقع الفعال ويمنع الانتهاء المحفز اللاحق. لقد تم تحديد التركيب بالأشعة السينية للفوسفوميسين– ذا ميور A المعطل (سكارزينسكي وآخرون Skarzynski *et al.*, 1998) والذي ينبغي أن يكون عوناً لتصميم – خلفاء لفوسفوميسين. لقد تم الإبلاغ حديثاً عن مثبطات ثيازوليدينون (thiazolidinone inhibitors) لميور B (أندريس وآخرون Andres *et al.*,2000).



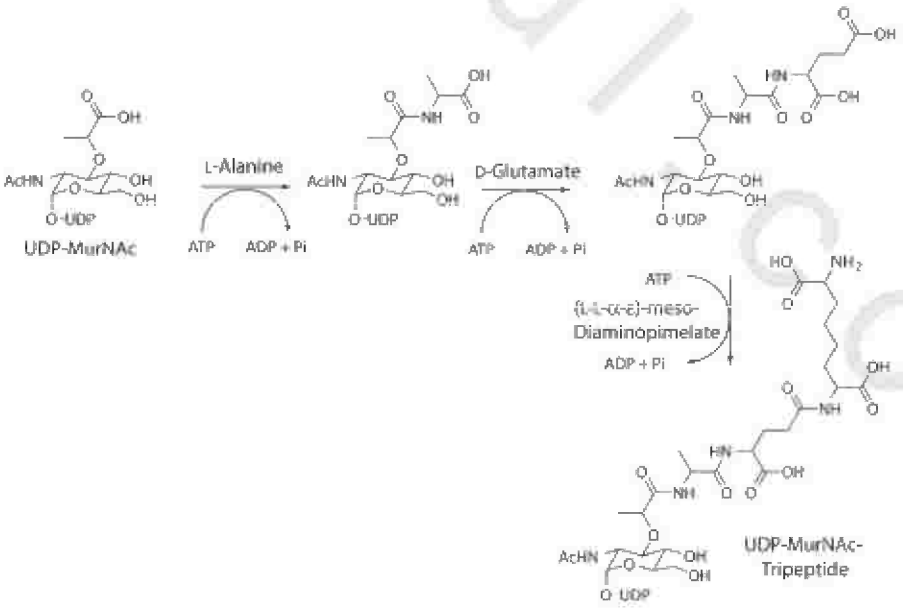
الشكل (٣,٥). (A) العمل المتعاقب لميور أ وميور ب لتحويل أسيتيلجلوكوسامين UDP-N –acetyle-glucosamine (GlcNAc) إلى UDP-N-MurNAc. (B) تعطيل نشاط ميور أ بواسطة المضاد الحيوي فوسفوميسين (fosfomycin).

يقوم ميور E,D,C بتفاعلات مشابهة وتنتمي لنفس العائلة الفائقة (فان هيجينوورت van Heijenoort, 2001a)؛ لأنها تصنع بالتتابع روابط أميد (amid bonds) مضيفةً L-Ala,D-Glu, and *meso*-DAP ليسين (Lysine) بدلاً من DAP في بعض البكتيريا الموجبة – لغرام) لسلسلة ميوراميل الناشئة، وينتج عن ذلك UDP ميوراميل ببتيد ثلاثي (الشكل ٣,٦) عند نهاية خطوة ميور E.

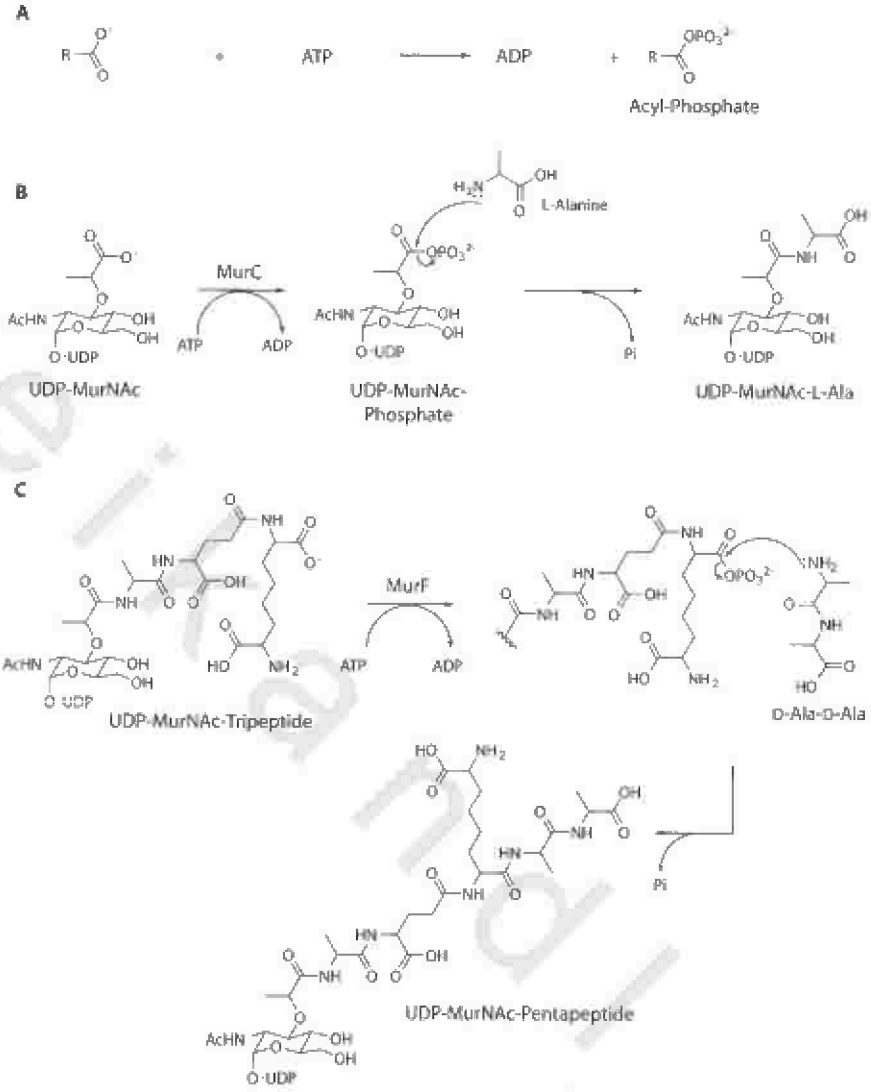
يصنع ميور D رابطة جاما– جلوتاميل الببْتيد المتساوية (γ-glutamyl isopeptide bond) بدلاً من رابطة الببْتيد القياسية إلى ألفا– كاربوكسيلات D-Glu (α-carboxylate). تعتبر ATP هي المادة المشاركة المنشقة بواسطة كل من هذه

الإنزيمات الثلاث إلى ADP و Pi، مع وسيط من أسيل الفوسفات (acyle phosphates) كمانحات في خطوات تشكيل – الأميد لكل من الأحماض الأمينية الثلاثة (الشكل ٣,٧ A) وعلى سبيل المثال، يعتبر UDP - ميوراميل الفوسفات هو مختلط لا مائي (anhydride) المركب الوسيط المفترض المتولد في الموقع النشط لميور C وإستُوليَ عليه بواسطة L-Ala (الشكل ٣,٧ B). إن الأشعة السينية لتراكيب العديد من الأحماض الأمينية للإنزيمات الرابطة (الليغازات ligases) متاحة (فان هيجينورت van Heijenoort, 2001b) لتمكّن تصميم المثبط – المعتمد على التركيب، ولقد تم وصف مثبطات جزء من المليون (nanomolar inhibitors) لكل من ميور C (مارمور وآخرون Marmor *et al.*, 2001) وميور D (جيجناس وآخرون Gegnas *et al.*, 1998).

يكمل ميور F سلسلة الببْتيديل الخماسية (pentapeptidyl chain) بإضافة الببْتيد الثنائي D-Ala-D-Ala dipeptide كوحدة، ومرة أخرى يفلق ATP إلى ADP و P_i، ويتضمن افتراضياً UDP-muramyl tripeptidyl-phosphoric anhydride كوسيط (الشكل ٣,٧ C). ويُنهي هذا المرحلة السيتوبلازمية التقليدية المحددة لتجميع طبقة الببتيدوغليكان. تعتبر مثبطات أمينوألكيل فوسفينيت (aminoalkylphosphinate) لميور F ضعيفة (قيمة K_i من ٢٠٠ إلى ٧٠٠ ميكروميتر) ولكن قد تكون نقطة البداية للتحسين (ميلر وآخرون Miller *et al.*, 1998) لأدوية مرشحة أكثر – فعاليّة. لقد لاحظ تيكمان وآخرون (Teichmann *et al.*, 2001) أن كامل مجموعة إنزيمات مسار ميور ربما نشأت بواسطة الإزدواجية – الذاتية للجين (gene self-duplication).



الشكل (٣,٦). تحويل UDP-MurNAc إلى UDP-MurNAc tripeptide ثلاثي الببْتيد بعمل ميور E ,D,C.



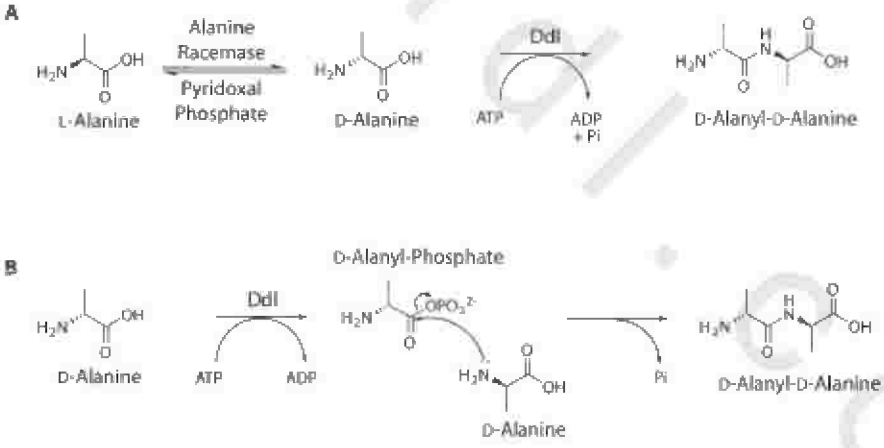
الشكل (٣,٧). (A) جيل الأمينو أسيل–فوسفات (aminoacyle-phosphate generation). (B) مثال ميور C مع UDP-MurNAc-P كرابطة وسيطة هوجت بواسطة المادة المشاركة من المجموعة الأمينية .L-Ala. (C) UDP-tripeptidyle acyl-P الوسيط في حفز ميور F: يهاجم بواسطة د– الآنين د– الآنين D-Ala- D-Ala.

