اليات عمل العوامل المضادة للجراثيم: Modes of actions of antimicrobial agents

لكي يؤدي المضاد عمله يجب ان يحصل تماس مباشر بين المضاد الجرثومي (Antimicrobial) والموقع المستهدف (Target site) داخل الخلية البكتيرية دون ان يؤثر ذلك على الخلايا المضيفة.

يمكن اجمال اليات عمل العوامل المضاد للجراثيم الى ما يلي:

1. المضادات الجرثومية العاملة على تثبيط تصنيع الجدار الخلوي.
2. المضادات الجرثومية العاملة على تثبيط عمل او وظيفة الغشاء السايتوبلازمي.
3. المضادات الجرثومية العاملة على تثبيط تصنيع البروتينات.
4. المضادات الجرثومية العاملة على تثبيط تصنيع الاحماض النووية.

1- المضادات الجرثومية العاملة على تثبيط تصنيع الجدار الخلوي Inhibition of cell wall synthesis (Ex: Cephalosporins , Penicillins , Vancomycin , Bacitracin)

يحيط الخلية البكتيرية جدار صلب يحافظ عليها من العوامل الخارجية ويعطيها الشكل المنتظم الذي يميزها. يتكون هذا الجدار من مكون رئيسي هو طبقة الببتيدوكلايكان (Peptidoglycan) المتكون اساسا من وحدات متناظرة (Polymers) من سكريات امينية (Amino–sugars) هي N–Acetylglucosamine و N–Acetylmuramic acid. ترتبط هذه الوحدات مع بعضها بأواصر كلايكوسيدية من نوع Glycosidic linkage β–1,4 وتكون متبادلة في ارتباطها. تترابط الوحدات عرضيا Crossing liking فيما بينها بسلاسل ببتيدية قصيرة غالبا ما تكون رباعية او خماسية Pentapeptide or Tetrapeptides والترابط يتم بمساعدة انزيمات من نوع Transpeptidase.

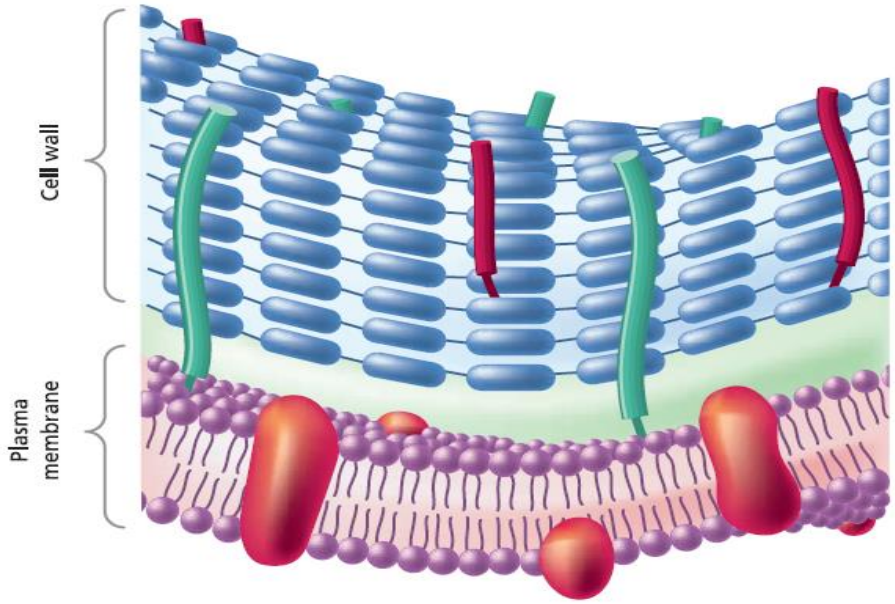


Figure .2 The Gram-positive envelope

التفاعل النهائي في تخليق جدار الخلية البكتيرية هو الروابط العرضية Cross–linking لخيوط الببتيدوكلايكان (murein) المتجاورة عن طريق تفاعل نقل الاصرة الببتيدية Transpeptidation، في هذا التفاعل تكسر الأنزيمات البكتيرية Transpeptidases الحامض الاميني الطرفي D–alanine من الببتيد الخماسي Pentapeptide الموجود على احد خيوط

الببتيدوكلايكان ثم ربطه مع ببتيد الخماسي من خيط ببتيدوكلايكان آخر. تعطي الخيوط البيتيدوكليكانية المترابطة (murein) التكامل الهيكلي لجدران الخلية وتسمح للبكتيريا بالبقاء في بيئات لا تتطابق مع الضغط التناضحي الداخلي للكائن الحي. ان احداث خدش او تلف في الجدار الخلوي سوف يؤدي الى عرقلة نمو الخلية البكتيرية، على سبيل المثال ان انزيم اللايسوزايم Lysozyme له قابلية تكسير الروابط الكلايكوسيدية بين الوحدات مما يسبب خلخلة في التركيب المتراص المتماسك.

