تحضير مشتق التوسايل للمضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين (Ts1) ودراسة فعّاليته ضد الجراثيم الموجبة و السالبة لملون كرام

مروان ياسين المطقوفي

جامعة البصرة / كلية العلوم / قسم علوم الحياة

الإرسال 2004/11/2, القبول 2005/5/4

الخلاصة

شملت الدراسة الحالية تحضير مشتق التوسايل للمضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين القياسي (Oxytetracycline ((OTC)، كيميائيا والحصول على المركب (Ts1). بيّنت نتائج اختبار النقاوة بطريقة كروماتوغرافي السائل عالي الأداء (HPLC) وكروماتوغرافي الطبقة الرقيقة (TLC) ان المركب (Ts1) الناتج من التحوير ذات نقاوةعالية جدا بتركيز يصل الى (100%)، كما وجد ان السمية الخلوية ضد كريات الدم الحمر للانسان للمركب (Ts1) المحضر قد اختزلت من (150 µg/ml) للمضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين (OTC) القياسي الى (550 µg/ml) للمركب المحضر (Ts1). كما درست الخصائص الحيوية الأخرى للمركب (Ts1) وذلك بتحديد التراكيز المثبطه الدنيا (MICs) ضد إحدى عشرة سلالة جرثومية قياسية ومرضية (موجبة وسالبة لملون كرام) وقد أظهر المركب (Ts1) المحضر فعّالية عالية ضد هذه الجراثيم مقارنة بالمضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين (OTC) القياسي. تم تقدير الجرعة القاتلة الوسطى ألـ (LD_{50}) للمركب (Ts1) بـ (1220 mg/kg) بينما كانت للمضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين (OTC) القياسي (963mg/kg) .كما درست الخصائص الفيزوكيميائية للمركب (Ts1) بالاعتماد على طرق التحليل الكيميائي كطيف الأشعة تحت الحمراء (IR-spectrum) وطيف الأشعة فوق البنفسجية (UV-spectrum) ودرجة الانصهار (M.p.) ، ودراسة ثباتيته في قيم مختلفة من الدالة الحامضية (pH) ودرجة الحرارة. وتجدر الاشارة الى أن هذه الدراسة تعد الأولى من نوعها على صعيد القطر من حيث تحوير المضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين (OTC) القياسي والحصول على المركب (Ts1) الذي أظهر فعالية تثبيطية عالية ضد الجراثيم (الموجبة والسالبة لملون كرام) واختزال سميته بشكل كبير جدا.

المقدمة

تعتبر المضادات الحيوية من مجموعة التتتراسايكلينات من المضادات الحيوية الفعالة ضدالجراثيم (السالبة والموجبة لملون كرام) وذات سمية متوسطة قياسا بالمضادات الحيوية الأخرى (Egarov,1985) .أجريت عدة محاولات لتطوير بعض المضادات الحيوية بتحويرها كيميائيا مثل التحوير الكيميائي للمضاد الحيوية الستربتوماسين (Streptomycin) عندما حضّر المركب (Dihydrostreptomycin) بطريقة الهدرجة المحفزة للستربتومايسين (Arthur & Robert,1970) . بعدها أصبح التحوير الكيميائي للمضادات الحيوية مثل البنسيلين(Penicillin) والسفالوسبورين (Cephalosporin) والتتراسايكلينات (Tetracyclines) والريفامبسين (Rifampcin) والكانامايسين (Kanamycin) واللينكومايسين (Lincomycin) ذات أهمية كبيرة في التطبيقات العلاجية ، وقد أشار Perlamn (1974) أن هناك أكثر من (3500) مضاد حيوي شبه صناعي (Semi-synthetic)كان منها (16) من Penicillin و (9) من Cephalosporin ، و(4) من Rifampcin ، و (5) من Tetracyclines ، و (2) من Streptomycin .ان عمليات التحويرالكيميائي للمضادات الحيوية زادت من فعاليتها في النظام الحي ضد الجراثيم المرضية ، فضلا عن تقليل من سميتها(Burger,1970).