الإنزيمات التي تحوّل ل–الآنين (L-Ala) إلى د– الآنين–د–الآنين (D-Ala-D-Ala):

راسيماز (racemase) ود–د– ليغاز (D-D-ligase)

يتوفرللمادة المشاركة د– الآنين–د– الآنين D-Ala-D-Ala لميور F زوج من الإنزيمات التي تعمل بالتتابع: الأول هو راسيماز الآنين alanine recemase، والثاني ليغاز د–الآنين د–الآنين D-alanyl-D-alanine ligase (الشكل ٣,٨ A). إنزيم راسيماز (racemase) هو حفّاز معتمد على – بيريدوكسال فوسفات (pyrodoxal phosphate –dependent catalyst) الذي يأخذ المستقلب الخلوي الطبيعي L-alanine ليحقق التوازن في شكله ليصنع د– الآنين D-Ala مع ثابت

التوازن ١(equilibrium constant 1) (والش Walsh, 1988). يعتبر د–د ليغاز D,D-ligase الإنزيم الخامس في مسار ميور الذي يستهلك ATP لعمل رابطة الأميد، مع الانشقاق إلى ADP وأسَيل فوسفات (acyl phosphate)، وفي هذه الحالة يكون بالإمكان الاستحواذ على د–الانيل فوسفات D-alanyl- PO_3 بواسطة د–الآنين D-alanine الثاني (الشكل ٣.٨ B). الأشعة السينية للتراكيب متوفرة لكل من راسيماز (racemase) وليغاز (ligase) (فان وآخرون Fan *et al.*, 1994، شاو وآخرون Shaw *et al.*, 1997). يُثبط راسيماز بواسطة فوسفونيت التناظري ل– و د –الآنين و الآنين–فوسفات PO_3 L-and D-Ala,Ala-، الذي يُبشر كمضاد حيوي (تمت المراجعة بواسطة بج Bugg, ووالش Walsh, 1992، نيوهوس وهامس Neuhaus and Hammes, 1981)، ولكن المعدل العالي للطفرة (mutation) لأجهزة (نظم) النقل لامتصاص (قبض) Ala-P جعل البكتيريا مقاومة. يثبط كل من ليغاز د–الآنين د–الآنين وراسيماز (D-Ala- ligase and racemase D-Ala) بواسطة سيكلوسيرين (cycloserine) (نيوهوس وهامس Neuhaus and Hammes, 1981)، المركب الطبيعي، ولكن فعاليته ضعيفة وغير منتقاة نسبياً، ويحدث سمية. هذه الأمثلة قد تدل على أن جميع الإنزيمات الثمانية المذكورة أعلاه هي من حيث المبدأ أهداف جيدة لتطوير مضادّات حيوية جديدة. سوف نرجع لموضوع الإنزيم الرابط د–د– ليغاز (D-D-ligase) عند شرح مقاومة الفانكوميسين في الفصل العاشر وسنلاحظ أن مقاومة الغليكوببتيدات (glycopeptides) تتمركز حول خصوصية د–د–ليغاز (D-D- ligase).



الشكل (٣,٨). (A) العمل التتـــابعي لـــ راسيماز الآنين alanine racemase وليغاز د–الآنين د–الآنين D-Ala-D-Ala ligase (Ddl) لتوليد د–الآنين د–الآنين D-Ala-D-Ala. (B) D-Ala-P الوسيط في حفز Ddl.

الإنزيمات التي توفر د– غلوتامات (D-glutamate) و*meso*-DAP لميور D وميور E

تم حديثاً مراجعة مسارات D-glutamate (فان هيجينوورت van Heijenoort, 2001b) ويشمل إما غلوتامات راسيماز (glutamate racemase) المشفرة بواسطة جين ميور I (*mur I* gene) وإما مسار إنزيم الحمض الأميني ناقلة

الأمين (D-amino acid transaminase pathway). في البكتيريا التي تستعمل طريق ميور *mur* I, I هو الجين الأساسي، وقد تم وصف إنزيم راسيماز (racemase) تركيبياً وآلياً بشكل جيد كراسيميز – مستقل عامل مساعد يعمل بواسطة الآلية – ذات القاعدتين. ولم يتم وصف مثبطات ذات نشاط مفيد مضاد للبكتيريا. في البكتيريا الموجبة – لغرام مثل العصيات (bacilli) التي تستخدم د–الآنين D-alanine كمانح إلى ألفا– كيتوغلوترات (α- ketoglutarate، إنزيم (ناقلة الامين) (ترانساميناز) (transaminase) هو معتمد على بيريدوكسال فوسفات (PLP)، معروف التركيب ولكن لم يتم وصف اتجاهات المضاد البكتيري.

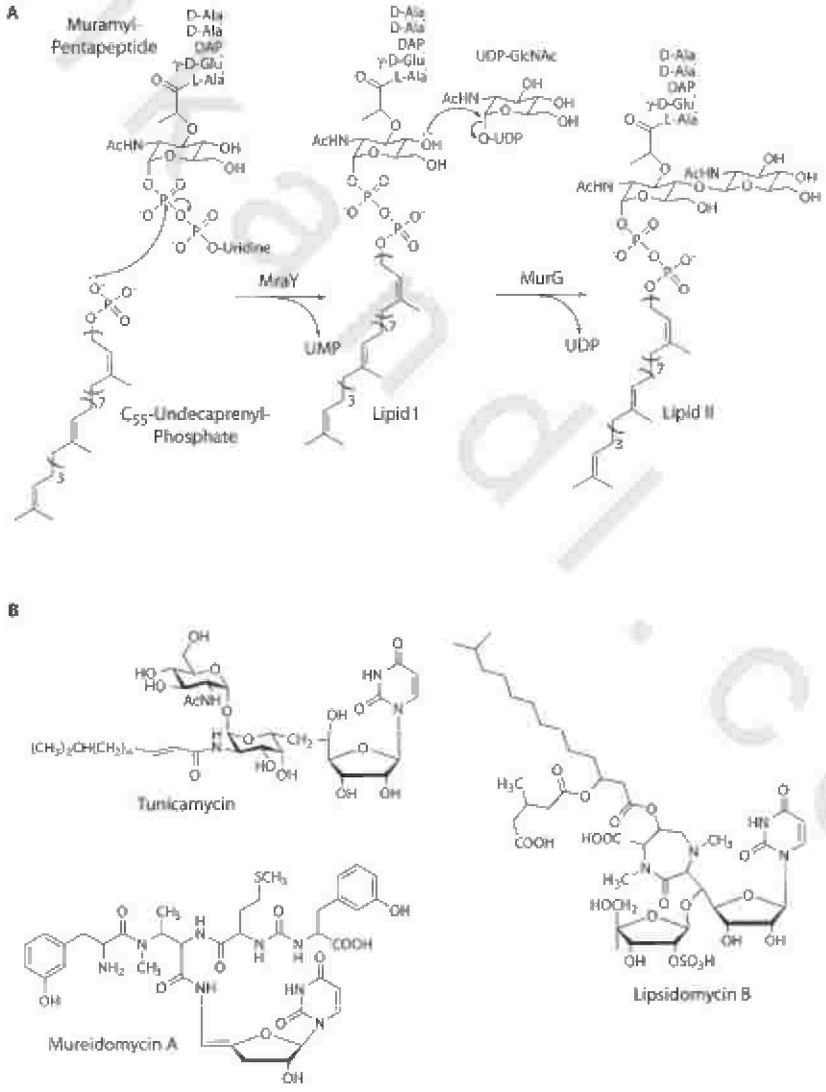
إن التكوين الحيوي لـ *meso*- DAP في البكتيريا السالبة – لغرام هو مسار متعدد الخطوات، ولقد وُصف آلياً وتركيبياً بشكل جيد مع الأشعة السينية لتراكيب كل إنزيم في المسار تقريباً (بورن وبلانكارد Born and Blanchard, 1999)، ولكن حتى الآن لم يتم العثور على مثبطات كعوامل فعالة مضادة للبكتيريا بواسطة التصميم أو المسح.

التصاق الدهن وإضافة السكر الثاني: وسائط الدهن I والدهن II
وعمل راموبلانين (ramoplanin) وباستراسين (bacitracin)

إن الأغشية التي ترتبط بالمرحلة الثانية من تجميع ميورين تبدأ مع إنزيم MraY، الذي ينقل البِبْتيد المخموس لميورميل (muramyl pentapeptide) من مثبته الذائب في الماء UDP water soluble anchor إلى مركب غشاء غير عادي lipid C_{55} undecaprenyl phosphate الموجود على السطح السيتوبلازمي للغشاء. ويهاجم أكسجين الدهون الفوسفاتية C_{55} phosphate oxygen رابطة بيروفوسفات الموجودة في شطر UDP، يطلق UDP وينتج جسر بيروفوسفات جديد بين الغشاء المرتبط بالدهن C_{55} وميوماريل خماسي البِبْتيد (الشكل A٣.٩). ويعدُّ هذا وسيط الشحم الأول والمعروف بالدهن I (Lipid I). يسمى Mra Y كذلك ترانسلوكيز (translocase)، ولكن لا يوجد دليل تجريبي مباشر على أن سلسلة بِبْتيديل الخماسية (pentpeptidyl chain) تنتقل عند هذه الخطوة وفي الواقع، التحويل اللاحق للدهن I إلى الدهن II والذي تم شرحه أدناه يستخدم مادة سيتوبلازمية مشتركة، UDP-GlcNAc تتماشى مع الموقع النشط لـ MraY ,MurG المتاح للوجه السيتوبلازمي للغشاء.

المنتجات الطبيعية التي تثبط عمل MraY تشمل ميوردوميسينات (mureidomycins A - F) (الشكل B ٣.٩) (لي و هيكر Lee and Hecker, 1999)، ليبوسيدوميسينات (liposidomycins) وتونيكاميسين (tunicamycin)، وجميع مضادّات بيتيد اليوريديل (uridyl peptide antibiotics) التي يعتقد أنها تتنافس مع مادة UDP ميوراميل البِبْتيد الخماسية (UDP – muramyl pentapeptide) لأجل MraY. وبينما يثبط التونيكاميسين كذلك التكوين الحيوي لـ dolichol-PP- GlcNAc لسويات النواة في التكوين الحيوي للجليكوبروتين فإن ليبوسيدوميسين وميووريدوميسين هما مختاران لتثبيط MraY لبدائيات النواة (لي وهيكر Lee and Hecker, 1999). وقد يوفرا نقاط بداية لتطوير المضادّات الحيوي الشبه مُصنَعة.

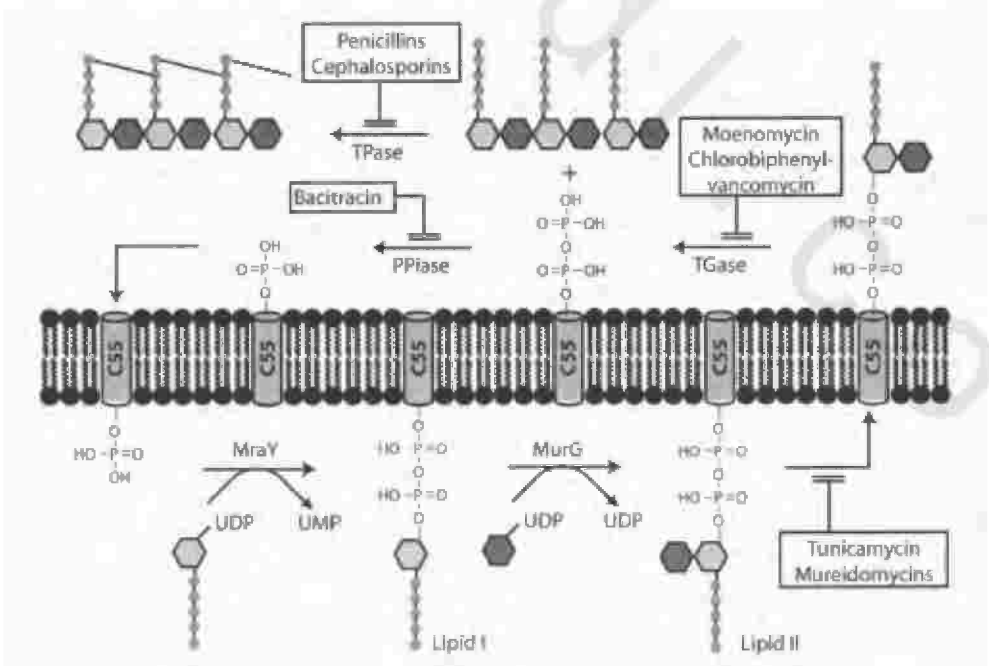
وعند هذه النقطة يضاف السكر الثاني كمادة مشتركة إلى C_4-OH من مجموعة ميوراميل من الشحم I بواسطة الإنزيم MurG عبر UDP-GlcNAc. والناتج هو شحم – خماسي الببْتيد ثنائي السكريل (lipid-disaccharyl pentpeptide) المعروف بالشحم II (الشكل ٣,٩ A). إن ناقلة الغليكوزيل (MurG glycosyltransferase) مرتبط مع الغشاء ولكنه ليس مدفون فيه بعمق، فقد تم تذويبه، تنقيته وبلورته (ها وآخرون Ha *et al.*, 2000). وبسبب صعوبة الحصول على كميات من مواد ومنتجات MurG، فإن التقدم الذي تم إحرازه مؤخراً في تكوين كميات معقولة من المواد ونظيراتها قد ساهم في عمل كل من الفحص والكشف عن مثبطات (ها وآخرون Ha *et al.*, 1999، ليو وآخرون Liu *et al.*, 2001، من وآخرون Men *et al.*, 1998) وكما ذُكر أدناه يُقترح إيجاد آلية لعمل مضاد الغليكوببتيد الدهني رامبولانين (rampolanin).



