

المضادات الحيوية التي تعرقل تكرار وترميم الحمض

النويي دنا: الكوينولونات

ANTIBIOTICS THAT BLOCK DNA REPLICATION AND REPAIR: THE QUINOLONES

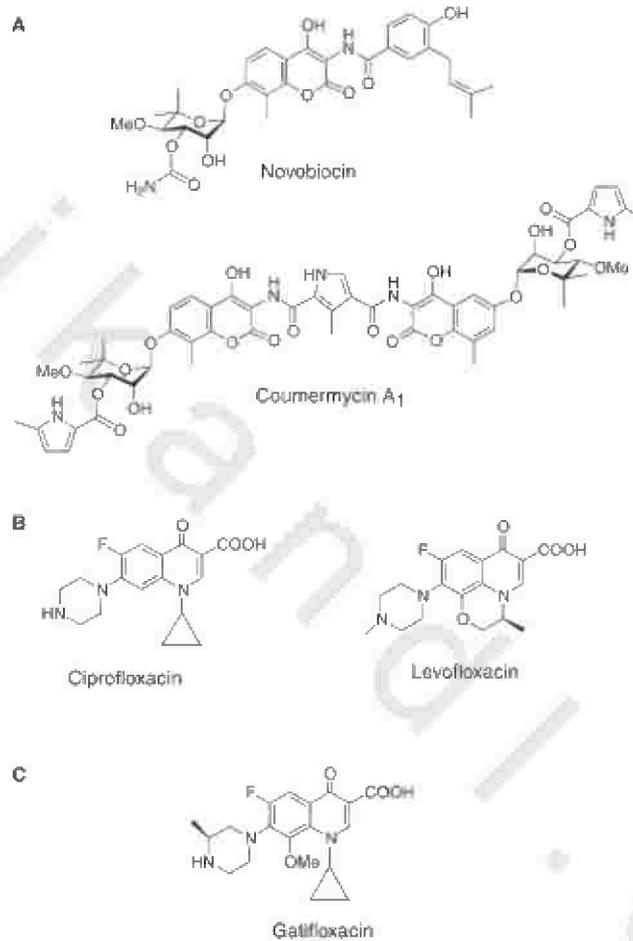
المجموعة الوظيفية الثالثة الكبرى للمضادات الحيوية هي تلك التي تعرقل تكرار (replication) وترميم (repair) الحمض النووي دنا DNA. يسلط الشكل على الصفحة المقابلة الضوء على القسم الفرعي الموافق للشكل (٢.٢) وعلى تثبيط تكوين دنا DNA و RNA بواسطة الأدوية المضادة البكتيرية من صنف الكوينولون (quinolone) وريفاميسين (rifamycin). كما أن صنف الريفاميسين من مضادات عديد الببتيد / وعديد الكيتيد (polyketide) الحيوية تم تناولها في الفصل القادم.

إنزيم دنا غيراز (DNA gyrase) كهدف للكوينولونات (quinolones)

والكومارينات (coumarins)

إن تثبيط تكرار دنا (DNA) وإنزيمات الترميم يهدف منطقي لعمل المضاد البكتيري بواسطة منتجات طبيعية تصنع بواسطة ميكروبات لتقتل جيرانها. وأحد هذه أصناف هذه الجزئيات، هو الكومارينات، مُمثلةً بواسطة مستقلبات (أيضات) المتسلسلة (streptomycete) مثل نوفوبوسين (novobiocin) و كوميرميسين (coumermycin) (الشكل ٨٥.١)، والتي قد تمت دراستها لعدة سنوات وخدمت لتحديد الإنزيمات المسماة دنا النوع II توبوايزوميرازات أو إنزيمات توبوايزوميرازات (موضع التزامر) (DNA type II topoisomerases) وبالأخص دنا غيراز (الجدول ٥.١) كهدف قاتل (ماكسويل 1997 Maxwell). ولكن الصنف من الجزئيات المصنعة، وهي فلوروكوينولونات (fluoroquinolones) مُمثلةً بليفوفلووكساسين وسبروفلووكساسين (levofloxacin and ciprofloxacin) (الشكل ٥.١ B)، والتي قد أصبحت تستعمل بشكل واسع؛ بسبب فعاليتها ضد كل من البكتيريا السالبة والموجبة - لغرام في عداوى الجهاز البولي، التهاب العظام، الالتهاب الرئوي المكتسب من المجتمع والتهاب المعدة والأمعاء (جرينوود 2000 Greenwood، شولار وبرات 2000 Scholar and Pratt). وعلى العموم فإن الجيل الأحدث من