لذلك تهدف الدراسة الحالية الحصول على مركب محور جديد للمضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين (OTC) القياسي ذو فعالية عالية ضد الجراثيم المرضية وسميه واطئة.

تحضير مشتق التوسايل للمضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين

المواد:-

1. الأوساط الزرعية :-

1- (**Difco**) Nutrient broth:N.B.

2- (**Difco**) Nutrient agar:N.A.

3- (**Difco**) Muller Hinton Agar:MHA

حضرت هذه الأوساط حسب تعليمات الشركة المصنعة والمثبته ازاء كل منها.

2. المواد الكيمياوية:-

جهزت المواد الكيميائية من الشركات الاتية:-

1- شركة (**Switzerland**) Fluka: Tosyl chloride والتي سوف نرمز لها بـ (Tos).

2 - شركة(**England**) Hopkin & Williams : بريدين Pyridine .

طرائـــق العمـــل

1.طريقة تحضير وتنقية المركب (Ts1):-

أضيف (8) مول من المادة (Tos) الى (100) مل من محلول (10%) بريدين ، ثم أضيف (1)مول من المضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين (OTC) القياسي الى المزيج ، مزجت المواد جيدا وتركت لمدة (24) ساعة ،جرى التفاعل تحت درجة حرارة الغرفة والضغط الجوي ،تتبع التفاعل بوساطة ألـ (TLC) .بعد الحصول على الناتج الذي بدى بلون داكن لمادة صلبة وجافة تم اذابته بالماء تبعه اضافة المذيب (n-Butanol) ليتم الحصول بطريقة التنقية هذه على مادة بلورية صلبة وجافة ذات لون داكن.

2. كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة(Thin Layer Chromatography (TLC) :-

أستخدمت تقنية ألـ (TLC) للتأكد من نقاوة المركب (Ts1) الناتج من التفاعل بتحديد قيمة عامل الاحتجاز ألـ (R_f) له ومقارنته مع عينة من الأوكسي تتراسايكلين (OTC) القياسي، وذلك باستخدام طبقة ورقية سليلوزية من نوع (Whatman # No.1) اذ حملت الطبقة الورقية بحوالي (5µl) لكل من المركب (Ts1)المحضر والأوكسي تتراسايكلين (OTC) القياسي، وأجريت التجربة باستخدام محلول التصعيد (n-Butanol-Acetic acid-Water) بنسبة (4:1:5) حجما.تم استظهار بقع المركب (Ts1) تحت الأشعة فوق البنفسجية (UV) وبطول موجي (365 nm) (Neidleman ,1978) .

3. كروماتوغرافي السائل عالي الأداء (High Performance Liquid Chromatography (HPLC) :-

تم تحليل العينات في منظمة الطاقة الذرية العراقية باستخدام جهاز(Shmibzu LC-6A Liquid Chromatography) .

4. الخصائص الفيزوكيميائية :-

1.4.الدراسات الطيفية:-

أ) طيف الأشعة تحت الحمراء IR – Spectrum :-

تم قياس طيف الأشعة تحت الحمراء لعينة من المركب (Ts1) المحضر وأخرى للمضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين القياسي (OTC) باستخدام جهاز (Pye– Unicom SP- 300s Infrared Spectrometer) وبطريق أقراص KBr disks .

ب) طيف الأشعة فوق البنفسجية-: UV- spectrum :-

قيس طيف الأشعة فوق البنفسجية بجهاز (Japan – SP – 800 Spectrophotometer) لعينة من المركب (Ts1) المحضر. وقد قورنت نتائج الدراسة الطيفية مع عينة من المضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين (OTC) القياسي، باستخدام (0.1N HCl) كمذيب.

