

การออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะต่อเชื้อจุลินทรีย์

ชิตา ถาวรเศรษฐ์ ภบ.

ในปัจจุบันนี้ เราใช้ยาปฏิชีวนะ กัน อย่างกว้างขวางมากมายหลายประเภท ทางด้านผู้ผลิตก็พยายามแข่งขันกันเต็มที่ ที่จะผลิตยาปฏิชีวนะใหม่ๆ ออกสู่ตลาด ในขณะเดียวกัน เชื้อโรคก็ทวีการต้านฤทธิ์ยารุนแรงยิ่งขึ้น เราจึงอาจกล่าวได้ว่า เรื่องราวของยาปฏิชีวนะ กำลังก้าวไปอย่างรวดเร็วโดยไม่หยุดยั้ง นอกจากเรื่องราวอีกแขนงหนึ่ง ซึ่งยังต้องติดตามกันอยู่ อย่างช้าๆ ด้วยความยากลำบาก จำเป็นต้องใช้ความรู้สูง ความชำนาญ และความสามารถอย่างยิ่ง ในอันที่จะทำการทดลองค้นคว้า คือ "การออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะต่อเชื้อจุลินทรีย์" ความรู้อันนี้ได้มาจากการทดลองในระดับต่ำ อนุ โดยตนเอง เราจึงมีความรู้เรื่องนี้น้อยมาก หรือแต่เพียงการคาดคะเนคร่าวๆ ใดๆ ที่ ความรู้อันนี้จะให้ประโยชน์อย่างใหญ่หลวง ต่อทุกคนที่เกี่ยวข้องกับการใช้ยาปฏิชีวนะ ทั้งในงาน ค้นคว้าทดลอง และด้านการรักษาผู้ป่วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ใช้ยาปฏิชีวนะมากกว่า

หนึ่งอย่าง คบาคู่หรือติดต่อกันไปในการรักษา คนไข้ที่ป่วยด้วยเชื้อแบคทีเรียบางจำพวก ซึ่งมีการต้านฤทธิ์ยาปฏิชีวนะสูง เพราะจะทำให้เข้าใจเหตุผลว่ายานั้นๆ จะเสริมฤทธิ์ หรือต้านฤทธิ์กันและสามารถวินิจฉัยได้ว่าสมควรหรือไม่เพียงใด ในการที่จะให้ยาปฏิชีวนะทั้งสองแก่คนไข้

ในหัวข้อที่จะกล่าวถึงต่อไปนี้เป็น การประมวลเอาความรู้เกี่ยวกับการ ออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะต่อเชื้อจุลินทรีย์ ที่มีเหตุผลยอมรับกัน อยู่ในเวลานี้ไว้อย่างย่อๆ เนื่องจากมีเนื้อที่จำกัด และไม่อาจแสดงสูตรโครงสร้างอย่างสมบูรณ์ประกอบคำอธิบายได้

หากเราจะแบ่งยาปฏิชีวนะตามที่ๆ ของฤทธิ์ อาจแบ่งได้เป็น ๓ ประเภทใหญ่ๆ คือ

๑. ยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ต่อการสร้าง cell wall ของแบคทีเรีย
๒. ยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ต่อ cell membrane ของแบคทีเรียและเชื้อรา
๓. ยาปฏิชีวนะ ที่ ออกฤทธิ์ ต่อ การสร้าง

Nucleic acid และโปรตีนภายในเซลล์ของแบคทีเรีย

ยาปฏิชีวนะพวกแรก มี เพนนิซิลลิน และอนุพันธ์รวมทั้ง Cephalosporin ซึ่งมีสูตรโครงสร้างคล้ายคลึงกับ เพนนิซิลลิน, Bacitracin, Vancomycin, และ Ristocetin

ยาปฏิชีวนะพวกที่สอง มี polymyxins, colistin และ polyene antibiotics

ยาปฏิชีวนะพวกที่สาม เป็นยาส่วนใหญ่ที่ใช้กันน้อย เราอาจแบ่งออกเป็นประเภทย่อยๆ ตามที่ออกฤทธิ์ได้ คือ

๑. พวกที่มีผลต่อการสร้าง RNA มี Actinomycin D, Chromomycin, Mitomycin C, Negalomycin, Daunomycin, Olivomycin

๒. พวกที่มีผลต่อการสร้าง DNA มี Phenomycin, Mithramycin, Proflomycin, Streptonigrin, Novobiocin, Edeine, Griseofulvin

๓. พวกที่มีผลต่อการสร้างทั้ง DNA และ RNA มี Echinomycin, Tubercidin, Cordyapin

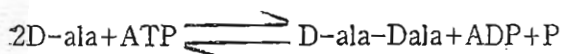
๔. พวกที่รบกวนการสังเคราะห์โปรตีน มี Puromycin, Cycloheximide, Tetracycline, Chloramphenicol ยาที่มีสูตรโครงสร้างคล้ายกับ Streptomycin และพวก aminoglycosidic อื่นๆ เช่น Danamycin, Neomycin, Genta-

micin และ Macrolide antibiotics

ส่วนสำคัญของ Cell wall ของเชื้อแบคทีเรีย ที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ยา คือ amino-sugars Acetyl glucosamine และ Acetyl muramic acid ซึ่งเป็น lactic acid ether ของตัวแรกที่ Acetyl muramic acid จะมี pentapeptide หรือ Tetrapeptide ต่ออยู่ซึ่งประกอบด้วย amino acid ต่างๆ คือ L-alanine, D-glutamic acid, L-lysine, D-alanine นอกจากนี้จะมี glycine cross bridge อยู่ระหว่าง peptide bond อีกที่ (๑,๕, ๑๔) โครงสร้างสามอย่างนี้คือ น้ำตาล, peptide bond, glycine bridge มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อแบคทีเรีย การสร้าง cell wall จะเป็นไปได้ก็ต่อเมื่อส่วนเหล่านี้ถูกสร้างและติดต่อกันอย่างเรียบร้อยไม่ขาดขวาง ยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ต่อการสร้าง cell wall ของแบคทีเรีย จึงจำเป็นต้องมีโครงสร้างคล้ายคลึง หรืออาจทดแทนกันได้กับโมเลกุลเหล่านี้ ถ้าเป็น cell wall ของ Gram-negative แบคทีเรีย ก็จะมีโครงสร้างที่ซับซ้อนมากขึ้นมี lipid ประมาณ ๒๐% ส่วน mucopeptide ก็คล้ายคลึงกับใน Gram-positive แบคทีเรีย (๔)

