P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703
2011 ,(5), (1) :38-43

مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة (JUAPS)

Open Access

تحضير عدد من مشتقات اليوردين ودراسة فعاليتها البايولوجية على نماذج من البكتريا المرضية

سلمان علي احمد* يوسف هندي خلف **

*جامعة النهرين – كلية العلوم
**كلية العلوم - جامعة الانبار

معلومات البحث:
تاريخ التسليم: 2010/1/10
تاريخ القبول: 2011/8/17
تاريخ النشر: 14 / 6 / 2012
DOI:10.37652/juaps.2011.15472

الكلمات المفتاحية:
Uridine ,
Azo ,
Synthesis ,
Biological Activity ,
Bacteria .

الخلاصة:
يتضمن البحث تحضير سلسلة من المركبات بطريقة ازدواج املاح الديازونيوم مع اليوردين. وتم التأكد من الصيغ التركيبية للمركبات المحضرة بدراسة اطياف الاشعة فوق البنفسجية (U.V) واطياف الاشعة تحت الحمراء (I.R) والتحليل الدقيق لعناصر الكاربون، الهيدروجين والنتروجين (C.H.N) وتضمن البحث ايضاً دراسة الفعالية البايولوجية لهذه المركبات على خمسة اجناس من البكتريا المرضية: S. aureus , Str. viridians, Ps. aeruginosa , E. coli and Sh. Dysenteriae وبأستخدام طريقة نشر الاقراص ووجد ان لهذه المركبات تأثير متوسط في تثبيط هذه الاجناس من البكتيريا.

المقدمة

تعتبر النيوكليوسيدات هي الأساس في البناء الجزيئي للحوامض النووية RNA و DNA و اليوم تعتبر ذات فعالية بايولوجية مهمة في تصنيع كثير من الأدوية المضادة للفايروسات والبكتريا والفطريات ولعلاج مرض السرطان والأيدز بسبب فعاليتها في ايقاف نمو الخلايا المرضية(2,1) . تمتاز ليكاندات الازو للمركبات الحلقية غير المتجانسة بأهميتها البالغة في المجال البايولوجي نظرا لأحتواء هذه المركبات على ذرات مغايرة مثل الأوكسجين والنتروجين والكبريت ممايؤهلها للأرتباط مع مختلف العناصر(3). ولقد دُرست خواص وفعالية هذه المركبات من قبل العديد من الباحثين حيث حظيت بأهتمام كبير في السنوات الماضية وذلك للأهمية الحيوية لهذه المركبات في أبحاث وعلوم الأمراض الخبيثة(5,4) أضافة الى التنوع الذي تبديه هذه المركبات بوصفها مضادات للأحياءالمجهرية(6) حيث يستعمل المركب 2,6- diamino- 3-(phenyl azo) pyridine monohydrochloride والمعروف طبياً بأسم Pyridium دواءاً لامراض الجهاز البولي مضاداً للتعفن Anticeptic ومضاداً للبكتريا(7). وفي عام 1994 قام(8) A-Kalski وجماعته بدراسة التأثير السمي لمركبات الازو المشتقة من الثايادايازول Thiadiazole مع الـ 2- naphthol والـ P-Chloro Phenol حيث اشتملت الدراسة داخل الجسم invivo على خلايا نخاع عظم الفئران وخارج الجسم invitro على دم الانسان ولم تشير الدراسة الى وجود اي تأثير سمي لهذه المركبات ، وبذلك يمكن استخدامها في المجالات الطبية. ومن الامثلة الاخرى على استعمال مركبات الازو في الحقول الطبية هو المركب 6- (P-Hydroxy phenyl azo)- Uracil والمركب 6- (P-Hydroxy phenyl azo)- cytosine حيث تستخدم كمضادات للبكتريا ويعتمد الفعل الحيوي لهذه المركبات على قابليتها في تثبيط تصنيع الـ DNA في الخلايا البكتيرية(9). كما اثبتت الدراسة فعالية عدد من مركبات الآزوبنزو ثايازول كمضادات للبكتريا (10).