2.4. قياس درجة الانصهار(Melting point (M.p. :-

تم قياس درجة الانصهار (M.p.) للمركب (Ts1) المحضر والأوكسي تتراسايكلين (OTC) القايسي باستخدام جهاز (Melting point Apparatus Electrothermal – Japan) .

3.4. تقدير ثباتية المركب في مديات واسعة من الدالة الحامضية ودرجات الحرارة :-

قدرت ثباتية المركب (Ts1) المحضر والمضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين(OTC) القايسي في مديات مختلفة من قيم الدالة الحامضية ودرجات الحرارة وبفترات مختلفة(Clansky *et al.* ,1990) .

5. الخصائص البايولوجية :-

1.5.تحديد التراكيز المثبطة الدنيا Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) :-

لتحديد التركيز المثبط الأدنى للمركب (Ts1) المحضر والمضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين (OTC) القياسي اعتمدت تقنية (Plate Agar Diffusion)على وسط مولر هنتون الصلب (MHA) اذ استخدمت تراكيز مختلفة تراوحت من (0.1-50) مايكروغرام/مل من كل من المركب (Ts1) المحضر والضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين (OTC) القياسي تجاه إحدى عشر سلالة جرثومية قياسية ومرضية (موجبة وسالبة لملون كرام) كما مبين في الجدول (4) (Piddock,1990) .

2 .5.تحديد التركيز السام للمركب (Ts1) المحضر ضد لكريات الدم الحمر للانسان Cytotoxicity :-

حدّد التركيز السام للمركب (Ts1) المحضر والمضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين (OTC) القياسي ضد كريات الدم الحمر للانسان (Human RBCs) وذلك باستخدام معلق يحتوي على (1) مل من الدم في (20) مل من المحلول الفسيولوجي الملحي (Normal Saline) ، حضرت تراكيز مختلفة من المركب (Ts1)تراوحت من (0.05-550) مايكروغرام/مل وتراكيز مماثلة لها من المضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين (OTC) القياسي ، تم إذابتها في محلول ثنائي سلفوكساید (DMSO) ، أضيف (100) مايكرولتر من كلّ تركيز إلى (2) مل من معلق

الدم ولوحظت عكورة المعلق بعد (60) دقيقة ، ان التركيز الذي ينتج عنه معلق دم رائق هو التركيز السام والمحلل لكريات الدم الحمر (Nair *et al.*,1989).

3.5.تعيين الجرعة القاتلة الوسطى (LD_{50}) Median Lethal Dose :-

حددت قيمة الجرعة القاتلة الوسطى ألـ (LD_{50}) للمركب (Ts1) المحضر وقورنت مع قيمة ألـ (LD_{50}) للمضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين (OTC) القياسي،وذلك باستخدام فئران مختبرية من نوع (Albino – mice) من سلالة (BALB/C) من جنس (الذكور) وقسمت إلى أربعة مجاميع بواقع عشرة فئران لكل مجموعة إضافة إلى مجموعة السيطرة التي حقنت تحت الجلد (Subcutaneous) ماء مقطر معقم ، في حين حقنت فئران المجاميع الأربعة بتراكيز مختلفة من المادة المحضرة تراوحت بين (250-1500) ملغم/كغم . حسبت ألـ (LD_{50}) بعد مراقبة الحيوانات المعاملة لمدة (72) ساعة وسجلت أعداد الوفيات أجري التحليل الاحصائي لها بطريقة(Probbit analysis) (Armitage,1971). وبذلك حددت قيمة ألـ(LD_{50}) للمركب (Ts1) و قورنت مع قيمة ألـ (LD_{50})للمضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين(OTC) القياسي.