الكوينولونات، مثال جاتيفلوكساسين (gatifloxacin) (الشكل ٥.١ C)، لها فعالية متزايدة ضد الممرضات الموجبة - لغرام (برونسون وباريت 2001a). ولقد اكتسب السبروفلوكساسين شهرة حديثة أكثر كدواء مصادق عليه من قبل هيئة الغذاء والدواء لقتل العصية الجحمرية (*Bacillus anthracis*) في عداوى الجحمة.



الشكل (٥، ١). المضادات الحيوية التي تبط دنا غيراز وتوبوأيزوميراز IV: (A) مضادات أمينوكومارين الحيوية (aminocoumarin antibiotics)، (B) الكوينولونات (سبروفلوكساسين وليفوفلوكساسين)، و (C) الكوينولونات الجديدة (جاتيفلوكساسين).

تغير إنزيمات دنا توبوأيزوميراز العدد الارتباطي في دنا زائد اللفة (supercoiled) بواسطة عمل قطع مؤقت في ركيزة دنا ومن ثم تمرير ليرتاح وضعياً (بوضع جنيني) من خلال كسر مؤقت، إما خيط واحد في المرة (النوع I) وإما كلا الخيطين في الوقت نفسه (النوع II) (الجدول ٥.١). (للمراجعة انظر ماكسويل 1997، Maxwell، ووانج 1996، Wang). وتعتبر إنزيمات توبوأيزوميرازات أساسية لحياة الخلية في كل من خلايا بدائيات النواة وخلايا سويات النواة، وتعتبر مشطبات الكوينولون من نوع II أيزوميرازات في الخلايا البكتيرية، مضادات بكتيرية قوية ذات انتقائية كافية لتكون

نافعة، بينما مثبطات أيزوميرازات في الإنسان تشمل كامبتوتيسين (camptothecin) وإيتوبوسيد (etoposide)، اللذين يستعملان في المعالجة الكيميائية للسرطان لتقتل خلايا الورم سريعة النمو.

يعتقد أن يكون الإنزيم اللفائفي دنا غيراز مهماً للتحكم في وضعية دنا (topology) في تكرار دنا، التأسيس (recombination)، والانتساخ (transcription)، بينما توبوأيزوميراز (توبو) (topo) IV هو كذلك مشتمل في تكرار دنا ونزع التسلسل (decatenation) من إينة الكروموسومات المرتبطة عند نهاية تكرار دنا البكتيري (بان وفيشر 1997، Pan and Fisher).

الجدول (٥، ١). خواص توبوأيزوميرازات للإشريكية القولونية.

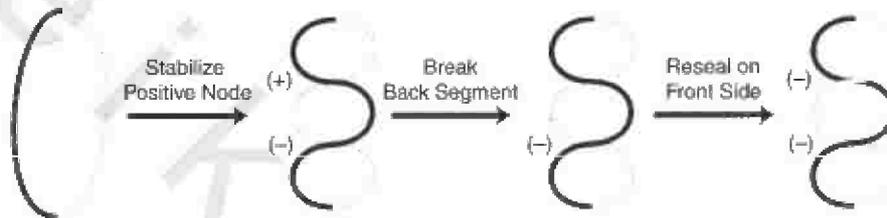
الإنزيم	التوع	جين (جينات)	الوظيفة الأساسية للإنزيم
توبوأيزوميراز I	I	توب أ (<i>top A</i>)	يريح اللغات الزائدة السالبة
توبوأيزوميراز II (دنا غيراز)	II	غير أ (<i>gyrA</i>) غير ب (<i>gyr B</i>)	يدخل لفات زائدة سالبة، ويريح اللغات الزائدة الموجبة
توبوأيزوميراز III	I	توب ب (<i>top B</i>)	ينزع تسلسل وسائط التكرار ومركبات دنا مزدوجة الصيغة الجزئية (dimers) بين الروابط
توبوأيزوميراز IV	II	بار س (<i>parC</i>) بار إي (<i>parE</i>)	ينزع تسلسل دنا، يزيل اللغات الزائدة الموجبة والسالبة