الشكل (٣,٩). (A) التكوين الإنزيمي لوسائط الدهن I, II في مرحلة الغشاء لتجميع الببتيدوغليكان. (B) مثبطات ببتيد – النيوكليوسيد لـ MraY.

النقل والتفاعلات خارج الخلية لاستكمال بناء وتجميع وحدة البيتيدوغليكان

تبعاً لتكوينه بواسطة MurG، ينتقل الدهن II من الوجه الداخلي للغشاء السيتوبلازمي إلى الجبّلة / الوجه الخارجي. ولا يتوفر إلى الآن دليل نهائي أو إيضاح عن وجود بروتين ناقل (translocase protein). وبمجرد أن تواجه الخارج وربما تربط على سطح الغشاء بواسطة ذيل الدهن C_{55}، تصبح وحدة خماسية البِبْتيد أحادية السكريل مادة لـ transglycosylases and transpeptidases والتي ترتبط كذلك بالغشاء (الشكل ٣,٣). يوجد العديد من transglycosylases (أربعة معروفة في مجين الإشريكية القولونية واثنان في مجينات المكورة العنقودية الذهبية والمكورة العقدية الرئوية) والعديد من transpeptidases. والبعض منها ذات وظيفة ثنائية مع حقول transglycoslyase and transpeptidase منفصلة (سبرات Spratt, 1994)، كما أن الأغشية لهذا الفرع تعتبر ذات أهمية لأهداف قتل لمضادّات البيتالاكتام الحيوية، كما سيلاحظ أدناه. إن أنشطة transglycosylase تفلق رابطة muramyl-C_1-O-PO_3 بواسطة مهاجمة 4'-OH للشطر النهائي لـ GlcNAc التابع لسلسلة جليكان الممدودة في طبقة PG على وحدة PG ليتم دمجها (الشكل ٣,٣)، لتطلق C_{55} بيروفوسفات الدهن ولإعادة تدوير حامل الدهن C_{55} إلى الوجه السيتوبلازمي للغشاء، يجب أن تحلل وصلة البيروفوسفات التابعة لدهن البيروفوسفات C_{55} إلى بداية دهن الفوسفات C_{55} بواسطة إنزيم الفوسفات (phosphatase) المرتبط بالغشاء. وبعد ذلك بالإمكان توفر دهن الفوسفات C_{55} لجولة أخرى من تكوين الدهنI، التحويل إلى الدهن II، وتغيير الموقع (الشكل ٣,١٠).



الشكل (٣,١٠). دورة حامل الدهن في تجميع البيتيدوغليكان TGase, transglycosylase; PPiase, pyrophosphatase.

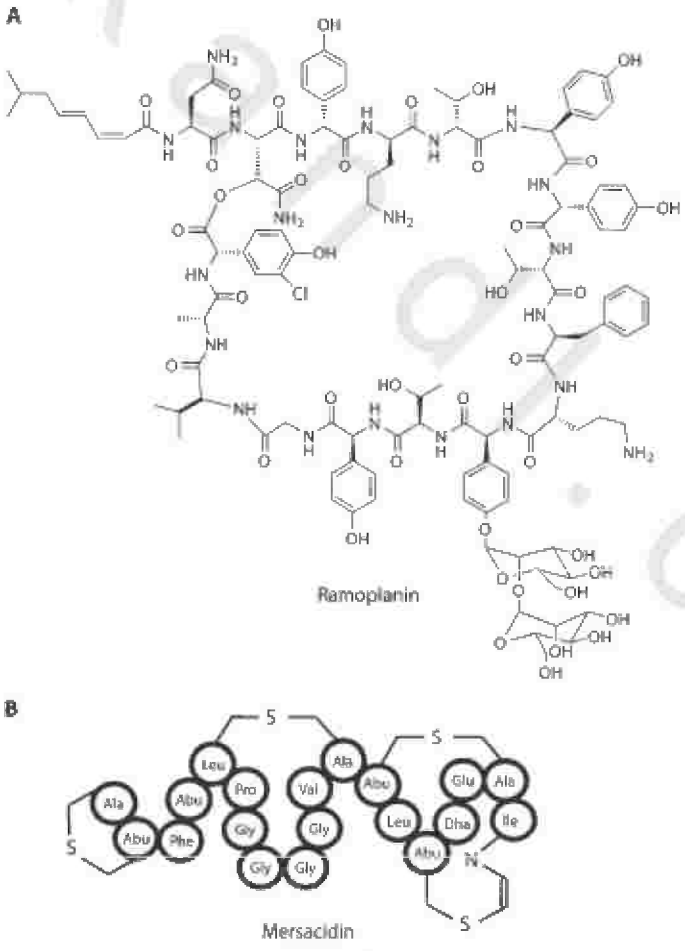
إن دورة ناقل الدهن حساسة عند عدة نقاط للتثبيط بواسطة المضادّات الحيوية. ولقد أظهر رامبولانين ليبوديبسيبتيد الدوري (cyclic lipodepsipeptide rampolanin) (الشكل ٣.١١ A) في الدراسات في المختبر (لو وآخرون Lo *et al.*, 2000) أنه يرتبط مع كل من الدهن I والدهن II. إن تنحية الببتيدات الخماسية – الدهنية – السكرية (lipo-sugar-pentapeptides) بعيداً عن transglycosylases قد يعرقل النضج الإنزيمي اللاحق لوحدات الببتيدوغليكان. إن التركيب الثلاثي الأبعاد للراسب الدوري غير الريبوسومي (cycli 17-residue nonribosomal depsipeptide) قد تم تحديده بواسطة تصوير الرنين المغناطيسي النووي (nuclear magnetic resonance imaging) (كورز وجوبا Kurz and Guba, 1996) ويشبه ذلك الخاص بـ اللانتيبوتيك ببتيد المرساسيدين (lantibiotic peptide mersacidin) (الشكل ٣.١١ ب) (ماك كافرتي وآخرون McCafferty *et al.*, 1999، بارش وآخرون Parsch *et al.*, 1997) والتي تكوّن كذلك معقد مع الشحم II في ١ : ١ حسب العناصر المتفاعلة (stoichiometry)، وبذلك تثبط تكوين الببتيدوغليكان (بروتز وآخرون Brotz *et al.*, 1998). إن التفاصيل الجزيئية لتكوين معقّد (mersacidin complexation) مع الشحم II والتي لا تُعرف إلى الآن، بينما تم إحراز تقدم مع رامبولانين (كوديك وأتفوس Cudic and Otvos, 2002، كوديك وآخرون ٢٠٠٢). إن المرساسيدين (mersacidin) ومضادّات الببتيد الحيوية ذات العلاقة، أكتيجاردن (actigardin) (زيمرمان وجونج Zimmermann and Jung, 1997) هي مصنعة بواسطة الريبوسومات كسلائف ببتيدات غير فعالة، والتي من ثم يتم وصلها بعد الترجمة بواسطة أربعة جسور من methyle lanthionine thioether وأخيراً يتحلل البروتين لتطلق إشارة ببتيد (انظر الفصل السادس). الببتيد الناتج مؤلف من كريّات (globular)، وعالي القيد كما يعتقد أنه يتفاعل مع شطري سكر – بيروفوسفات والدهن من الدهن II. وقد تم وصف (بروكنك وآخرون، Breukink *et al.*, 1999) مضاد لآنتيبوتيك نيسين – ز lantibiotic nisin Z بأنه يكوّن كذلك مركب معقد مع الدهن II، إضافة أنها مكونة للمسامات. يحد الحجم الكبير (1.8 - 4.6 kDa) لـ lantibiotics مرورها خلال الأغشية الخارجية للكائنات السالبة – لغرام، والتي هي في المقام الأول فعالة في قتل البكتيريا الموجبة – لغرام (ساهل وبيربوم Sahl and Bierbaum, 1998).

يعترض مضاد الببتيد المُعشّر (decapeptide) غير الريبوسومي "الباستراسين" (الشكل ٣.١٢) كذلك دورة حامل الدهن C_{55}، عند مرحلة فوسفيت الدهن C_{55} (بروتز وآخرون Brotz *et al.*,1998)، مع احتمال عمل مركب معقد معتمد على الأيمون الموجب الشحنة (cation-dependent complexation) بين حلقة ثيازولين عند بقايا ٢ من الباستراسين وجزء الفوسفات من C_{55}-O-PO_3.

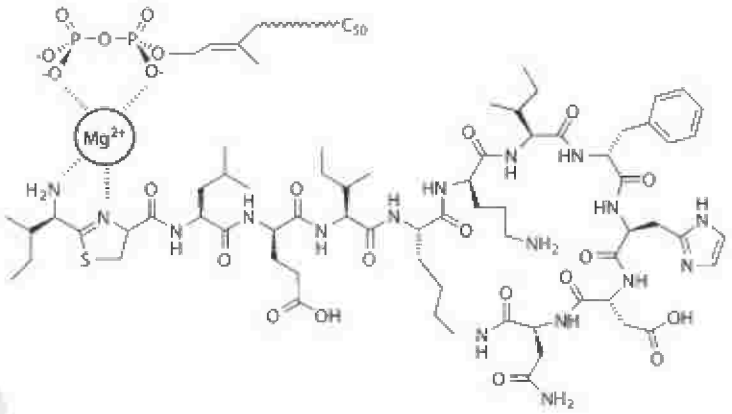
في الحالة الثابتة لا بد أن يكون هناك توازن بين حفّازات بلمرة البوليميرازات (polymerases) الببتيدوغليكان والإنزيمات الحالة للماء (هدرولاز) (hydrolases)، للسماح بالإدراج المنظم لوحدات جديدة من الببتيدوغليكان إلى الجدران الموجودة أثناء تكبير الببتيدوغليكان كلما نمت البكتيريا والشروع في تكوين الحاجز عند انقسام الخلية

(هولتجي Holtje, 1998). وكما سيلاحظ أدناه، فإن transpeptidases التابعة لجدار الخلية (حافز بلمرة البيتيدوغليكان) (PG polymerases) يتم تأسيلها تساهمياً (covalently acylated) بواسطة مضادّات البنسيلّين وقد تم تحديدها تاريخياً كبروتينات مرتبطة بالبنسيلّين (penicillin-binding proteins (PBP) . لقد تم وصف المركبات المعقدة بين البروتينات المرتبطة بالبنسيلّين PBP1B عالية الوزن الجزيئ، lytic transglycosylase، MltA والبروتين الصقالة، MipA من الإشريكية القولونية ويعتقد أنها أجزاء أكبر من ماكينة البروتين المرتبطة بنمو شبكة البيتيدوغليكان وتعرف كذلك بالكُيّيس (sacculus) (هولتجي Holtje, 1998).

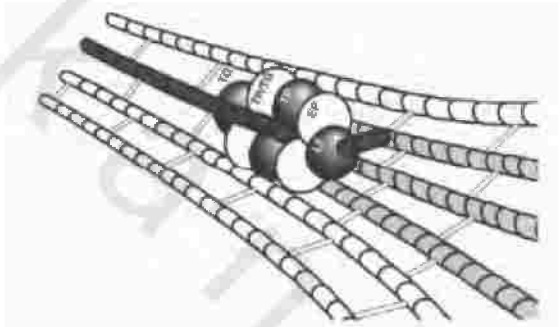
كما يُفترض بأن هذا المركب المعقد يحتوي على PBP2 وPBP3 اللازمين لعمل البِبْتيد ناقل الببتيداز والبِبْتيداز الداخلي (transpeptidase وendopeptidase) في نمو سلسلة البيتيدوغليكان مع ملحقات لكل من الغشاء الخارجي (MltA) والغشاء الداخلي (PBP1B) (الشكل ٣,١٣).