النتائج والمناقشة

1.اختبار نقاوة للمركب (Ts1) باستخدام تقنية كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة (TLC):-

كان المركب (Ts1) الناتج من تحويرالمضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين على هيئة مادة صلبة جافة ذات لون داكن ، أشارت نتائج اختبار النقاوة باستخدام تقنية كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة (TLC) إن للمركب (Ts1) يمتلك قيمة (R_f) مقدارها(0.67) تظهر تحت الأشعة فوق البنفسجية عند طول موجي (365) نانوميتر بشكل بقعة دائرية إلى هلالية ذات لون أخضر مصفر متلألئ ، في حين المضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين (OTC) القياسي يظهر على هيئة بقعة واحدة ذات (R_f) قيمتها (0.59) وذات شكل دائري وبلون أخضر مصفر متلألئ عند فحصها تحت الأشعة فوق البنفسجية عند نفس الطول الموجي .جدول (1)

2.كروماتوغرافي السائل عالي الأداء HPLC:-

أظهرت نتائج تحليل ألـ HPLC أن المركب (Ts1) المحضر ذو نقاوة عالية جدا (% 100). شكل (1).

3. الخصائص الفيزوكيميائية:-

1.3.الدراسات الطيفية:-

أ. طيف الأشعة تحت الحمراءIR-Spectrum :-

سجل طيف الأشعة تحت الحمراء لكل من المركب (Ts1) والأوكسي تتراسايكلين (OTC) القياسي شكل (2) ويوضح الجدول (2) حزم الامتصاص في الطيفين والمجاميع التركيبية العائدة لهما والمشخصة اعتمادا على (Lambert *et al.*,1987) .

ب. طيف الأشعة فوق البنفسجيةUV-Spectrum:-

يوضح الجدول (1) والشكل (3) طيف الأشعة فوق البنفسجية للمركب (Ts1) مقارنة مع الأوكسي تتراسايكلين القياسي.

2.3. درجة الانصهار (M.p.) :-

أظهرت نتائج قياس درجة انصهار (M.p.) أن المركب (Ts1) المحضر يمتلك درجة انصهار (M.p.) أعلى من درجة انصهار المضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين (OTC) القياسي (The Merck Index,2000).جدول (1) .

3.3. الثباتية Stability :-

تشير نتائج اختبار الثباتية للمركب (Ts1) إلى أن أعلى ثباتية (% 100) عند دالة حامضية (2.0) و(6.5) ودرجة حرارة (30 و 60) مْ وأقل ثباتية (% 30) عند دالة حامضية (9.5) و درجة حرارة (60)مْ. جدول (3).

جدول (1):الخصائص الفيزوكيميائية للمركب (Ts1) والأوكسي تترسايكلين القياسي.

المركب	TLCتقنية ألـ		درجة الانصهار M.p.(C-)	اختبار UV(nm) (0. 1N HCl)
	قيمة R_f	لون البقعة		

OTC	0.59	أصفر مخضر متلألئ	198 --202 dec.	268,352
Ts1	0.67	أصفر مخضر متلألئ	220-222 dec.	223,257

جدول (2) : مواقع أهم الحزم والمجاميع التركيبية العائدة لها في طيف الأشعة تحت الحمراء لكل من المركب (Ts1) والأوكسي تترسايكلين القياسي.

OTC	Band shape & Frequency (cm^{-1})	Ts1	Band shape & Frequency (cm^{-1})
3400	OH (br)	2960	NH (s)
2960	NH (s)	2800	C-H (Aliphatic) (m)
2800	C-H (Aliphatic) (m)	1735	C=O (Carbonyl) (s)
1735	C=O (Carbonyl) (s)	1600	C=C (aromatic) (s)
1600	C=C (aromatic) (m)	1640	C=C (aliphatic) (s)
1640	C=C (aliphatic) (s)	1470	C-H (aliphatic) (s)
1470	C-H (aliphatic) (s)	1380	C-N (amide) (s)
1380	C-N (amide) (s)	1320	OH (out of plane)
1320	OH (out of plane) (w)	1120	S=O (s)
1250	C-O (w)	1100	S-O (s)
1190	C-O + C-N (w)		

br = broad m = medium s = strong w = weak

جدول (3) : يوضح ثباتية المركب (Ts1) و الأوكسي تتراسايكلين القياسي مضمن مدى مختلف من درجة الحرارة والدالة الحامضية.