وقد وُجد أن لبعض الكوينولونات انتقائية لتوبو II (دنا غيراز) أكثر من توبو IV في حين أن الكوينولونات الأخرى تظهر عكس السلوك. ومن ناحية أخرى تم اقتراح أن يكون توبو IV الهدف الأولي في سلالات المكورة الذهبية العنقودية، بينما في سلالات المكورة العقديّة الرئوية، يختلف الهدف الأولي بين توبو II وتوبو IV (نج وآخرون 1996، Ng et al.). وقد قيم تاكي وآخرون (Takei et al., 2001) حديثاً ١٥ من الكوينولونات ضد المكورة العنقودية الذهبية MS5935 وقسم الدواء إلى ثلاثة أصناف. أحد المجموعات (نورفلوكساسين (norfloxacin)، سيروفلوكساسين (ciprofloxacin)، ليفوفلوكساسين (levofloxacin) وغيرها) يبدو أنها تهدف توبو IV تفضيلاً بينما صنف آخر (سبارفلوكساسين (sparfloxacin)، ناديفلوكساسين (nadifloxacin) كان أكثر انتقائية لـ دنا غيراز (توبو II). والمجموعة الثالثة من الكوينولونات (جاتيفلوكساسين (gatifloxacin)، موكسيفلوكساسين (moxifloxacin)، وغيرهم) تهدف توبو II وتوبو IV بالتساوي في السلالات الأبوية والطفرة للمكورة العنقودية الذهبية.

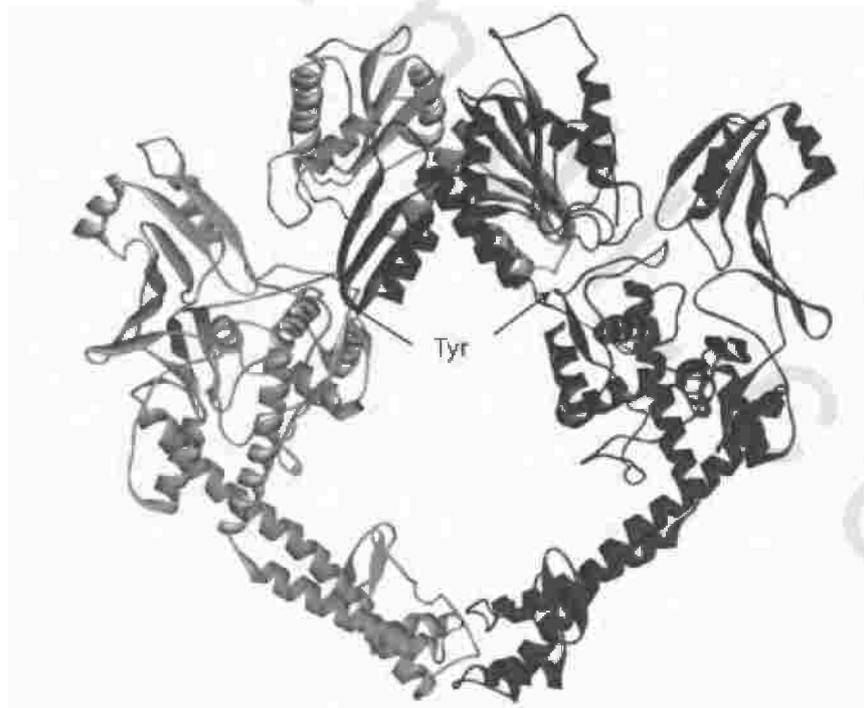
الدورة الحفازة للإنزيم اللفائفي دنا غيراز

إن إنزيم دنا غيراز الذي يوجد في جميع الخلايا البكتيرية هو إنزيم A_2B_2 رباعي الأقسام متغاير (heterotetrameric)، ومشفر (مُرْمَز) بواسطة الوحدات الفرعية جيراً وجير ب (*gyrA* and *gyrB*)، وتوبو IV أيزوميراز

(topo IV isomerase) المشابه المرمز بواسطة جينات بار س وبار إي (*par C and par E*) تتبع نفس الآلية. يُدخل دنا غيراز لفات زائدة سالبة في ركيزة دنا الحلقي ذا الخيط - المزدوج. لاحظ كوزاريللي (Cozzarelli, 1980) المتطلبات الأزمة لهذا الغرس الموضوعي أولاً كالتواء لـ دنا لإنتاج قالب ذي عقدة موجبة (الشكل ٥,٢)، وانفلاق الخيط - المزدوج للقطعة الخلفية، مرور الخيط - المزدوج خلال الكسر، ثم إعادة التحام للخيط - المزدوج على الجانب الأمامي. ويعتبر النوع II من الدورة المحفزة ملاحظاً، وأن التركيب الهندسي للتوبوأيزوميرازات معقد بشكل لائق، كما يظهر بواسطة تركيب أشعة - إكس لجزء كبير من خميرة توبو II (بيرجر وآخرون Berger *et al.*, 1996) (الشكل ٥,٣).