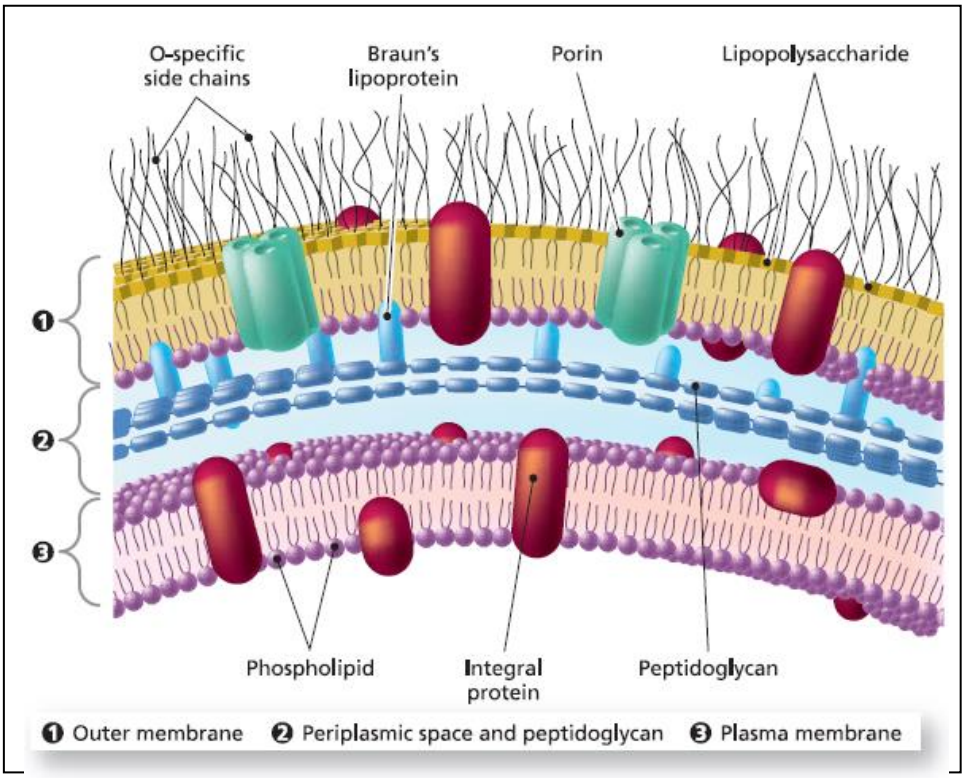


Figure-3: The Gram-negative envelope

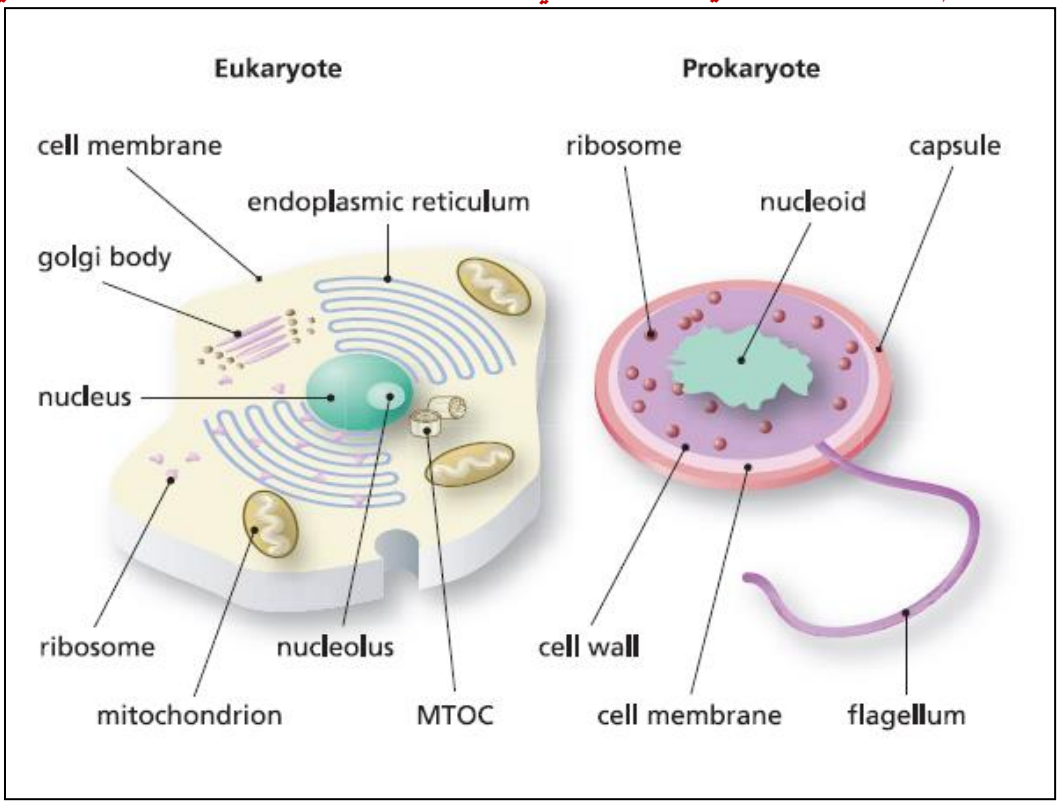
تعد البنسيلينات و السيفالوسبورينات من افراد مجموعة واسعة من المضادات الحياتية تدعى البيتالاكتام β–lactams تكون متشابهة تركيبا مع البيتيدات الطرفية D–alanyl–D–alanine (D–Ala–D–Ala) في البيبتيد الخماسي الموجود على الـ peptidoglycan (murein) التي تشترك في المرحلة النهائية من الارتباط العرضي Cross–linking (الشكل 4). لذلك ترتبط الأنزيمات البكتيرية Transpeptidases بشكل تساهمي مع المضادات الحيوية β –lactam في الموضع الفعل للأنزيم بدلا من السلسلة الجانبية البيبتيدية ، والجزيء الناتج (إنزيم–acyl) تكون ثابتة وغير فعالة لذلك تدعى هذه الانزيمات ايضا البروتينات المرتبطة بالبنسيلين Penicillin–binding protein(PBPs). و بسبب ارتباطها بهذه المضادات الحياتية ونتيجة هذا الارتباط تصبح هذه الانزيمات غير فعاله ويتوقف الارتباط العرضي. الحلقة الكاملة من (β–lactam ring) مطلوبة لعمل المضاد الحيوي. ان حلقة البيتالاكتم تقوم بتحوير موقع serine النشط على انزيم Transpeptidases وتؤدي لوقف مزيد من وظائف الإنزيم.