طرائق العمل

* Corresponding author at: Al-Nahrain University - College of Science;
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5859-6212 .Mobil:777777
E-mail address: yousif_biochemist@yahoo.com

تحضير مركب 6- (فنيل ازو)- يوريدين 6-(Phenyl azo Uridine)

اذيب 0.004 مول (0.415 gm) من الانلين المقطر في مزيج مكون من (1 mL) من (12) مولاري من حامض الهيدروكلوريك و (3 mL) من الماء المقطر . برد المزيج بدرجة (0-5°c)واضيف له محلول مكون من (0.32 gm) نتريت الصوديوم مذاب ب (4 mL) من الماء المقطر حيث تتم الاضافة قطرة قطرة مع التحريك المستمر الى محلول (0.004) مول (0.5 gm) من اليوردين المذاب ب(15 mL) من محلول هيدروكسيد الصوديوم ل (10%) وحظ تلون المحلول باللون الاحمر الفاتح. برد المزيج في حمام ثلجي لحين اكتمال ترسيب الناتج. رشحت البلورات وجففت تحت ضغط وتمت اعادة البلورة بأستخدام محلول الايثانول – ماء (1:1). وبنفس الطريقة حضرت المركبات (2) و (3).

الدراسة الحيوية

استخدمت في هذه الدراسة خمس اجناس من البكتريا المرضية اثنان منها موجبة لصبغة كرام (Gram positive) S. aureus& Str. viridans وبكتريا سالبة لصبغة كرام (Gram negative) E. coli , Sh. dysenteriae , Ps. aeruginosa. لقد عزلت هذه البكتيريا من حالات مرضية وصنفت من قبل مختبر الصحة المركزي – بغداد.

اختبار حساسية البكتريا تجاه المركبات المحضرة :-

لدراسة تاثير المركبات الكيميائية المحضرة استخدمت طريقة نشر الاقراص Disc Diffusion method (11) باستدام مذيب DMSO حضرت التراكيز (100 mg/mL), (25 mg/mL)(50 mg/mL) , (10 mg/mL), (1mg/mL) , (0.1mg/mL) , لكل مادة محضرة. حضر لكل تركيز من التراكيز اعلاه 100 قرص من ورق الترشيح بقطر (6mm) في انابيب زجاجية نظيفة عقمت بالموصدة (Autoclave) عند(121 c°) وضغط (15 lb/in2) لمدة (15 دقيقة) ثم اضيف لها (1 mL) من المحاليل اعلاه .

وبعد رج الانبوبة جيد لكي تتوزع المادة بالتساوي بين جميع الاقراص جففت هذه الاقراص بوضعها في الحاضنة بدرجة (40 c°) ولمدة 48 ساعة وتم اجراء نموذج للسيطرة (Control) لمذيب DMSO بأضافة 1 mL الى (100) قرص ورقي معقم.

طريقة الاختبار

تم تعقيم اطباق بتري (Petr dishes) وهي فارغة في الفرن ثم حضر الوسط الزرعي (Muller Hinton agar) بأذابة (37) gm من الاكار لكل لتر من الماء المقطر.

عقم الوسط الزرعي وصب في الاطباق بعد ان برد الى درجة حرارة (45-50 c°) حيث تكونت طبقة شبة جيلاتينية, ثم نميت الاجناس المستعملة للدراسة على وسط المرق المغذي (Nutrient broth) لمدة 24 ساعة بدرجة (37 c°).

تم نقل (0.1 mL) من العالق البكتيري الى طبق الاكار المغذي ونشر على سطح الوسط بأكمله بواسطة الناشر وترك لمدة نصف ساعة لامتصاص السائل المضاف. وضع في كل طبق قرص لكل تركيز اضافة الى نموذج السيطرة DMSO حضنت الاطباق بدرجة حرارة (37 c°)لمدة 18 ساعة.

النتائج والمناقشة

شخصت المركبات المحضرة بأستخدام طيف الاشعة فوق البنفسجية U.V جدول (2) وطيف الاشعة تحت الحمراء I.R جدول (3) اضافة الى التحليل الدقيق للعناصر (C.H.N)جدول (4) وجاءت متطابقة مع الصيغ البنائية المقترحة. لقد تمت الدراسة الطيفية (اشعة الفوق بنفسجية UV) لمركبات الازو المحضرة اذ تشير نتائج طيف UV لمركبات الازو المحضرة في مذيب الايثانول وبتركيز (10^{-3} M) الى وضوح حزمة الانتقال الالكتروني Electron trauster (n- π *) لمجموعة (– ph - N=N –) عند (223.2nm– 223)(12,13) إضافة الى ظهور حزمة امتصاص عند (260nm– 240) العائدة لامتصاص حلقة البيريميدين pyrimidine (14)