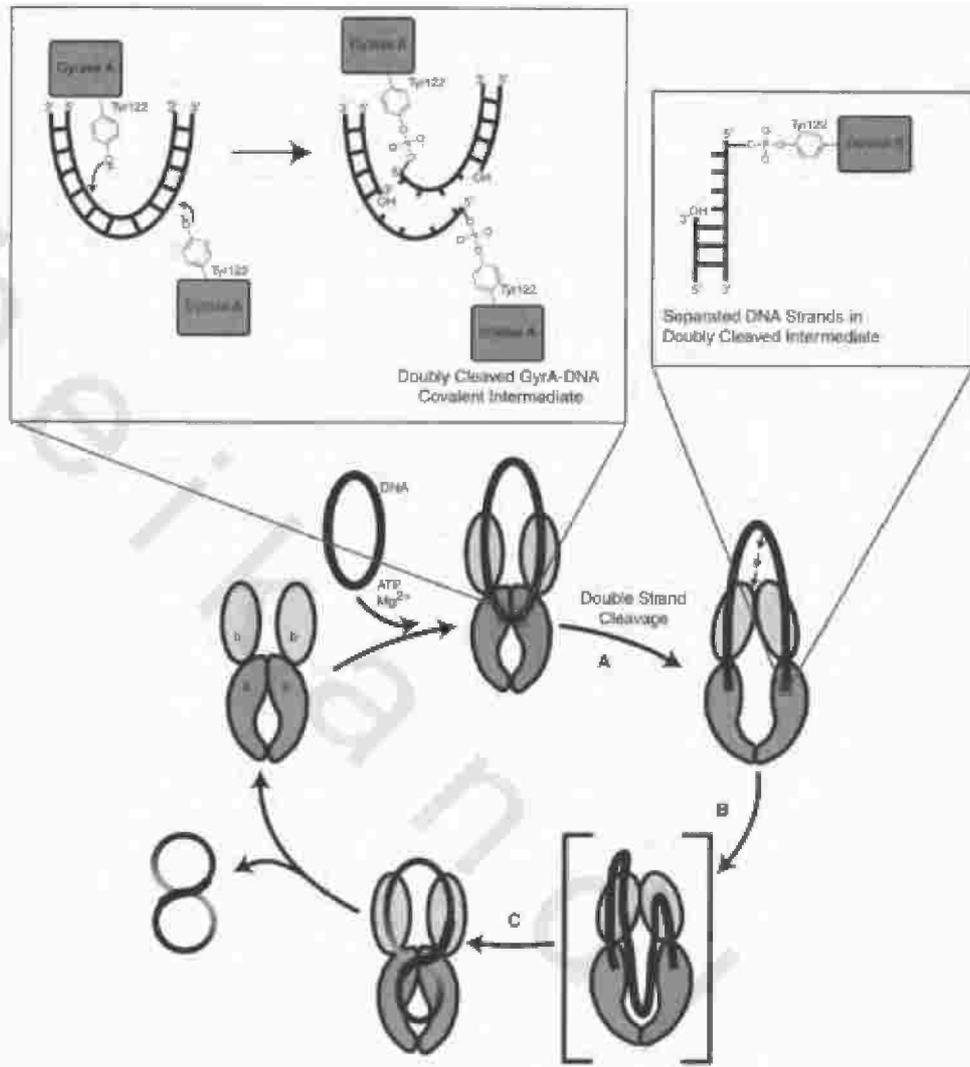
الشكل (٥,٢). نموذج لتكوين اللفة الزائدة بواسطة دنا غيراز البكتيري. (بواسطة كوزاريللي ١٩٨٠).