Temp.	pH	OTC Activity (%)			Ts1 Activity (%)		
		0 hr	3 hrs	5 hr	0 hr	3 hrs	5 hr
30 C°	2.0	100	100	100	100	100	100
	6.5	100	100	100	100	100	100
	9.5	100	70	60	100	70	50
60 C°	2.0	100	100	100	100	100	100
	6.5	100	100	100	100	100	100
	9.5	100	50	50	100	50	30

4.الخصائص البايولوجية:-

1.4.تحديد التراكيز المثبطة الدنيا ضد الجراثيم :-

حدّدت قيم التراكيز المثبطة الدنيا (MICs) للمركب (Ts1) ضد إحدى عشر سلالة جرثومية قياسية ومرضية (موجبة وسالبة لملون كرام) ، اذ يوضح الجدول (4) التراكيز المثبطة الدنيا (MICs) مايكروغرام/مل لكل من المركب (Ts1) المحضر مقارنة مع المضاد الحيوي والأوكسي تتراسايكلين (OTC)القياسي.

2.4. السمية الخلوية Cytotoxicity :-

وجد أن المركب (Ts1) المحضر يكون ذو تأثير سام ومحلل لكريات الدم الحمر للانسان عند تركيز (550) مايكروغرام/مل مقارنة مع الأوكسي تتراسايكلين(OTC) القياسي (150) مايكروغرام/مل . جدول (5).

3.4.تحديد الجرعة القاتلة الوسطى (LD_{50}) :-

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي باستخدام ورقة وحدة الاحتمالية (شكل 4) انّ قيمة ألـ (LD_{50}) للمركب(Ts1) (1220) ملغم/كغم مقارنة مع قيمة ألـ (LD_{50}) للمضاد الأوكسي تتراسايكلين القياسي (963) ملغم/كغم .

جدول (4) : التراكيز المثبطة الدنيا للمركب (Ts1) وللأوكسي تتراسايكلين القياسي.

Test organisms	MIC (µg/ml)	
	OTC	Ts1
Staphylococcus aureus (NCTC 6571)	0.12	0.1--0.4
S.aureus (ATCC 29213)	0.1	0.3
S.aureus (Clinical multi-resistance isolate)	1	0.2
E.coli (NCTC 5933)	0.2	0.1-0.35
Pseudomonas auroginosa (NCTC 6750)	100	<50
Proteus vulgaris (NCTC 4175)	10	10-50
Bacillus subtilis (PCI 219)	0.3	0.3
B.pumillus (NCTC 8241)	0.3	0.35
Serratia (Clinical isolate)	0.9	0.5--0.9
Klebsiella pneumoniae (ATCC10031)	2.5	0.15--0.3
Streptococuus pneumoniae (ATCC 6308)	0.1	0.25-0.4

جدول(5):التراكيز المستخدمة في اختبار التأثير السمي ضد كريات الدم الحمر لكل من المركب(Ts1) والأوكسي تتر سايكلين القياسي.

Compound	Concenration (ppm)	RBCs toxicity after 1 hr
DMSO	-	Non Toxic (NT)
OTC	0.05 0.5 10 20 50 100 150 200	NT NT NT NT NT NT Toxic (T) T