ใน Fig ๑ ถ้าหากเราติดตามวิธีการสร้าง cell wall ของ bacteria ดังแสดงจะพบว่า อยู่ระยะหนึ่งที่ amino acid D-ala จะเข้าไป

เพื่อให้ได้ pentapeptide ดังได้กล่าวข้างต้น ใน การจำเป็นต้องอาศัย enzyme เร่งปฏิกิริยา จาก L-alanine D-alanine คือ alanine racemase จากนั้นก็สร้าง dipeptide โดย enzyme D-alanyl - D-alanine synthetase



ปฏิกิริยานี้สำคัญเพราะยาปฏิชีวนะ D-cycloserine เป็น true competitive antagonist ของ enzyme ทั้งสองที่เกี่ยวข้องใน D-alanyl - D-alanine synthesis (1,2,3,13,14,15) ถ้าพิจารณาจากโครงสร้าง D-cycloserine และ D-alanine จะเห็นว่ามีส่วนคล้ายคลึง และ ลักษณะร่วมกันอยู่มาก เช่นมีตำแหน่ง carbonyl group และ amino group ที่เดียวกัน

เป็นที่ยอมรับกันว่า D-cycloserine ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรีย เนื่องจากสูตรโครงสร้างไป พ้องเข้ากับ D-alanine ในบางลักษณะ ซึ่งจำเป็นต่อการเข้าทำปฏิกิริยาของ enzyme ดังกล่าวมาแล้ว ยาปฏิชีวนะตัวนี้มีข้อสังสัยน้อยที่สุดใน เรื่องการออกฤทธิ์

หากเราจะกล่าวถึงวิธีการออกฤทธิ์ ของปฏิชีวนะจำพวกที่มีผลต่อการสร้าง cell wall ของแบคทีเรีย ตามลำดับขั้นในขบวนการสร้าง cell wall ยาปฏิชีวนะที่จะกล่าวถึงเป็นตัวที่สอง และที่สามคือ Vancomycin และ Ristocetin

ในที่นี้จะจดเว้นไม่กล่าวถึงรายละเอียดอื่นๆของ ยาปฏิชีวนะทั้งหมด นอกเสียจากเกี่ยวกับวิธีการออกฤทธิ์ โดยย่อเท่านั้น

Vancomycin และ Ristocetin (1,2,3, 15) เป็นยาปฏิชีวนะประเภท glycopeptide โมเลกุลขนาดใหญ่ น้ำหนักโมเลกุลประมาณ ๓๕๐๐ โดยเหตุนี้จึงออกฤทธิ์เป็น specific inhibitors ในการสร้าง linear glycopeptide ที่ cell wall ซึ่งต้องอาศัยการ transfer โดย phospholipid โดยเกิด disaccharide (pentapeptide) P-phospholipid ขึ้นและจากการทดลองสามารถพบสารตัวนี้ได้ Vancomycin และ ristocetin โครงสร้างมีทั้ง amino acid และ sugars มีลักษณะเป็น glycopeptides จึงเข้าใจว่าการออกฤทธิ์จึงเป็นด้วยเหตุนี้คือ รูปร่างเป็น structural analogur คือ substrate ในการสร้าง cell wall หากพิจารณาควบคู่ไป กับขบวนการสร้าง cell wall ของแบคทีเรีย ตาม Fig 1 แล้วจะเข้าใจปฏิกิริยาขัดขวางของ ยาปฏิชีวนะสองตัวนี้ได้แจ่มชัดยิ่งขึ้น

Penicillin (1,2,3,5,6,7,10,11,12,15, 17,19) ตั้งแต่ปี 1956 Lederberg ได้ทดลองให้ทราบว่า เพนนิซิลลินมีฤทธิ์ต่อการสร้าง cell wall ของเชื้อแบคทีเรีย โดยจะได้เชื้อ E. coli รูปร่างกลม หลังจากให้ถูกกับเพนนิซิลลิน และ

