الفصل الرابع

المضادّات الحيوية التي تعرقل البناء الحيوي البكتيري للبروتين
ANTIBIOTICS THAT BLOCK BACTERIAL PROTEIN BIOSYNTHESIS

يتناول هذا الفصل مختلف فئات المضادّات الحيوية التي تبذل عملها البكتيري المثبط أو البكتيري المبيد بواسطة عرقلة واحد أو أكثر من خطوات البناء الحيوي للبروتين الذي يحدث على الوحدات الفرعية 30S و 50S من ريبوسومات البكتيريا. يُظهِر الشكل على الصفحة المقابلة تكبيراً للأجزاء ذات العلاقة للشكل (٢,٢)، مشدداً على أن بعض المضادّات الحيوية تعرقل العمليات عند الريبوسوم 50S والبعض الآخر يعمل عند ريبوسوم 50S.

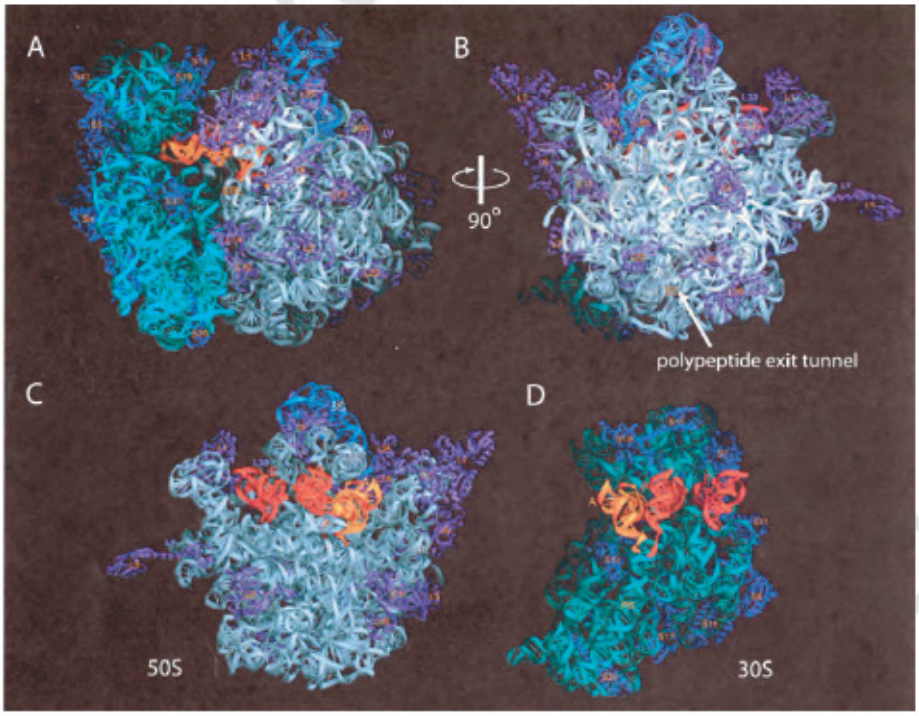
تركيب الريبوسوم البكتيري ودورة إنزيم الناقلة للببْتيديل (peptidyltransferase)

في ضوء مركزية البناء الحيوي للبروتين بالمقارنة بالوظيفة الخلوية والعدد الكبير من الخطوات التي يشملها، بدءاً من تفعيل ٢٠ موحودات (monomers) حامض أميني مولد للبروتين (proteinogenic) بواسطة إنزيم أمينو أسيل tRNA سنثيتازات (aminoacyl-tRNA synthetases)، إلى العديد من الخطوات لبدء السلسلة (chain initiation)، إطالة السلسلة (chain elongation) وإنهاء السلسلة (chain termination) للببْتيدات النامية على الريبوسوم، ومن الطبيعي أن عديداً من المنتجات الطبيعية من المضادّات الحيوية تستهدف واحدة أو أكثر من خطوات البناء الحيوي للبروتين. وقبل تحليل مواقع وآليات عمل المضادّات الحيوية المثبطة للريبوسوم، قُدم ملخص قصير عن الريبوسوم.

في البكتيريا، الريبوسوم عبارة عن وحدتين – فرعيتين من جسيمات البروتين النووي (nucleoprotein subunits)، يشكل الحمض النووي الريبي رنا حوالي الثلثين، بينما يشكل البروتين الثلث، من الوزن الجزيئي ٢,٥ – ٢,٦ MDa. وتحتوي الوحدة الفرعية الصغيرة، 30S على نحو ٢٠ بروتين وS16 ribosomal Rrna على نحو ١٥٠٠٠ ريبونيوكليوتيدات (ribonucleotides). وعادة ما يكون للوحدة الفرعية الكبيرة 50S نحو ٣٠ بروتين، ٢٣S rRNA نحو ٢٩٠٠ نيوكليوتيدات، و5S Rrna (١٢٢ نيوكليوتيدات). ويعتبر كل من rRNA الكبيرين المحتويين على حوالي ٤٥٠٠ نيوكليوتيدات سقالة ومحفز (catalyst) لتكوين رابطة الببْتيد. وقد تم التبليغ عن تركيب الأشعة السينية

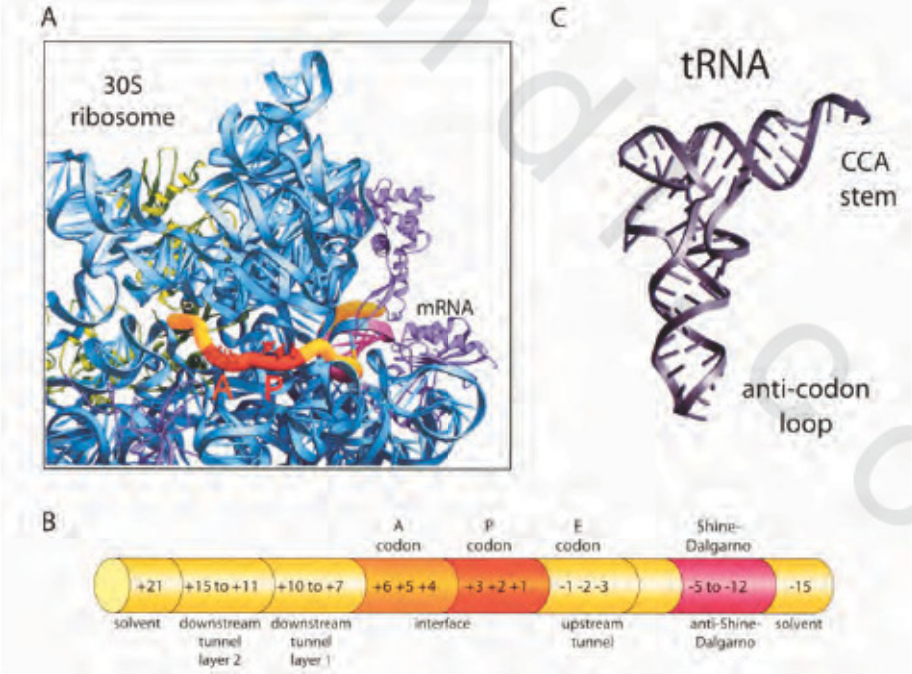
للريبوسوم 70S من البكتيريا ثيرمس أليفة الحرارة *(Thermus thermophilus)* عند تفريق (resolution) 5.5 Å، كافية لتكشف بناء الوحدات الفرعية لكل من 30S و 50S وتفاعلاتها (يوسبوف وآخرون Yusupov *et al.*, 2001) (اللوحة الملونة ٤,١) . تُظهر اللوحة الملونة (٤,١ A) الوحدة الفرعية 30S على اليسار، الوحدة الفرعية 50S على اليمين و أمينو أسيل الحامض الريبي الناقل tRNA (aminoacyl-tRNA) في الوصلة (السطح البيني) (interface). ويبين الدوران عند ٩٠° في اللوحة الملونة (٤,١ B) المشهد من خلف الوحدة الفرعية 50S مع تحديد نفق خروج للسلسلة المتعدِّدة الببْتيد (polypeptide) الناشئة. وتعطي اللوحة الملونة (٤,١ C) مشهد الوصلة للوحدة الفرعية 50C مع ثلاث tRNAs الذي يحتل المواقع P, A و E (انظر أسفل) وتبين اللوحة الملونة (٤,١ D)، الوصلة للمشهد المطابق للوحدة الفرعية 30S.

يكمل تركيب الأشعة – السينية للريبوسوم 70S التراكيب الحديثة للوحدة الفرعية 30S من نفس الكائن (ويمبرلى وآخرون Wimberly *et al.*, 2000)، المكررة إلى تفريق 3 Å، وتركيب الوحدة الفرعية 50S من هالوركيولاماريسمورتي *(Haloarcula marismortui)*(نيسين وآخرون Nissen *et al.*, 2000). لقد فتحت مجموعة التراكيب فصلاً جديداً في دراسة الريبوسومات كالآت مصنّعة – للبروتين وكذلك آليات العرقلة بواسطة المضادّات الحيوية.