أظهر طيف الأشعة تحت الحمراء لمركبات الآزو قيد الدراسة حزم أمتصاص قوية وعريضة ضمن المدى المحصور بين (cm-1 3125-3645) ناتجة عن التردد الأمتطاطي Strethching vibration للأصرتين V(O-H) و V(NH) اذ تشير المصادر(15) الى ان تداخل حزم الأمتصاص العائدة لمجموعتي ال(OH) وال(NH) يعطي امتصاص عريض ضمن المدى (cm-1 3000-3600) . لقد اثبت Siroki (16) صعوبة تحديد مواقع الحزم الخاصة بترددات المجموعتين V(O-H) و V(NH) والتي يسفر عن طيفها امتصاص عريض في المنطقة (2500-3500 cm-1)

كما اظهرت أطياف مركبات الآزو حزم أمتصاص ضمن المدى المحصور بين(1604-1614 cm-1)يتضمن الترددات الأهتزازية الخاصة بالأصرتين (C=C) و V(N=N) ولقد أشير في الأدبيات (17) الى ان موقع امتصاص حزم مجموعة الازو V(N=N) يعتمد على نوع المركبات المرتبطة بطرفيها ومن المعروف(18) ان تشخيص هذه الحزمة في اطياف رامان يتم بسهولة اكثر من تشخيصها بأطياف ال (IR), وقد ظهرت هذه الحزمة في مركبات الازو الاليفاتية في الترددات المحصورة بين (1550-1575 cm-1) ولكنها انخفضت الى (1406 cm-1) في مركبات الازو الاروماتية ومن خلال دراسات الاشعة تحت الحمراء لاصباغ الازو التي قام بها العديد من الباحثين (19) اكدوا فيها ان حزم الامتصاص الواقعة ضمن المدى (1400-1510 cm-1) تعود الى مجموعة الازو V(N=N) واغلبها حزم ضعيفة. وقد جاء في الدراسة التي قام بها Hadzi (20) ان المنطقة مابين (1400-1700 cm-1) هي المنطقة التي يتوقع فيها ظهور الحزم المتسببة عن التردد الامتطاطي الناتج عن دمج اهتزازات مجموعتي الـ(C=O) و (C=N) في مركبات الازو بالاضافة الى الحزم التابعة للتردد الامتطاطي لمجموعة الازو (N=N) . اذ بينت الدراسة ان الازاحة الحمراء لمجموعة الكاربونيل (C=O) عن مواقعها عند التردد (1700 – 1730 cm-1) الى المواقع(1604-1708 cm-1) في اصباغ الازو يعزى الى وجود الاواصر الهيدروجينية الضمنية مما يؤكد وجود الصيغ التوتومرية للمركبات قيد الدراسة .

نتائج الدراسة الحيوية

لقد تم دراسة تأثير المركبات المحضرة في البحث على خمس أجناس من البكتريا المرضية اثنان منها موجبة لصبغة كرام وهي S.aureus و Str.viridans والثلاث الباقية سالبة لصبغة كرام وهي Ps.aeruginosa و E.coli و Sh.dysenteriae وتم دراسة حساسية البكتريا تجاه المركبات المحضرة بطريقة نشر الأقراص او ما يسمى بطريقةKirby-Bauer Technique (11), واستخدمت في هذه الطريقة ستة تراكيز في مذيب DMSO, وتم أجراء نموذج سيطرة من الDMSO لوحده ودراسة تأثيرة في البكتريا في نفس الظروف . حيث أظهرت معظم المركبات نتائج ايجابية كمضادات مايكروبية ضد عدد من انواع البكتريا المستخدمة في الاختبار.

بالنسبة لفعالية المركبات المحضرة كمضادات للبكتريا الموجبة لصبغة كرام Gram Positive كانت S.aureus و Str.viridans حيث يلاحظ من جدول رقم (5) ان المركب (1) اظهر اعلى نشاط عند اعلى تركيز (100mg/mL) ضد بكتريا S.aureus حيث بلغ معدل نطاق منع النمو(14mm) بينما اظهر المركب (2) اقل نشاط عند اعلى تركيز ومقداره (9mm) .اما بالنسبة لبكتريا Str.viridans فقد اظهر المركب(2) جدول (5) فعالية مضادة لهذه البكتريا بمساحة تثبيط مقدارها (16mm) عند اعلى تركيز بينما اظهر المركب (3) اقل نشاط عند اعلى تركيز بمساحة تثبيط مقدارها (11mm) بينما اعطى المركب (2) اعلى نشاط عند اقل تركيز (0.1mg/mL) بمساحة تثبيط مقدارها (8mm).اما بالنسبة لفعالية المركبات المحضرة كمضادات للبكتريا السالبة لصبغة كرام Gram Negative ,Ps.aeruginosa ,E.coli , Sh.dysenteriae, فيلاحظ من جدول (5) ان المركب (3) اظهر اعلى نشاط عند اعلى تركيز مقداره (12mm) بينما اظهر المركب (1) اقل نشاط عند اعلى تركيز مقداره (10mm) . بالنسبة لبكتريا Ps.aeruginosa . اما بالنسبة لبكتريا E.coli فيلاحظ من جدول (5) ان المركب (3) اظهر اعلى نشاط عند اعلى تركيز مقداره (12mm) بينما اظهر المركب (1) اقل نشاط عند اعلى تركيز مقداره (10.5mm) . اما بالنسبة لبكتريا Sh.dysenteriae فقد اظهر المركب (1) اعلى نشاط عند اعلى تركيز مقداره(11mm)بينما اظهر المركب (3) اقل نشاط عند اعلى تركيز مقداره (9mm). في حين لم يظهر أي نشاط تجاه البكتريا عند اقل تركيز (0.1mg/mL)