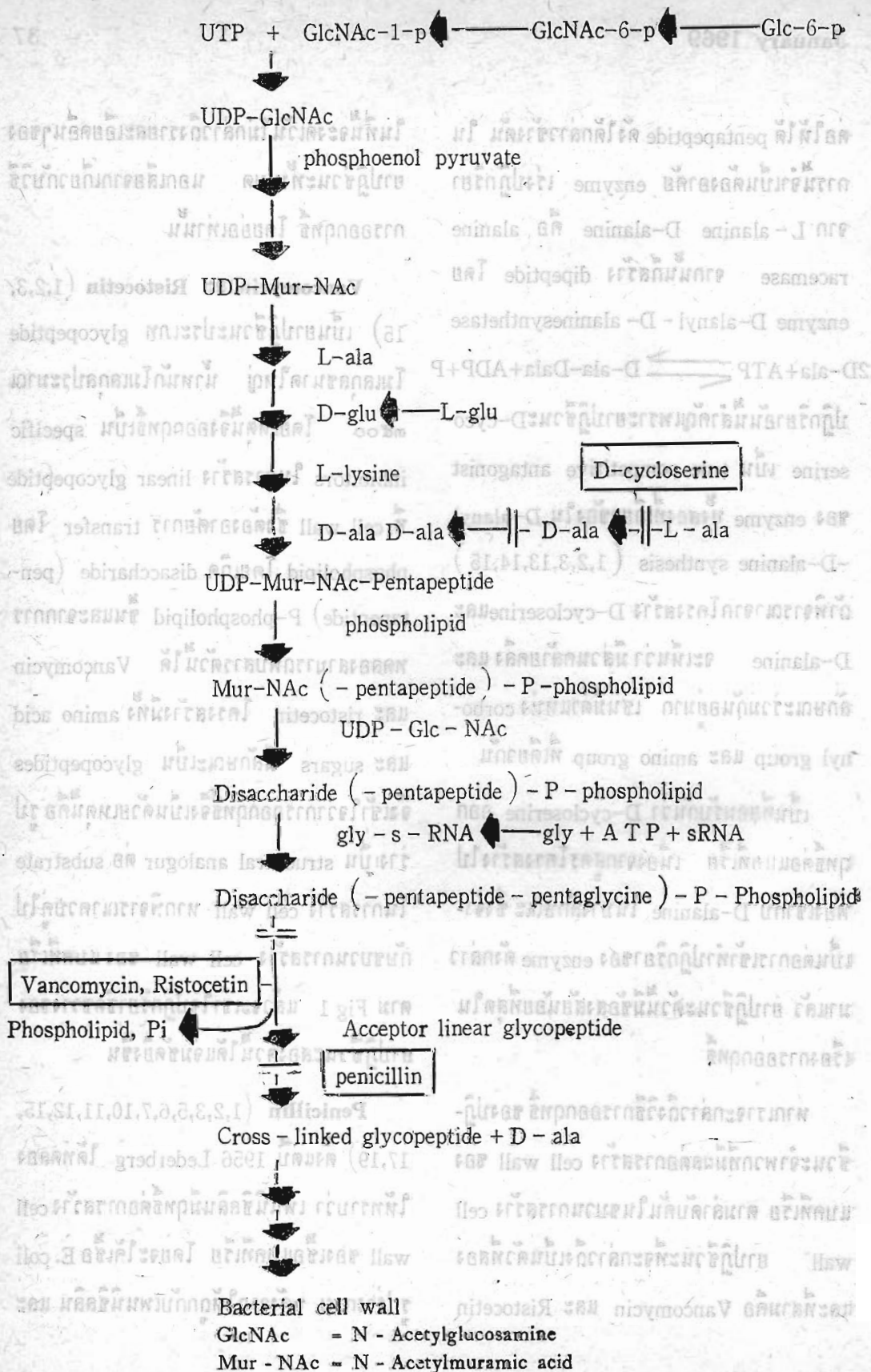


Fig. 1 ลำดับการสร้าง cell wall และการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ คัดแปลงจาก (1)

มีลักษณะอย่างเดียวกับปรากฏการณ์ที่แบคทีเรียถูกทำลาย cell wall โดย lysozyme การที่เชื้อยังคงรูปอยู่ได้เพราะเลี้ยงใน Hypertonic broth ครั้นเมื่อล้างเพนนีซิลลินออกก็จะได้เชื้อรูปร่างเป็นท่อนๆ เจริญขึ้นมาใหม่ แสดงว่าเพนนีซิลลินมิได้ออกฤทธิ์ต่อ Protoplast และ Protoplast นี้จะเจริญมีขนาดโตขึ้นอีกได้ ทำให้ไม่อาจคงรูปร่างอยู่ได้เพราะขาด cell wall เซลล์แตกออก แบคทีเรียก็จะตาย ในการที่เรามีความรู้เรื่องการ ออกฤทธิ์นี้ ทำให้เรา ทราบว่า chloramphenicol จะต้านฤทธิ์เพนนีซิลลินโดยเหตุที่ chloramphenicol จะมีฤทธิ์ห้ามการสังเคราะห์โปรตีน ถ้าให้ chloramphenicol protoplast ก็จะไม่เจริญต่อไป แบคทีเรียก็จะไม่ตาย

เนื่องจากเหตุที่ว่า เชื้อแบคทีเรียยังคงมีชีวิตอยู่ได้ในบางสภาวะ แม้เมื่อถูกทำลาย cell wall แล้ว การรักษาด้วยยาเพนนีซิลลินบางกรณีก็จะล้มเหลว ถ้าเชื้อแบคทีเรียอยู่ในส่วนซึ่งมี medium เป็น hypertonic เช่นใน renal medulla หรือแม้แต่ใน purulent accumulations (1) มีผลการทดลองรายงานว่ายาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ต่อการสร้าง cell wall ของแบคทีเรียเช่น เพนนีซิลลิน และ cephalothin ไม่อาจยับยั้งการเจริญเติบโตของ L-phase แบค

ทีเรียในหลอดแก้วได้ (16)

การออกฤทธิ์ของ เพนนีซิลลิน เชื่อกันว่าอยู่ในขั้นสุดท้าย ซึ่งเป็น transpeptidation reactions และทำให้เกิด Glycine crossbridge มี cross links ระหว่าง polypeptide side chains โดยที่ลักษณะโครงสร้างของ เพนนีซิลลินบางส่วนไปพ้องกับโครงสร้างของ D-alanyl-D-alanine ที่จับกันอยู่ในลักษณะหนึ่ง เพนนีซิลลินจึงไปทำปฏิกิริยากับ enzyme transpeptidase แทน D-alanyl-D-alanine เกิดเป็น Penicilloyl enzyme การที่เกิดปฏิกิริยาขึ้นเพราะ amide bond ที่ B-lactam ring ของเพนนีซิลลิน equivalent กับ peptide bond ของ D-alanyl-D-alanine เมื่อ fix กับ enzyme transpeptidase โดยที่ลักษณะโครงสร้างของ D-alanyl-D-alanine ในลักษณะหนึ่งจะเหมือนกับเพนนีซิลลิน ในเวลาที่ปลาย D-alanyl-D-alanine ของส่วน acetyl muramyl pentapeptide จับแน่นที่ substrate binding site ของ enzyme transpeptidase เนื่องจากเพนนีซิลลิน มี ring บังคับอยู่จึงมีลักษณะเช่นนี้ fix อย่างเดียวผิดกับ D-alanyl-D-alanine ซึ่งหมุนไปได้หลายลักษณะ เพราะฉะนั้นเพนนีซิลลิน จึงมีโอกาสมากกว่าที่จะรวมตัวเข้ากับ enzyme transpeptidase ซึ่งปกติ