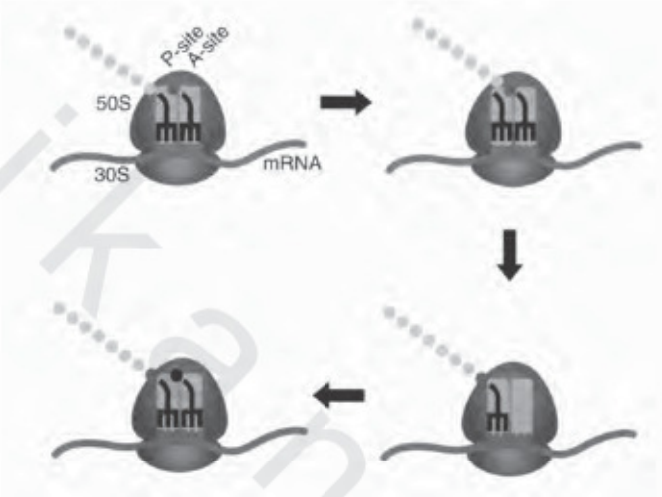
اللوحة الملونة (٤,١). تفاعل الوحدات الفرعية 50S, 30S وموقع tRNA في الموقع A والموقع P. (A) ريبوسوم الوحدة الفرعية 30S لأليفة الحرارة *T.thermophilus* يظهر على اليسار، والوحدة الفرعية 50S على اليمين. (B) دوران ٩٠° من (A) يظهر ظهرالوحدة الفرعية 50S وموقع نفق الخروج لسلسلة عديد الببْتيد الناشئة. (C) منظر الوحدة الفرعية 50S من السطح الفاصل للوحدة الفرعية 50S/30S مع tRNA في المواقع P,E,A. (D) منظر للسطح الفاصل للوحدة الفرعية 30S. (بالإذن من يوسوبوف وآخرون Yusupov *et al.*, 2001).

إضافة إلى جزيئات 16S و 23S rRNA التي عناصر تركيبية، تمييز وتحفيز هامة للريبوسوم، هناك جزيئين آخرين من رنا مطلوبين لتكوين البروتين وهما الرّنا المرسال mRNA والرّنا النقال tRNA. يوفر mRNA القالب الإرشادي، وقد تم حديثاً تصوير مساره عبر الريبوسوم بواسطة تحليل أشعة – إكس (انظر الاستعراضات في كولفر Culver, 2001، و يوسوبوفا وآخرون Yusupova *et al.*, 2001). وتمتد خيوط mRNA خلال اثنين من الأنفاق في الوحدة الفرعية 30S مع امتداد قصير واحد فقط يبرز خلال الوصلة بين الوحدات الفرعية 30S و 50S (اللوحة الملونة ٤,٢ A). يحتوي امتداد mRNA على الستة النيوكليوتيدات التي تكوّن رامزات (codons) أمينوأسيل aminoacyl (A) وبيبتيد peptidyl (P) (اللوحة الملونة ٤,٢ B)، والنيوكليوتيدات +٦ إلى +١. يقع راموز موقع الخروج (exit site codon) (E)، عند القواعد –١ إلى –٣، في أعلى تيار النفق فقط أمام الموقع –٥ إلى –١٢، تسلسل شين– دالجرانو (the Shine-Dalgrano sequence) الذي يكوّن إقتران قاعدي (base pairs) مع مضادّات تتابع شين– دالجرانو عند نهاية 3' 16S rRNA ليكوّن لفة حلزونية مزدوجة (double helix) التي تضع السجّل لترجمة mRNA. وتنقل جزيئات tRNA الأحماض الأمينية إلى الريبوزوم وتوفر مضاد الرامزة ثلاثية النيوكليوتيدات (anticodon trinucleotides) إلى واطسون كريك (Watson Crick) لتقترن قاعدياً مع المواقع A و B عند موقع التفاعل 30S-mRNA.



اللوحة الملونة (٤,٢). (A) تخييط mRNA في الموضع 30S نازع الرامز، (B) وضع روامز E,P,A لـــ mRNA في موقع نزع الرامز، (C) التصميم الهندسي لـــ tRNA يوضح عروة مضاد – الرامز التي تعرف الروامز على mRNA وذيل CCA حيث يتم تشكيل الحمض الأميني تساهمياً وتنشيطه. (بالإذن من كولفر (٢٠٠١)).

تمتد النهاية الأمينية المؤسلة (aminoacylated end A, B) لـ mRNAs بعيداً عن الوحدة الفرعية 30S إلى الوحدة الفرعية 50S عند الحقل V لـ 23S Rrna. وتنتقل سلسلة البِبْتيديل إلى أمينو أسيل -tRNA في الموقع A بواسطة نشاط إنزيم ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) في كل حلقة تطويل- ببتيد- سلسلة للريبوسوم . ويشتق نشاط الببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) من نشاط ريبوزيم الحفّاز من هذا الجزء من 23S Rrna وبدون مساعدة ظاهرة من البروتينات (انظر نيسين وآخرون Nissen *et al.*, 2000) (الشكل ٤,١).

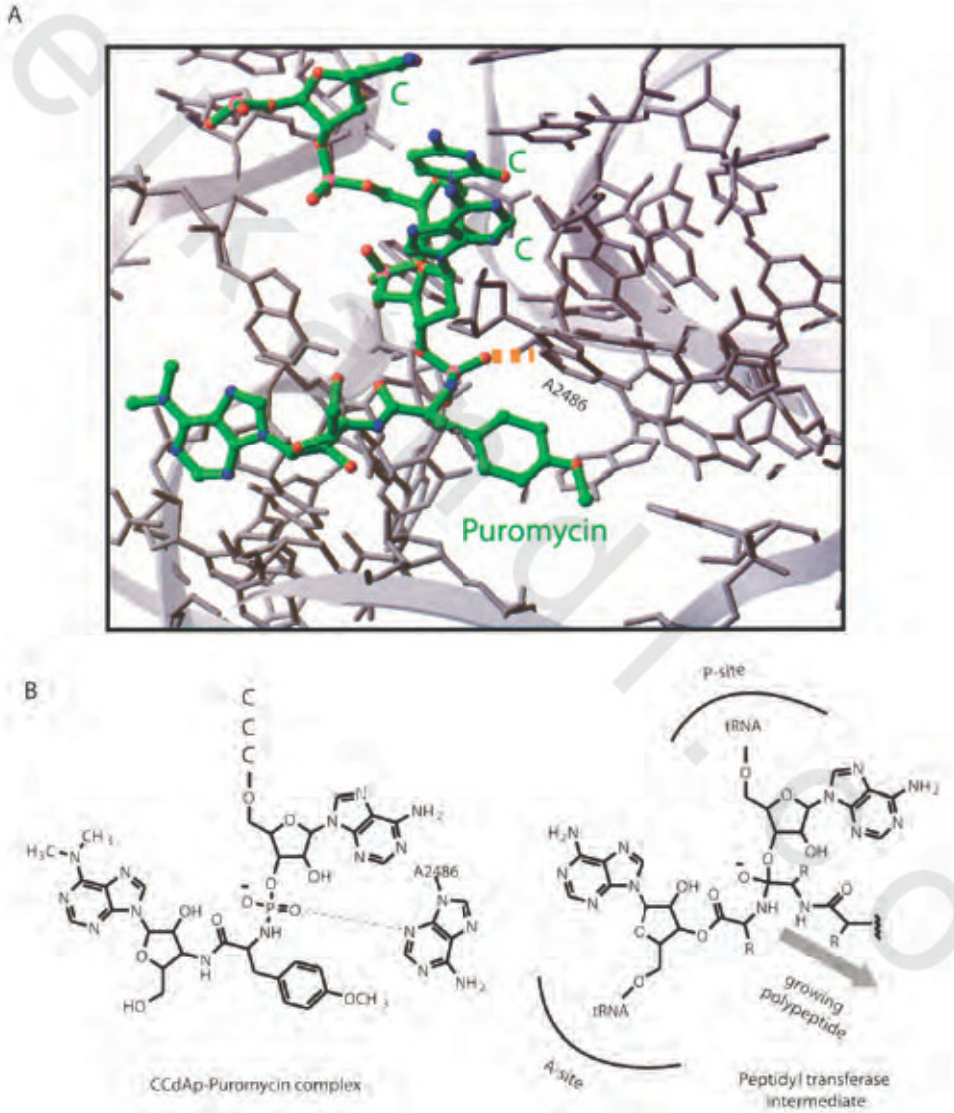


الشكل (٤,١). رسم لتكوين رابطة البِبْتيد عند الريبوسوم.

في كل حلقة حفّازة للتطويل، تشتغل الوحدة الفرعية 30S كوحدة مزيلة للراموز لتنتقي الأمينو أسيل المناسب مع مضاد الراموز التابع لها والتي سوف تناسب موقع A للراموز. وبمجرد أن يُرسخ أمينو أسيل-tRNA الصحيح في الموقع A فإن شطر أمينو أسيل يُشكل 75 Å بعيداً عند نهاية CCA للـ tRNA الموجه نحو البنية المنتجة لتهاجم سلسلة بِبْتيديل المجاورة، وبحد ذاتها هي موجهة نحو نهاية CCA التابعة tRNA الخاص بها، ولتطيل سلسلة البِبْتيدل النامية كلما انتقلت نحو مهاجمة مجموعة أمينو أسيل. وعند هذه الوصلة تعتبر هذه فارغة، tRNA منزوع الأسيل في الموقع P (الشكل ٤,١) وترتبط مجموعة الببتيديل مع tRNA الذي لا يزال مرسّخاً في الموقع A. ولدورة التطويل التالية، يتحرك tRNA منزوع الأسيل إلى الموقع E ,ويعاد موضع بِبْتيديل -tRNA نحو الموقع P، ويصبح الموقع A مفتوحا لإحضارٌ أمينو أسيل-tRNA التالية ليتم نزع الرامز بواسطة معقد 30S-mRNA complex. إن تناغم حركة mRNA لتقديم رامز ثلاثي جديد عند الموقع A عند السطح الفاصل بين 30S و50S ليسمح بنزع الرامز، وللثلاثة tRNA للتحرك بين المواقع P,E, وA لم يتم فهمه إلى الآن.

لقد تم تحديد مركز ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) في الوحدة الفرعية 50S في الشطر V من 30S rRNA بواسطة التبلور المشترك (cocrystallization) لنظير حالة التحول، بِبْتيديل بيوروميسين فوفوناميديت (peptidyl puromycin

phophonamidate) (اللوحة الملونة ٤,٣) والذي يشبه الركيب الهندسي الرباعي للوسيط في العملية الحفّازة للببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) رنا. وهذا يسمح بتعريف موقع A وموقع P لنيوكليوتيدات rRNA ذات العلاقة مع للنظير الرابط وقد تم اقتراح آليات لوظائف قواعد رنا الفردية في خطوات تكوين رابطة الببْتيد (نيسين وآخرون Nissen *et al.*, 2000). وقد ساهم كذلك لتعريف نفق خروج عديد الببْتيد، بطول حوالي ١٠٠ Å، الذي يسمح بمرور سلسلة عديد الببْتيد الناشئة خلال الوحدة الفرعية 50S إلى الخارج (اللوحة الملونة ٤,٤).