الشكل (٥,٣). تركيب أشعة إكس للمركب مزدوج الصيغة الجزيئية (الثنوي) الجزء - 92 kDa لحميرة توبوأيزوميراز II (من بيرجر وآخرون Berger *et al.*, 1996).

ويعد ربط دنا مزدوج- الخيط في معقد الإنزيم- الركيزة الأولي (enzyme-substrate (BS))، يهاجم فينوليك هيدروكسيل أليف النواة (nucleophilic phenolic hydroxyl) لتير ٢٢ (Tyr₂₂) (ترقيم الإشريكية القولونية) على واحد من اثنين من الوحدات الفرعية GyrA ويهاجم الرابط داخل رابطة إنترنيوكليوتيد ثنائي إستر الفوسفات (internucleotide phosphodiester bond) على أحد خيوط دنا، ليفلق ذلك الخيط لينتج نهاية النهاية OH-3' الحرة، ويمسك نهاية 5' كوسيط دنا- فوسفوتيروسيل وسيط تساهمي (DNA-phosphotyrosyl covalent intermediate) (الشكل ٥.٤ A). وفي هذه الأثناء، يهاجم Tyr المكافئ في الوحدة الفرعية الثانية GyrA، رابطة إنترنيوكليوتيد ثنائي إستر الفوسفات على أربعة نيوكليوتيدات من الخيط الآخر لدنا في أسفل التيار ليكمل كسر الخيط-المزدوج ويصنع الإنزيم الوسيط الثاني DNA-5'-P-tyrosyl على الخيط المكمل. وذلك يكمل خطوة انفلاق دنا وينتج نهايتان دنا 3' حرة، ما تزالا تقترن قاعدياً في مكان آخر في اللفة المزدوجة، ونهايتان DNA 5'-GyrA متشكلة تساهمياً. ولفجوة الخيط-المزدوج ٤ قواعد بارزة، ولكن من المحتمل وجود عد لف موضعي وتوسيع للفقوة، ربما يتم بواسطة التغيير البنيوي في الإنزيم - كسر دنا الوسيط التساهمي لتعرض الفقوة بحيث إن الإنزيم يستطيع الآن أن يوافق مرور اللفة المزدوجة ذات العرض 20-Å (الشكل ٥.٤ B) خلال الفقوة ليؤثر على الاسترخاء الموضعي (topological relaxation).