Ts1	0.05	NT
	0.5	NT
	10	NT
	20	NT
	50	NT
	100	NT
	150	NT
	200	NT
	250	NT
	300	NT
	350	NT
	500	T
	550	T

المناقشة

تم خلال الدراسة الحالية دراسة إمكانية تحوير المضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين القياسي لغرض تطوير صفاته الفيزوكيميائية والحيوية فضلا عن تقليل سميته ، اذ يمتاز المضاد الحيوي باستخدام واسع جدا في المجال الطبي والبيطري والزراعي ، وقد تم الحصول على مركب ناتج من التحوير الكيميائي للمضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين القياسي أطلق عليه (Ts1) حسب الطريقة الموصوفة في متن البحث ، وهذا التحويرهو تحوير جديد للمضاد الحيوي وذلك خلال مقارنة صفاته الفيزوكيميائية والحيوية مع الأوكسي تترسايكلين القياسي فضلا عن مقارنة صفاته مع مجموعة التراسايكلين عموما بالاعتماد على المصادر العلمية الحديثة ، إذ لوحظ أنّ المركب المحور (Ts1) يمتلك صفات فيزوكيميائية عامة مشابه مع المضادات الحيوية من مجموعة التتراسايكلين وخصوصا المضاد الحيوي الأوكسي تترسايكلين القياسي مطوّرة ويمكن اعتباره جيل جديد من المضادات الحيوية التابعة مجموعة التتراسايكلين (Burgar , 1970) .

امتلك المضاد الحيوي المحور (Ts1) درجة انصهار حادة وبقعة واحدة ذات لون أصفر مخضر متلألئ على صفائح كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة (TLC) مما يشير الى ان المضاد الحيوي المحور (Ts1) تم تحضيره بصورة نقية من المضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين القياسي مع اعادة بلورته و ازالة الشوائب العالقة منه (جدول1) .

يتضح من الشكل (1) الخاص بكروماتوغرافي السائل عالي الأداء (HPLC) للمضاد الحيوي المحور (Ts1) انه مركب يختلف عن المضاد الحيوي القياسي وذلك من خلال اختفاء القمة عند الوقت (0.4) في المضاد المحور وظهور قمة جديدة هي (2.08) فضلا عن قمة جديدة عند (3.47, 2.17) مما يدل على ان الوقت اللازم لتفكيك المركب المحور (Ts1) أطول من الوقت اللازم لتفكيك المركب القياسي وبنقاوة عالية جدا تركيزها (100%) .يشير طيف الأشعة تحت الحمراء (IR-Spectrum) (شكل 2) و (جدول 2) الذي يوضح أهم الحزم الموجودة في المضاد الحيوي المحور (Ts1) ومقارنتها مع المضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين القياسي اذ يلاحظ اختفاء الحزمة المميزة لمجموعة الهيدروكسيل (OH-) عند الموقع (3400) سم$^{-1}$ في طيف المضاد الحيوي المحور (Ts1) مقارنة مع المضاد الحيوي القياسي ووجود حزمة عند الموقع (2960) سم$^{-1}$ الخاصة بمجموعة الأمين (NH2) ، فضلا عن ظهور حزمة جديدة في طيف المركب (Ts1) عند الموقع (1120) سم$^{-1}$ و (1100) سم$^{-1}$ عائدتين لمجموعة (S = O) و(O – S) على التوالي الخاصة بمجموعة التوسايل (Lambert *et al.*,1987). اما الشكل (3) وجدول (1) الخاص بطيف الأشعة فوق البنفسجية (UV-Spectrum) للمضاد الحيوي المحور (Ts1) ، ظهور حزمتي امتصاص عند الطول الموجي (223 , 257) نانومتر ناتجة عن حدوث الانتقالات الألكترونية من نوع ($\pi \rightarrow \pi^*$) عائدة الى وجود الأواصر المزدوجة في تركيبة المضاد من نوع (C = O) و (C = C) (Lambert *et al.*, 1987) .