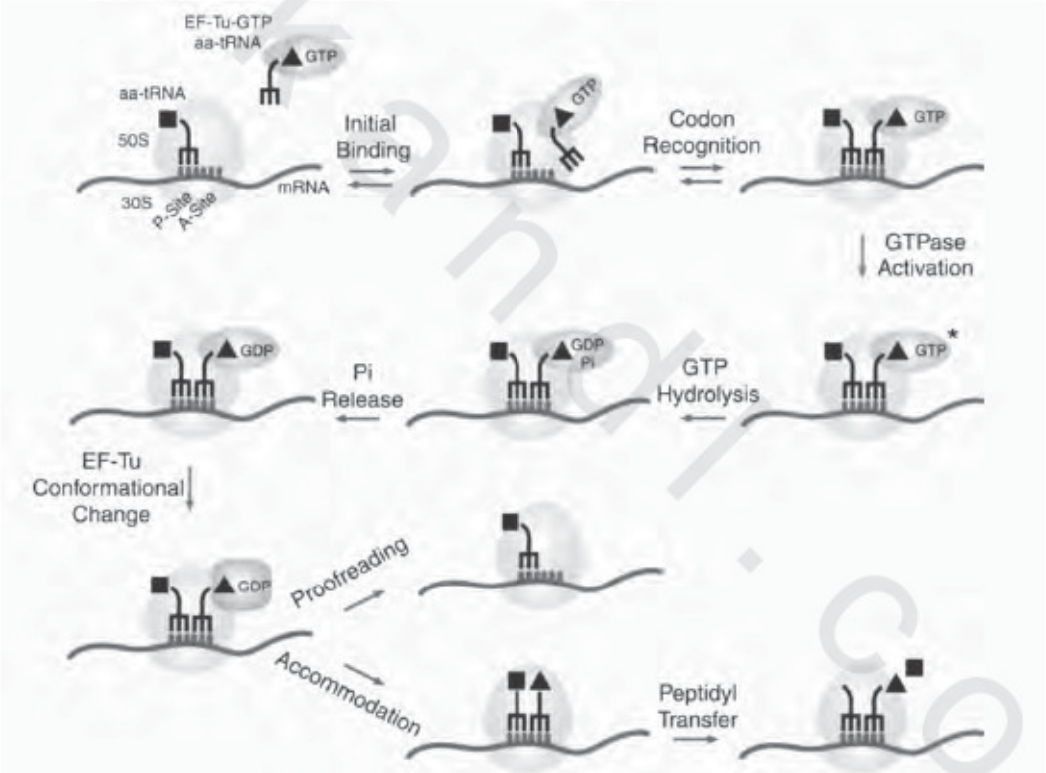
اللوحة الملونة (٤,٣). مركز ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) على الوحدة الفرعية الريبوسومية 50S. (A) ترسيخ معقد بيوروميسين – CCdAp (CCdAp-puromycin complex) عند مركز ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) للوحدة الفرعية 50S، (B) إرتسام ثنائي– الأبعاد لتفاعل CCdAp-puromycin مع A_{2486} والهندسة المشابهة للوسيط الرباعي أثناء تكوين رابطة الببْتيد على نفس الموضع على الريبوسوم.

اللوحة الملونة (٤,٤). نفق خروج عديد الببْتيد خلال الريبوسوم 50S.

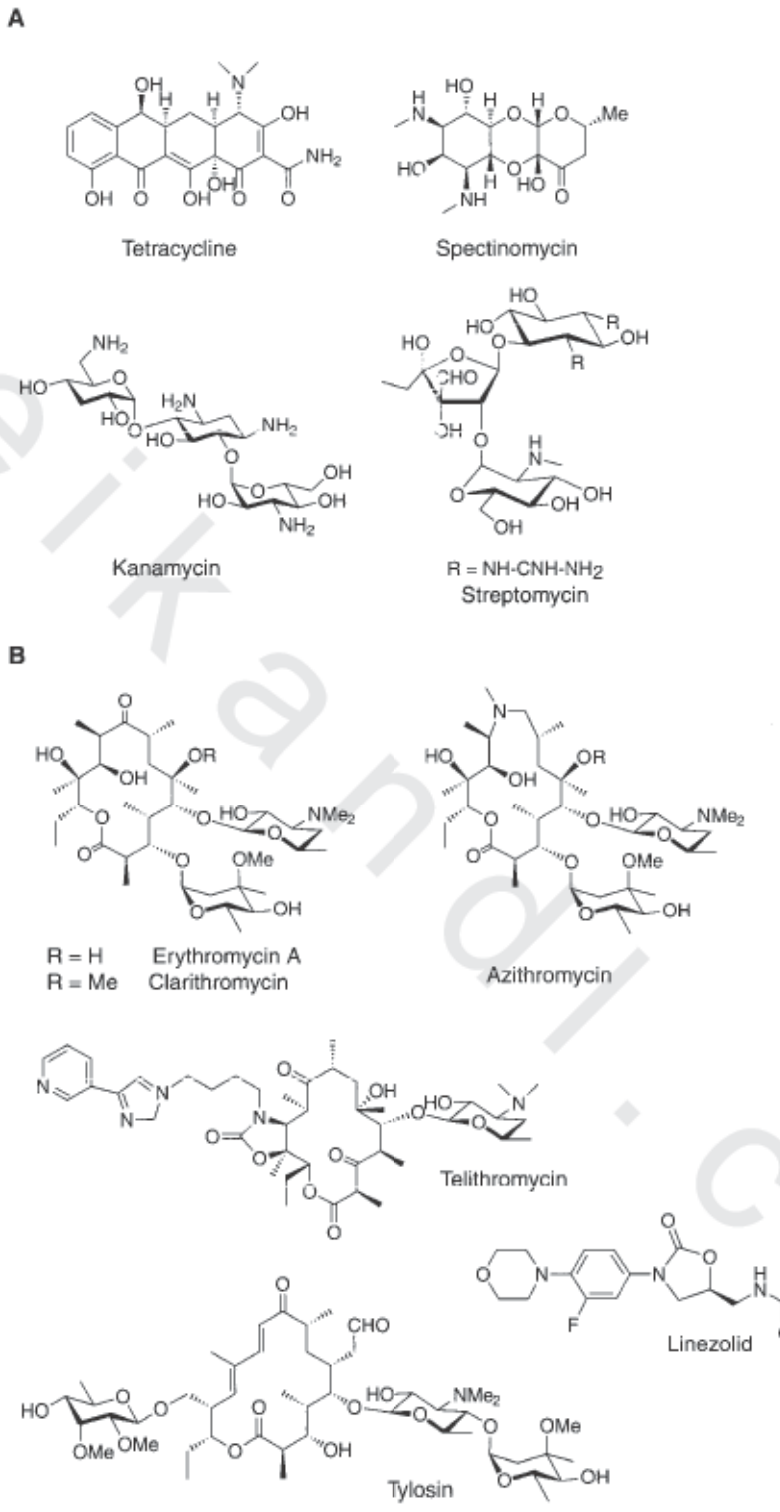
ومن الواضح أن معدل الخطأ المنخفض الملاحظ في تكوين البروتين، حوالي خطأ واحد في 10^4 دورات تطويل، ويحتاج قراءة بينة وتنقيح للمحافظة على هذه الأمانة العالية أثناء اندماج الحمض الأميني في الريبوسوم (للمراجعة انظر رودنينا وونترمير Rodnina and Wintermeyer, 2001). وقد تراكمت الأدلة عبر السنين حول التمييز متعدد الخطوات بين أمينو أسيل–tRNA المتجانس (cognate aminoacyl-tRNA) في بحر من مجموعة أمينو أسيل–tRNA غير المتجانسة. وأُحضر أمينو أسيل tRNAs إلى الريبوسوم في معقد مع بروتين شابيرون (chaperone protein EF-Tu) الذي يعتبر إنزيم GTPase كامن. وبعد الربط الأولي مع الريبوسوم، يستطيع أمينو أسيل — tRNA إما أن يتفكك أو ان يتقدم ليقترن قاعدياً في مقابلة الرامزة – تفاعل رامزة الحِلزُ (anticodon-codon helix interaction)، مؤدياً إلى إعادة توجيه ومعقد طويل الأجل (الشكل ٤,٢). وعند هذه النقطة يتم تفعيل نشاط GTPase of EF-Tu ويرجح بواسطة تغييرتركيبي، ويحدث إنفلاق GDP ليربط GDP و P_i، يتبعه إطلاق الناتج P_i. ويظل GDP مرتبطاً ليعزز البنية النوعية لـ .EF-Tu.GDP. وعندما يتم حدوث تكوين الرباط في مركز الوحدة الفرعية 50S، يتم إطلاق tRNA منزوع الأسيل من الموقع A بواسطة الشكل GDP التابع لـEF-Tu. ويرجح أن التراكيب الموضعية لـrRNA في الوحدة الفرعية 30S والوحدة الفرعية 50S تطلق إشارات بأن نزع رامز المعلومات قد تم وأن نهاية أمينو– أسيل التابعة لأمينيل–tRNA يجب أن توجه إنتاجياً لتكوين رابط الببْتيد.