المصادر

[1] J. Arts and M. Wainberg, Amer. Soc. for Microbiology, (1996) 40, 527.

[2] C. Perigand, G. Gosselin and J. L. Imbach, Nucleoside and Nucleotides, (1992) 11, 914.

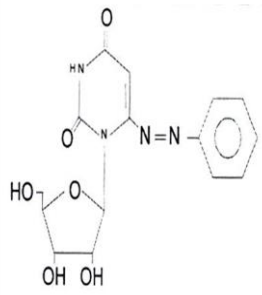
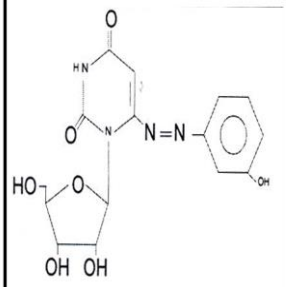
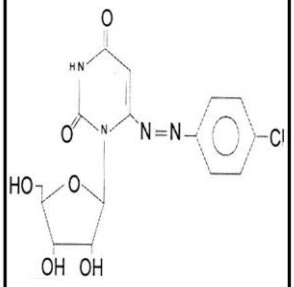
[3] B. Foth., Cancer Res., (1972)32, 804.

[4] F. A. French and E. Blanz, Cancer Res. (1965)25, 1454.

[5] A. C. Sartorelli, K. C. Agrawal and E. C. Moore, Biochem. Pharmaco., (1971) 20 ,3199.

[20] D. J. Hadzi; J. Chem. Soc., (1956) 2143.

جدول رقم (1) يمثل تراكيب وتسمية المركبات المحضرة في البحث

Cpd No.	Structure	Name
1		6-(phenyl azo)- Uridine
2		6-(3′- Hydroxy phenyl azo)- Uridine
3		6-(4′-chloro phenyl azo)- Uridine

جدول رقم (2) يمثل مواقع الامتصاص في المنطقة فوق البنفسجية للمركبات المحضرة

CPD.NO.	λmax(nm)
1	208 ,260 ,323
2	203 ,255.3 ,323.2
3	202 ,240 ,323.1

جدول رقم (3) يمثل مواقع حزم الامتصاص في المنطقة تحت الحمراء للمجاميع الفعالة في المركبات المحضرة (I.R)

CPD. NO.	V(O-H) +V(N-H)	V(C=O)	V(C=C) +V(N=N)	V(C-N)

[6] V. Betiana, “The Chemistry and Biology of Antibiotic”, Elsevier Scientific Publishing Comp. Amsterdam, (1983) 283.

[7] Wilson and Givolds, Text Book of Organic Medical and Pharmaceutical Chemistry 10th ed. (1988).

[8] A. Kalski, H. Strozynski and W. Smok, Med-Pr. (1994) 45(2), 107.

[9] Franklin and Snow, “Biochemistry of Antimicrobial Action”, 4th ed. (1987) 106.

[10] H.Abid, Ph.D."Thess Univ. of babilon, Iraq (2003).

[11] H. W. Seely, Jr., P. J. Vandemark, “Microbes in Action”, 3rd. ed., W. H. Freedman and Comp. (1981) 178.

[12] R. M. Silverstein, G. C. Bassler and T.C. Morrill, “Spectrometric Identification of Organic Compounds”, 4th. ed., John Wiley and Son New York (1988).

[13] V. M. Parikn, “Absorption Spectroscopy of Organic Molecules”, (Arabic Translation) A. H. Khuthier and J. M. Al-Rawi, University of Mosul (1985).

[14] R. L. Pecsok and Shields, “Modern Methods of Chemical Analysis”, 2nd. ed. (Arabic Translation) M. A. Mahdi, Mellitary Engineering College (1988).

[15] W. Kemp, “Organic Spectroscopy”, The macmillan Press LTD (1975) 47.