التغير الواضح في طيف الأشعة تحت الحمراء للمضاد الحيوي المحور (Ts1) والأوكسي تتراسايكلين القياسي في اختفاء الحزمة الخاصة بمجموعة الهيدروكسيل عند الموقع (3400) سم$^{-1}$ وظهور حزمتين جديدتين العائدتين لمجموعة (S = O) و (S – O) عند الموقع (1120 , 1100) سم$^{-1}$ على التوالي يؤكد على حدوث عملية (Tosylation) خلال ازالة مجاميع الهيدروكسيل واحتلال مجاميع (S = O) و(S –O) موقعها مع احتفاظ بقية المجاميع مواقعها .أشارت النتائج الى أن المضاد الحيوي المحور (Ts1) يمتلك ثباتيه عالية في مدى من الدالة الحامضية (2.0 – 9.5) ودرجات الحرارة (30 – 60) م° ، اذ أوضحت النتائج الى انه فعّال بنسبة (100%) في المدى المذكور من الدالة الحامضية ودرجة الحرارة في حين انخفضت فعاليته في درجة حرارة (30) م° ودالة حامضية (9.5) الى (70%) و(50%) بعد (3) و(5) ساعات على التوالي. في حين انخفضت فعاليته عند درجة حرارة (60) م° ودالة حامضية (9.5) اذ كان فعّال بنسبة (50%) و(30%) بعد (3) و (5) ساعات على التوالي. مما يدل على ان فعّاليته الحيوية عالية جدا في الأوساط الحامضية وتنخفض في الأوساط القاعدية ، وهذا يتفق مع ماذكره Momtaz *et al.*, (1983) و Egarov (1985) و Martindal (1996) من ان الأوكسي تتراسايكلين والمضادات الناتجة عنه تكون فعّاله في الأوساط الحامضية والمتعادلة وتنخفض في الأوساط القاعدية نتيجة تحطمها.يمتلك المضاد الحيوي المحور (Ts1) فعّاليه واسعة ومميزة تجاه الجراثيم (الموجبة والسالبة لملون كرام) وبقطر تثبيط عال مقارنة مع المضاد الحيوي القياسي الأوكسي تتراسايكلين (جدول4) . اذ يتراوح مدى تأثيره المثبط الأدنى (MIC) بين (0.1 - 0.4) مايكروغرام/مل تجاه الجراثيم الموجبة لملون كرام . في حين بلغ التركيز المثبط الأدنى بين (0.1 -50) مايكروغرام/مل للجراثيم السالبة لملون كرام وهذا يوضح مدى فعّاليته التثبيطية للنمو (Bacteriostatic) العالية مقارنة مع المضاد الحيوي القياسي .

ان دراسة تأثير المضاد الحيوي المحور (Ts1) على تحلل كريات الدم الحمر للانسان (RBCs) أشارت الى ان المركب المحور (Ts1) غير سام وغير محلل لكريات الدم الحمر عند التركيز (150) مايكروغرام/مل مقارنة مع المضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين القياسي ، اذ يبدأ تأثيرة السام ضد الكريات عند التركيز (500) مايكروغرام/مل وهذا يدل على اختزال التأثير السام والمحلل للمضاد الحيوي القياسي وذلك بتحويره والحصول على المضاد الحيوي الجديد (Ts1) (Burger,1970)، (جدول 5). بلغت الجرعة القاتلة الوسطى (LD_{50}) للمضاد الحيوي المحور (Ts1) (1220) ملغم/كغم شكل (4) مقارنة مع المضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين القياسي (963) ملغم/كغم Kleeman & Engel (1999) وهذا دليل آخر واضح على اختزال التأثير السمي والقاتل في النظام الحي للمضاد الحيوي الأوكسي تتراسايكلين القياسي.هذه النتائج تشجع استخدام المضاد الحيوي المحور (Ts1) من المضاد الأوكسي تتراسايكلين القياسي كبديل عنه أو كمضاد حيوي جديد لامتلاكه الصفات الفيزوكيميائية الثابته والحيوية المثبطة لفعل الجراثيم الموجبة والسالبة لملون كرام أو من ناحية اختزال تأثيره السمي ضد كريات الدم الحمر و في الجرعة القاتلة الوسطى مما يأذن بظهور جيل جديد للمضادات الحيوية من مجموعة التتراسايكلين.