قد تقطع المضادّات الحيوية التوقيت والنوعية لأي من هذه الخطوات، ومن المحتمل أن مثل هذه التقطيعات تبطيء النمو و/ أو أن تكون قاتلة للبكتيريا. يظهر الشكل (٤,٣) أمثلة للأصناف الكبرى من المضادّات الحيوية المستهدفة للوحدة الفرعية 30S سبكتينوميسين (spectinomycin) الأمينوغليكوسيدات كاناميسين (kanamycin) وستربتوميسين (streptomycin)، تتراسيكلين (tetracycline) أو للوحدة الفرعية 50S (كلنداميسين) (clindamycin)، كلورامفينيكول (chloramphenicol)، لينيزوليد (linezolid) والميكروليدات مثل إريثروميسين (erythromycin)،

كلاريثروميسين (clarithromycin)، أزيثروميسين (azithromycin) وتيلوسين (tylosin). ولقد ظهرت في السنتين الماضيتين تراكيب المضادّات الحيوية المرتبطة بمواقع أهداف tRNA في الوحدة الفرعية 30S والوحدة الفرعية 50S (مثل، كارتر وآخرون Carter *et al.*, 2000، تشونزن وآخرون Schunzen *et al.*, 2001). وعلى سبيل المثال، فإن التبلور المشترك (cocrystallization) للمضادّات الحيوية الثلاثة باروموميسين (paromomycin)، سبكتينوميسين وستربتوميسين مع أهداف الوحدات الفرعية 30S، دل على تغيير التوازنات الرقيقة بين الحالات البنيوية لـrRNA، مؤدية إلى عرقلة نقل (translocation) (سبكتينومييسين)، نزع الرامز (باروموميسين)، والدقة الترجمية (translation) (ستربتوميسين) (كارتر وآخرون Carter *et al.*, 2000). ومن المحتمل أن يكون هذا العمل مبشراً للعديد من الدراسات القادمة والتي ستسلط الضوء على عمل المضادّات الحيوية في واحد أو أكثر من الخطوات التأسيسية في وظيفة الريبوسوم.



الشكل (٤,٢). الخطوات في الربط، تمييز الرامز، تفعيل GTPase، برهنة القراءة، ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) في تكوين رابطة الببْتيد (معدلة من رودنينا وونترمير Rodnina and Wintermeyer, 2001).



الشكل (٤,٣). تراكيب بعض المضادّات الحيوية التي تعمل عند (A) الوحدة الفرعية 30S أو (B) الوحدة الفرعية 50S للريبوسوم البكتيري.

obeikandl.com

صنف الإريثروميسين من مضادّات الميكروليد الحيوية

يعتبر الإريثروميسين العضوية-١٤ من الاكتون كبير الحلقة (14-membered macrocyclic lactone) وأنتج بوراسطة المتسلسلة سكروبوليسبورا إريثري *(streptomycete Saccharopolyspora erythraea)*. ويظهر أجليكون (aglycone) من خط تجمع المطبّع (المؤثر النوعي) الإنزيم التركيبي عديد الكيتيد (modular polyketide synthase assembly line) ،كما سيتم فحصه في الفصل الثاني عشر، ومن ثم أكسجته ثنائياً (bis oxygented) وربطه بالغليكوزيل (bis glycosylated) لإنتاج المضاد الحيوي الفعال، العضوية-١٥ شبه الإصطناعي (أزيثروميسين)، والعضوية-١٦ الميكروليدات المنتجة طبيعياً مثل تيلوسين الفعالة كذلك (الشكل ٤,٣). يعدُّ التصميم الهندسي للماكرولاكتون والتفاعلات مع السكريات المفتاح المحدد للربط والنوعية في التفاعلات مع 23S rRNA في الموقع ٦- نيوكليوتيد ٢٠٦٢-٢٠٥٨. وتعرقل ربط الإريثروميسين ترجمة عديد الببْتيد مع الأثر النهائي إطلاق وسائط ببْتيديل-tRNA (peptidyl-Trna) قبل الآوان بواسطة عرقلة الوصول إلى نفق خروج الببْتيد المطوّل (بان وآخرون Ban *et al.*,2000، تشونزن وآخرون Schunzen *et al.*, 2001). ويعرقل الدواء كذلك تجمع الوحدات الفرعية 50S، والأرجح من خلال هذا التفاعل مع 23S rRNA. يبلغ ٥٠٪ من التركيز المثبط (IC_{50}) لمنع الترجمة في خلايا المكورة العنقودية الذهبية حوالي 0.2 µg/ml (جولدمان وآخرون Goldman *et al.*, 1999) ويبلغ K_d للقياس الكيميائي (stochiometric) للربط للعنصر مع مكونات 23S rRNA للوحدة الفرعية 50S حوالي 1Nm. وقد أثبت الإريثروميسين أنه آمن وفعال في البالغين والأطفال وقد تم استعماله في جميع حالات المرضى المنومين والمرضى غير المنومين.

الميكروليدات ممتدة - المدى مثل أزيثروميسين وكلاريثروميسين (الشكل ٤,٣) ملئت مكاناً علاجياً مهماً لمعالجة العداوى التنفسية (تشولار وبرات Scholar, and Pratt, 2000). وتعتبر جزيئات شبه اصطناعية - كلاريثروميسين مع ميثوكسي (methoxy) عند C_6 وأزيثروميسين مع العضوية-١٥ ميكروليد الممتد والنيتروجين الذي تم إدخاله والذي له بنية ميكروليد محولة.

وللأزيثروميسين والكلاريثروميسين قيم IC_{50} تكاد تكون مكافئة للإريثروميسين (انظر تشامبنيس Champness, 2000، للمراجعة)، وتسبب تهيج أقل للجهاز المعدي المعوي، وأكثر ثبات لتركيز أيون الهيدروجين الحامض (PH) للمعدة، ونفاذ أفضل للأنسجة، وله نصف - أعمار أطول ليسمح بجرعات مرة واحدة أو اثنين في اليوم. تتطلب الميكروليدات الضيقة - والممتدة المدى سكر كالدينوس (caldinose sugar) لفعاليّة المضاد الحيوي.

مضادّات الميكروليد واسعة - المدى ذات 3-OH تتأكسد إلى كيتون، لتزيل موضع التصاق سكر كالدينوس، وتعرف بكيتوليدات (ketolides) (مثال، تليثروميسين telithromycin) (برونسون وبارت Brosnson and Barrett, 2000a)، وهو في المراحل الأخيرة من التَطوُّر السريري، وقد تمت المصادقة عليه في الولايات المتحدة الأمريكية. كما وأظهرت هذه الكيتوليدات حوالي ١- log تحسن في قيمة IC_{50} (0.02 to 0.04 µg/ml) (كابوبيانو وآخرون Capobiano *et al.*,

2000، دوثويت وآخرون (Douthwaite *et al.*, 2000) وهي لا تحفز ظهور الجين المقاوم الخاص بأمثلة rRNA (انظر الفصل العاشر). لقد أصبحت الأجيال المتتابعة من الميكروليدات الأكثر ملاءمة؛ بسبب تغيير الخواص وتشمل الثبات للحامض في المعدة والفعاليّة ضد الممرضات المقاومة للميكروليد (الفصلان التسع والعاشر). كما يجب أن تأخذ جميع هذه الأجيال فائدة الفروقات في البناء الهندسي في 23S RNA للريبوسومات البكتيرية مقارنة بسويات النواة لتسمح بالانتقائية لقتل البكتيريا. ويسلط التحليل الحديث بالأشعة السينية لمضادّات الميكروليد الحيوية المرتبطة بالريبوسومات (انظر أسفل) بعض الضوء على هذه الانتقائية. وقد تمت دراسة الأعضاء من هذا الصنف من الأدوية بشكل مكثف كأهداف لجيل متنوع بالتكوين الحيوي الاتحادي، كما سيتم شرحه في الفصل الخامس عشر.

التيلوسين، هو ذا عضوية-١٦ ميكروليد وله ٢ كربونات ماكرولاكتون أكبر من تلك التي في الإريثروميسين وكذلك سكريات مميزة، هدفها 23S rRNA عند نفس الموقع الأساسي ويستعمل في الطب البيطري. قد التحليل الحركي لربط كل من تيلوسين وإريثروميسين بالريبوسوم معقد تصادمي أولي (collisonal complex) تبعه خطوة تزامرية (isomerization step) بطيئة نتج عنها ربط محكم وتفكك بطيء. وسيكون الرجوع من المعقد المتزامر (isomerized RI*complex) بطيء جداً. وللتيلوسين كمثبط I، يتراكم معقد ريبوسوم *I على التصادمي RI بقدر 600/1.

ريبوسوم + I ↔ ريبوسوم I ↔ ريبوسوم *I.