إضافة إلى Transpeptidases، توجد العديد من انواع بروتينات رابطة البنسلين (PBPs) في الخلايا البكتيرية مثل Transglycosylases و Carboxypeptidases. وتشارك جميع PBPs في تجميع (Assembly) و صيانة أو تنظيم تركيب البيتيدوكلايكان في جدار الخلايا البكتيرية. عند قيام المضادات البيتالاكتام بتعطيل PBPs، فإن النتيجة على البكتيريا هي جدار خلوي ضعيف البنية، وشكل مظهري شاذ، وتحلل الخلايا والموت. (في حاله ازالة الجدار الخلوي سيولد لدينا خلايا دائرية يطلق عليها

Protoplast وفي حاله الازالة الجزيئية للجدار هنا تدعى الخلايا Spheroplast وهي معرضة للانفجار في حال وضعها في محاليل ذات ضغط اوزموزي واطئ بسبب دخول الماء للداخل).

عند ايقاف فعالية PBPs فان هناك مجموعة اخرى من الانزيمات مسؤولة عن اعادة البناء للجدران المتكسرة يقابلها انزيمات حالة تقوم بعملية التحليل (lytic enzymes). وجود البنسيلينات سوف تمنع او توقف اليه التخليق الخلوي بالكامل كذلك يتوقف عمل مثبطات الانزيمات الحالة والأخيرة تنشط وتستمر بعملها مؤدية بذلك الى تحلل وقتل الخلية بالكامل. لذا تعد مجموعة البيتالاكتام من نوع القاتل للبكتريا (Bactericidal) لتحليلها الخلية بالكامل.

ملاحظة :- عدم وجدود طبقة الميورين murine في خلايا اللبائن يجعل البنسيلينات و السيفالوسبورينات غير سامة .



2- المضادات التي تثبط عمل او وظيفة الغشاء السايتوبلازمي Inhibition of cell membrane function (Ex: polymyxin, Colisitin (Antibacterial) and Amphotericin B (Antifungal)

يحاط السايتوبلازم لكل خلية بغشاء سايتوبلازمي يتكون من طبقة ثنائية من الفوسفوليبد و البروتينات Bilayer– phospholipid and protein و يمتاز بنفاذية اختيارية للمواد الغذائية، ومن خلاله تحصل عملية النقل الفعال Active transport وبذلك يسيطر على انتقال المواد من والى الخلية. كما يحوي الغشاء مجموع كبيرة من الانزيمات المسؤولة عن عملية النقل. ان المضادات القادرة على احداث خلل في هذه الاغشية ستؤدي الى موت البكتريا. مثلا المضادات الحياتية من مجموعة البوليميكسنات (Polymyxin) تسبب ثقوب بيولوجية من خلال تداخله بين جزيئات طبقة الغشاء المتكون من طبقة ثنائية من الفوسفوليبد و البروتينات Bilayer– phospholipid and protein. و **عموما التأثير على هذا الغشاء يكون من خلال :**

1. تداخله مع جزيئات الغشاء السايتوبلازمي (يسبب ثقوب بيولوجية).

2. تأثيره على الانزيمات الناقلة عبر الاغشية وتثبيطها.
3. تأثيره على عمليه التبادل الايوني بين المواد الداخلة للخلية والخارجة منها.