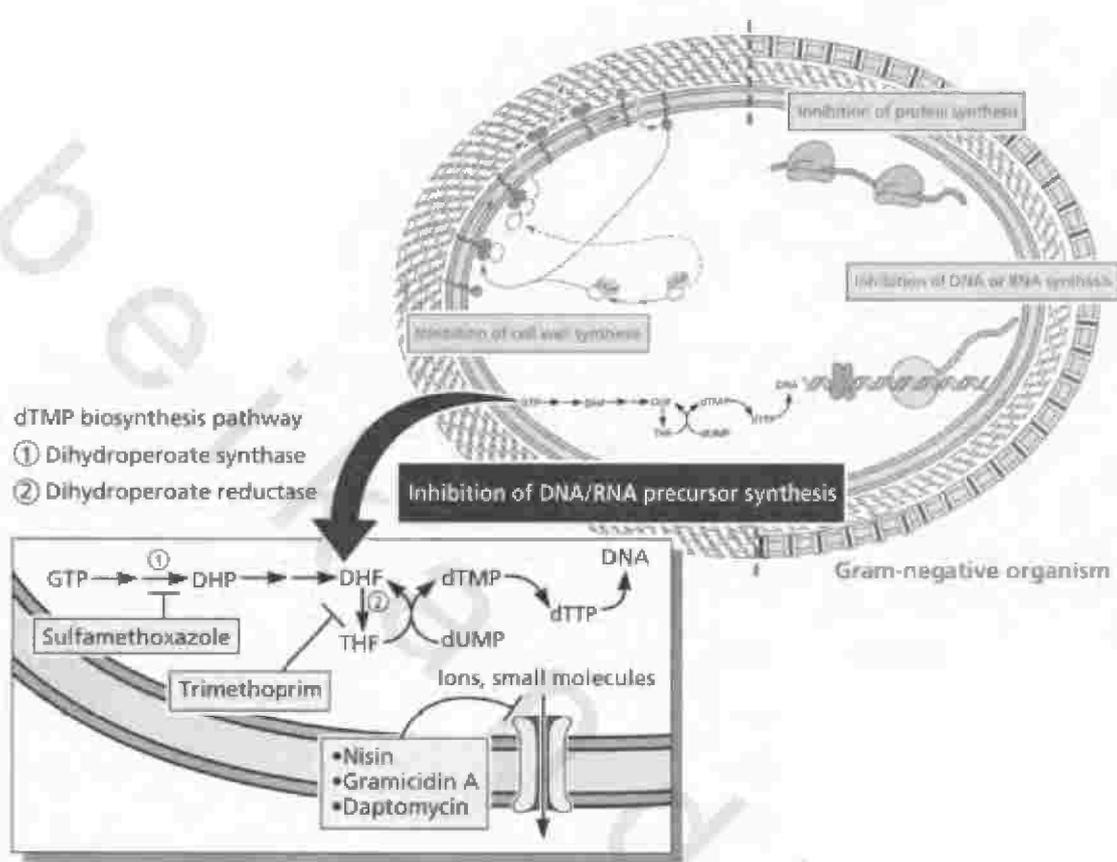
توجد منطقة بوابة لدنا في خميرة إنزيم توبو II التي أيدت النموذج المشار إليه في مرور الخيط-المزدوج. ومن الواضح أنه يجب أن يكون هناك تغييرات كبيرة في بنية كل من الإنزيمين وتميرير دنا عند عدة مراحل في الدورة المحفزة. وعند هذه النقطة يجب على الإنزيم أن يرمم ذاتياً كسور الخيط-المزدوج، ويعيد تريبط كسر دنا. وبالإمكان إنجاز ذلك بنشاط متشابه بواسطة جعل كل من النهايات 3'-OH لخيوط دنا تهاجم إنزيم 5'-P-Tyr₁₂₂ على كل وحدة GyrA فرعية، وتوليد فوسفورين الخموس المساهم المقرب (pentacovalent phosphorane adduct) ومن ثم إخراج تير_{١٢٢}-فينوليت (Tyr₁₂₂-phenolate) تاركاً المجموعة لإعادة تريبط كل خيط. وهذا هو معقد ناتج-الإنزيم (E.P)، والخيط-المزدوج- دنا السليم، المسترخي يستطيع التفكك أو الدخول في دورة محفزة أخرى من إنقاص رقم الربط الموضعي: كسور الخيط-المزدوج، مرور دنا خلال الفقوة وسيط الركيزة-الإنزيم التساهمي، يتبعها تريبط الخيط-المزدوج. يتميز دنا غيراز عن توبو IV والأنواع الأخرى من II توبوايزوميرازات بأن له القدرة على دفع التكافؤ في الاتجاه الآخر، ليس للاسترخاء ولكن للالتفاف الشديد، بواسطة استعمال انفلاق دنا إلى ADP و P_i كقوة حرارية حركية دافعة (ماكسويل، ١٩٩٧).



الشكل (٤، ٥). رسم لآلية دنا غيراز: (A) إنفلاق الخيط - المزدوج دنا وتكوين الإنزيم المزدوج التساهمي، (B) مرور الخيط - المزدوج لعدد ربط أقل، و (C) إعادة تريبط للـ DNA المزدوج الكسر.

آلية عمل مضادات الكوينولون المضادة البكتيرية

لقد تم صنع الآلاف من مضادات الفلوروكوينولونات حول لب النواة المستوي الحلقي المتغاير (planar heterocyclic nucleus) الذي يكسب العائلة اسمها (ولفسون وهوبر 1989, Wolfson and Hooper). وقد بينت التحاليل المكثفة أن الكوينولونات يؤثر على توازن انفلاق/وتريبط الخيط - المزدوج في الدورات الحفّازة للغيراز وتوبرو IV، حيث يتراكم المعقد المنفلق. يُمنع الوسيط المكافئ DNA-5'-P-Tyr₁₂₂ الموجود على كل وحدة فرعية Gyra من إعادة التريبط القابل للعكس في وجود الكوينولونات. كما توجد توقعات حول هل يُسرّع الكوينولونات خطوة الانفلاق - المزدوج للـ دنا المرتبط أو أنه يبطئ انتقائياً خطوة إعادة التريبط - المزدوج، بدون دليل واضح ومحدد لأي من التفسيرات. إن الآلية عن



أهداف أخرى مصادقة للأدوية المضادة البكتيرية