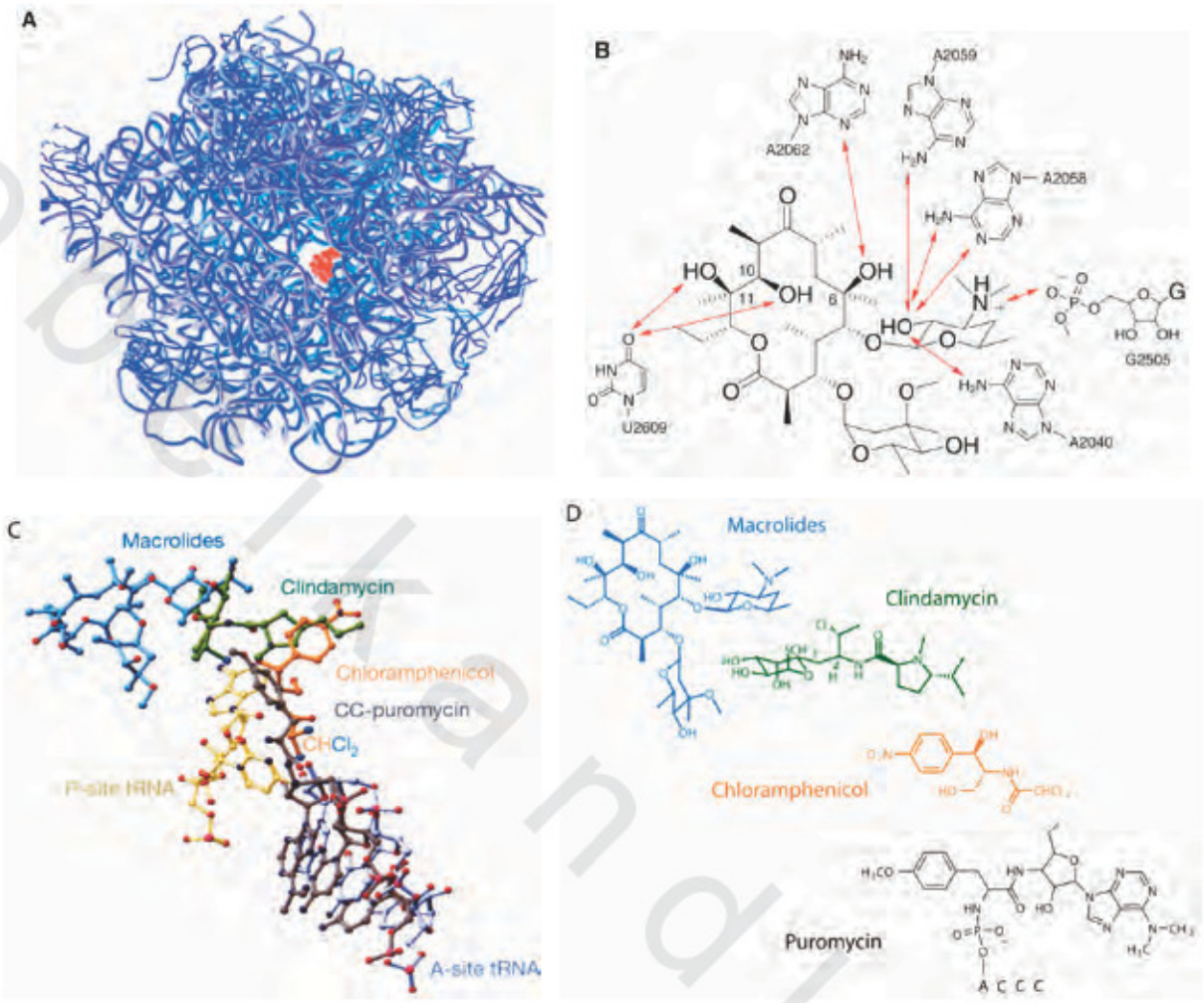
ولمعقد ريبوسوم – إريثروميسين * معدل يساوي ١٠/١، مشيراً إلى تثبيط أطول أجلاً لمعقد تيلوسين (دينوس Dinsos) (وكلباكسيس Kalpaxis, 2000). وفي المقايسة المباشرة لنشاط الإنزيم الحفّاز الناقل للببْتيداز (ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل))، لا يثبط الإلريثروميسين الفعاليّة بينما يثبطها التيلوسين. كما دل تحليل الأثر ان الإريثروميسين يرتبط بجوار مركز ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) في 50S ويعرقل مرور سلسلة ببْتيديل الناشئة إلى نفق الخروج من خلال الوحدة الفرعية 50S. وقد تمت حالياً المصادقة على ذلك بواسطة تحليل الأشعة السينية للميكروليدات المرتبطة بـ 23S rRNA في الوحدة الفرعية 50S للبكتيريا دينوكوكس راديوديورانس *(Deinococcus radiodurans)* (تشولنزن وآخرون Schlunzen *et al.*, 2001).

الإريثروميسين ومضادّات الميكروليد العضوية-١٤ والكلاريثروميسين وروكسيثروميسين (roxithromycin) ممتدة المدى، ترتبط جميعها عند المدخل إلى نفق عديد الببْتيد المُصدر (اللوحة الملونة ٤,٥ A)، لتسمح ببناء حوالي ستة إلى ثمانية من الرّنا النقال tRNA – قليل الببْتيد–الرّنا النقال (oligopeptide –tRNA) قبل عرقلة عملية الإطالة وإنهائها قبل الأوان. للميكروليدات القصيرة والممتدة ثلاثة عناصر تركيبية – ماكرولاكتون، ديسوسامين (desosamine)، وسكريات كالدينوس، وهذه التجميعة تصنع إلى ٧ روابط هيدروجين مع 23S rRNA. ولا يوجد بروتين ريبوسومي في الاحتكاك الجزيئي مع مضادّات الميكروليد الحيوية. يصنع 2'-OH التابع للديسوسامين روابط هيدروجين إلى N_1 وN_6 من A_{2058} في 23S RNA (اللوحة الملونة ٤,٥ B)، مما يفسر الحاجة الأساسية لـ A_{2058} لتصبح حساسة

للميكروليدات (فيستر ودوثويت Vester and Douthwaite, 2001). في سويات النواة، يتغير A_{2058} إلى G_{2058} مما يفسر على الأقل جزءاً من انتقاء الهدف لصنف أدوية الإريثروميسين للريبوسومات البكتيرية (تشولنزن وآخرون Schlunzen *et al*, 2001). وقد تصنع البدائل 6-OH,11-OH and 12-OH على الماكرولاكتون أيضاً روابط هيدروجين ملامسة مع 23S RNA لتوجيه المضاد الحيوي. ولا تصنع حلقة كالدينوس تفاعلات مهمة وتُستبدل في الكيتوليدات واسعة – المدى مع استرجاع وحتى اكتساب الفعاليّة.

وعلى الرغم من أن الميكروليدات لا تعرقل خطوة تكوين– رابطة الببْتيد مباشرة عند مركز ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) للوحدة الفرعية 50S، إلا أنه من المعروف أنها تنافسية مع مضادّات لينكوسميد (lincosamide antibiotics) التي تعتبر مثبطات مباشرة لببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل). وفي الحقيقة فإن الطفرة الواحدة عند A_{2058} لأي من القواعد الثلاث الأخرى (G,C or U) تحفز مقاومة نشوء ثلاثية لأعضاء عائلة الميكروليدات، اللينكوسميدات، وستربتوجرامين ب (streptogramin B) (مقاومة MLS_B) مما يشير إلى تعارض فيزيائي (للمراجعة، انظر فيستر ودوثويت Vester and Douthwaite, 2001). ولقد قدم تشولنزن وآخرون Schlunzen *et al*., 2001 إثبات مباشر بواسطة التركيب البلوري المشارك لمضاد اللينكوسميد كلنداميسين (clindamycin) (اللوحة الملونة C ٤,٥ وD ٤,٥)، حيث مجموعات 2'- OH و٣' لشطر السكر للمضاد الحيوي، يكوُن روابط هيدروجين مع نفس المجموعة الأمينية خارجية الحلقة (exocyclic N_6 amino group of A_{2058}). والزيادة بربط كلنداميسين وربط الإريثروميسين أظهر تعارضاً فيزيائياً جزئياً (اللوحة الملونة C ٤,٥). ولقد عرف الكلندامايسين بشكل منفصل أنه يتفاعل مع كل من الموقع A والموقع P لمركز ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل)، وهكذا فإن البناء النموذجي للنهايات 3' التابعة لـ A-and P-tRNA تنتج المركب في اللوحة الملونة C٤,٥ التي تظهر وضع كلنداميسين وإريثروميسين بالنسبة لـtRNA الاثنين اللذان يضعا الببْتيديل المانح والأمينو– أسيل المستقبل في تكوين روابط الببْتيد والتي تعتبر لب التفاعل للريبوسوم. وأخيراً، فإن مضاد الكلورامفينيكول (chloramphenicol) الآن تحت الاستعمال المحظور بسبب قضايا تتعلق بالسمية، وقد تم بلورته بالمشاركة مع الوحدة الفرعية 50S لبكتيريا دينوكوكس راديوديورانس بواسطة نفس فريق البحث هذا (تشولنزن وآخرون Schlunzen *et al*., 2001). ومن المعروف بأن الكلورامفينيكول يعرقل تفاعل أمينو–أسيل –tRNA مع الموقع A في مركز ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) وهذا بالفعل الموقع حيث يرتبط الكلورامفينيكول.

إن موضع المضادّات الخمس في تجويف مركز ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) للوحدة الفرعية 50S للريبوسوم البكتيري سوف بالتأكيد يساعد الجهود الجديدة في التصميم المنطقي للمضادّات البكتيرية التي تستهدف تكوين البروتين.



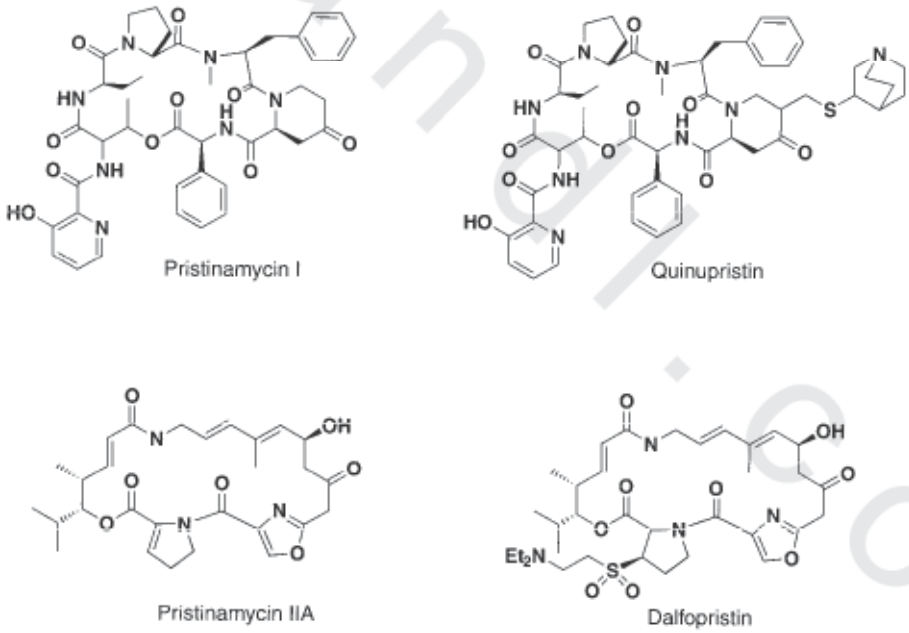
اللوحة الملونة (٤,٥). طريقة عمل مضادّات الميكروليد الحيوية: (A) ربط الميكروليد عند 50S عديد ببتيد نفق الخروج، (B) التفاعل مع قواعد 23S RNA، (C) التعارض مع مواقع الربط للكلنداميسين والكلورامفينيكول وكذلك الموقع -A والموقع – P لـــ tRNAs، (D) اكتشاف الجزيئات التي تتعارض في اللوحة جـــ. في المقايسة المباشرة لفعاليّة بيتيديل ترانسفيراز، لا يعرقل الإريثروميسين الفعاليّة.