***يعد هذا النوع من المضادات الجرثومية من النوع القاتل للبكتريا Bacterioecidal**

ملاحظة: المضادات التي تعمل على اغشية الفطريات لا تعمل على البكتريا والعكس صحيح , كون اغشية الفطريات تحوي طبقة Esterols لا يوجد نظيرها في البكتريا وفي خلايا اللبائن التي تحوي الكوليسترول.

3.المضادات الجرثومية العاملة على تثبيط تصنيع البروتينات Inhibition of protein synthesis

Ex: Aminoglycoside group, Tetracycline, Erythromycin, Chloramphenicol, Lincomycin

كما هو معروف ان الرايبوسومات في بدائية النواة هي من نوع 70S تختلف تركيبا عن حقيقية النواة 80S, وبذلك لا تتأثر خلايا اللبائن(لاحظ Figure-4). تتكون رايبوسومات بدائية النواة من وحدتين فرعية (2 subunit) هما 30sS و 50S وكل واحدة منها لها تركيبها الخاص كما يختلف تأثير المضادات الجرثومية عليها. عموما المضادات المثبطة للبروتينات اما تكون قاتلة Bacterioecidal لكون الارتباط مع موقع الهدف يكون من النوع غير العكس (Irreversible) او تكون مثبطة للنمو (Bacteriostatic) في حالة كون الارتباط عكسي (Reversible).

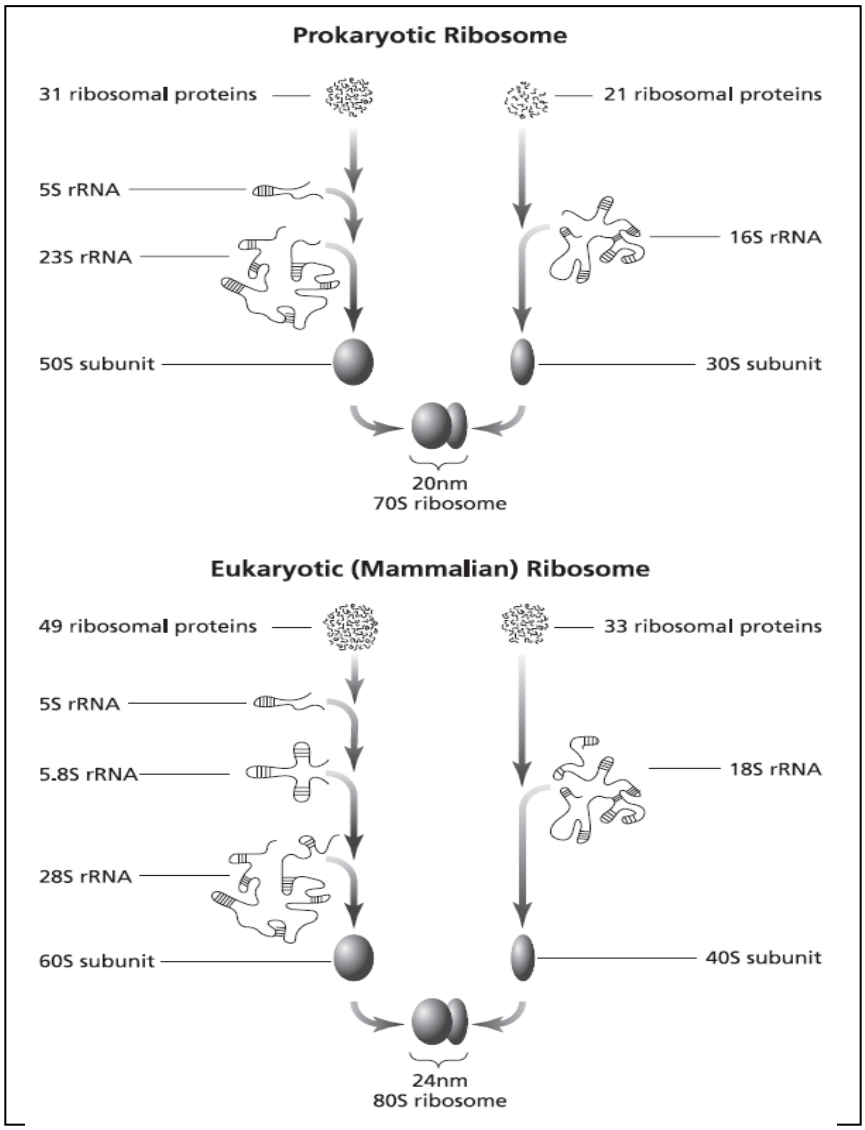


Figure-4: Macromolecular composition of prokaryotic and eukaryotic ribosomes.