الشكل (٣,١١). تراكيب اثنان من المضادّات الحيوية التي تكوّن المعقّد المتري (stoichiol metric complexes) مع الدهن II: (A) رامبولانين، (B) ميرساسيدين.



الشكل (٣,١٢). باستراسين وغوذج لتكوين معقد فوسفات الدهن C_{55} لعرقلة دورة الشحم.

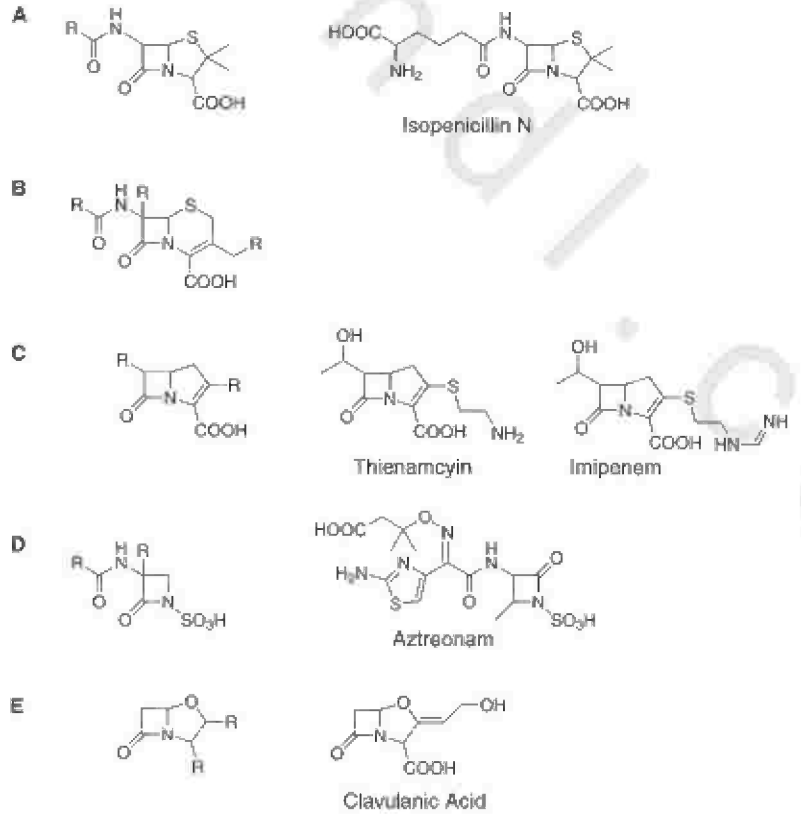


الشكل (٣,١٣). رسم لمعقد متعدد الإنزيمات المشتمل في السير على طول صفالة البيتيدوغليكان أثناء عملية التطويل (elongation). TG, transglycosylase ترانسغليكوزيلاز، ترانسبيتيداز transpeptidase، TP، ثاني الوظيفة ترانسبيتيداز / ترانسجليجوسيلاز TP/TG, bifunctional transpeptidase/ transglycosylase، البِيْتيداز الداخلي EP, endopeptidase، ترانسغليكوسيلاز الحال LT, lytic transglycosylase (مقتبسة بالإذن من هولتجي Holtje, 1998).

مضادّات بيتالاكتام الحيوية، بينيمات (penems)، سيفيمات (cephems)، كاربابينيمات (carbapenems)، ووفرة البروتينات المرتبطة بالبنسيلّين (PBPs)

من أكثر المضادّات الحيوية شهرة والتي تقتل البكتيريا بواسطة تعطيل عملية نقل البِيْتيد الأساسية والتي ينتج عنها ميكانيكياً بيتيدوغليكان قوي من خلال وصلات تساهمية من خيوط البِيْتيد هي مضادّات البيتالاكتام الحيوية (الشكل ٣,١٤). وتشمل هذه أنواع البنسيلّين، حيث الرؤوس الحربية الكيميائية، حلقة البيتالاكتام رباعية العضوية تلتصق بنظام حلقة الكبريت خماسية العضوية، ومضادّات الكيفالورسبورين، حيث يلتصق البيتالاكتام إلى نظام الحلقة المطّول (ring-expanded system) التي تحتوي على الكبريت. وتتحول مضادّات البنسيلّين إنزيمياً إلى مضادّات الكيفالوسبورين بواسطة نظام الحلقة المطوّل، كما سنلاحظ في الفصل الثالث عشر. وكلاهما نواتج استقلابات فطرية ثانوية، حيث تعتبرالمكنسية كريسوجينوم *(Penicillium chrysogenum)* كائن منتج مهم للبنسيلّين ذا نظام

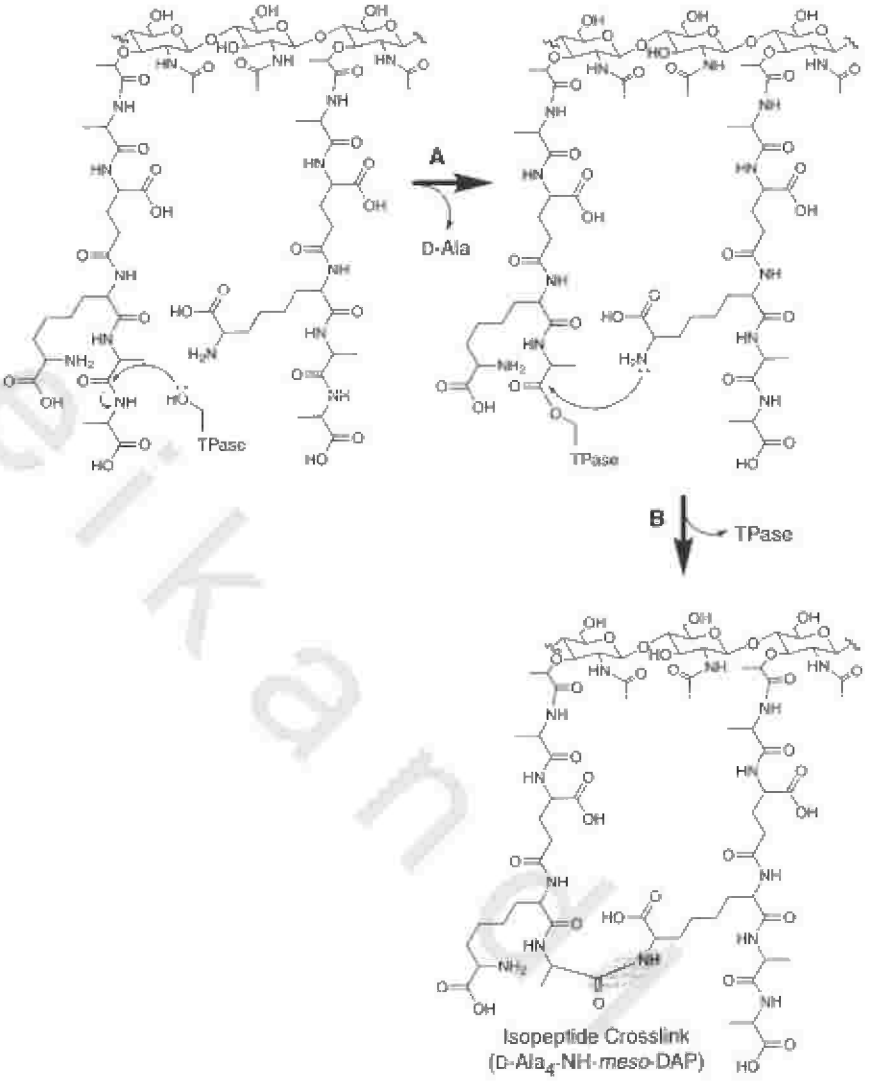
الحلقتين وكذلك أكريمونيوم كريسوجينوم *(Acremonium chrysogenum)* لنواة الكيفالوسبورين (أوسوليفان وبول O'Sullivan and Ball, 1983). يعتبر العقار المضاد للبكتيريا الإميبينيم (imipenem) بديل طفيف للناتج الطبيعي للكاربابينيم (Carbapenem) (المثبط للبيتيداز الثنائي الكلوي)، ثينامايسين (thienamycin) (الشكل ٣,١٤) ويعطى مع سيلاستاتين (cilastatin) (renal dipeptidase) ليُحسِن الزمن العمري للكاربابينيم داخل الجسم بواسطة تعطيل التحلل المائي للبيتالكتام. لقد تم عزل الثينامايسين (thienamycin) بداية من بكتيريا المتسلسلة كاتليا *(Streptomyces cattleya)* (كاهان وآخرون Kahan *et al.*, 1979)، وتم عزل السلسلة الجانبية لحامض الكحول الزيتوني (chain alcohol olivanic epimeric side acid) من المتسلسلة فلافوجريسيس *(S.flavogriseus)*. إن أبسط كاربابينيم هو منظومة الحلقة الثنائية غير المستبدلة (unsubstituted bis ring system) مع ٢,٣ الرابطة المزدوجة التي تُنتج بواسطة البكتيريا إروينيا *(Erwinia)* المُمْرِضة للنبات (انظر الفصل الحادي عشر) (بيكروفت وآخرون Bycroft *et al.*, 1988). يُعرف كذلك نوعان متغايران من المنتجات الطبيعية من البيتالاكتام: مونوباكتام (monobactams) ممثلة بواسطة النوكاردينز (nocardina) والأستيرونام المُصنع (synthetic aztreonam)، والكلافامات (clavams) ممثلاً بالكلافولانيت (clavulanate) والذي لا تعتبر بحد ذاتها مضادّات حيوية ولكن تعتمد على آلية المثبطات لإنزيمات للبيتالاكتاماز (تم شرحها في الفصل الثامن).



الشكل (٣,١٤). مضادّات البيتالاكتام الحيوية: (A) البنسيلّين، (B) الكيفالوسبورين، (C) كاربابينيم، (D) مونوباكتام، و(E) كلافانات.

ولفهم كيفية إبطال البنسيلّين للرابط – التبادلي للبيتيدوغليكان للترانسبيتيدازات (transpeptidases) ويتطلب تحليل موجز للآلية الحفَازة يتبعها مشابهات أشكال ترانسبيتيداز (transpeptidase isoforms). وكما يدل اسم عائلة الإنزيم فإن خطوات الربط – التبادلي هي نقل البيْتيد (transpeptidation) وبدون تكوين شبكة روابط البيْتيد. وتتكون رابطة مشابهة للبيْتيد (isopeptide bond) واحدة لايسين د–الآنين أو د ا ب–د الآنين Lys-D-Ala or DAP-D-Ala وتنفلق رابطة ببتيد واحدة د–الآنين د–الآنين D-Ala-D-Ala في كل دورة محفزة، وتطلق د–الآنين D-Ala حر (الشكل ٣.١٥) والذي يعاد تدويره إلى السيتوبلازم أو يتأكسد عند الغشاء السيتوبلازمي. لا يوجد متطلب لإدخال الطاقة وبحسب الحقيقة فإن هذه الإنزيمات تعمل خارج الخلية على الوجه السيتوبلازمي للغشاء حيث لا يوجد ATP وغيره من مصادر الطاقة بشكل روتيني. إن جميع ناقلات البيتيد (ترانسبيتيدادات) (transpeptidases) هي متغايرات للموقع النشط لإنزيم سيرين الحالّة للماء (serine hydrolases) حيث يكون الموقع النشط سيرين أليف النواة (nucleophile) وتعمل سلسلة جانبية أخرى كقاعدة عامة (بوش ومباشري Bush and Mobashery, 1998). يتضمن النصف الأول من التفاعل الهجوم على الموقع النشط سيرين على رابطة الأميد (amide bond) التي تربط د–الآنين٤ مع د–الآنين٥ $_{D}$-Ala$_4$ مع D-Ala$_5$.