(بالإذن من تشولزن وآخرون Schlunzen *et al.*, 2001).

التجميعات التآزرية غير الريبوسومية للبِبْتيد: سينيرسيد (Synercid)

تصنع أنواع كبيرة من المتسلسلات والشعاعيات (streptomycetes and actinoplanes) (تشامبنيس Champness, 2000) زوج من المضادّات الحيوية من عائلة فيرجينياميسين (virginiamycin)، (تدعى كذلك برسيناميسين وستربتوميسين (pristinamycin and streptomycin)، وتسمى مجموعة A ومجموعة B (بارير وآخرون Barriere *et al.*,1998) أو، بدلا عن ذلك مجموعة I ومجموعة II، التي تعمل تآزرياً لتعرقل ترجمة عديد البِبْتيد بواسطة الوحدة الفرعية 50S

للريبوسوم البكتيري عند المواقع 23S rRNA لتعارض جزئياً تلك المستهدفة بواسطة الميكروليدات. وسوف نستعمل عبارة برسينااميسين للزوج العلاجي الذي تمت المصادقة عليه بإسم سينيرسيد (ليفرمور Livermore, 2000) (الشكل ٤,٤) وعبارة الجنيس البديل فيرجينيااميسين في الفصل الحادي عشر عند مناقشة قانون توقيت تصنيع المضاد الحيوي. تعتبرالمجموعة I لاكتونات ببتيد حلقية غير الريبوسومية مع سلسلة الكحول الجانبية *N*-aryl-Thr_1 المتصلة بكربونيل $pheGly_6$. والمجموعة II برستيناميسين هي هجين عديد الكيتيد (polyketide) / عديد البِبْتيد (polypeptide) مع شطر أوكساسول- برو (oxazole-pro) (مشتق من طليعة ser - pro dipeptide) ومطمورة في صلب عديد البِبْتيد (الفصل الثالث عشر). والبرستيناميسين I ,II الخاص من تجميعة سينيرسيد هي تحويلات شبه مصطنعة، مع بديل ثيوإيثر (thioether) على فضالة ٤-أوكسوبيبيكوليل (4-0xopipecolyl residue) من كوينوبريستين (quinupristin) وثنائي إيثيل أمينو إيثيل سلفون البديل (diethylaminoethylsulfone substituent) على حلقة بروليل (prolyl ring) لمركب دافوبرستين (dalfopristin) (الشكل ٤,٤). وقد حسّنت التعديلات الذوبان في الماء وسمحت بالقبول السريري للاستعمالات المعتدة لمعالجة عداوى المكوراتية المعوية المقاومة للفانكوميسين (VRE).



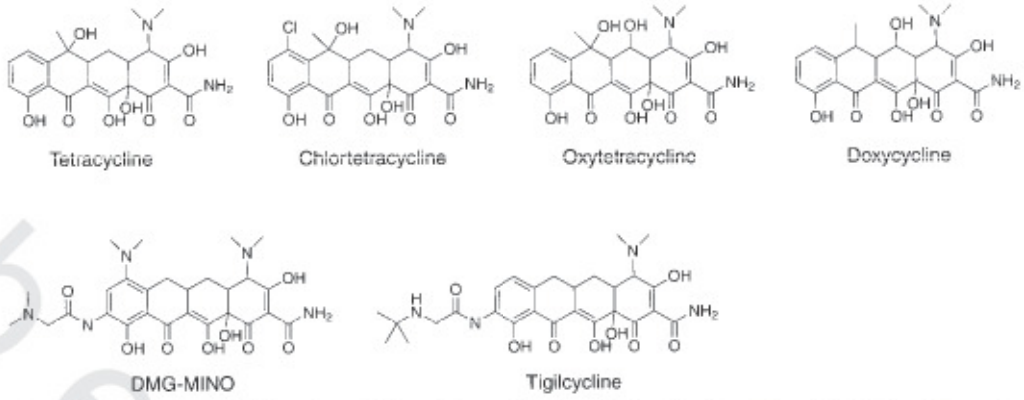
الشكل (٤,٤). تراكيب مركبات بريستيناميسين I (كوينوبروستين) و برستيناميسين IIA (دالفوبرستين) لمضاد البيتيد الحيوي سينرسيد.

التتراسيكلينات وجليسيلسكلينات (Tetracycline and glycylcyclines)

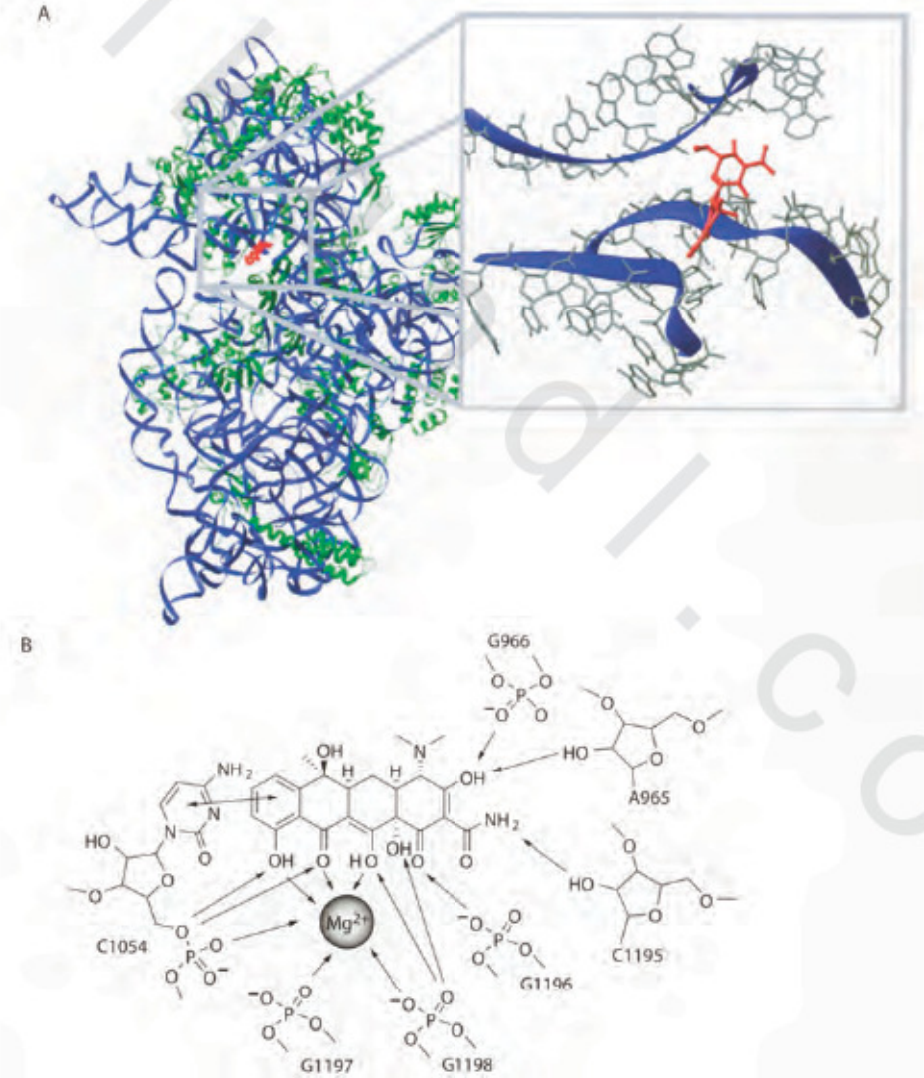
لقد عرفت التتراسيكلينات منذ ١٩٤٨م مع اكتشاف كلورتتراسيكلين (chlortetracycline) ومن ثم تتراسيكلين من المتسلسلة ستربتوميسس أوريوفيسينس *(Streptomyces aureofaciens)* ومن ثم أوكسيتتراسيكلين (oxytetracycline) من ستربتوميسس ريموسس (*S. rimosus*) (الشكل ٤،٥). ومن صنف الأعضاء الأكثر حداثة يشمل ٦–ديوكسي–٥–هيدروكسيتتراسيكلين (دوكسيسيكلين) ((6-deoxy-5-hydroxytetracycline (doxycycline)) التي أدخلت في ١٩٦٧م (شوبرا وروبرتس Chopra and Roberts, 2001). إن انعدام الأشكال الجديدة من التتراسيكلين في السنوات الثلاثين الماضية يعكس انحدار دوره كخط علاجي للعديد من العداوى في الإنسان ولكن التَطوُّر السريري الجاري للتيجيسيكلين (tigicycline)، الجليسيلسيكلين الذي يثبط التدفق (efflux)، يدل على الرغبة المستمرة في صنف أعضاء مضادّات البوليكيتيد هذه. الهيكل الحلقي ١٩– كربون أربعة –حلقات (19-carbon four ring cyclic skeleton) مشتق من الجزيء المبديء و٨ جزيئات من مالونيل -CoA (malonyl CoA) (انظر الفصل الثاني عشر) بواسطة الفعل التكراري للبوليكيتيد سينثاز (polyketide synthase) (رولنج Rawling, 1999). تعدُّ التتراسيكلينات مثبطة للبكتيريا بشكل كبير وتعمل عند الوحدة الفرعية الريبوسومية 50S لتعرقل ربط – مينو أسيل –tRNA الواردة إلى الموقع A. إن الانتقائية ضد الريبوسومات البكتيرية مقابل الريبوسومات في سويات النواة هو بسبب كل من الفروقات التركيبية في رنـا للوحدات الفرعية الريبوسومية والتركيز الانتقائي في الخلايا البكتيرية الحساسة (شوبرا وروبرتس Chopra and Roberts, 2001). إن تحديد التركيب للوحدة الفرعية 30S الريبوسومية من أليفة الحرارة *(T.thermophilus)* (بروديرسين وآخرون Brodersen *et al.*, 2000، بيوليتي وآخرون Pioletti *et al.*, 2001) مع الدواء المرتبط قد أظهر ربط أكبر وموقع ربط ذا مجاذبة – أقل للتراسيكلين (اللوحة الملونة A٤،٦).