ช่วยเร่งปฏิกิริยาการแตกของ D-alanyl - D-alanine bond ทำให้กลายเป็น penicilloyl enzyme (เป็นละอย่างกับ enzyme penicillinase) และ B-lactam ring ของเพนิซิลลินก็จะเปิดออก ฉะนั้น enzyme transpeptidase จะถูก inactivate ไม่ได้ทำหน้าที่ transpeptidation ทำให้เซลล์สังเคราะห์ glycopeptide ที่ disorganized เกิด excess of free (non cross linked) terminal glycine และ D-alanine เมื่อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน จะเห็น fibrous material เป็น localized mass ระหว่าง membrane และ wall

ที่ๆ penicillin ไปรวมตัวเรียก "penicillin binding component" (PBC) เป็นส่วนโปรตีนของ Lipoprotein complex อยู่ที่ด้านนอกของ cell membrane ส่วนอนพันธ์ของ penicillin และยาปฏิชีวนะอื่นๆ ที่มีลักษณะโครงสร้างคล้ายคลึงกับ penicillin เช่น cephalosporin การออกฤทธิ์ก็ควรจะเป็นไปโดยลักษณะเดียวกัน คือถือเป็น analogs ของ D-alanyl-D-alanine ใน acetylmuramyl pentapeptide เรื่องการออกฤทธิ์ของ penicillin นักวิทยาศาสตร์ต่างก็คาดว่าคงใกล้เคียงเวลาแล้วที่

เราจะสรุปผล การออกฤทธิ์ ของ ยา penicillin ได้อย่างมีเหตุผล

แต่ยังมีข้อสังเกตบางประการ เกี่ยวกับการออกฤทธิ์ของ เพนิซิลลินวิธีนี้ ซึ่งยังไม่อาจอธิบาย Zone phenomenon อันเป็นปรากฏการณ์ที่ เพนิซิลลิน จะฆ่า แบคทีเรียที่ความเข้มข้นของยาต่ำๆ ได้เร็วกว่าความเข้มข้นสูงๆ และยังไม่อาจอธิบาย การที่เพนิซิลลิน สามารถทำลาย ห้ามการเจริญเติบโตของเชื้อ Mycoplasma* ที่ไม่มี cell wall เพราะฉะนั้น แม้นักวิทยาศาสตร์ส่วนใหญ่เข้าใจว่า อาจสรุปผลการออกฤทธิ์ของเพนิซิลลิน ต่อ cell wall ของแบคทีเรียได้แล้ว ก็ยังมีเรื่องที่จะต้องทดลองค้นคว้าต่อไปอีก

The Bacitracins (20,21,22)

มีผู้รายงานว่า จะขัดขวางการสร้าง cell wall (21) และทำให้เกิด protoplast มีการ accumulation ของ cell wall precursors แต่ผิดกับ penicillin และ cycloserine ที่ bacitracin จะห้ามการเจริญของ protoplast (20)

ยา bacitracin มีผลหลายอย่างต่อเซลล์ มีผู้ suggest ว่าทำให้เปลี่ยน permeability ของ membrane ด้วย (22)

* Mycoplasma Inhibited by Penicillin. J. Bact. 93 : 185, 1967.

ยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ต่อ Cell membrane

ลักษณะ cell membrane เป็น lipid rich protoplasmic membrane มีลักษณะทางเคมีต่างจาก cell wall และเชื้อต่างกัน จะมีคุณสมบัติ antigenic ต่างกัน คุณสมบัติที่สำคัญอีกอย่างคือ เป็น permeability barrier และมีหน้าที่ควบคุมส่วนประกอบภายในเซลล์

Polymyxins (23,24,25,26,32,15) ยังไม่รู้จักถึง binding sites ของยา colistin และ polymyxins แต่เข้าใจว่าที่ binding site ต้องมีลักษณะ anionic เพราะว่าพวก cations ที่มีวาเลนซ์สูงจะเข้าไปแย่ง รวม ตัวกับ binding site นี้ทำให้มีฤทธิ์ต้านยาได้ ถ้าพิจารณาสูตรโครงสร้างของ polymyxins จะพบว่าลักษณะเป็น cyclic polypeptide มี cationic amino groups มากและมีส่วนที่รวมกับ hydrophobic side chain of Ca fatty acids ทำให้มีคุณสมบัติเป็น cationic detergent ทำอันตราย membrane ของแบคทีเรียซึ่งเราทราบได้หลายทางคือ ความขุ่นลดลง และการที่พบสารภายใน cell ออกมาอยู่ภายนอก

การย้อมสี fluorescent โดยใช้สีที่จับกับโปรตีนทำให้ได้ยา polymyxin ที่เป็น fluorescent derivative จะพบว่าเมื่อ ผสมแบคทีเรียสีก็จะไปออกกันหนาแน่นบริเวณ cell mem-

brane และทำให้เห็น cell lysis.