المضادات المثبطة للبروتينات منها :

A. المجموعة الامينوكلايكوسيدسة:

1. ترتبط مع الوحدة الصغيرة 30S
2. توقف الفعالية الطبيعية لمعقد البدء (Initiation complex)الذي يتألف في خلايا بدائية النواة من المكونات التالية (mRNA ,Formylmethionyl– tRNA, 30S) .
3. يجعل خطأ في قراءة (Misread) ال mRNA وهذا يعني اقحام احماض امينية (Amino acid) خطأ للسلسلة البيبتيدية المتنامية.
4. سيتم تكوين بروتينات غير عاملة

تقوم المضادات الجرثومية التابعة لهذه لاحقا بفصل وحدتي الرايبوسوم عن بعض وبذلك ستؤدي الى قتل الخلية (Bacterioecidal) بتثبيط تكوين بروتيناتها(Figure-5)

B. **التتراسايكلينات (Tetracyclines)**: من نوع Bacteriostatic، ترتبط مع 30S اذ يتوقف ارتباط الرنا الناقل المشحون (Churched aminoacyl tRNA–30S) وبذلك سوف تمنع ادخال حامض اميني جديد.

C. **الكلورمفنيكول Chloramphenicol**: من نوع Bacteriostatic، يرتبط مع الوحدة الفرعية 30S يتداخل مع عملية ربط الحامض الاميني الجديد للسلسلة المتنامية حيث انه يثبط عمل انزيم Peptidyl transferase المهم في هذه الخطوة.

D. **الاثرومايسين Erythromycin**: من نوع Bacteriostatic، يرتبط مع الوحدة الفرعية 50S, اذ يتداخل مع تكوين معقد البدء او عملية الانتقال Aminoacyl translocation ما بين الموضع Asite و الموضع Psite في الرايبوسوم.

E. **اللنكومايسين (Lincomycin)**: يشبه الاثرومايسين في الفاعلية والارتباط .

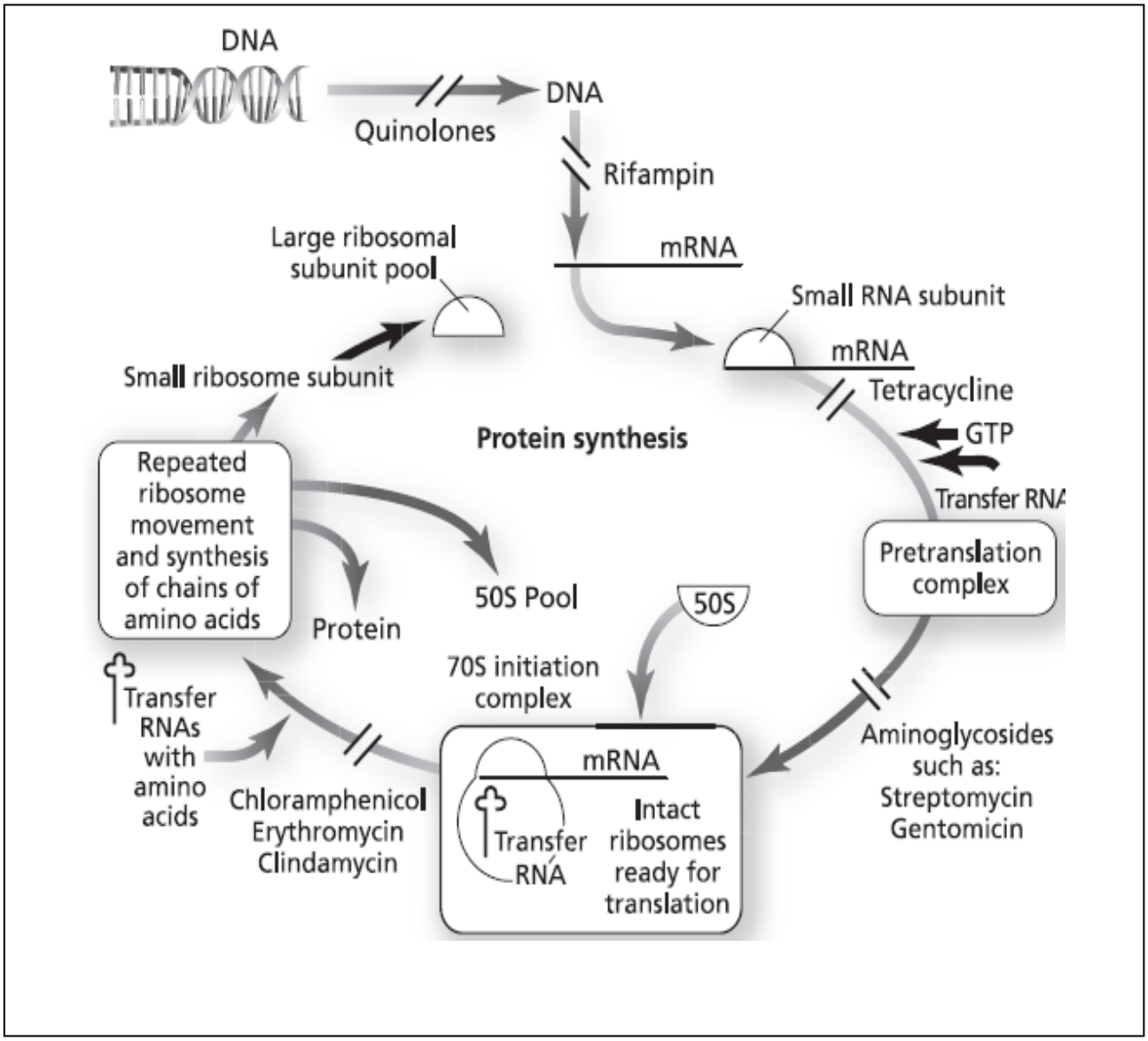


Figure-5: Different antibiotics interfere with different stages of protein synthesis to fight bacteria.