للموقع الكبير رنا فقط، وليس بروتين، يتفاعل مع التتراسيكلين بالقرب من موقع المستقبل (A) لربط أمينو–أسيل –tRNA في تجويف بعرض 20 Å وعمق 7 Å. وكما يظهر في اللوحة الملونة (B ٤،٦)، فإن الأكسجين في روابط إنترنيوكليوتيد فوسفوداي إيستر (internucleotide phosphodiester links) في 16S rRNA لفة ٣٤ يكوّن تفاعلات كهرباء ساكنة (electrostatic interactions)، مباشرة أو من خلال أيون الماغنيسيوم Mg إلى حافة قاع التتراسيكلين. ويشير التركيب المرتبط أنه بينما التتراسيكلين سوف لن يعرقل الارتباط الأولي للأمينو أسيل –tRNA والتحلل المائي لـGTP بواسطة العامل المبديء EF- Tu الذي يحضر ولادة tRNA، فالدوران المتعاقب بعد ذلك يطلق قبل الآوان لينهي الدورة بدون تكوين رابطة ببتيد.

obeikandl.com



الشكل (٤,٥). تراكيب التتراسيكلين، كلورتتراسيكلين، أوكسيتتراسيكلين، دوكسيسيكلين، جليسيلسيكلين (DMG-MINO)، وتيجيسيكلين.



اللوحة الملونة (٤,٦). (A) موقع الربط للتتراسيكلين مع 16S rRNA على الوحدة الفرعية البكتيرية 30S للريبوسوم، (B) تفاعلات التتراسيكلين مع لفة ٣٤ لـ 16S RNA. (مقتبسة بالإذن من بروديرسن وآخرون Brodersen *et al.*, 2000).

وبسبب التَطوُّر التدريجي للبكتيريا المقاومة خلال عشرات السنين من الاستعمال للتراسيكلينات ومشتقاتها (شرحت الآلية في الفصل التاسع)، فقد انخفضت استعمالاته في خط المعالجة الأول. ولكن برامج مهاجمة آليات المقاومة جارية. وعلى سبيل المثال، استبدال التتراسيكلين عند وضع -٩ مع جليسين أميد (glycine amide) أنتج وظيفياً مركب DMG-DMDOT (اللوحة الملونة B٤.٦) ذا نشاط ضد الإشريكية القولونية المقاومة للتراسيكلين والمكورة العنقودية الذهبية، وكذلك ضد المكورة العنقودية الذهبية المقاومة للمثسيلين (MRSA) (انظر شوبرا وروبرتس Chopra and Roberts, 2001، وللمراجعة تشو وآخرون، ١٩٩٦).

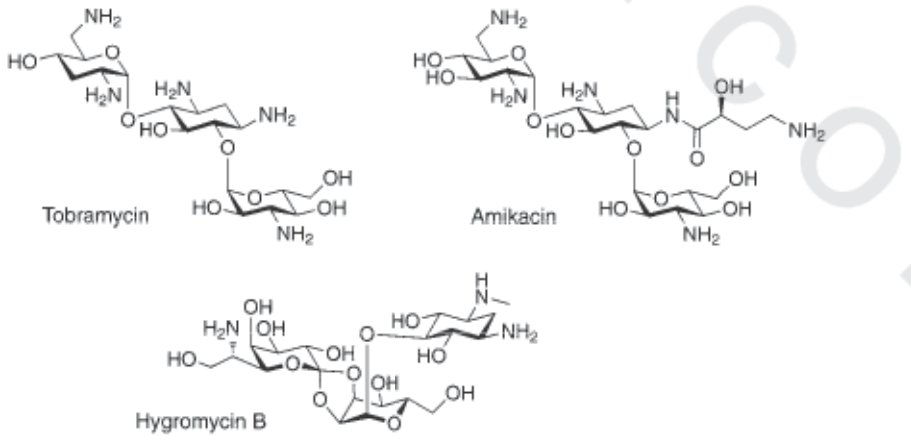
إضافة إلى آليات تدفق التتراسيكلين والتي سوف تشرح في الفصل التاسع، سيمثل صنف ثاني من المقاومة بواسطة بروتينات TetO and TetM، التي قد عبر عنها كبروتينات حماية ريبوسومية. ويعرف الآن أن TetO and TetM هما تراكيب مشابهة لعنصر الإطالة EF-G، وهو إنزيم GTPase مسئول عن نقل مكان أمينو أسيل -ويبْتيديل tRNA من المواقع A and P إلى المواقع P and E في دورات نقل المواقع. وأظهر تحليل المجهر الإلكتروني (سباهن وآخرون Spahn *et al.*, 2001) لربط TetO تعارض مع موقع الربط EF-G ولكن فشل في تحريض التغييرات البنيوية للريبوسوم والتي تؤدي إلى انتقال الموضع. وبدلاً عن ذلك فإن التحلل المائي لـ GTP بواسطة TetO يفترض أن يشوش اللفة ٣٤ في 16S rRNA، مؤدياً إلى بنية ذاتاً لفة- أقل للتتراسيكلين وإطلاقه. وهكذا ففائدة عمل GTPase هي لرفع التتراسيكلين بعيداً عن الريبوسوم وتخفيف تثبيط البناء الحيوي للبروتين.

مضادّات الأمينوغليكوسيد (Aminoglycoside antibiotics)

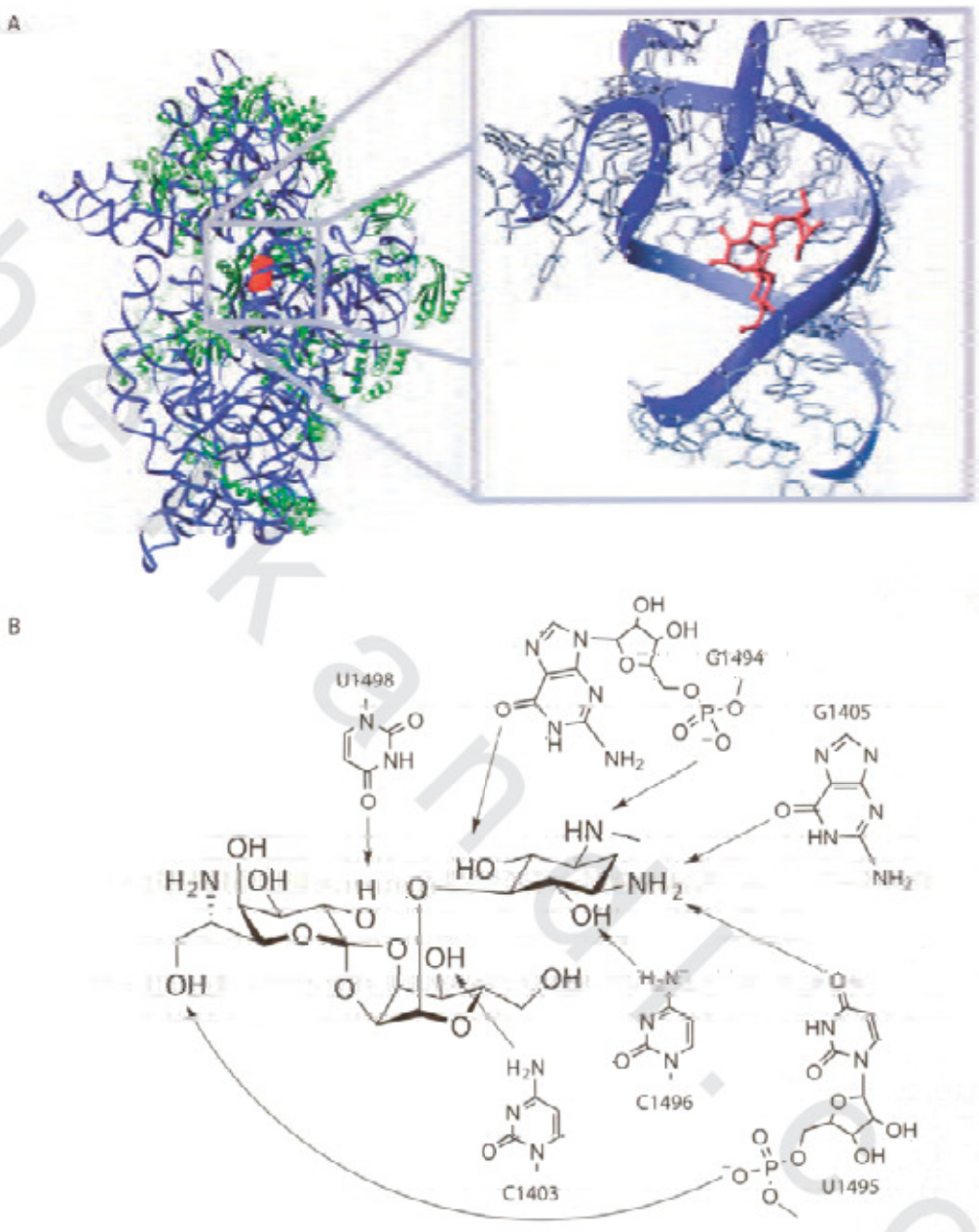
لقد استعملت الأمينوغليكوسيدات بشكل واسع لعشرات السنين، بعد اكتشاف ستربتوميسين في ١٩٤٤م (للمراجعة، انظر بيبرسبيرج Piepersberg, 1997)، في عديد من الحالات السريرية كمضاد بكتيري للعداوى بسبب عمله القاتل للبكتيريا والتآزر الملحوظ مع المضادّات الحيوية الأخرى. ولقد اقترح أن المصطلح البديل أمينوسيكليتولات (aminocyclitols) يجب أن يستخدم ليشمل الاختلاف الواسع في التراكيب في صنف المضاد الحيوي هذا (بيبرسبيرج، ١٩٩٧). هي سكريات أليفة الماء ذات مجموعات أمينو متعدِّدة، بروتونية (protonated) عند التركيز الهيدروجيني الأيوني (PH) الفسيولوجي لتعمل كمتعدِّدة الكتيونات (polycations) وتستهدف مناطق الوصول في 16S rRNA متعدد الأيون (polyanionic) على الريبوسوم 30S، وبالتحديد الموقع A الخاص بربط أمينو أسيل- tRNA (كارتروآخرون Carter *et al.*, 2000). لقد تم اختيار عديداً من أجيال أمينوغليكوسيدات سريرياً، مع الأعضاء البارزين من عائلة توبراميسين (tobramycin)، جنتاميسين (gentamicin)، واميكاسين (amikacin) (الشكل ٤.٦) التي تحت الاستعمال السريري المعاصر. تم تناول التكوين الحيوي لصنفين أساسيين من الأمينوغليكوسيدات في الفصل