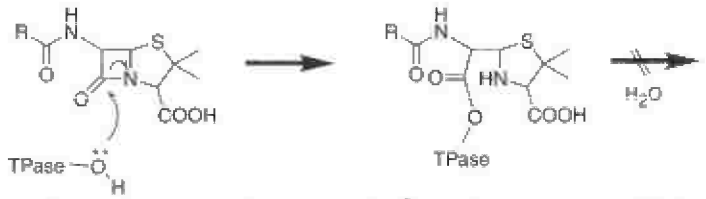
ينتكس الهيدرال الرباعي (tetrahedreal) المقرّب نحو إنزيم acyl-*O*-Ser مع إطلاق D-Ala$_5$ كحامض أميني حر. وللأسيل –او– ترانسبيتيداز (acyl-*O*-transpeptidase) الوسيط جزء جليكان بِبْتيديل رباعي (glycan-tetrapeptidyl moiety) يعمل كمجموعة أسيل تبثيرد (acyl tethered group) مؤقتة (الشكل A٣.١٥). وفي معظم أفراد عائلة إنزيم سيرين، يرتبط جزيء ماء بشكل منتج في الموقع النشط ويليه نقل الأسيل إعادة توليد شكل البداية للإنزيم لدورة محفزة أخرى. وهذا هو نهاية لأشكال البروتين المرتبط بالبنسيلّين PBP التي تعمل ككربوكسيل البيْتيداز (D-,D-carboxypeptidases). ولكن في البيتيداز هذا يتم استبعاد الماء ويكون المكون الحركي أليف النواة الوحيد هو مجموعة الأمين لـ C_6 of DAP أو Lys$_3$ من سلسلة البيتيدوغليكان المجاورة. ويكمل نقل الأسيل إلى أليف النواة هذا في النصف الثاني من التفاعل (الشكل B ٣.١٥) الدورة الحفَازة، وليعيد توليد الإنزيم الحر بمجرد إدخال رابطة البيبتيد المشابهة إلى الشبكة ليقوي الربط – التبادلي. ولقد تم إيضاح تراكيب الأشعة السينية للعديد من الحقول الحفَازة للترانسبيتيداز (نوكس وآخرون Knox *et al.*, 1995، نوكس وآخرون Knox *et al.*, 1996، بيرس وآخرون Pares *et al.*, 1996) ودعم هذا المنظر الميكانيكي. في بعض البكتيريا الموجبة لصبغة غرام مثل المكورة العنقودية الذهبية، لا يحدث الربط – التبادلي بين سلاسل البيْتيد مباشرة عن طريق ε-NH_2 التابعة للسلسلة الجانبية لـ Lys أو DAP ولكن تشمل جسور – ربط البيبتيد (peptide cross-bridges). يتم بناء جسر الجليسين الخماسي (pentaglycine bridge) (Gly$_5$) هذا على Lys قبل حدوث الربط التبادلي في المكورة العنقودية الذهبية. ومن ثم تتم عملية نقل البيتيد transpeptidation بين مجموعة NH_2 التابعة لـ Gly$_5$ وكربونيل D-Ala$_4$ carbonyl على سلسلة البيْتيد المجاورة.



الشكل (٣,١٥). آلية تفاعل نقل البِبْتيد للبيتيدوغليكان لبناء رابطة البِبْتيد المشابهة DAP-D-Ala isopeptide bond: إنزيم الأسيل الوسيط في – نقل البِبْتيد. (A) تكوين إنزيم أسيل، (B) إنزيم أسيل لنوع وأسر الأسيل (acyl enzyme deacylation and capture) بواسطة الأمين أليف النواة للسلسلة المجاورة.

يقتل الترانسبِبْتيداز نفسه عندما يبدأ الدورة الحفَازة مع مضادّات البيتالاكتام الحيوية كمواد حيث يتم الخلط بينها كسلسلة ببتيدوغليكان تنتهي في D-Ala-D-Ala ولم يتم الربط – التبادلي لها. يتم إضافة الموقع النشط – سيرين إلى كربونيل لكتام ذا الحلقات الأربع النقية (four-ring lactam carbonyl) (الشكل ٣,١٦) ويولد إنزيم أسيل الوسيط حيث تم فتح حلقة البيتالاكتام. والآن يحصل حجز للإنزيم في منتصف الدورة المحفزة. إن إنزيمات الترانسببتيداز (transpeptidases) صممت لاستبعاد الماء من وقف وسائط إنزيم الأسيل الطبيعية وبشكل مماثل، فإن التحلل المائي لأشكال إنزيم بنسيلويل (penicilloyl) يتم ببطء شديد (نصف الأعمار من عدة ساعات إلى أيام). ويصبح الإنزيم

ككومة من إنزيم بنسيلويل متكافئاً ويموت بشكل فعال إلى أن يسمح التحلل المائي البطيء لها باسترداد عافيته. وكما سنلاحظ في الفصل الثامن بأن أزمنة العمر الطويل لتراكيب وسائط إنزيم أسيل المتغيرة هي المسئولة عن قتل البكتيريا بواسطة البيتالاكتام.



الشكل (٣,١٦). رد فعل البنسيلّين كمادة إنحار لترانسبيتيداز البيتيدوغليكان.

بواسطة أنواع البنسيلّين والكيفالوسبورين المشعة أصبح من السهل عرض أسيل ترانسبتيداز (acyl ترانسبيْتيدازات طويلة العمر الموسّمة بشكل تكافئي بواسطة الرحلان الكهربائي لهلام سلفات الصوديوم دوديسيل (sodium dodecyl sulfate gel electrophoresis) الذي حللّ البروتينات المحرّفة (غير الطبيعية) بواسطة الحجم. عادة ما تظهر البكتيريا زُمر (رباط) متعدّدة للبروتينات الموسّمة (الشكل ٣,١٧) والتي يوجد منها أربعة في المكورة العقدية الرئوية *(S.pneumoniae)* وتصل إلى ثمانية في الإشريكية القولونية (دينوم وآخرون Denome *et al.*, 1999، سبرات Spratt, 1977). وقد أعطى هذا النهج الدليل التاريخي الأول لإنزيمات الترانسبتيدازالمتعدّدة وأسس المخزون المحفز الكامل لعوائل هذه الإنزيمات. وبعد ذلك كان من الممكن تحديد كل بروتين مرتبط بالبنسيلّين (PBP) موسم وأخيرا إثبات نشاطه الإنزيمي بعد إنزيمات البنسيلويل التي تحللت. تتجه البروتينات المرتبطة بالبنسيلّين ذات الوزن الجزيئي المنخفض إلى أن تصبح N-acyle-D-Ala$_4$-D-Ala$_5$ carboxypeptidases, hydrolases والتي تولد ينابيع من البيْتيد الرباعي (tetrapeptide stems) ذا الربط غير – التبادلي، في حين أن البروتينات ذات الوزن الجزيئي العالي المرتبطة بالبنسيلّين (PBP1A ,B and C) هي إنزيمات transglycosylases / ترانسبيْتيدازات ثنائية الوظيفة (هولتجي Holtje, 1998، شيفر وهولتجي Schiffer and Holtje, 1999). وبإمكان تحليل الطفرات الوراثية أن يحدد أي من البروتينات المرتبطة بالبنسيلّين التي تمثل الأهداف الرئيسة للمضادّات الحيوية الخاصة وتحدد أدوارها الفسيولوجية في نضج وتجمع البيتيدوغليكان (ومن الأمثلة الحديثة في المكورة العقدية الرئوية، انظر بيك وآخرون Paik *et al.*, 1999). تستطيع مختلف مضادّات بيتالاكتام المختلفة حث التغيرات الخاصة في النمط الظاهري، مثال ذلك السلاسل الطويلة والمظاهر المستديرة، التي تعكس العرقلة التفضيلية لمجموعة فرعية (subset) من البروتينات المرتبطة بالبنسيلّين (جرينوود Greenwood, 2000). أما عن الطفرات لمقاومة البنسيلّين فقد تكون كذلك مرتبطة بانخفاض المجاذبة (affinity) لبروتين مرتبط بالبنسيلّين محدد لمضاد بيتالاكتام خاص، وقد ساعد هذا إلى حد ما في تحديد الدور الفسيولوجي للبروتينات المرتبطة بالبنسيلّين.

الشكل (٣,١٧). البروتينات المرتبطة بالبنسيلّين المتعدّدة في الإشريكية القولونية: رسومات بالتصوير الذاتي الشعاعي (autoradiographs) لبروتينات ^{14}C-pencilloyl-proteins من الإشريكية القولونية فُصلت على هلام الرحلان الكهربائي. (بالإذن من دوتريتي وآخرون، ١٩٩٦).

في الإشريكية القولونية، عندما تُثبط كل من الأشكال المشابهة ثنائية الوظيفة للـ transpeptidases / transglycosylase PBP1A and 1B isoforms مثال ذلك، بواسطة الأسّلة (acylation) مع الكيفالوسبورين كيفالوريدين (cephaloridine) فإن ذلك يؤدي إلى تكوين الكورات (spheroplast) والتحلل السريع. ومن الواضح أنها أهداف رئيسة للقتل لمضادّات البيتالاكتام الحيوية. إن التثبيط الإنتقائي لـ PBP2 بواسطة الأسّلة بالتراكيز المنخفضة بالبنسيلّين ميسلينام (mecillinam) ينتج أشكال كروية، ثبات أوزموزي (نضح) نسبي، وتحلل بطيء. كما أن التراكيز المنخفضة لبنسيلّين G تأسّل PBP3 أولاً مولدةً سلاسل من البكتيريا في شكل خيوط. ومن غير الواضح ما إذا كان لـ PBP3 أهمية كبيرةً لمضادّات البيتالاكتام الحيوية. وعند مستويات عالية من بنسيلّين G، يحدث تأسّل وتحلل للأشكال المشابهة لـ PBP1. كما أعطى التقدير الكمي من البنسيلّين الموسَم المرتبط نحو ٢٥٠٠ جزيء من PBP لكل خلية من الإشريكية القولونية (دوترتي وآخرون Daugherty *et al.*, 1996)، مع نحو ٢٢٠ جزيء PBP1 و١٢٥ جزيء PBP1B كأهداف قتل رئيسة ونحو ١٥٠٠ (ثلثين من المجموع) PBP4-7 ذا الوزن الجزيئي المنخفض، والتي لا تعتبر أهداف للقتل (شولار وبرات Scholar and Pratt, 2000).

كيف تُترجم أسّلة وتثبيط البروتينات المرتبطة بالبنسيلّين بواسطة مضادّات البيتالاكتام الحيوية إلى تدهور لجدار الخلية وموت الخلية بواسطة النشاط غير الملائم أو الزائد للإنزيم المذوّب (hydrolase) قد تم تحت الدراسة لعقود (انظر بيليس Bayles, 2000). أحد الفرضيات الحالية هي أن الإنزيمات المذوّبة (hydrolases) عادة ما تكون مقيدة في وصولها إلى مواد الببتيدوغليكان وأن المضاد الحيوي يشجع التقسيم ناقص القسمة (oligomerization) لبعض البروتينات، مشكلاً قنوات في الغشاء السيتوبلازمي ليسمح بمرور الإنزيمات الحالة للببتيدوغليكان لتصل لموادها. في عداوى العاثية (bacteriophage λ) من الإشريكية القولونية توجد قناة البروتينات مثل الهولينات ومضادّات الهولينات (holins and antiholins) (يونج وآخرون Young *et al.*, 2000) التي تتحكم في وقت وصول الإنزيم المذوّب

للميورين – والمشفَّر بالعاثية (bacteriophage-encoded murein hydrolases) إلى الببتيدوغليكان. وقد يكون هذا بمثابة سابقة لعمل أنظمة الهولين – ومضاد الهولين ذا العلاقة (holin -antiholin systems) في الكائنات مثال المكورة العنقودية الذهبية (بيليس Bayles, 2000).