Polyene antibiotics (15,27,28,29,30,31)

Nystatin และ Amphotericin B ใช้เฉพาะกับราเท่านั้น เชื่อกันว่า sterols ที่ membrane เป็น binding site ของ polyenes การเกิดปฏิกิริยากันทำให้ผนัง membrane แตก ส่วนแบคทีเรียไม่มี sterol จึงใช้ยาพวกนี้ไม่ได้ ผลกับแบคทีเรีย

ยาที่มีผลต่อการสร้าง Nucleic acid และโปรตีน

Actinomycin D (33,39,53) เป็นยาปฏิชีวนะที่จะ inhibit การสร้าง RNA ในเชื้อจุลินทรีย์และใน mammalian cell โดยที่มีการทดลองโดยใช้ RNA Virus และ DNA Virus Actinomycin จะลดการเจริญของ DNA virus แต่ไม่มีผลต่อ RNA virus แสดงว่า actinomycin จะออกฤทธิ์เฉพาะการสร้าง RNA ที่สร้างโดยตรงจาก DNA ของมันเอง (DNA-dependent RNA-Synthesis) ส่วน RNA virus นั้นต้องการ formation ของ RNA อันใหม่โดยใช้ entering virus DNA เป็น template

ในการทดลองพบว่า Actinomycin จะลดการสร้าง DNA ใน intact cell ด้วยแต่น้อยกว่า RNA

Binding site ของ Actinomycin ที่ DNA เข้าใจว่าอาจเกี่ยวข้องกับบางประการต่อผิวหน้าของ Template ที่ RNA polymerase ออกฤทธิ์

ยาปฏิชีวนะที่ห้ามการสังเคราะห์ DNA

ตัวสำคัญที่จะกล่าวถึง คือ Mitomycin C, Novobiocin Mitomycin C เป็นยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบบที่ร้ายแรง cytotoxic และเป็น mutagenic agent

Mitomycin C (33,40,41,42) จะมีฤทธิ์ห้ามการสังเคราะห์ DNA ในเซลล์จุลินทรีย์ที่ไวต่อยา และทำให้ DNA แตกทำลายลง อันนี้เป็นแต่ในเชื้อโรคบางอย่างไม่ใช่เชื้อโรคทั้งหมด ถ้าหากมียาอยู่ในความเข้มข้นสูง การสร้าง RNA และโปรตีนก็จะลดลงด้วย

lethal effect ของ mitomycin C เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ DNA ทำให้ป้องกันการเกิด replication และที่ถูกชักนำโดย activated alkylating agent

Novobiocin (33,37,38) พบว่าการห้ามการสังเคราะห์ DNA โดยจะขัดขวาง DNA polymerization และออกฤทธิ์ต่อ enzyme DNA polymerase ใน extract เมื่อเราเติม DNA ลงไป จึงไม่กระทบกระเทือนผลของยา Novobiocin ส่วนการสังเคราะห์ RNA Novobiocin จะมีผลห้ามการสังเคราะห์เช่นกัน แต่น้อย

กว่า ผลอีกอย่างหนึ่งของยาดังนี้ คือ จะทำให้เปลี่ยน permeability การที่ทำให้เชื้อโรคตาย เพราะเชื้อโรคง่ายเจริญโดยที่ DNA น้อยลง

Griseo fulvin (53,36) เป็นยาปฏิชีวนะอีกตัวหนึ่งซึ่งมี structure คล้าย purine nucleotide จึง block DNA synthesis เข้าใจว่าจะ inhibit การ replication เนื่องจากยาดังนี้ใช้เฉพาะราเท่านั้น จึงยังมีข้อสงสัยอยู่มากในการออกฤทธิ์

ยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ต่อการสังเคราะห์โปรตีน

ยาปฏิชีวนะที่สำคัญที่จะกล่าวถึงการออกฤทธิ์แต่โดยย่อคือ Puromycin, Tetracycline, Chloramphenicol, Macrolides และ Streptomycin group

Paromycin (33,43,44,45,46,47,53,62,63) เป็นยาปฏิชีวนะที่ไม่มี selective toxicity จะห้ามการเจริญเติบโตของ algae, protozoa และ mammalian cell ด้วย

ในคัมภีร์ที่สกัดออกมาทดลอง Yarmolinsky พบว่า puromycin จะห้ามการสังเคราะห์โปรตีน การกลอกฤทธิ์อยู่ที่ทำให้ปล่อย polypeptide chain ที่ยังไม่สมบูรณ์ออกมาจากไรโบโซม จึงป้องกันไม่ให้มีการสังเคราะห์โปรตีนต่อไป

ลักษณะโครงสร้างโมเลกุลของ puromycin คล้ายคลึงกับ amino acid charged end of s-RNA เข้าใจว่าการออกฤทธิ์ขึ้นกับการเป็น metabolic analogue โดยที่ puromycin เป็น analogue ของ terminal group ของ phenylalanyl t-RNA ก็จะไปแย่งที่ของ t-RNA อันนี้ที่ไรโบโซม แล้วจะ condense เป็น peptide ต่อๆ ไป แต่เพราะว่ามีส่วนอื่น ๆ ที่ไม่ถูกต้องทำให้จับกับ ไรโบโซมได้ ไม่แข็งแรง peptide chain สั้น ๆ ก็จะหลุดออกมา ที่ปลาย ก็จะเป็น puromycin ผลที่เกิดขึ้นทำให้การสังเคราะห์โปรตีน ไม่สมบูรณ์ยิ่งกว่าการห้ามการสังเคราะห์โปรตีนโดยแท้จริง

เรื่องที่นาสนใจอีกอย่าง คือ puromycin ในบางขนาดเมื่อให้จะห้ามการสังเคราะห์ cerebral protein ทำให้มีผลกระทบกระเทือนต่อความจำในหนู และทำให้ neuronal mitochondria พอง ซึ่งผลประการหลังนี้เกี่ยวข้องกับ การออกฤทธิ์ต่อการสังเคราะห์ ribosomal protein คือ peptidyl puromycin complex อันเป็นสาเหตุที่ทำให้ mitochondria พองตัว

หากติดตามต่อไปจะพบว่า puromycin, chloramphenicol และ tetracycline จะออกฤทธิ์ห้ามการสังเคราะห์โปรตีนในระดับเดียวกัน ในการนำ amino acid จาก s-RNA ไปทำ

ให้เกิด polypeptide ที่ไรโบโซม แต่โดยวิธีการผิดกัน

Tetracycline (33,48,49,50,51,52,53,54)