4. المضادات الجرثومية العاملة على تثبيط تصنيع الاحماض النووية Inhibition of nucleic acid synthesis (EX : Rifampicin , sulfa group , Trimethoprim , quinolones)

اغلبها تكون من النوع Bacteriostatic لكون اي اختلاف على مستوى القواعد النتروجينية معناه تغيير المعلومات الوراثية وبالتالي تختلف الترجمة لاحقا. التأثيرات متنوعة منها:

أ – **Rifampicin** : يؤثر على تصنيع RNA من خلال ارتباطه بأنزيم RNA Polymerase

ب – مجموعة Quinolones: تُعد هذه المجموعة من المضادات الجرثومية ذات التأثير قاتل للبكتريا (Bactericidal)، تقوم هذه المجموعة بتثبيط تضاعف الحامض النووي DNA و ذلك بتداخلها مع فعل انزيم DNA gyrase وأنزيم Topoisomerase IV. تنتمي جزيئات DNA gyrases و type IV topoisomerase إلى فئة إنزيمات تسمى بـ Topoisomerases. هي انزيمات تعمل على تغير هيئة (Configuration) او التركيب البنيوي (Topology) للحامض النووي DNA دون احداث تغيير في تركيبة الاولي. تحتوي جميع الكينولونات المعتمدة سريريًا على حمض كاربوكسيلي في الموضع الثالث لهيكل الحلقة الأساسي (4-كوينولون). تمنع 4–quinolones تخليق الحمض النووي من خلال عملها المختص على جزيئات انزيماتDNA gyrases، والتي تتكون من اربع حدات فرعية وحدتين A وحدتين B، الوحدة A (gyrase A gene) له وظيفة تقطيع الشريط لمنع اللف الفائق (supercoiling) لخيوط الحمض النووي (DNA) أثناء فصل الاشرطة عند تكرار الشريطين الجديدين .(Replication) الوحدات الفرعية A هي موقع تأثير لـ 4–quinolones، مؤخرا تم تحديد هدف ثاني خاص للكوينولونات المفلورة fluoroquinolones الا وهو الانزيم المسؤول عن فصل الخلايا الوليدة بعد التكرار الذي اطلق عليه Topoisomerase IV. تأثير الكينولونات في البداية يكون مثبطا bacteriostatic ولكنه يصبح قاتلا bactericidal للبكتيريا عندما تصبح غير قادرة على إصلاح اضرار الحمض النووي. (**Figure-6**).

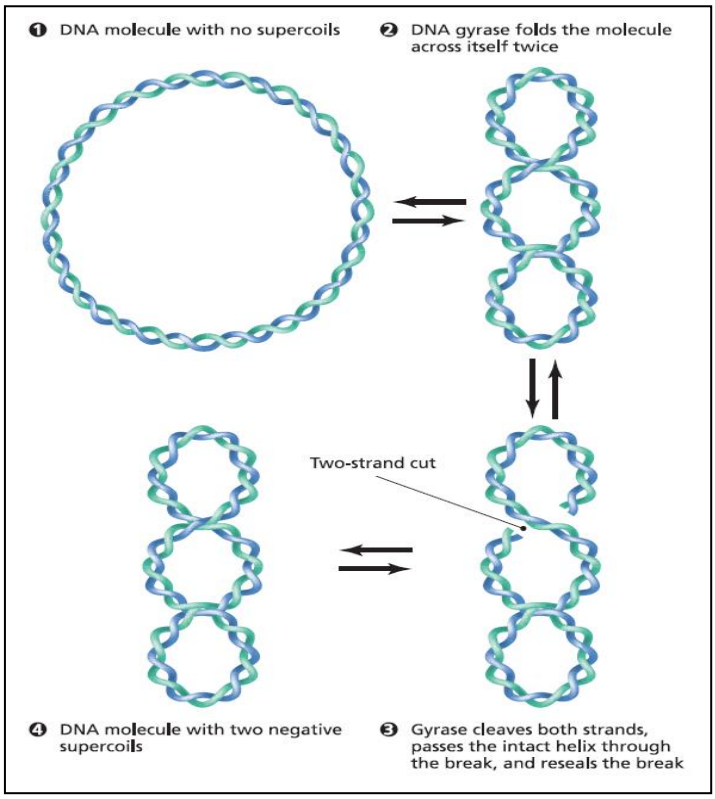
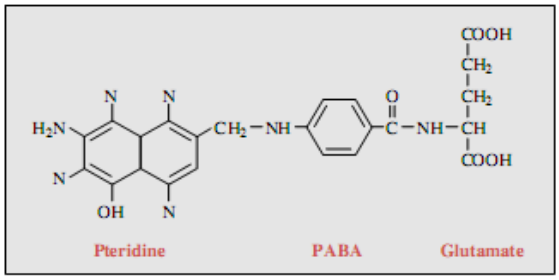


Figure-6: Mechanism of action of DNA gyrase, an *E. coli* DNA topoisomerase II required for DNA replication. Ciprofloxacin and related antibiotics prevent the resealing of the break in step 3.