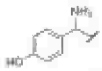
تعديلات السلسلة الجانبية (side chain modifications) في أنواع البنسلّين

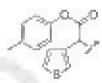
السلسلة الجانبية الطبيعية في الناتج الطبيعي الأولي لمضادّات البيتالاكتام الحيوية بعد دوران التكوين الحيوي (biosynthetic cyclization) (الفصل الثالث عشر) هي ل– أمينوأديبويل (L-aminoadipoyl) (الشكل ٣،١٣). ومن ثم هذه يتم تقسيم فوقي (epimerized) إلى الشكل– د (D-form) ويولد موسع –الحلقة ديوكسيجينيز (ring –expanding dioxygenase) مضادّات الكيفالوسبورين مع أوليفين (olefin) في الست حلقات ونفس السلسلة الجانبية D-adipoyl يليها hydroxylation وأستلة (acetylation) عند C_3 لتعطي كيفالوسبورين C (أوسوليفان وبول ,O'Sullivan and Ball 1983). كما حاول الكيميائيون الصيادلة توسعة نطاق النشاط المضاد للبكتيريا لأنواع البيتالاكتام الأصلية لاكتساب القوة ومكافحة تَطوُّر المقاومة (شُرحت في الفصل الثامن) فقد عملوا الكثير من متغيرات السلسلة الجانبية بواسطة التعديل الشبه –اصطناعي، مستعملين ٦– حامض الأمينوبنيسيلانك المنزوع الأسيل أو ٧– أمينوسيفيم -deacylated 6) (aminopenicillanic acid or 7- aminocephem لإعادة الأسلَة (reacylation) مع مجموعة منوعة من أنواع مختلفة من السلاسل الجانبية، والمسح للحصول على النشاط الأمثل المنشود.

وقد أدى ذلك إلى موجات متعددة من بيتالاكتاماز الشبه مصنّعة على مدى ٥٠ عاماً من الاستعمال السريري، لاحظ شولار وبرات (Scholar and Pratt,2000) خمس أصناف من البنسلّينات (الشكل A ٣،١٨) معتمداً على أنشطة المدى الضيق مقابل المدى الواسع وعن إمكانية وجود نشاط مضاد للزائفات، السلاسل الجانبية المصنعّة الأولى، فينيل أستيل في بنسيلّين G وفينوكسي أستيل في بنسيلّين V، أنتجت أدوية ضعيفة المدى، ونشطة على سبيل المثال، ضد المكورات العقدية والنيسرية، وكانت حساسة لبيتالاكتاماز. استبدال مجموعات أريّل غير المستبدلة بمستبدلات ٢،٦ داي مثيوكسي في المثيسيلين (methicillin)، وجزء نفثيل (napthyl) في نافسلين (nafcillin)، ومجموعة فينيل أوكسازوايل (phenyloxazolyl) في اوكساسيلين (oxacillin) أنشأ إختلالاً في المواقع النشطة للبيتالاكتاماز وترتب على ذلك مقاومة التحلل. وعلى سبيل المثال، مع البيتالاكتاماز من المكورة العنقودية الذهبية كانت قيم K_m لتحلل البنسيلّين G وبنسيلّين V في حدود ٢ – ٤ ميكروميتر، بينما رفعت مجموعات دايميثوكسي في المثسيلين قيمة K_m من $١٠^٤$ إلى ٢٨٠٠٠ ميكروميتر (نوفيك Novick, 1962) مما جعل المثسيلين نافعاً ضد العداوى المكوراتية. وقد نتج مدى نشاط أوسع عندما تم تحويل سلسلة فينيل أسيتيل (phenylacetyl) الجانبية إلى سلسلة جليسيل الفينيل (phenylglycyl chain) عن طريق إدخال مجموعة أمينو (amino group) (أمبيسلين ampicillin) أو عن بواسطة *p*-OH-phenylglycyl الخاصة بالأموكسيسلين (amoxicillin) مولدة أنواع بنسيلّين فموية وفعالة مع توافر حيوي (bioavailability) جيد.

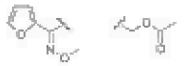
A

الفئة			الخاصية
		R	
١- ضيق المدى	بنسيلّين G		ضعيف الثبات للحامض
حساس للبنسليناز (Penicillinase sensitive)	بنسيلّين V		جيد الثبات للحامض
٢- ضيق المدى	ميثيسلين		مقاوم للبنسيلّينيز بسبب ضخامة السلسلة الجانبية
مقاوم للبنسيلّين	أوكساسيلين		
٣- أمينوبنسيلّينات واسعة المدى	أمبيسيلين		نشط فموياً، حساس للبنسيلّينيز، نشط ضد المستدمية النزلية والإشريكية القولونية
	أموكسيسيلين		
٤- مضاد للزائفة واسعة المدى	كاربنسيلّين		يعطى داخل الوريد، نشط ضد الزائفة الزنجارية
	تيكارسيلين		
٥- ممتد المدى	بيبراسيلين		نشط ضد الزائفة الزنجارية. زيادة النشاط زائد ضد الأمعائيات

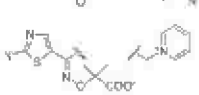


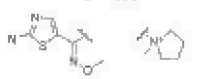


B



الفئة		R1	R2
١- الجيل الأول	كيفالوثين		
	كيفازولين		
٢- الجيل الثاني	كيفامندول		
	سيفيوروكسيم		
	سيفوكستين		
٣- الجيل الثالث	سيفوتاكسيم		
	سيفتريكسون		
	سيفتازديم		
٤- الجيل الرابع	كيفيبيم		





الشكل (٣,١٨). الأجيال المختلفة من (A) البنسيلّين و(B) الكيفالوسبورين. (مقتبسة بالإذن من شولار وبرات Scholar and Pratt, 2000).

إن أنواع أمينو بنسيلّينات (aminopenicillins) هذه نشطة ضد البكتيريا السالبة – لغرام مثل الإشريكية القولونية والمستدمية النزلية *(Haemophilus influenzae)*. وللحصول على نشاط مضاد للزائفة يتطلب زيادة الاختراق خلال المسامات التقيدية للأغشية الخارجية للزائفات، وأدى المزيد من التعديلات على السلسلة الجانبية إلى تطوير أدوية مثل تيكارسلين (ticarcillin) مشتق إستر الكربوكسيل (carboxyl ester derivative) من سلسلة ثيازوليل (thiazolyl) الجانبية والتي تعتبر نشطة من خلال الطريق داخل العضل وداخل الوريد للاستعمال في المستشفى. وأخيراً وفي حالات تجرثم الدم بالزائفة الزنجارية في العداوى المستشفوية (في – المستشفى)، تعتبر مشتقات يوريدو (ureido) من الأمبسيلين مع مجموعة بيبرازينو (piperazino group)، بيبراسيلين (piperacillin)، بنسيلّين ممتد – المدى (extended – spectrum) ويعطى عن الطريق الوريدي.

تعديلات السلسلة الجانبية في مضادّات الكيفالوسبورين: أجيال متعدّدة

تعتبر مضادّات الكيفالوسبورين من أكثر مضادّات البيتالاكتام التي توصف وأكبر الفئات مبيعاً. وقد أدت التعديلات في السلسلة الجانبية إلى الاختراق التفاضلي خلال المسامات (porins) في تراكيب غلاف الخلية إلى توفير خصائص مضادة للبكتيريا وحركات دوائية متنوعة (انظر شولار وبرات Scholar and Pratt, 2000). يدرج الشكل (B ٣.١٨) أمثلة من الجيل الأول إلى الرابع من مضادّات الكيفالوسبورين. ويشمل الأمثلة على المدى – الضيق (الجيل الأول) الأدوية الفموية والوردية، مع الكيفالوثين (cephalothin) كنموذج. وللأدوية ضيقة – المدى النشاط الأفضل ضد الممرضات الموجبة لغرام، ما عدا المكورة العنقودية الذهبية المقاومة للمثسيلين (MRSA)، وهي نشطة ضد بعض الكائنات السالبة – لغرام مثال الإشريكية القولونية وسلالات الكلبسيلة (Klebsiella starins). تعتبر مضادّات الكيفالوسبورين ممتدة – المدى (الجيل الثاني) ممثلةً بالأدوية الوريدية مثال سيفوكستين (cefoxitin) وكيفامندول (cefamandol) والأدوية الفموية مثال سيفاكلور (cefaclor) ولوراكارباسيف (loracarbacef)، إلى حد ما، أقل فعاليّة ضد الممرضات الموجبة لغرام ولكن لها مدى – أوسع ضد المُمْرضات السالبة – لغرام ويشمل ذلك العصوانية الهشة *(Bacteroides fragilis)* والمستدمية النزلية. كما أن زيادة النشاط ضد السالبة – لغرام قد نبع من مجموعة مؤتلفة لأفضل اختراق، زيادة المجاذبة للارتباط بأهداف PBP، وخفض النشاط الحفّاز نحو التحلل بواسطة إنزيمات بيتالاكتاماز. إن السلاسل الجانبية في كل من مضادّات الكيفالوسبورين ضيقة – وممتدة المدى قد بني على الخبرة مع مضادّات البنسيلّين وتشمل السلاسل الجانبية للثيازوليل (thiazolyl) وفينيل جليسيل (phenylglycyl). إن السلاسل الجانبية لمضادّات الكيفالوسبورين واسعة وممتدة – المدى (الجيل الثاني – والثالث) عادة ما قدم زوج من جذوع المقاومة لإنزيمات البيتالاكتاماز، إضافة على أنها متباينة في البديل ٣ (3 substituent) على الهيدروكسيل التابع للحلقة السادسة. وفي مضادّات الكيفالوسبورين ذات المدى – الأوسع كان النشاط ضد البكتيريا السالبة لغرام

الأمثل وامتد ليغطي الزائفة الزنجارية بينما احتفظ بنشاط كاف ضد البكتيريا الموجبة – لغرام (مثال المكورة العنقودية الذهبية الحساسة للمثسيلين)، ما عدا السيفتازيديم (ceftazidime) (شولار وبرات Scholar and Pratt, 2000) ذلك لأنها تعتبر مفيدة في التوقية الجراحية. أما جزيء الكيفالوسبورين من الجيل الرابع، سيفيبيم (cefepime)، تمت الموافقة على استعماله في الولايات المتحدة، وله خصائص أقرب إلى سيفيمات (cephems) واسع – المدى، ولكن يكتسب مقاومة متزايدة للعديد من البيتالاكتامات. السلاسل الجانبية المفضلة على البيتالاكتام في الجيل الثالث والرابع من مضادّات الكيفالوسبورين هي أمينوثيازول أوكسيمات (aminothiazole oximes)، والبعض منها له كاربوكسيلات مشحونة (charged carboxylates) (مثال، سيفتازيديم و سيفيكسيم) والتي تسمح بالاختراق الجيد خلال مسامات الأغشية الخارجية للبكتيريا السالبة – لغرام بينما تحافظ على المجاذبة العالية ضد أهداف البروتين المرتبط بالبنسيلّين PBP. وتختلف بدائل ٣ (substituents 3) على نطاق واسع، وبعضها يحتوي على أمينات (amines) موجبة الشحنة والتي تؤثر كذلك على النشاط الداخلي المضاد للبكتيريا والحركيات الدوائية والتوزيع. وعلى سبيل المثال، العديد منها يخترق السائل المخي الشوكي (cerebrospinal fluid) جيداً عندما تلتهب السحايا (شولار وبرات Scholar and Pratt, 2000) ولذلك فهي فعالة لمعالجة التهاب السحايا.

عموماً، فإن المعالجة الشبه إصطناعية للسلاسل الجانبية للكيفالوسبورين قد أظهر القدرة المثلى ضد المجموعات الفرعية من المُمْرضات، وتمثلّ الدورالمهيمن في العديد من العداوى حيث توصف مضادّات البيتالاكتام الحيوية. وللمضادّات الكيفالوسبورين جوانب ممتازة للسلامة، مما أدى إلى استخدامها على نطاق واسع في المستشفيات في كل من مجالات قبل الجراحة وبعد الجراحة. ومن جانب آخر، فإن نجاح مضادّات الكيفالوسبورين في نهاية المطاف قد تم انتقائه لأجل البكتيريا ذات محددات المقاومة (انظر الفصل السابع عشر).