الرابع عشر. تظهر الأمينوغليكوسيدات انسمام كلوي (renal toxicity) وانسمام أذني (ototoxicity) واللذين يعتبران حصراً محدوداً. ويعتقد أن يكون الانسمام الأذني من خلال خلابات حديد (iron chelates) الأمينوغليكوسيدات التي تختزل O_2 إلى جذور الأكسجين (oxygen radicals) التي تتلف خلايا الشعر في الأذن. إن الأمينوغليكوسيدات أدوية قوية ضد البكتيريا السالبة لغرام ولكنها ليست فعالة ضد الكائنات الموجبة لغرام (تشولار وبرات Scholar and Pratt, 2000)، على الرغم من أن توليفة (تجميعة) الأمينوغليكوسيدات وبيتالكتامات تستعمل لمعالجة العداوى المكوراتية المعوية. ولوحظ أن التآزرمع مضادّات البيتالاكتام الحيوية، وتوليفات الجنتاميسين، توبراميسين، أو أميكاسين مع تايكارسلين (ticarcillin) أو بيبراسيلين (piperacillin) تعد فعالة ضد العداوى التي تسببها الزائفة الزنجارية. ويوجد عديدٌ من طرق إزالة تثبيط الفعاليّة الإنزيمية في البكتيريا المقاومة كما سيلاحظ في الفصل الثامن.

لقد تم حل تركيب الأمينوسيكليتول، هيجروميسين ب (hygromycin B) المرتبط بالوحدة الفرعية لريبوسوم 30S لأليفة الحرارة *T.thermophilus* بواسطة تحليل أشعة إكس (برودیرسن وآخرون Brodersen *et al.*, 2000) (اللوحة الملونة A ٤,٧) وتم مشاهدة موقع الربط الفردي عند قمة اللفة ٤٤، بجانب المواقع A,P,E التابعة لـtRNA. والتماس يكون مع قواعد رنا وليس مع ذرات الهيكل الأساسية، مؤدياً إلى نوعية تعاقب عالية في إصطفاف ممتد. وباعتبار حقيقة أن هيجروميسين B قد وُجِد أنه يحجز tRNA عند الموقع A للريبوسوم، فمن المحتمل أن ارتباط الدواء يعرقل نقل البنية المطلوب أثناء عملية تكوين نقل موضع رابطة الببْتيد. ربط الستربتوميسين عند الوحدة الفرعية 16S تم وصفه بالمثل بواسطة تحليل الأشعة السينية (اللوحة الملونة B ٤,٧) (برودیرسن وآخرون Brodersen *et al.*, 2000)، مما يعطي رؤى قوية حول كيفية إحضار الأمينوسيكليتولات خطوات نقل الموضع للبناء الحيوي للبروتين في الريبوسوم نحو التوقف.



الشكل (٤,٦). مضادّات الأمينوغليكوسيدات الحيوية: توبراميسين، أميكاسين ، وهيجروميسين ب.



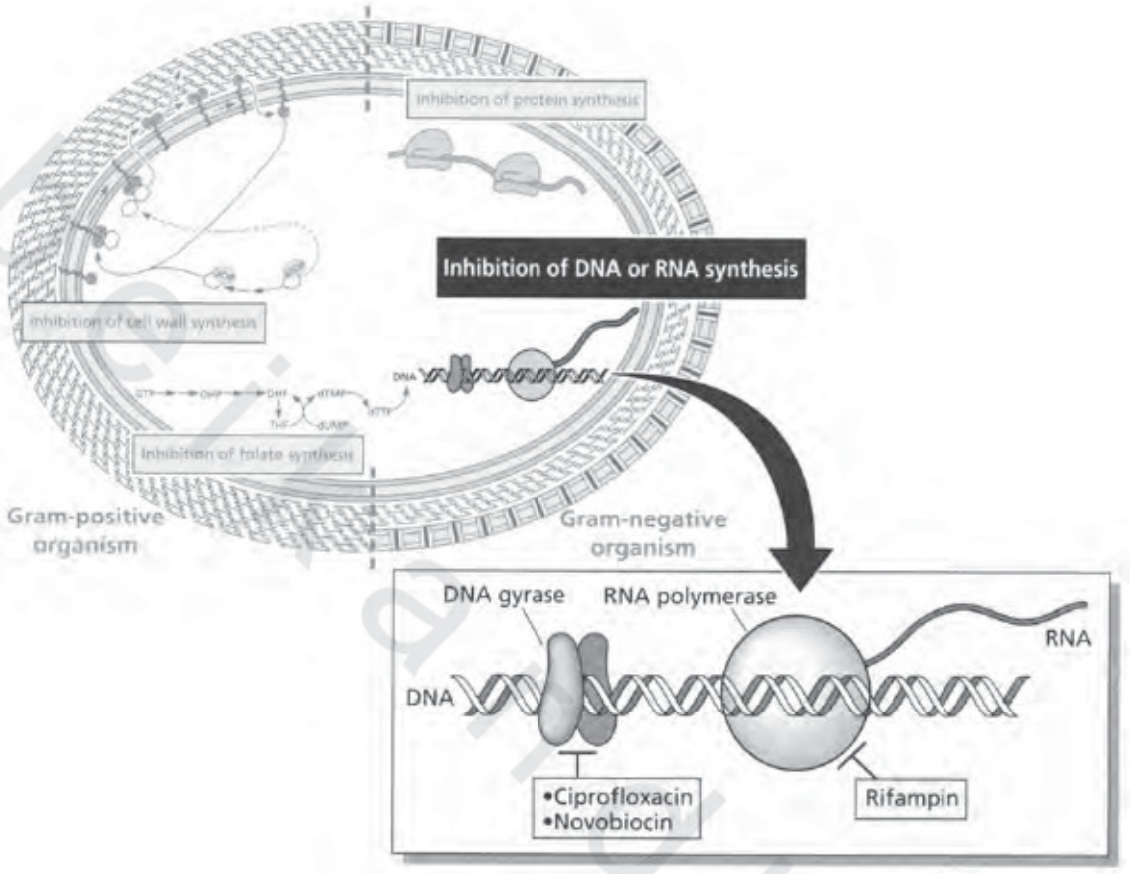
اللوحة الملونة (٤,٧). موقع الربط لـــ (A) الامينوغليكوسيد هيجروميسين ب و(B) ستربتوميسين مع 16S Rrna للوحدة الفرعي الريبوسومية 30S. (مقتبسة من بروديرسن وآخرون Brodersen *et al.*, 2000).

لينيزوليد (Linezolid): مضاد أوكسازولدينون الحيوي المصنُع

المضاد الحيوي الوحيد المصنُع بالكامل وفي الاستعمال السريري الذي يعرقل تبناءالبروتين عند الريبوسوم هو لينيزوليد (الشكل ٤.٣)، وقد تمت المصادقة عليه بواسطة إدارة الغذاء والدواء الأمريكية في عام ٢٠٠٠م. إن لب ناقل العقار (core pharmacophore) للينوزوليد هو حلقة أوكسازوليدينون (oxazolidinone ring)، وقد تم وصفه

كاول مضاد حيوي تركيبي جديد تم تقديمه في ثلاثة عقود (تالي وديبرون Tally and DeBruin, 2000). ولقد تم العثور على طفرات المقاومة للينيزوليد (كلوس وآخرون Kloss *et al*., 1999) المرسومة على مواقع 23S rRNA بجانب مركز ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل)، وهي متوافقة مع الدراسات الحديثة المتعلقة بالحركية التي أظهرت أن أوكسازوليدينون هي مثبطات تنافسية لكل من مواد الموقع A والموقع P (باتيل وآخرون Patel *et al*., 2001). ولقد تم افتراض آلية العمل بأنها إحتلال الموقع P في مركز ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) في الريبوسوم، الذي يعرقل الخطوة الأولى لتكوين رابطة الببْتيد في تكوين البروتين (باتيل وآخرون Patel *et al*., 2001). إن اللينيزوليد هو أكثر فعاليّة ضد البكتيريا الموجبة– لغرام وتشمل VRE وله إتاحة حيوية – فموية عالية. وسيتم توضيح النقبة العلاجية مع مرور زمن المصادقة عليه وبتراكم الخبرة السريرية.

obeikandl.com



المضادّات الحيوية التي تعرقل تكرار دنا ورنا