Armitage, P. (1971). **Statistical method in medical research**. Blackwell Scientific Publications, USA.

Arthur Lewis & Robert G. Shepherd. (1970). **Antimycobacterial Agents.** In: "**Medicinal Chemistry**". Ed. by Burger, Alfred. (1970). 3rd Ed.

Burger , A. (1970). "**Medicinal Chemistry**".3rd Ed. John Wiley & Sons.

Clansky, Kenneth B., E d. Suspect Chemicals Sourcebook : A Guide to Industrial Chemicals Covered Under Major Federal Regulatory and Advisory Programs.Roytech Publications, Inc. Burlingame, CA.(1990). Section 3 , p. 95.

Egarov, N.S. (1985)."**Antibiotics a scientific approach** ".1st ed MIR Publishers, Moscow.

Kleeemann,A.&Engle,J.(1999)."**PharmaceuticalSubstance**".Theime,Stuttgart.New York.3rd ed.pp:(1429).

Lambert, J. B. ; Herbert, F. S. ; Davied, L, ; Graham-Cooks , R. (1987). **" Introduction in organic spectroscopy ".** Macmillan Publishing Company / New York, Collier Macmillan Publishers/ London.

Martindal (1996). Key-word: "**Oxytetracycline**".Compact disk (**CD**).

Momtaz,K.;Zeem,M.;Mathson,J.(1983)."**Oxytetracycline & Their Enviromental Assessement".** Special Edition For The Upper Midwest Enviromental Science Centrer. (52)pp.

Nair, M. G. ; Putnam, A. R. ; Mishar, S. K. ; Mulks, M. H. ; Taft, W. H. ; Keller J. E. ; Miller, J. R. ; Zhu, P. P. ; Meinhart, J. D. & Lynn, D. G. (1989). Faeriefungin: A new broad-spectrum antibiotic from *Streptomyces griesus* var. *autotrophicus* . ***J. of Natural Products***. ***52***: (797- 809).

Neidleman , S. L .(1978) .**Tetracycline** In : " **Antibiotics isolation , separation & purification**". pp:(735-739).

Perlman, D. (1974). **Biosynthetic, semi – synthetic and synthetic antibiotics**. In: Betina V. (1983). "**The chemisrty and biology of antibioics**". Vol. 5. Elsevier Scientific Publishing Company pp: (277- 279).

Piddock, L. J. V. (1990). Techniques used for determination of antimicrobial resistance & sesitivity in bacteria. ***J. Appl. Bacteriol.* 68**: (307 – 318).

The Merck Index .(2000).Key-ward "**oxytetracycline".** (Compact disc (CD)).

New Chemical Derivative of Oxytetracycline (Ts1) & Study Their Activity Against Gram positive & Negative Bacteria

Marwan Y. Al-Maktofi
Science College-Dept. of Biology-Basrah Univresity-Basrah-IRAQ.

Abstract

This study deals with the new chemical derivative of standard oxytetracycline (OTC) get modified antibiotic (Ts1) by simple method. The purity tests HPLC and TLC have indicated to high purity of (Ts1) (%100). The toxicity effect of (Ts1) against human (RBCs) was reduced to (550µg/ml) while (OTC) was (150µg/ml). The MICs values of (Ts1) against eleven species of standard and pathogenic (Gm+ve & Gm-ve) bacteria showed significant difference when compared with (OTC). The median lethal dose (LD_{50}) to (Ts1) and (OTC) was determined about (1220 mg/kg) and (963 mg/kg) consecutively.

Comparison of physicochemical tests including IR-spectrum, UV-spectrum, M.p., and stability in different pH and temperature of (Ts1) with those to (OTC) have been indicated the differences to a new semi-synthetic antibiotic (Ts1) with high activity against (Gm+ve & Gm-ve) bacteria and very low toxicity.

Key word: oxytetracycline; semi-synthetic antibiotic.

Correspond author: marwan200044@yahoo.com