كاربابينيمات ومونوباكتامات (carbapenems and monobactams)

هناك نوعان من الكاربابينيمات، إميبينيم وميروبينيم (imipeem and meropenem) تم اعتمادهما للاستخدام السريري في الولايات المتحدة، مع نوع ثالث، إرتابينيم (ertapenem) (MK-0826)، في التطوير السريري مع العزم على استخدامه كجرعة واحدة يومياً (انظر فوكس وآخرون Fuchs *et al.*, 2001). يعتبر الإميبينيم والميروبينيم ذوابان في الماء، ولهما إتاحة حيوية منخفضة كما أنهما يستخدما في المستشفى ضد الكائنات العدوائية المقاومة – للمضادّات الحيوية، حيث يُظهرا نشاطاً واسع – المدى (انظر الجدول ٤.٩ في شولار وبرات Scholar and Pratt, 2000). كما أنهما يميلا لأن يكونا مقاومين لمعظم بيتالاكتامازات القائمة على سيرين (serine-based-β-lactamases) ولكنهما حساسين للتحلل بواسطة البيتالاكتامازات المعدنية (الفلزّية) (metallo-β-lactamases)، كما تم شرحه في الفصل الثامن. وعلى الرغم من أن إميبينيم مقاوم للتحلل المائي بالإنزيم البكتيري المتوسط بحلقة البيتالاكتام، إلا أنه في الفقاريات، يحلل

إنزيم الببتيداز منزوع الهيدريد ١ (dehydropeptidase I) اللاكتام في الخلايا الظهارة الكلوية (renal epithelial cells). سيلاستاتين (cilastatin) هو ببتيد منزوع الهيدريد (dehydropeptide) مشابه ذلك الذي يثبط الإنزيم الكلوي المذوّب (renal hydrolase) وبذلك يُعطى مع الكاربابينيم. الميروبينيم مع بديل سي- ميثيل (C-methyl substituent) ليس حساساً للإنزيم الكلوي. ولإرتابينيم عمر – نصفي مطول مقارنة بأنواع الكاربابينيم السابقة، ربما بسبب الارتباط ببروتين المصل، كما اقترح استخدامها كجرعة – واحدة يومياً. ولكل من مضادّات الكاربابينيم نشاط مفيد ضد الزائفة (ليفرمور Livermore، وودفورد Woodford, 2000).

أحد مضادّات موتوبكتام، أزتريونام (aztreonam) (الشكل ٣,١٤)، وهو في الاستخدام السريري للإنسان. كما أن السلسلة الجانبية أسيل (acyl side chain) هي نفسها في سيفتازيديم، في حين أن الآكتام له بديل N – سلفونيت (N-sulfonate substituent) على الجانب الآخر. إن مدى النشاط المضاد للبكتيريا (شولار وبرات Scholar, and Pratt, 2000) هو أنه مفيد فقط ضد الممرضات السالبة – لغرام، مع نشاط جيد ضد الزائفة الزنجارية. ويبدو أن هدفه PBP3 عند تراكيز منخفضة كما أن له حساسية منخفضة لإنزيمات لكتاميز من مسببات الأمراض السالبة – لغرام.

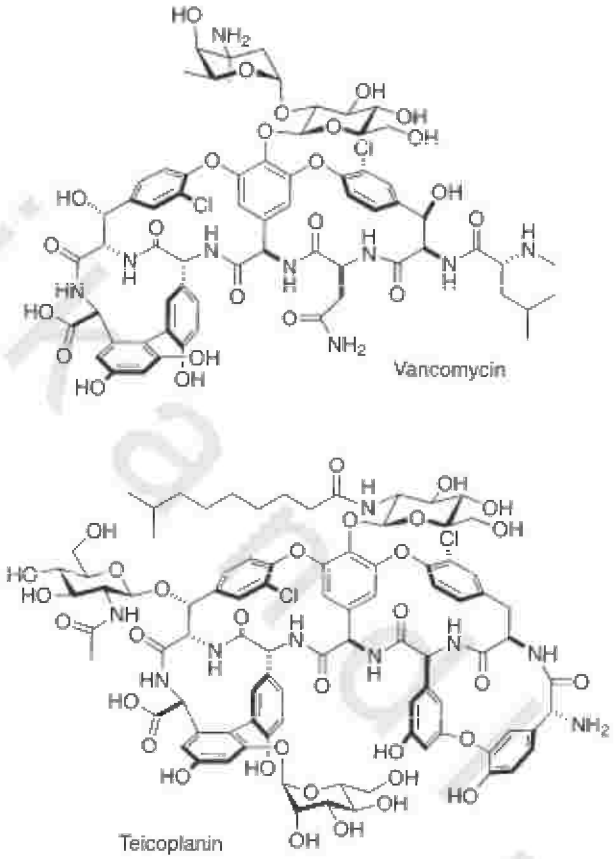
توجد سقالة (هيكل) كلافام (clavam scaffold) في كلافولينيت (clavulanate) (الشكل ٣,١٣) (انظر كذلك الفصل الثالث عشر). ويعتبر كلافولينيت بحد ذاته مادة ضعيفة للبروتين المرتبط بالبنسيلّين (PBP) ولذلك لا يعتبر مضاداً حيوياً. وفائدته مستمدة من خواصه (كمادة انتحارية) (suicide substrate) مع إنزيمات البيتالاكتاماز، المزيد من الشرح في الفصل الثامن.

تعمل مضادّات الغليكوببتيد (glycopeptide) الحيوية بواسطة تكوين مركب معقد مع خيوط البِبْتيد غير– الترابطية (un-cross-linked peptide) ويعرقل نقل البِبْتيد

هناك نوعان من مضادّات الغليكوببتيد الحيوية في عائلة الفانكوميسين (vancomycin) تم التصديق عليها في الاستخدام السريري للإنسان، الفانكوميسين بحد ذاته (الشكل ٣,١٩) والتيكوبلانين (teicoplanin)، خارج الولايات المتحدة.

يختلف التيكوبلانين عن الفانكوميسين في ثلاث طرق: (أ) رقم الإرتباط بالغليكوزيل (glycosylation) والوضع (placement) متميزين، (ب) للتيكوبلانين سلسلة – طويلة للحامض الدهني البديل في رابطة الأميد (amide linkage) نحو سكر GlcNAc sugar المتصل بـ pheGly4 و(ج) يختلف هيكل البِبْتيد السباعي ذا الربط– التبادلي (cross –linked heptpeptide scaffold) عند رواسب ١ و٣ ليسمح لأربعة سلاسل جانبية للربط – التبادلي (١–٣,٢–٤، ٤–٦,٥–٧) مقارنة بالثلاثة في الفانكوميسين (انظر هوبارد وولش Hubbard and Walsh, 2002، ويليامز وباردسلي Williams and Bardsley, 1999، والمراجع فيها). وكما لوحظ في الفصل الثاني، فليس بإمكان الفانكوميسين

والتيكوبلانين اختراق المسامات في الغشاء الخارجي للبكتيريا السالبة لغرام وعليه فهما يقتصران على معالجة العداوى المهددة للحياة التي تسببها الممرضات الموجبة – لغرام مثل العداوى بالمكوراتية العنقودية، المكوراتية العقدية والمكوراتية المعوية.

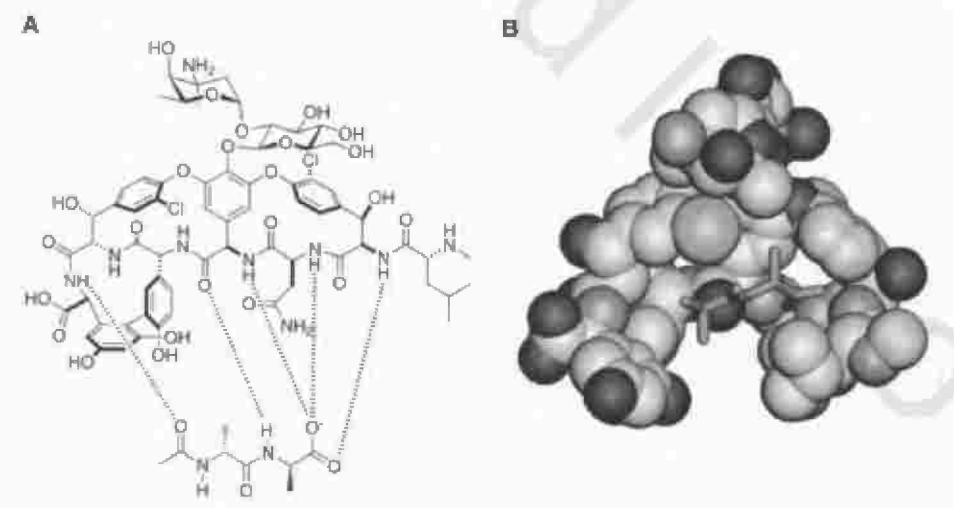


الشكل (٣,١٩). تراكيب مضادّات الغليكوبيتيد الحيوية، فانكوميسين وتيكوبلانين.

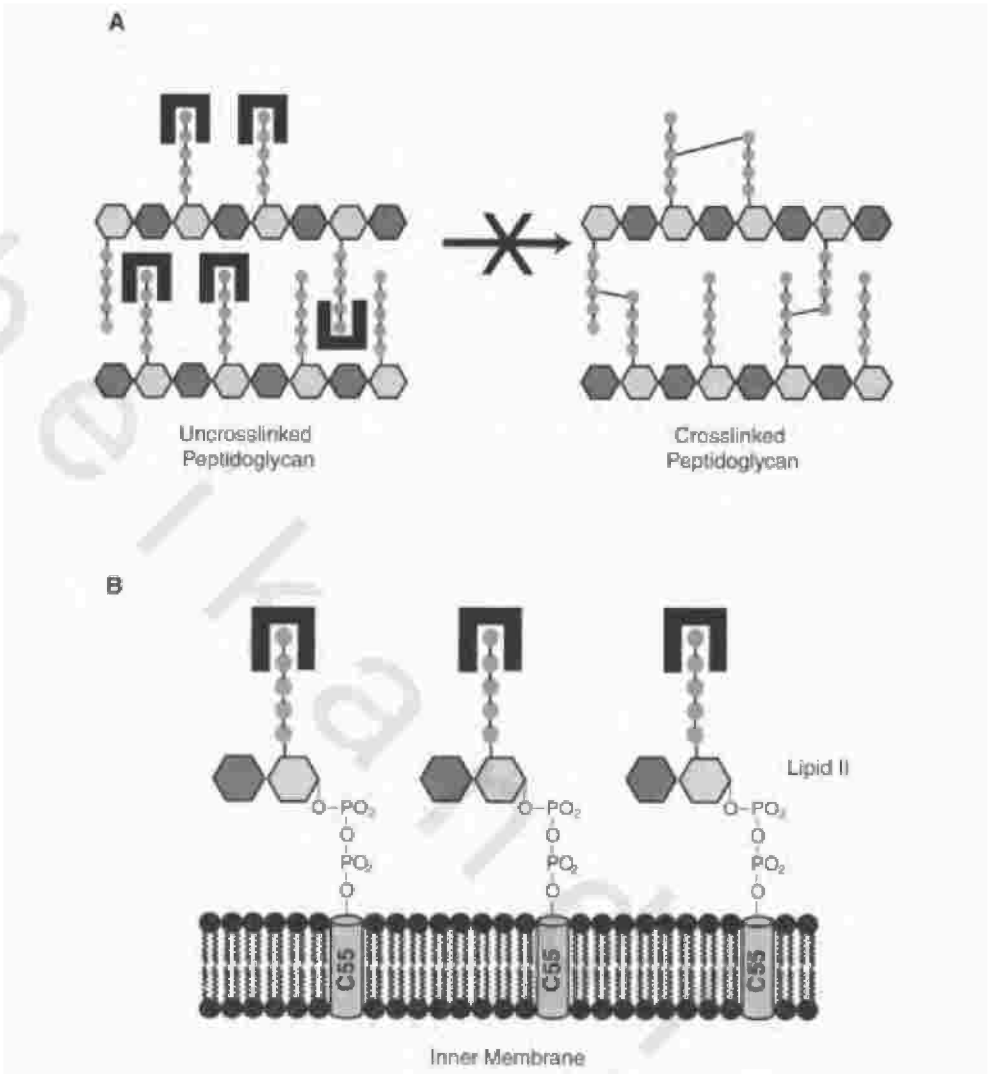
يعمل كل من هذين المضادين بدون تثبيط الـ ransglycosylases أو ترانسبيتيداز transpeptidases بذاته، بل بواسطة تكوين معقد من وحدات مواد الببتيدوغليكان التي لها أذيال بِنْتيديل خماسية (pentpeptidyle tails) تنتهي في D-Ala-D-Ala. إن فصل المادة هذا يغلق بشكل فعال الـ نقل البِنْتيد وذلك بجعل N-acyl-D- Ala-D- Ala المستقبلة غير متواجدة لإنزيمات transpeptidases (الشكل ٣,٢٠). وفي هذا الاتجاه فإن فصل المادة هو مناظر للفصل المقترح للدهن II بواسطة رامبولانين (كذلك مضادّات غليكوببتيد الدهنية الحيوية (lipoglycopeptide antibiotics) (لو وآخرون Lo *et al.*, 2000). وقد تم وصف المعقد أولاً بواسطة NMR ومن ثمَ بواسطة الأشعة السينية (انظر ويليامز وباردسلي Williams and Bardsley, 1999) ليشمل التعريف الجزيئي لنهايات N-acyl-D- Ala-D- Ala من خيط