พบว่าขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีน ตั้งแต่ 1953 ต่อมาพบว่าออกฤทธิ์เหมือน chloramphenicol ในข้อที่ว่า ขัดขวางการนำ amino acid จาก amino acyl s-RNA ไปสร้าง polypeptide ที่ ไรโบโซม ปัจจุบันนี้ยังไม่ทราบชัดเจนเกี่ยวกับการออกฤทธิ์ของ tetracycline ยิ่งกว่านั้น tetracycline ยังมีฤทธิ์เป็น chelating agent ด้วยโดยผลการทดลองกับ Mg^{++} ใน extracts tetracycline จะขัดขวางการที่ charged t-RNA จะจับกับ ไรโบโซม ความเชื่อที่ปัจจุบันยังไม่อาจชี้แจงลงไปได้ว่า tetracycline ทำปฏิกิริยาอย่างไรจึงบ่อนกัน การที่ charged t-RNA จะจับกับ ไรโบโซมได้

Chloramphenicol (33,53,55,56,57,58,59)

เนื่องจากมี structure ง่าย ๆ ก่อนหน้านี้ได้มีผู้เสนอว่า อาจเป็น analogue ของ metabolite บางตัว ต่อมาก็มีผู้เสนอว่า จะขัดขวางการทำงานของ m-RNA ปัจจุบันนี้เราทราบว่าการที่ tetracycline และ chloramphenicol จะขัดขวางการสร้าง polypeptide ที่ไรโบโซมเหมือนกันแต่ด้วยวิธีการต่างกัน คือส่วนใหญ่เชื่อกันว่า

chloramphenicol จะจับกับไรโบโซมที่ 50S subunit ส่วน tetracycline ไปขัดขวางการที่ charge t-NRA จะจับกับไรโบโซม การออกฤทธิ์ที่ 50S subunit ของไรโบโซมมีผลให้การสร้าง peptide bond ทำไม่ได้ จึงทำให้ chloramphenicol ต้านฤทธิ์กับ puromycin

The Macrolides (Erythromycin, Carbomycin, Oleandomycin, Spiromycin.)

Erythromycin (53,59)

พบว่าห้ามการสังเคราะห์โปรตีนใน E. coli ที่เลี้ยงไว้แต่ไม่ได้ห้ามการสังเคราะห์ nucleic acid

ในเร็ว ๆ นี้พบว่า Erythromycin จะจับกับ 50S ribosomal subunit ทำให้ไปยับยั้งการสังเคราะห์ polypeptide โดยมีส่วนโครงสร้างของน้ำตาลเป็นสำคัญ

Lincomycin (59) จะไปแทนที่ Erythromycin จับกับไรโบโซมได้ เข้าใจว่า Macrolide โมเลกุลและ peptidyl-t-RNA โมเลกุลจะทำปฏิกิริยาจับกับ 50S ribosomal subunit ที่เดียวกัน โดยที่ส่วนของโครงสร้างน้ำตาลเป็นสำคัญที่ละม้ายคล้ายคลึงกัน เชื่อว่าการออกฤทธิ์เป็นอย่างเดียวกับ Erythromycin

พบว่า Chloramphenicol ไม่ขัดขวางการออกฤทธิ์ของ Erythromycin และ Lincocin ในกลุ่มคนที่เข้าใจว่ามันออกฤทธิ์ที่ 50S subunit

อธิบายว่า binding site ที่ 50S subunit ต่างที่กัน

Streptomycin group (33,53,60,61,62)

(Streptomycin, Kanamycin, Neomycin, Gentamycin) พบว่าออกฤทธิ์โดยทำปฏิกิริยากับไรโบโซมที่ 30S subunit ทำให้ misreading ได้ abnormal peptide

การออกฤทธิ์ทำให้เกิดผลสองอย่าง คือ

1. ห้ามการสังเคราะห์โปรตีน
 2. ทำให้ cell membrane เกิด damage
- อธิบายได้ว่า miscoding ทำให้ abnormal peptide ที่ค้างอยู่ไม่ผลต่อ cell membrane นอกจากการที่มีโมเลกุลมี cationic group มากก็อาจไปทำปฏิกิริยาที่ anionic site ที่ membrane ด้วย

มีการทดลองพบว่า Streptomycin เสริมฤทธิ์กับ puromycin ปฏิกิริยาที่ 30S subunit ของไรโบโซมเป็นปฏิกิริยาสำคัญ ทำให้ streptomycin เสริมฤทธิ์กับ puromycin ได้

สรุป

การออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ ต่อเชื้อจุลินทรีย์มีสามพวกใหญ่ ๆ

1. ห้ามการสังเคราะห์ cell wall เนื่องมาจากสูตรโครงสร้างของยาพวกนี้เป็น analogues ของสารต่าง ๆ ที่จำเป็นต้องใช้ในการสร้าง cell

cell wall การออกฤทธิ์จึงเป็น competitive inhibition ยาจำพวกนี้มี D-cycloserine, Ristocetin, Vancomycin, Penicillin.

2. ยาที่มีฤทธิ์ต่อ cell membrane ยาปฏิชีวนะพวกนี้จะไปรวมตัวกับ binding site ที่ membrane ทำให้เกิด membrane damage มี Polymyxins, Colistin และ Polyene antibiotics.

3. ยาที่มีฤทธิ์ต่อการสังเคราะห์ Nucleic acid และโปรตีน ยาพวกนี้มีผลต่อการสร้าง Nucleic acid ส่วนใหญ่เป็นยาปฏิชีวนะที่ใช้ในด้านค้นคว้า ทดลอง ทาง genetics ส่วนยาที่ได้กล่าวถึงนั้น การออกฤทธิ์มักอยู่ที่ Template และเกี่ยวกับการ replication มี actinomycin D, Mitomycin C, Griseofulvin, ส่วน Novobiocin จะออกฤทธิ์กับ enzyme DNA polymerase

พวกที่มีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีนโดยตรง ยกเว้น Puromycin ซึ่งจะออกฤทธิ์ต้านการสังเคราะห์โปรตีน โดยสูตรโครงสร้างคล้าย amino acyl t-RNA แล้ว ส่วนใหญ่จะมีปฏิกิริยากับไรโบโซมส่วนต่าง ๆ เช่น Streptomycin มีปฏิกิริยาที่ 30S subunit ทำให้เกิด miscoding ได้ abnormal protein พวก Macrolides antibiotics ก็มีปฏิกิริยากับ 50S

subunit ของไรโบโซม รวมทั้ง chloramphenicol อีกตัวซึ่งส่วนใหญ่เชื่อว่ามีปฏิกิริยาที่

50S subunit เหมือนกัน สำหรับ tetracycline ที่ออกฤทธิ์ยังเป็นที่ถกเถียงกันอยู่

ขอขอบคุณ

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ กัมพล พันธุ์อาผล และ Dr. C. Evans Roberts Jr. ในการแนะนำและตรวจต้นฉบับ.