[16] M. Siroki; J. Less – common metals, (1971) 25 , 431.

[17] L. J. Bellamy, “The Infrared Spectra of Complex Molecules”, Printed in Great Britain By Low. Brydon, LTD (1975).

[18] K. Luttke and W. Zeit; Electro chem., (1960) 64, 650.

[19] K. Ueno; J. Amer. Chem. Soc., (1957) 79, 3066.

	25	9.6 ± 0.2	7 ± 0.0	8.5 ± 0.0
	10	8 ± 0.3	-----	8 ± 0.0
	1	------	------	7 ± 0.0
	0.1	------	------	------
Str. Viridans	100	14 ± 0.1	16 ± 0.0	11 ± 0.0
	50	12.5 ± 0.5	13.5 ± 0.0	9.5 ± 0.5
	25	11 ± 0.3	11 ± 0.0	8.6 ± 0.3
	10	10 ± 0.0	8 ± 0.0	8 ± 0.0
	1	8.5 ± 0.0	------	7.5 ± 0.5
	0.1	8 ± 0.0	------	--------
Ps. aeruginosa	100	10 ± 0.2	------	12 ± 0.3
	50	7.5 ± 0.0	------	8
	25	6.5 ± 0.0	------	7
	10	------	------	6.5
	1	------	------	------
	0.1	------	------	------
E. coli	100	10.5 ± 0.5	11 ± 1	12 ± 0.0
	50	9.5 ± 0.0	10 ± 0.0	10 ± 0.0
	25	8.2 ± 0.2	8.5 ± 0.0	9 ± 0.1
	10	7.5 ± 0.0	8 ± 0.0	8 ± 1
	1	7 ± 0.5	6.5 ± 0.5	--------
	0.1	-------	-------	--------
Sh.dysenteriae	100	11 ± 1	10 ± 0.5	9 ± 0.0
	50	10 ± 0.0	8.25 ± 0.25	8 ± 0.0
	25	9.25 ± 0.2	7.5 ± 0.0	7.5 ± 0.0
	10	8 ± 0.2	6.5 ± 0.5	6.5 ± 0.5
	1	7 ± 0.0	------	------
	0.1	-------	-------	------

(-----) = no activity

1	(3250-3125) (w)	1604(s)	1510(s) 1479(s) 1447(s) 1416(s)	1250(s)
2	(3645-3250) (sb)	1614(s)	1510(w) 1468(m) 1416(w)	1187(s)
3	(3500-3125) (sb)	1708(s)	1604(s) 1510(m) 1479(m) 1437(s)	1208(s)

جدول رقم (4) الصيغة الجزيئية والتحليل الدقيق للعناصر (C.H.N) ودرجات الأنصهار للمركبات المحضرة

CPD NO.	M.Wt Formula	M.Wt g/mol	m.p°C	C	H	N
1	$C_{15}H_{16}N_4O_6$	348.09	68-70	51.75 (52.86)	4.59 (5.01)	16.08 (17.14)
2	$C_{15}H_{16}N_4O_7$	364.08	>300	49.48 (48.06)	4.39 (5.14)	15.38 (16.10)
3	$C_{15}H_{15}N_4CLO_6$	382.54	96-98 Dec.	47.09 (48.90)	3.92 (4.22)	14.64 (15.32)

جدول (5) يبين تأثير مركبات الازو في نمو اجناس من البكتريا

Bacteria	Conc.	معدل قطر حزام التثبيط بالملمترات لثلاث قراءات ± الخطأ القياسي		
	Mg/ml	1	2	3
S. aureus	100	14 ± 0.3	9 ± 0.0	10 ± 0.0
	50	12 ± 1.0	7.5 ± 0.0	9 ± 0.0

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2011 ,(5), (1) :38-43

SYNTHESIS A NUMBER OF URIDINE DERIVATIVES AND STUDYING THEIR BIOLOGICAL ACTIVITY ON PATHOGENIC BACTERIA.

SALMAN ALI AHMED YOUSIF HINDY KHALAF

E.mail:- yousif_biochemist@yahoo.com

ABSTRACT:

A series of compounds were prepared by coupling dizonium salts with uridine. The structures of the prepared compounds were confirmed by ultra violet (U.V), infra red spectra (I.R) and elemental analysis (C.H.N). The biological activity of these compounds was investigated on five genera of pathogenic bacteria: S. aureus , Str. viridians, Ps. aeruginosa , E. coli and Sh. dysenteriae. Using Disc diffusion method. It was found that these compounds have medium biological effect against these genra of bacteria.