ج – بعض المضادات الجرثومية ترتبط مع DNA ما بين حلقات الحلزون مما يؤدي الى عرقلة فك الحلزون اثناء التضاعف, وبعضها تتداخل مع ترابط القواعد النتروجينية المقابلة فتعيق انفصال الاشرطة عن بعضها.

د – مجموعة مضادات الفوليتFolate Antagonists تثبط هذه الأدوية خطوات في مسار التخليق الحيوي للفوليت (Folate biosynthesis pathway)، وتستنفد خزين النيوكليوسيدات و تؤدي في النهاية إلى تثبيط تخليق الحامض النووي في الكائنات الحساسة. لفهم الية العمل يجب فهم المسار الايضي لتصنيع حامض الفوليك الذي هو بادئ (Precursor) تصنيع القواعد النتروجينية الداخلة في تصنيع الدنا DNA. هناك عدة خطوات في هذا المسار, الذي يبدأ بمركب أولي Para-aminobenzoic acid الذي يرمز له (PABA) و يتفاعل مع مركب آخر يدعى Hydroxymethyl dihydropteridine بمساعدة الأنزيم Dihydropteroic acid synthetase ليعطي المركب الناتج Folic acid. الخطوة الاخرى تتمثل بتحويل حامض الفوليك الى مركب Tetrahydrofolic acid بمساعدة الأنزيم Dihydrofolate reductase, ومن ثم يحول المركب الناتج الى برمدينات Pyrimidines و بيورينات Purines و بعض الاحماض الامينية (Figure-7).



Folic acid and its component molecules

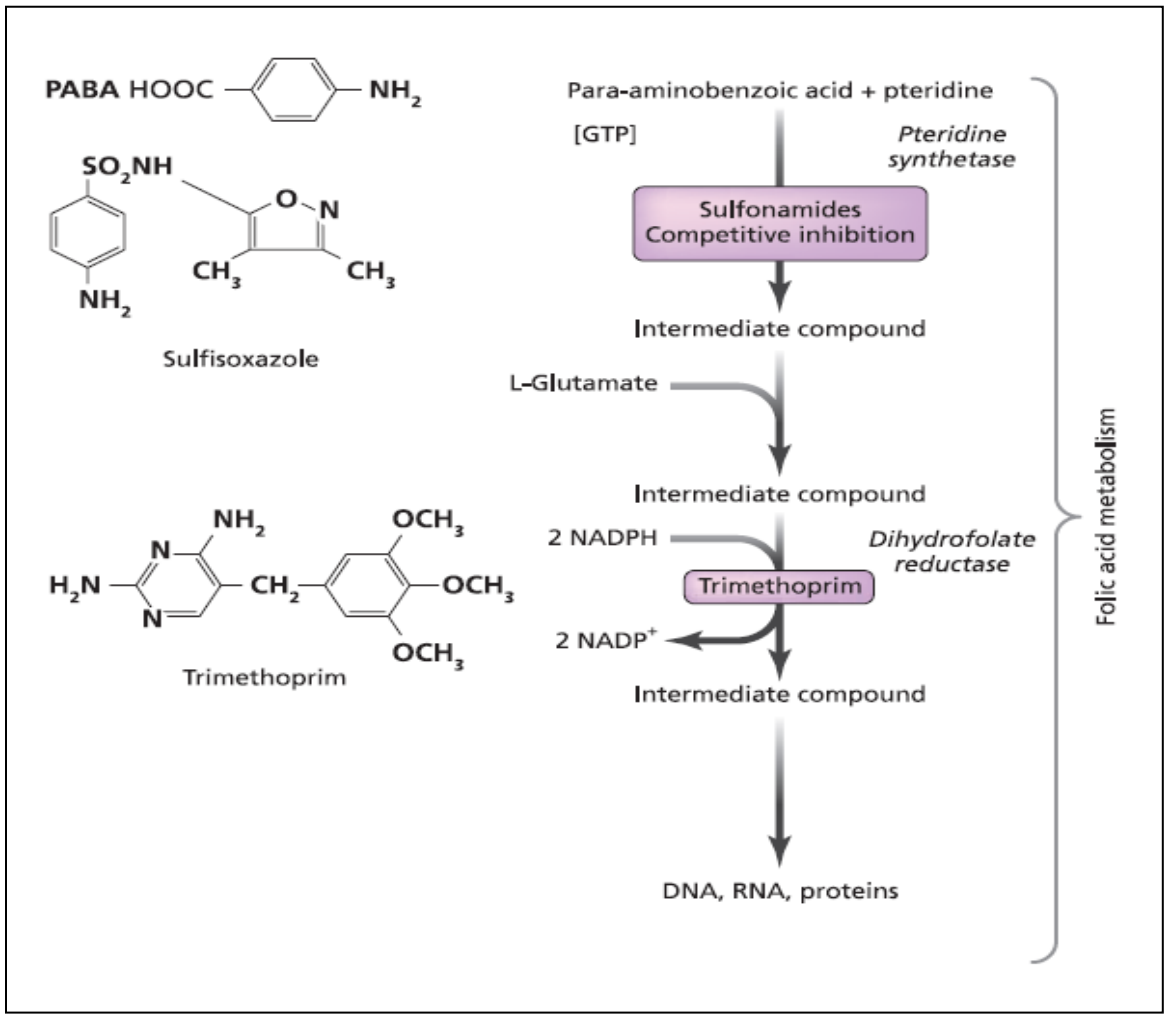
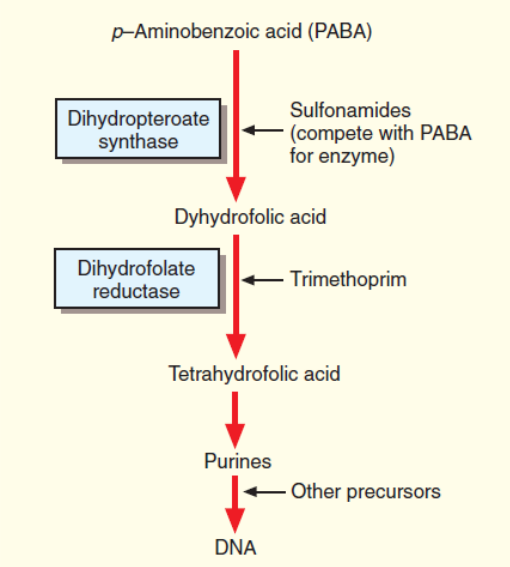