References

1. Strominger, J.L., Tipper, D.J., Bacterial cell wall synthesis and structure in relation to the mechanism of action of penicillins and other antibacterial agents. American Journal of Medicine 39:708-719, 1965.
2. Sanders, E and Cluff, L.E. Mechanism of Action of Antimicrobial agents. Pediatric Clinics of North America 15:3-11, 1968.
3. Carter, W., and Mc Carty, K.S.: Molecular mechanism of antibiotic action: Ann. Int. Med. 64:1087, 1966.
4. Austrian, R., Symposium on antibiotics. The American Journal of Medicine, 39:699, 1965.
5. Strominger, J.L., Park, J.T. and Thompson, R.E. Composition of the cell wall of staph. aureus: its relation to the mechanism of action of penicillin J. Biol. Chem., 234:3263, 1959.
6. Park, J.T. and Strominger, J.L. Mode of action of Penicillin, a biochemical basis for the mechanism of action of Penicillin and for its selective toxicity. Science, 125:99, 1957.

7. Nathenson, S.G. and Strominger, J. L. Effects of Penicillin on the biosynthesis of the cell walls of *Staph. aureus* and *Escherichia coli*. *J. Pharmacol. & Exper. Therap.*, 131:1, 1961.
8. Mandelstam J. : Preparation and properties of the mucopeptides of cell walls of Gram negative Bacteria. *Biochem. J.* 84:294 1962.
9. Park, J.T., Uridine 5'-pyrophosphate derivatives I. Isolation from *Staph. aureus*. *J. Biol. Chem.*, 194:877-884, 1952.
10. Park, J.T, Uridine-5' pyrophosphate derivatives II. A structure common to three derivatives. *J. Biol. Chem.*, 194: 885-894, 1952.
11. Strominger, J.L Microbial uridine-5' pyrophosphate N.-acetyl amino sugar compounds I. Biology of the penicillin induced accumulation *J. Biol. Chem.*, 244:509, 1957.
12. Strominger, J.L. Accumulation of uridine and cytidine nucleotides in *Staphylococcus aureus* inhibited by gentian violet. *J. Biol. Chem.*, 234:1520, 1959.
13. Neuhaus, F.C. : and Lynch, J.L. The enzymatic synthesis of D-alanyl-D-alanine III. On the inhibition of D-alanyl-D-alanine synthetase by the antibiotic D-cycloserine. *Biochemistry* 3:471, 1964. Cited by Strominger and Tipper.
14. Neuhaus, F.C.-1968. Selective inhibition of enzymes utilizing alanine in the biosynthesis of peptidyl glycan. *Antimicrobial Agents and chemotherapy* - P. 304 - 313, 1967.
15. Feingold, D.S. Antimicrobial chemotherapeutic Agents: the nature of their action and selective toxicity. *New Eng. J. Med.* 269: 900, 1963.
16. Kagan B.M. et. al. Sensitivity of coccal and L-phase forms of *Staph. aureus* to five antibiotics. *Journal Bact.* 88 : 630 - 632, 1964.
17. Tipper, D.J. and Strominger, J.L. Mechanism of action of penicillins : a proposal based on their structural similarity to acyl-D-alanyl-D-alanine. *Proc Nat. Acad. Sc.*, in press. Cited by Strominger+Tipper.
18. Perkins, H. R. Chemical structure and biosynthesis of bacterial cell walls. *Bact. Rev.* 27 : 18-15, 1963.
19. Cooper, P.D. Site of action of radio-penicillin. *Bact. Rev.*, 20:29, 1965.
20. Shockman, G.D., and Lampen, J.O. [Inhibition by antibiotics of growth of bacterial and yeast protoplasts. *J. Bact.* 84 : 508-512, 1962.
21. Mandelstam, J., and Rogers, H.J. Incorporation of amino acids into cell wall mucopeptide of *Staphylococcus* and effect of antibiotics on process. *Biochem. J.* 72 : 654-662, 1959.
22. Smith, J. L., and Weinberg, E. D. Mechanism of antibacterial action of Bacitracin, *J. Gen. Microbiol.* 28 : 559-569, 1962.
23. Newton, B. A. Release of soluble constituents from washed cells of *Pseudomonas aeruginosa* by action of polymyxin. *J. Gen. Microbiol.* 9:54-64, 1953.
24. Newton, B.A. Site of action of polymyxin on *Pseudomonas aeruginosa*: antagonism cations. *J. Gen. Microbiol.* 10:491-499, 1954.
25. Newton, B.A. Fluorescent deriva-

tive of polymyxin: its preparation and use in studying site of action of antibiotic. *J. Gen. Microbiol.* 12:266-236, 1955.

26. Newton, B.A. The properties and mode of action of the polymyxins. *Bact. Rev.* 20:14, 1956.

27. Kinsky, S.C. Alterations in permeability of *Neurospora crassa* due to polyene antibiotics. *J. Bact.* 82:889-897, 1961.

28. Marini, F., Arnow, P., and Lampen, J.O. Effect of monovalent cations on inhibition of yeast metabolism by nystatin. *J. Gen. Microbiol.* 24:51-62, 1961.

29. Gottlieb, D., Carter, H.E., Sloneker, J.H., and Ammann, A. Protection of fungi against polyene antibiotics by sterols. *Science* 128:361, 1958.