البِنْتيديل الخامس للببتيدوغليكان (PG-pentapeptidyl strand) التي لم يتم ربطها – تبادلياً بواسطة الجانب السفلي الصلب للفانكوميسين، على شكل – كأس وذلك عن طريق سلسلة من خمس روابط هيدروجين (انظر والش وآخرون Walsh *et al.*, 1996b، ويليامز وبرادسلي Williams and Bardsley, 1999).

يُظهر نموذج ملء الفراغ الإغلاق المحكم الأمثل لملاءمة المضاد الحيوي لهدفه. ويوجد نوعان من وحدات الببتيدوغليكان، جزيئات الدهن II عند الوجه الجيلي للغشاء، وكذلك الخيوط التي لم يتم ربطها – تبادلياً في الببتيدوغليكان المبلمر (polymerized PG) (الشكل ٣,٢١). وكذلك بإمكان الحصار (الإعاقة) التجسمي (steric blockade) لـ نقل البِنْتيد أن يكون له تأثيرات على إنزيمات ناقلة الغليكوزيل (transglycosylases) وخاصة في البروتينات المرتبطة بالبنسيلّين، ثنائية الوظيفة، وذات الوزن الجزيئي العالي. لمختلف أعضاء عائلة مضاد غليكوببتيد فانكوميسين نزعات متفاوتة للتقسيم الثنائي (dimerize)، وهذا قد يتيح تعزيز الطمع (avidity) نحو عمل مركب معقد (complexation) مع نهايات الببتيدوغليكان (ويليامز Williams, 1996). وسوف نعود لهذه الآليات في الفصل العاشر مع شرح للآليات الجزيئية لمقاومة مضادّات الغليكوببتيد الحيوية في نوع واحد من مسببات الأمراض الإنتهازية في الإنسان، المكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين ((vancomycin-resistant enterococci (VRE)). وبالنظر إلى أن الفانكوميسين والبنسيلّين يعملان على جانبين مختلفين من الربط – التبادلي للببتيدوغليكان، فيمكن للمرء أن يتوقع، ويعمل، ويلاحظ التآزر للآثار المضادة للبكتيريا بالجمع بينهما.



الشكل (٣,٢٠). فصل نهايات PG-D-Ala-D-Ala بواسطة فانكوميسين. (A) خمس روابط (وصلات) بين المضاد الحيوي ونهاية الببتيدوغليكان، (B) نموذج– ملء الفضاء للمضاد الحيوي ونهاية الببتيدوغليكان.

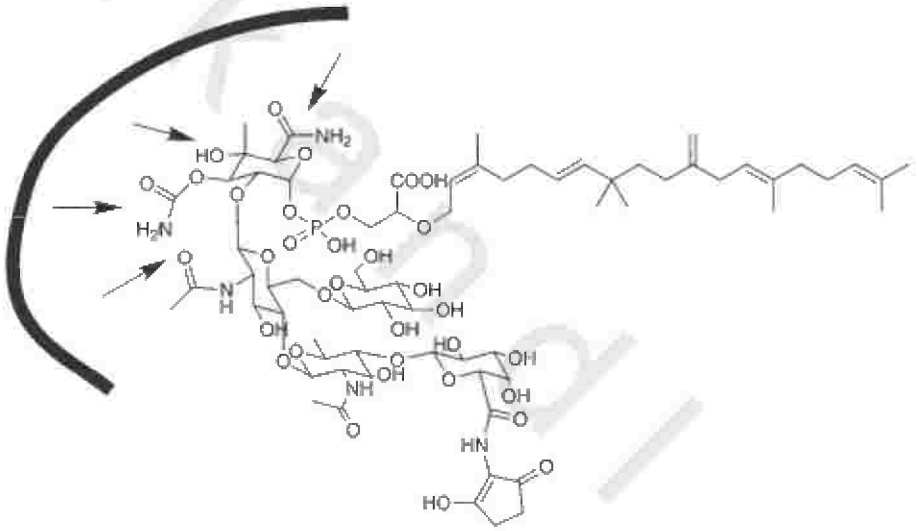


الشكل (٣,٢١). نهايات الببتيدوغليكان تتفاعل مع فانكوميسين وتيكوبلانين: (A) خيوط غير ذات ربط – تبادلي على الببتيدوغليكان السابقة الوجود، (B) مادة الدهن II قبل البلمرة إلى بِبْتيدوغليكان.

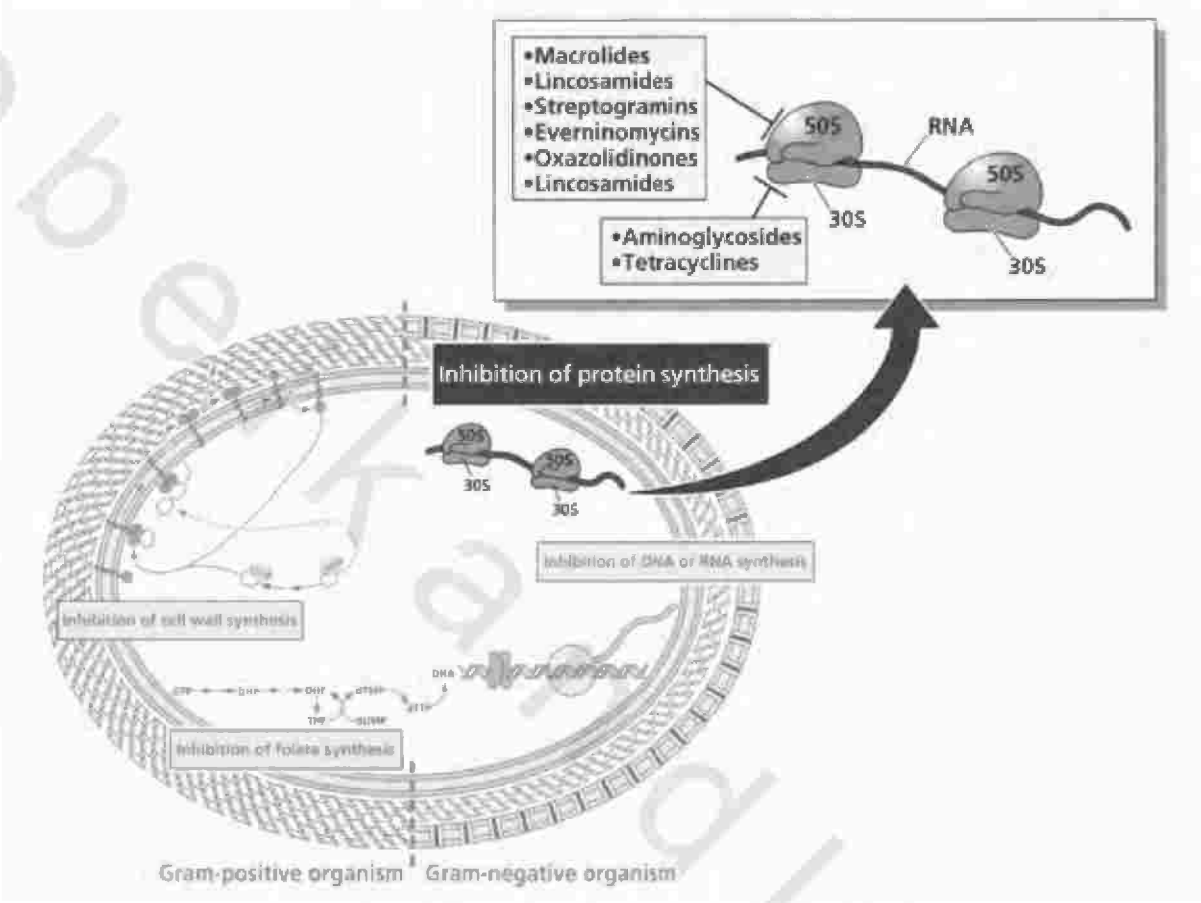
موإينوميسين (moenomycin) كمثبط لنشاط transglycosylase الخاص بالبروتين المرتبط بالبنسيلّين PBP1B

خلافاً للعديد من مضادّات البيتالاكتام الحيوية التي تثبط نشاط إنزيم البِبْتيداز للإنزيمات ثنائية الوظيفة transpeptidase / transglycocylase لأنشطة البروتينات المرتبطة بالبنسيلّين ذات الوزن الجزيئي العالي، يوجد القليل جداً من منتجات المضادّات الحيوية الطبيعية التي تستهدف الموقع النشط لناقة الغليكوزيل transglycosylase. وموإينوميسين هو أحد هذه المركبات (الشكل ٣,٢٢)، الذي يستعمل كحفّاز للنمو في علف الحيوانات (ريتر وونج Ritter and Wong, 2001).

للموإينوميسين ٢٥-كربون دهن كحول، موإيسينول (25-carbon lipid alcohol, moecinol)، مرتبط عبر فوسفوجليسريت (phosphoglycerate) إلى ذيل السكريد الخماسي في رابطة فوسفيت ثنائي الإستر (phosphodiester linkage). وقد قدم تحليل NMR نموذج للتركيب ثلاثي الأبعاد مع مقترح بأن حلقات F و E لشطر الكربوهيدرات تتفاعل كمادة تناظرية، مع هدف إنزيم ناقلة الغليكوزيل (transglycosylase) لإغلاق إضافة وحدات خماسي الببْتيد ثنائي السكريل (disaccharyl pentpeptide) في طبقة نمو الببتيدوغليكان. ومن المحتمل أن يكون ذيل موإمينوميسين هو الغشاء المثبت الذي يعمل على تركيز المضاد الحيوي مسبقا عند الجانب الخارجي للغشاء السيتوبلازمي حيث توجد جزيئات إنزيم PBP1. تم صنع مكتبات من العنصر الأساسي ثنائي السكريدات، ولكن دون الاحتفاظ بنشاط مفيد حتى الآن (انظر ريتر وونج Ritter, and Wong, 2001).



الشكل (٣,٢٢). نموذج لتفاعل موإينوميسين (moenomycin) مع أهداف إنزيمات transglycosylases (بالإذن من كورز وآخرون Kurz *et al.*, 1998).



المضادّات الحيوية التي تعرقل البناء الحيوي البكتيري للبروتين