Figure-7: Sulfonamides and trimethoprim inhibit different steps in the synthesis of tetrahydrofolic acid. Note the similarity between PABA (top left) and sulfa a drug (directl below PABA).



مركبات Sulfa تتشابه تركيبا مع مركب Paraminobenzoic acid (PABA) الذي يدخل في المسار الايضي لتصنيع الفوليك Folic acid الي يعد بادئPrecursor لتكوين القواعد النتروجينية، يثبط المضاد الجرثومي Sulphanilamide (ومركبات السلفا الاخرى) عمل الانزيم الاول, في حين يثبط Trimethoprim عمل الانزيم الثاني. تعد هذه المضادات الجرثومية مثبطة لنمو البكتريا (Bacteriostatic) كلاً على حدة وفي حالة استعمال توليفه (عقار Co–trimoxazole) فأنها ستزيد من فعلها التثبيطي ضد البكتيريا بشكل اكبر مما لو استعمل المادتين كلاً على حدة.

Table 1. Summary of the mechanisms of action for different antibiotic classes

Antibiotic Class (Example)	Mechanism of Action
Aminoglycosides (Streptomycin)	Inhibit protein synthesis
Cephalosporins (Ceftazidime)	Inhibit cell wall synthesis
Chloramphenicol	Inhibit protein synthesis
Glycopeptides (Vancomycin)	Inhibit cell wall synthesis
Lincosamides (Clindamycin)	Inhibit protein synthesis
Macrolides (Erythromycin)	Inhibit protein synthesis
Penicillins (Ampicillin)	Inhibit cell wall synthesis
Oxazolidinones (Linezolid)	Inhibit protein synthesis
Quinolones (Ciprofloxacin)	Inhibit DNA synthesis
Rifamycins (Rifampin)	Inhibit RNA synthesis
Streptogramins (Synercid)	Inhibit protein synthesis
Sulfonamides (Sulfamethoxazole)	Inhibit a biochemical pathway (Folic Acid synthesis)
Tetracyclines (Doxycycline)	Inhibit protein synthesis

Table 2. Antibiotic Spectrum of Activity

Antibiotics that primarily work on Gram-positive bacteria:	
Bacitracin	Penicillin
Clindamycin	Vancomycin
Methicillin	
Antibiotics that primarily work on Gram-negative bacteria:	
Gentamicin	Polymixin B
Antibiotics that work on Gram-positive and Gram-negative bacteria:	
Ampicillin	Erythromycin
Carbenicillin	Streptomycin
Cephalosporins	Sulfonamides
Chloramphenicol	Tetracyclines
Ciprofloxacin	Trimethoprim
Antibiotics that work primarily on the acid-fast organism, *Mycobacterium tuberculosis*:	
Cycloserine	Isoniazid
Ethambutol	*p*-Aminosalicylic acid
Ethionamide	Pyrazinamide