30. Lampen, J.O., Arnow, P.M., Z., and Safferman, R.S. Mechanism of protection by sterols against polyene antibiotics. *J. Bact.* 80:200-206, 1960.

31. Lampen, J.O., Arnow, P.M., Borowska, Z., and Laskin, A.I. Location and role of sterol at nystatin-binding sites. *J. Bact.* 84:1152-1160, 1962.

32. Few, A.V., and Schulman, J.H. Absorption of polymyxin E by bacteria and bacterial cell wall and its bactericidal action. *J. Gen. Microbiol.* 9:454-466, 1953.

33. Goldberg, I.H. Mode of action of antibiotics. II. Drugs affecting nucleic acid and protein synthesis. *Am. J. Med.* 39:722, 1965.

34. Richmond, M.H. The effect of amino acid analogues on growth and protein synthesis in micro-organisms. *Bact. Rev.* 26:398, 1962.

35. Goss, W.A., Deitz, W.H., and Cook, T.M. Mechanism of nalidixic acid on *Escherichia coli* II. Inhibition of deoxyribonucleic acid synthesis. *J. Bact.* 89:1068, 1965.

36. Mc Nall, E.G. Biochemical studies on the metabolism of griseofulvin. *Arch. Derm.*, 81:659, 1960.

37. Brock, T.D. Studies on the mode of action of novobiocin. *J. Bact.*, 72:320, 1956.

38. Brock, T.D. Magnesium binding as explanation of the mode of action of novobiocin. *Science*, 136:316, 1962.

39. Reich, E., Franklin, R.M., Shatkin A.J., and Tatum, E.L. Effect of actinomycin D on cellular nucleic acid synthesis and virus production. *Science*, 134:556, 1961.

40. Shiba, S., Terawaki, A., Tagnchi, T., and Kawamata, J. Selective inhibition of formation of deoxyribonucleic acid in *Escherichia coli* by mitomycin C. *Nature*, 183:1056, 1959.

41. Iyer, V.N. and Szybalski, W. Mitomycins and porfiromycin: chemical mechanism of activation and cross-linking of DNA. *Science*, 145:55, 1964.

42. Suzuki, H. and Kilgore, W.W. Mitomycin C effect of ribosomes of *Escherichia coli*. *Science*, 146:1585, 1964.

43. Williamson, A.R. and Schweet, R. Role of the genetic message in initiation and release of the polypeptide chain. *Nature*, 202:435, 1964.

44. Noll, H., Stachelin, T. and Wettstein, F.O. Ribosomal aggregates engaged in protein synthesis: ergosome breakdown and messen-

ger ribonucleic acid transport. *Nature*, 198: 632, 1963.

45. Darken, M.A. Puromycin in inhibition of protein synthesis. *Pharmacol. Rev.*, 16: 223, 1964.

46. Nathans, D. and Neidle, A. Structural requirements for puromycin inhibition of protein synthesis. *Nature*, 197:1076, 1963.

47. Allen, E.H. and Schweet, R.S. Synthesis of hemoglobin in a cell-free system I. Properties of the complete system. *J. Biol. Chem.*, 237: 760, 1962.

48. Gale, E.F. and Folkes, J.P. Assimilation of amino-acids by bacteria. XV. Actions of antibiotics on nucleic acid and protein synthesis in *staphylococcus aureus*. *Biochem. J.*, 53: 493, 1953.

49. Franklin, T.J. The inhibition of incorporation of leucine in to protein of cell-free systems from rat liver and *Escherichia coli* by Chlortetracycline. *Biochem. J.*, 87: 449-453, 1963.

50. Franklin, T.J. The effect of chlor tetracycline on the transfer of leucine and "transfer" ribonucleic acid to rat-liver ribosomes in vitro. *Biochem. J.* 10:624, 1964.

51. Carter, M.P. and Wilson, F. Tetracycline and congenital limb abnormalities. *Brit. M.J.*, 2: 407, 1962.

52. Cohan, S.Q., Revelander, G. and Tiamsic, T. Growth inhibition of prematures receiving tetracycline. *J. Dis. Child.* 105:453-461, 1963. Cited by (53).

53. Feingold, D.S. Antimicrobial Chemotherapeutic Agents: The Nature of their action and selective toxicity *New Eng. J. Med.* 269: 957, 1963.

54. Wooley, D.W. Study of non-competitive antagonism with Chloromycetin and related analogues of phenylalanine. *J. Biol. Chem.* 185: 293-305, 1950.

55. Jardetsky, O. Studies on mechanism of action of Chloramphenicol. I. Conformation of Chloramphenicol in solution. *J. Biol. Chem.* 238: 2498-2508, 1963.

56. Ambrose, C.T. and Coons, A.H. Studies on antibody production VIII. Inhibitory effect of Chloramphenicol on synthesis of antibody in tissue culture. *J. Exper. Med.* 117: 1075-1088, 1963.

57. Rendi, R. and Ochoa, S. Effect of chloramphenicol on protein synthesis in cell free preparation of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, 237: 3711, 1962.

58. Vazuquez, D. Uptake and binding of chloramphenicol by sensitive and resistant organisms. *Nature*, 203: 257, 1964.

59. Wilhelm, J.M., Oleinick N.L. and J.W. Cercoran 1968. Interaction of Antibiotics with ribosomes: structure-function relationships and a possible common mechanism for the antibacterial action of the Macrolides and Lincomycin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, P. 236-250, 1967.

60. Fitzgerald, R.J., Bernhein, F. and Fitzgerald, D.B. The inhibition by streptomycin of adaptive enzyme formation in mycobacteria. *J. Biol. Chem.*, 175:195, 1948.

61. Anand, N. and Davis, B.D. Damage by streptomycin to cell membrane of *Escherichia coli*. *Nature*, 185: 22, 1960.

62. White, J.R. and White, H.I. Streptomycinoid antibiotics synergism by puromycin. *Science*, 146: 772, 1964.

63. Gabetti, P., Gornatz, N.K. and L. B. Flexner. Puromycin: Action on Neuronal Mitochondria. *Science* 161: 900, 1968.